



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Programa Institucional de Doutorado em Química

Instituto de Química

Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica

**DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS DE DIGESTÃO DE
BIODIESEL ASSISTIDOS POR RADIAÇÃO ULTRASSÔNICA
VISANDO À DETERMINAÇÃO DE METAIS
POR TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS**

Doutorando: Helieder Cortes Freitas

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

2015

Dezembro



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Programa Institucional de Doutorado em Química

Instituto de Química

Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica

**DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS DE DIGESTÃO DE
BIODIESEL ASSISTIDOS POR RADIAÇÃO ULTRASSÔNICA
VISANDO À DETERMINAÇÃO DE METAIS
POR TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS**

Tese de doutoramento apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Química, do Instituto de Química
da Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do título de Doutor em Química.

Doutorando: Helieder Cortes Freitas

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Área de Concentração: Química Analítica

2015

Dezembro

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

F866d

Freitas, Helieder Cortes, 1973-

2015

Desenvolvimento de procedimentos de digestão de biodiesel assistidos por radiação ultrassônica visando à determinação de metais por técnicas eletroquímicas / Helieder Cortes Freitas. - 2015.

173 f. : il.

Orientador: Rodrigo Alejandro. Abarza Muñoz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Biodiesel - Teses. 3. Ultrassom - Teses. 4. Análise eletroquímica - Teses. I. Abarza Muñoz, Rodrigo Alejandro. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 54



**Ata da defesa de TESE DE DOUTORADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química,
do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia**
DEFESA DE TESE DE DOUTORADO EM QUÍMICA, NÚMERO 45/PPQUI.

DATA: 16/12/2015

DISCENTE: Helieder Cortes Freitas

MATRÍCULA: 11123QMI004

TÍTULO DO TRABALHO: Desenvolvimento de procedimentos de digestão de biodiesel assistidos por radiação ultrassônica visando à determinação de metais por técnicas eletroquímicas.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos em associação à análise por injeção em batelada (batch injection analysis) para a determinação de metais em biocombustíveis.

Às oito horas minutos do dia dezesseis de dezembro do ano dois mil e quinze, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 5I, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Márcio Antônio Augelli, da Universidade Estadual de São Paulo, Márcia Andrea Mesquita da Veiga, da Universidade De São Paulo, Alam Gustavo Trovó e Sidnei Gonçalves da Silva, do Instituto de Química da UFU e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Regulamentar nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e o(a) provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

mambido

Esta defesa de Tese de Doutorado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 60 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 11 horas e 35 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Márcio Antônio Augelli
UNESP

Prof. Dr. Márcia Andrea Mesquita da Veiga
USP

Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva – IQUFU

Professor(a) Orientador(a): Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz – IQUFU

*Amor é dado de graça, é semeado no vento, na
cachoeira, no eclipse, amor foge a dicionários e
a regulamento vários.*

Carlos Drummond de Andrade.

Aos meus queridos pais:

- Francisco Justino de Freitas e Lázara Côrtes Freitas.

Às minhas queridas irmãs:

- Edilene Cortes Freitas

- Elia Nei Cortes de Freitas

Aos meus sobrinhos e afilhados:

- Arthur Cortes Freitas Guedes

- Danillo Cortes Freitas Guedes

Pela felicidade de fazer parte de uma família tão especial.

Dedico.

*Que pode uma criatura senão entre outras
criaturas, amar?*

*Amar e esquecer, amar e malamar, amar,
desamar, amar?*

Sempre, até de olhos vidrados, amar?

Carlos Drummond Andrade.

À amada esposa Carla Viviane da Silva.

Pela felicidade de estar com uma pessoa tão especial.

Dedico.

Aos meus queridos e eternos professores:

- Prof^a. Dr. Tereza Cristina Rodrigues
- Prof^o. Dr. Sebastião de Paula Eiras
- Prof^o. MSc. José Maria Franco de Assis
- Prof^o. MSc. Mauro Alves Dutra
- Prof^o. Msc. Ronald Costa Maciel
- Prof^o. Esp. Sandoval Borges Barcellos

Responsáveis pela minha formação acadêmica e pelo imenso desejo de trabalhar e fazer pesquisa em Química.

Dedico.

Ao professor e orientador:

- Prof^o. Dr. Rodrigo Alejandro Arbaza Muñoz

Por sua orientação, pelos conhecimentos a mim transmitidos, pela paciência e compreensão nos momentos difíceis, e pelo despertar de uma nova área da química – A eletroanalítica.

Minha sincera gratidão!

Ave, Maria, cheia de graça,

o Senhor é convosco.

Bendita sois vós entre as mulheres,

e bendito é o fruto do vosso ventre, Jesus.

Santa Maria, Mãe de Deus,

rogai por nós, pecadores,

agora e na hora da nossa morte.

Amém.

*A nosso senhor Jesus Cristo, Virgem Maria e
nossa Senhora de Fátima e todos os santos de
minha devoção.*

Obrigado!

AGRADECIMENTOS

- ✓ *Ao Profº Dr Rodrigo Alejandro Arbaza Muñoz pela orientação, amizade, paciência e apoio durante o desenvolvimento do presente trabalho.*
- ✓ *Ao Profº. Dr. Eduardo M. Richter pelos ensinamentos e discussões ao longo do trabalho.*
- ✓ *Ao Pofº Dr. Sidnei Gonçalves da Silva, pelas importantes contribuições ao texto desta tese e por ter aceitado participar dos Exames de Qualificação e Defesa.*
- ✓ *Ao Profº Dr. Alam Gustavo Trovó, pelas importantes contribuições ao texto desta tese e por ter aceitado participar dos Exames de Qualificação e Defesa.*
- ✓ *Ao Profº. Dr. André Luiz dos Santos, pelas importantes contribuições ao texto desta tese e por ter aceitado participar do Exame de Qualificação.*
- ✓ *Ao Profº. Dr. Márcio Antônio Augelli, pelas importantes contribuições ao texto desta tese e por ter participado como membro da banca de Defesa.*
- ✓ *À Profª. Drª. Márcia A. M. da Veiga, pelas importantes contribuições ao texto desta tese e por ter participado como membro da banca de Defesa.*
- ✓ *Ao Profº. Dr. Alex M. de Almeida, pela ajuda, apoio e discussões científicas nos momentos difíceis.*
- ✓ *Ao Profº. Dr. Natal Júnio Pires pela amizade, e discussões sobre ciência, ensino de química e aplicação da ciência no mundo em que vivemos.*
- ✓ *Ao Profº. Dr. Rodrigo Amorin Bezerra da Silva, pela amizade e ajuda com o Statistic.*
- ✓ *Ao Profº. Dr. Lucas Caixeta Gontijo, pela amizade, apoio e discussões científicas ao longo deste trabalho.*
- ✓ *Ao Profº. MSc. Eduardo S. Almeida, pela amizade e ajuda ao longo deste trabalho.*
- ✓ *À Profª. Msc. Iolanda Martins, pela amizade, incentivo e ajuda com a parte burocrática da Licencia para aprimoramento profissional.*
- ✓ *Ao Profº. MSc. Rodrigo F. dos Santos, pela amizade, incentivo e discussões científicas ao longo deste período.*
- ✓ *À Profª. MSc. Poliana G. Freire, pela amizade e incentivo ao longo deste trabalho.*
- ✓ *Ao Profº. Esp. José A. Pinheiro, pela amizade e ajuda nos momentos complicados.*

- ✓ À Profª. Esp. Maria A. Santana, pela amizade, incentivo e ajuda nos momentos conturbados.
- ✓ À Profª. Espec. Gislene de Paula, pela amizade e incentivo.
- ✓ À Profª. Esp. Carla M. Alves pela amizade, ajuda e apoio em todos os momentos.
- ✓ À Profª. Cláudia F. da Silva pela amizade, apoio e incentivo ao longo deste trabalho.
- ✓ Ao amigo Rafael Tavares, pela amizade, incentivo e ajuda com a burocracia governamental.
- ✓ Aos amigos e ex-alunos: Charles Leal, Eberson Silva, Vilmondes Souza, Rodrigo Franco, José Pedro, Carlos Domingues, Priscila Nogueira, Heliane Souza, Renata Bernardino, Cleonice Jesus, Jaqueline Braz, Fabrícia Vieira, Leandro Silva, Anderson Pandex e tantos outros, obrigado pela amizade.
- ✓ Ao amigo Assis Peixoto pela ajuda com a parte burocrática da Licença para aprimoramento profissional.
- ✓ Ao amigo de infância Uedson Guedes Pereira, pela amizade e carinho.
- ✓ À amiga Mayta Peixoto, secretária do Programa de Pós-Graduação em Química do IQ-UFU, pela paciência, colaboração e grande demonstração de amizade.
- ✓ A todos os amigos (as) do NUPE pela amizade sincera, ajuda incondicional e momentos alegres vividos.
- ✓ A todos os docentes da Área de Química e em especial a da Química Analítica do IQ-UFU, pelos ensinamentos.
- ✓ A todos os Professores, funcionários, alunos e ex-alunos dos cursos de química, Tecnologia em Produção Sulcroalcooleiro e Agronomia da Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG) (campus Ituiutaba) e da Faculdade Quirinópolis (FAQUI) pelo apoio, ajuda e compreensão.
- ✓ Aos Professores, funcionários e alunos dos Colégios: Expansão de Quirinópolis, Presidente Costa e Silva e Belmiro Soares pelo apoio, compreensão, amizade e orações.
- ✓ À Secretaria Estadual de Educação de Goiás (SEDUCE) pela licença de aprimoramento profissional concedida para a realização deste trabalho.
- ✓ À Empresa Caramuru Alimentos S. A.(Unidade São Simão) por gentilmente ter cedido as amostras de biodiesel necessária aos estudos.

SUMARIO

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos.....	13
Lista de Equações Matemáticas	15
Lista de equações químicas	16
Lista de Figuras	17
Lista de Tabelas	21
Resumo	23
Abstract	24
Epígrafe.....	25
Capítulo – 1	26
1- INTRODUÇÃO	27
1.1- Biodiesel	27
1.2 - Matérias-primas e síntese de biodiesel	28
1.3 - Estabilidade oxidativa	31
1.4 - Metais em Biodiesel	35
1.4.1- <i>Mecanismo de ação oxidativa provocada por metais</i>	36
1.5 - Métodos analíticos para a determinação de metais em biodiesel	39
1.5.1- <i>Métodos espectrométricos</i>	39
1.5.2 - <i>Métodos eletroquímicos</i>	40
1.5.2.1 - <i>Análise potenciométrica de redissolução</i>	42
1.5.2.2 - <i>Análise por voltametria de redissolução</i>	44
1.5.2.3 - <i>Eletrodo de filme de mercúrio</i>	45
1.6 - Métodos de preparo de amostra para análises de metais traços	47
1.6.1- <i>Preparo de amostras por decomposição via úmida</i>	48
1.6.2- <i>Preparo de amostras empregando radiação ultrassônica</i>	51
1.7- PLANEJAMENTO QUÍMIOMÉTRICO	56
1.7.1- <i>Planejamento composto central</i>	57
1.7.1.1- <i>Metodologia de superfície de resposta</i>	60
Capítulo – 2	62
2- OBJETIVOS	63
2.1- Objetivo geral	63

2.2 - Objetivos específicos.....	63
Capítulo – 3.....	64
3 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	65
3.1 - Equipamentos e materiais	65
3.1.1 - <i>Sistema eletroquímico</i>	65
3.1.2 - <i>pH-metro</i>	65
3.1.3 - <i>Célula eletroquímica e eletrodos</i>	65
3.1.3.1 - <i>Eletrodo de trabalho</i>	66
3.1.4 - <i>Banho Ultrassom</i>	66
3.2 - Reagentes e Soluções	67
3.2.1 - <i>Solução de eletrólito suporte</i>	68
3.2.2 - <i>Solução padrão de metais</i>	68
3.2.3 - <i>Solução padrão de mercúrio</i>	68
3.3 - Procedimentos e medidas experimentais	68
3.3.1 - <i>Limpeza dos materiais e vidrarias</i>	68
3.3.2 - <i>Aquisição e armazenamento das amostras de biodiesel</i>	69
3.3.2.1 - <i>Parâmetros físico-químicos da amostra</i>	69
3.3.3 - <i>Pré-tratamento da superfície do eletrodo de carbono vítreo</i>	69
3.3.4 - <i>Preparação do EFM</i>	70
3.3.5 - <i>Composição do meio reacional</i>	70
3.3.6 - <i>Medidas Eletroquímicas</i>	70
3.3.7- <i>Otimização das condições de digestão empregando banho de ultrassom</i>	71
3.3.8 - <i>Otimização das condições empregando sonda ultrassônica</i>	74
3.3.9 - <i>Testes de adição e recuperação</i>	77
3.3.10 - <i>Determinação do teor de carbono residual nos digeridos</i>	77
Capítulo – 4	79
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80
4.1 - Radiação Ultrassônica.....	80
4.2 - Extração de metais em combustíveis empregando banho de ultrassom.....	81
4.2.1- <i>Otimização das condições da digestão empregando banho de ultrassom</i>	83
4.2.1.1 - <i>Estudo de adição e recuperação para íons zinco em amostras de</i>	

<i>biodiesel puro</i>	93
4.2.1.2 - <i>Estudo de adição e recuperação para determinação simultânea de íons zinco e cádmio em amostras de biodiesel</i>	95
4.2.1.3 - <i>Estudo de adição e recuperação para determinação simultânea de íons zinco, cádmio, chumbo e cobre em amostras de biodiesel empregando SWASV</i>	97
4.2.2 - <i>Otimização das condições de digestão empregando sonda de ultrassom</i>	99
4.2.2.1 - <i>Estudo de adição e recuperação para íons zinco em amostras de biodiesel submetidas ao processo de digestão empregando sonda de ultrassom</i>	113
4.2.2.2 - <i>Estudo de adição e recuperação para íons zinco e cádmio em amostras de biodiesel fortificadas submetidas ao processo de digestão empregando sonda de ultrassom</i>	114
4.2.2.3- <i>Estudo de adição e recuperação simultânea para íons zinco, cádmio, chumbo e cobre em amostras de biodiesel fortificadas submetidas ao processo de digestão empregando sonda de ultrassom por SWASV</i>	116
4.3 - Determinação do teor de carbono residual nos digeridos empregando banho e sonda de ultrassom.....	118
Capítulo – 5	122
5 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	123
Capítulo – 6	125
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126
ANEXO – 1.....	148

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

- ABNT – Associação Brasileira de Normas e Técnicas
- AdPSA - Análise Potenciométrica de Redissolução Adsorptiva
- ANP – Agencia Nacional de Petróleo
- ~ - Aproximadamente
- Ag/AgCl (sat) - eletrodo de prata / cloreto de prata saturado
- B5, B7, B20 – Porcentagem de biodiesel adicionado ao diesel.
- B100 – Biodiesel Puro
- CV - carbono vítreo
- CCPSA ou SCP - Potenciometria de redissolução anódica a corrente constante
- CG - Cromatografia Gasosa
- CLAE ou HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- CV AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com chama por vapor frio
- EUA ou USA – Estados Unidos da América
- EU – União Europeia
- Eat – Energia de ativação
- EN – Comissão Europeia de Normalização
- EFM - eletrodo de filme de mercúrio
- EQMs - eletrodo quimicamente modificado
- EGM - eletrodo de gota pendente de mercúrio
- FAAS – Espectrometria de Absorção Atômica com chama
- GFAAS - Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite
- GPC – Cromatografia de Permeabilização em Gel
- HR CSAAS - Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte continua.
- ICP OES - Espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente
- ICP-MS - Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente
- ISO – Organização Internacional de Padronização
- kcal – Quilo Calorias
- LO – Lipídeo Peróxido
- LD – Limite de Detecção
- LQ – Limite de Quantificação

M – Metal qualquer
NIR – Infravermelho Próximo
O/W - óleo-em-agua
PI – Período de Indução
PCC ou CCD - Planejamentos compostos central
PSA – Potenciometria de Redissolução anódica
PTFE – Teflon
PFA – Perfluoalcoxi
RMN-H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RCC Ou TOC – Teor (porcentagem) de Carbono Residual
RPSA - Potenciométrica de Redissolução Redutiva
ROO – Radical hidroperóxido
 R^{\cdot} – Radical orgânico
 RO^{\cdot} – Radical alcoxila
 RO_2 – Peroxila orgânico
SWASV – Voltametria por onda quadrada de redissolução anódica
SD – Desvio padrão
TEL – Tetraetilchumbo
TOC - carbono organico total
TFMTM - PTFE modificado
US - radiação ultrassônica
UFU – Universidade Federal de Uberlândia
W/O - agua-em-óleo
 \varnothing – Diâmetro em milímetro

LISTA DE EQUAÇÕES MATEMÁTICAS

Equação polinomial 1 – Regressão múltipla gerado pelo software Statistica para otimização do volume de HCl e H ₂ O ₂ com digestão em banho de ultrassom.....	85
Equação polinomial 2 – Regressão múltipla gerado pelo software Statistica para otimização do tempo de sonicação e temperatura do banho de ultrassom	88
Equação polinomial 3 – Regressão múltipla gerado pelo software Statistica para otimização do tempo de sonicação e amplitude de sonicação (%) para sonda de ultrassom.....	103
Equação polinomial 4 – Regressão múltipla gerado pelo software Statistica para otimização do volume de HCl e H ₂ O ₂ com digestão em banho de ultrassom	108

LISTA DE EQUAÇÕES QUÍMICAS

Equação química 1 – Reação química de transesterificação.....	30
Equação química 2 – Estabilização dos radicais livres alílicos e formação dos hidroperóxidos	32
Equação química 3 – Reação de formação de carboxilato metálico (sabão)	35
Equação química 4 – Reação química de eletrodeposição de mercúrio (II) sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo.....	46
Equação química 5 – Reação química entre o HCl e o H ₂ O ₂	85
Equação química 6– Equilíbrio químico entre o CO ₂ formado na digestão e a solução digerida.....	120

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Distribuições das matérias primas nas regiões do Brasil	29
Figura 2 – Etapas do mecanismo de auto-oxidação.....	33
Figura 3 – Esquema básico de funcionamento do Rancimat para o teste de oxidação acelerada	34
Figura 4 – Formação de radicais lipídicos formados por ataques metálicos	36
Figura 5 – Síntese de radicais lipídicos formados por ataques metálicos	37
Figura 6 – Formação de radical oxigênio por ataques metálicos redutores	37
Figura 7– Reação de oxidação / redução de radical hidroperóxido por ataques metálicos	38
Figura 8 – Ciclo de reações redox iniciadora da oxidação lipídica	39
Figura 9 – Representação envolvendo a eletrodeposição e reoxidação do analito na superfície do eletrodo de trabalho	41
Figura 10 – Esquema da etapa de redissolução anódica	44
Figura 11 – A) Banho de ultras, B) Cristais piezelétricos, C) Vibrações provocadas devido aplicação de potencial aplicado.	52
Figura 12- Ciclo de expansão e compressão das ondas de ultrassom	53
Figura 13 - A) Ilustração da formação de bolhas, B) Variação de temperatura e pressão atingidos na implosão de uma microbolha, c)Visualização do momento da implosão microbolha sobre a superfície do material.	53
Figura 14 – A) Formação, crescimento e tamanho das bolhas de vapor com tempo (milissegundos, ms) para colapso e B) Representação do colapso da bolha.....	54
Figura 15 – A) Sonda Ultrassônica com caixa acústica, B) Representação dos componentes eletrônico, C) Ponteiras com diferentes espessuras.....	55
Figura 16 – Representação gráfica do planejamento composto central, modelo quadrático	59
Figura 17 – Representação de célula eletroquímica típica composta por um sistema de três eletrodos: Trabalho (EFM), auxiliar (Pt) e referência (Ag/AgCl)...	66
Figura 18 – A) Banho de Ultrassom e B) Frascos de vidro empregado para digestão das amostras nos experimentos	67

Figura 19 – Avaliação da distribuição da energia no banho de ultrassom. A) disposição do papel alumínio, B) Apresentação das regiões de maior perfuração da folha de alumínio provocada pelo piezoelétricos.....	80
Figura 20 – Otimização da massa de biodiesel a ser empregada na extração de zinco empregando banho de ultrassom.	82
Figuras 21 – Linhas de contorno da superfície resposta para otimização dos volumes de HCl e H ₂ O ₂ empregados na digestão de 50,0 mg de biodiesel puro.....	86
Figuras 22 – Superfície de resposta para otimização dos volumes de HCl e H ₂ O ₂ empregados na digestão de 50,0 mg de biodiesel puro enriquecido com zinco.....	87
Figuras 23 – Linhas de Contorno da superfície de resposta para otimização do tempo de sonicação e temperatura da água do banho empregados na digestão de 50,0 mg de biodiesel puro com 3,0 mL de HCl e 4,4 mL de H ₂ O ₂	90
Figuras 24 – Superfície de resposta para otimização do tempo de sonicação e temperatura da água do banho empregado na digestão de 50,0 mg de biodiesel puro com 3,0 mL de HCl e 4,4 mL de H ₂ O ₂	91
Figuras 25 – Fotos de amostras de biodiesel digeridos em sistema de frascos abertos e fechados (A) e de uma amostra não digerida (biodiesel puro) (B).....	92
Figuras 26 – Potenciograma de redissolução anódica para uma amostra de biodiesel puro digerida em sistema aberto com consecutivas adições. Junto ao potenciograma esta disposta curva de adição de padrão para metal zinco.....	94
Figuras 27– Potenciograma de redissolução anódica para uma amostra de biodiesel puro digerida em sistema aberto com consecutivas adições. Junto ao potenciograma está disposta curva analítica de adição de padrão para os metais zinco e cádmio.....	96

Figuras 28 – Medidas realizadas empregando SWASV para amostras digeridas de biodiesel (50,0 mg) nas condições de ótimo experimental. a) Adição de amostra de biodiesel digerida, b-g) adições de 15,0 μ L, 5,0 μ L, 10,0 μ L e 10,0 μ L respectivamente de Zn, Cd, Pb e Cu (50 μ g L $^{-1}$).....	99
Figuras 29 – Estudo da otimização da massa de biodiesel a ser empregada na extração de zinco empregando sonda de ultrassom.....	100
Figuras 30 – Linhas de Contorno da superfície de resposta para otimização do tempo de sonicação e amplitude da sonda de ultrassom empregada na digestão de 100,0 mg de biodiesel puro com 3,0 mL de HCl e 4,4 mL de H ₂ O ₂ (30%).....	104
Figuras 31 – Superfície de resposta para otimização do tempo de sonicação amplitude da sonda de ultrassom empregada na digestão de 100,0 mg de biodiesel puro com 3,0 mL de HCl e 4,4 mL de H ₂ O ₂ (30%).....	105
Figuras 32 – Linhas de contorno da superfície de resposta para otimização dos volumes de HCl e H ₂ O ₂ na empregado na digestão de 100,0 mg de biodiesel puro por sonda de ultrassom.....	108
Figuras 33 – Superfície de resposta para otimização dos volumes de HCl e H ₂ O ₂ na empregado na digestão de 100,0 mg de biodiesel puro por sonda de ultrassom.....	109
Figuras 34 – Fotos dos digeridos em sistema de frascos abertos empregando radiação de sonda ultrassônica (A) e de amostras não digeridas (biodiesel puro) (B).....	110
Figuras 35 – Comparação de deslocamentos nos potenciogramas e voltamogramas em função a composição entre os agentes oxidantes observado no planejamento experimental.....	112
Figuras 36 – Potenciograma de redissolução anódica para uma amostra de biodiesel após digestão empregando sonda de ultrassom. Junto ao potenciograma esta disposta curva analítica de adição de padrão para metal zinco.....	113
Figuras 37 – Potenciograma de redissolução anódica para uma amostra de biodiesel após digestão empregando sonda de ultrassom com consecutivas adições. Junto aos potenciogramas estão dispostas as curvas analíticas de adição de padrão para os metais zinco e cádmio.....	115

Figuras 38 – Medidas realizadas empregando SWASV para amostras digeridas de biodiesel (10,0 mg) nas condições de ótimo experimental empregando sonda de ultrassom. a) Adição de amostra de biodiesel digerida, A-E) adições de 15,0 μ L, 5,0 μ L, 10,0 μ L e 10,0 μ L respectivamente de Zn, Cd, Pb e Cu e os respectivos coeficientes de correlação linear para Zn ($R^2=0,9961$), Cd ($R^2=0,9976$), Pb ($R^2=0,999$) e Cu ($R^2=0,9955$)..... 118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Planejamento Composto Central.....	60
Tabela 2 – Parâmetros empregados na determinação de Zn, Cd, Pb e Cu por SWASV em amostras de biodiesel digeridas empregando banho de ultrassom	71
Tabela 3 – Matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização dos volumes de HCl e H ₂ O ₂ consumidos no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro	72
Tabela 4 – Matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização do tempo de sonicação e temperatura a ser empregado no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro	73
Tabela 5 – Matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização do tempo de sonicação e amplitude a ser empregado no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro empregando sonda ultrassônica.....	75
Tabela 6 – Matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização dos volumes de HCl e H ₂ O ₂ consumidos no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro empregando sonda ultrassônica.	76
Tabela 7 – Massa de biodiesel empregada nas análises de teor de carbono residual encontrado após digestão em banho de ultrassom.....	78
Tabela 8 – Matriz planejamento estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) com variáveis, níveis e resposta visando a otimização dos volumes de HCl e H ₂ O ₂ consumidos no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro (B100) (n= 3).....	84
Tabela 9 – Resposta da matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD)	

visando a otimização do tempo de sonicação e temperatura a ser empregado no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro (n= 3).....	89
Tabela 10 – Resultados para testes de recuperação para zinco, cádmio, chumbo e cobre em amostras de biodiesel dopadas após digestão em banho de ultrassom (n=3).....	97
Tabela 11– Resposta da matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecido para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando à otimização do tempo de sonicação e amplitude a ser empregado no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro empregando sonda ultrassônica (n=3).....	102
Tabela 12 – Resposta da matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização dos volumes de HCl e H ₂ O ₂ consumidos no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro empregando sonda ultrassônica (n=3).....	107
Tabela 13 – Resultados para testes de recuperação para zinco, cádmio, chumbo e cobre em amostras de biodiesel dopadas após digestão em banho de ultrassom (n=3).....	116
Tabela 14 – Teor de carbono residual encontrado após digestão em banho e sonda de ultrassom para amostras de biodiesel de Sebo, Canola, Girassol, Milho, Algodão, Soja, Residual de cozinha.....	119
Tabela15 – Teor de carbono residual em amostras orgânicas após digestão empregando forno de micro-ondas (MW) e ultrassom (banho e sonda otimizados neste trabalho).....	121

RESUMO

Esta tese apresenta o emprego da radiação ultrassônica para a digestão de amostras de biodiesel (B100) para a determinação dos íons metálicos por técnicas eletroquímicas de redissolução (potenciomérica e voltamétrica) empregando eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de mercúrio. Amostras de biodiesel (50 mg) foram submetidas a digestão em tubos de vidro, com uma mistura de 3,0 mL de HCl concentrado e 4,4 ml de H₂O₂ (30%), colocados em um banho ultrassônico (40 kHz e 120 W) exatamente sobre a região de intensidade mais elevada (piezoelétricos) do ultrassom e sonicada durante 40 min a temperatura ambiente (~ 20 °C). Estes parâmetros foram otimizados empregando-se a técnica quimiométrica de planejamento fatorial para a análise de amostras de biodiesel enriquecidas com soluções padrão etanólicas de zinco, cádmio, chumbo e cobre. Valores de recuperação entre 97 e 107 % foram verificados na condição de ótimo encontrada para zinco, cádmio, chumbo e cobre. Valores de RCC (teor de carbono residual) nos digeridos encontraram-se na faixa de 3,05-3,75%. A determinação simultânea de zinco, cádmio, chumbo e cobre empregando voltametria de redissolução anódica revelou valores de limite de detecção (LD) de 44 ng Kg⁻¹; 30 ng Kg⁻¹; 145 ng Kg⁻¹ e 96 ng Kg⁻¹, respectivamente. Adicionalmente, amostras de biodiesel (100 mg) também foram tratadas em tubos de vidro com uma mistura de 1,59 mL de HCl concentrado e 3,0 ml de H₂O₂ (30%), sob sonicação de uma sonda ultrassônica (tempo de sonicação de 12,5 minutos, amplitude de 25 %, tempo de pulso de 5,0 s em intervalo 2,0 s). Os parâmetros também foram otimizados empregando-se técnica quimiométrica de planejamento fatorial para a análise de amostras enriquecidas. Valores de recuperação entre 95 e 104% foram verificados nas condições satisfatórias para os íons metálicos zinco, cádmio, chumbo e cobre. Valores de RCC após as digestões compreendem valores entre 0,43-0,54 %. Na determinação simultânea de zinco, cádmio, chumbo e cobre empregando voltametria de redissolução anódica nos digeridos obtidos após tratamento com a sonda ultrassônica, os valores de LD encontrados respectivamente para os íons metálicos zinco, cádmio e cobre foram de 25 ng Kg⁻¹ e para íon chumbo de 56 ng Kg⁻¹. Todos os resultados obtidos empregando digestão assistida por banho de ultrassom e /ou sonda de ultrassom indicam que os métodos propostos para o preparo de amostra de biodiesel apresentam um desempenho comparável aos métodos tradicionais de digestão que utilizam misturas ácidas, ou ainda as digestões assistidas por radiações de microondas.

Palavras-chave: Biodiesel; ultrassom; sonicação; preparo de amostra; eletroanálise; metais.

ABSTRACT

This thesis presents the use of ultrasonic radiation for the digestion of biodiesel samples (B100) for the determination of metal ions by electrochemical stripping techniques (potentiometric and voltammetric) using a glassy-carbon electrode modified with a mercury film. Biodiesel samples (50 mg) were subjected to digestion in glass tubes with a mixture of 3.0 mL of concentrated HCl and 4.4 ml H₂O₂ (30%), placed in an ultrasonic bath (40 kHz and 120 W) exactly on the higher intensity region (piezoelectric) of the ultrasound and sonicated for 40 min at room temperature (~ 20°C). These parameters were optimized using the chemometric technique of factorial design for the analysis of biodiesel samples spiked with ethanolic standard solutions of zinc, cadmium, lead and copper. Recovery values between 97 and 107% were observed in the optimal conditions found to zinc, cadmium, lead and copper. Residual carbon content (RCC) values after digestions were in the range of 3.05 to 3.75%. The simultaneous determination of zinc, cadmium, lead and copper using anodic stripping voltammetry revealed limit of detection (LD) values of 44 ng kg⁻¹; 30 ng kg⁻¹; 145 ng kg⁻¹; 96 ng kg⁻¹, respectively. Additionally, biodiesel samples (100 mg) were also treated in glass tubes with a mixture of 1.59 mL concentrated HCl and 3.0 ml H₂O₂ (30%) under sonication of an ultrasonic probe (sonication time 12.5 min, 25% amplitude, pulse of 5.0 s and time interval of 2.0 s). The parameters were also optimized employing the chemometric technique of factorial design for the analysis of spiked samples. Recovery values between 95 and 104% were observed in the satisfactory condition for zinc, cadmium, lead and copper. RCC values after digestions comprised values between 0.43 to 0.54%. For the simultaneous determination of zinc, cadmium, lead and copper using anodic stripping voltammetry obtained in the digestates employing the ultrasonic probe, the LD values found respectively for zinc, cadmium and copper were 25 ng kg⁻¹ and for lead 56 ng kg⁻¹. All results obtained using assisted digestion by ultrasonic bath and / or ultrasonic probe indicate that the proposed methods for the biodiesel sample preparation presents a comparable performance to traditional methods of digestion using acid blends, or yet digestions assisted by microwave radiation.

Keywords: Biodiesel; ultrasound; sonication; sample preparation; electroanalysis; metals.

“A Ciência não conhece nenhum país, porque o conhecimento pertence à humanidade, e é a tocha que ilumina o mundo.

A ciência é a mais alta personificação da nação, porque essa permanecerá, e é a primeira que carrega adiante os trabalhos do pensamento e da inteligência”.

Louis Pasteur

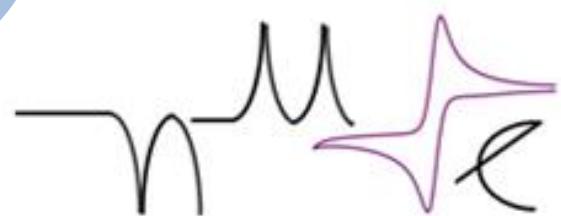


Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica
UFU - Santa Mônica - Uberlândia



“A educação é o grande motor do desenvolvimento pessoal. É através dela que a filha (o) de um camponês pode se tornar um médico (a), que o filho de um mineiro pode se tornar o diretor da mina, que uma criança de peões de fazenda pode se tornar o presidente de um país.”

Nelson Mandela



Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica
UFU - Santa Mônica - Uberlândia



CAPITULO - 1

INTRODUÇÃO

Epigrafe

“Analytical chemistry is a metrological science that develops, optimizes and applies material, methodological and strategic tools of widely variable nature (chemical, physical, mathematical, biochemical, biological, etc...) which materialize in measuring processes intended to derive quality (bio)chemical information of both a partial [presence-concentration-structure of bio(chemical)]”

Valcárcel

1- INTRODUÇÃO

1.1 - Biodiesel

A Lei Brasileira 11.097/ 2005 define biodiesel como sendo um biocombustível derivado da biomassa renovável, para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente os combustíveis de origem fóssil. A Agencia Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP), por meio da Resolução nº 7 de 19/03/2008, define biodiesel como sendo um combustível composto de esteres alquilícos de ácidos graxos de cadeia longa (FAME do inglês *fatty acid methyl esters*), derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais para o emprego em motores a combustão interna com ignição por compressão, renovável e biodegradável, que possa substituir parcial ou totalmente o óleo diesel de origem fóssil. No caso da substituição parcial, dá-se pelas blendas, mistura de óleo diesel/biodiesel (BX, em que X corresponde ao % de volume de biodiesel na blenda), conforme as especificações da ANP (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCMBUSTÍVEIS, ANP-Resolução nº7 de 19/03/2008, DOU 20/03/2008, Regulamento Técnico nº 01/2008, Brasília, DF, 2008). A mesma legislação, inicialmente definiu a incorporação de 2 a 5% deste combustível ao diesel, sendo 2% autorizado entre os anos de 2005 a 2007 (mercado potencial de 800 milhões L/ano), 5% obrigatório a partir de 2013 (mercado 2,4 bilhão L/ano) e 7% a partir de julho de 2014 (mercado em torno de 3,2 bilhão L/ano), sendo que em outubro de 2015 a produção já supera os 3,2 bilhão L/ano produzido ao longo de 2014 (ANP, 2015).

O biodiesel apresenta uma combustão resultante em menor quantidade de emissão de monóxido de carbono, materiais particulados e hidrocarbonetos não voláteis se comparado ao combustível de petróleo fóssil, contribuindo dessa maneira para uma melhor qualidade da atmosfera (PINTO *et al.*, 2005; LOBO *et al.*, 2009). Outrossim, considerando o ciclo de carbono, o dióxido de carbono (CO₂) emanado na combustão do biodiesel é fixado pelos vegetais que posteriormente, serão empregados na produção do biodiesel. Este fato consequentemente, provoca uma redução no impacto do efeito estufa, quando comparado ao emprego do diesel fóssil (PETERSON; HUSTRULID, 1998). Outro fator favorável ao emprego do biodiesel é a isenção de enxofre, um dos elementos responsáveis pela formação de chuvas ácidas por meio da reação química de seus óxidos com água da atmosfera

(OLIVEIRA, F. C. C., SUAREZ, P. A. Z.; dos SANTOS, W. L. P., 2008). Outro dado a seu favor é sua maior viscosidade quando comparado ao diesel mineral. Isto proporciona uma maior lubricidade das engrenagens do motor reduzindo os desgastes destas (LYRA et al., 2010). Todavia, também apresenta algumas desvantagens como:

- ✓ Estabilidade oxidativa baixa decorrente das ligações químicas insaturadas nas cadeias carbônicas provenientes dos ácidos graxos que compunham os óleos vegetais e/ou gorduras animais (GERPEN *et al.*, 2006; SARIN *et al.*, 2009; BARRETO *et al.*, 2012).
- ✓ Solidificar-se mesmo que parcialmente a baixas temperaturas provocando entupimento do filtro de combustível prejudicando o sistema de alimentação do motor quando acionado sob temperatura baixas (ponto de névoa e ponto de fulgor) (LÔBO *et al.*, 2009).
- ✓ Poder calorífico menor que o diesel, porém compensado por uma queima mais eficiente. Isto torna o desempenho equivalente ao diesel (LÔBO *et al.*, 2009).
- ✓ Geração de glicerol
- ✓ Emprego de água para a lavagem

1.2 - Matérias-primas e síntese de biodiesel

Para que o biodiesel seja produzido, óleos vegetais¹ (IQBAL *et al.*, 2010; GHESTI *et al.*, 2012; BIODIESELBR, 2015; ANP, 2015; IBGE, 2015) e gorduras animais (KNOTHE *et al.*, 2006; GOLDEMBERG, 1988; ANP, 2015; IBGE, 2015) podem ser submetidos a diferentes processos; como: craqueamento (BIODIESEL BR, 2011), esterificação (FABIANO et al., 2007) ou ainda a transesterificação, sendo que o último é método mais empregado (BRASIL, 2004; DEMIRBAS, 2008).

No Brasil, considerando os óleos vegetais, há uma enorme variedade de fontes de oleaginosas, sendo que o óleo de soja é a fonte mais empregada para a síntese do biodiesel (PIÁ, 2002; RAMADHAS *et al.*, 2004; FERRARI *et al.*, 2005; PINTO *et al.*, 2005). Contudo,

¹ Óleos – Compostos insaturados (FERRARI, et al., 2005; KNOTHE, 2005; CORSINI, et al., 2008) e líquidos à temperatura ambiente, enquanto que as gorduras são saturadas (FERRARI, et al., 2005; KNOTHE, 2005; CORSINI, et al., 2008) e sólidas. Essa diferença esta intrínseca a proporção das cadeias de ácidos graxos presentes nas moléculas de triacilglicerídeos (BELLAVER, et al., 2004; GÜNER, et, al., 2006; LEHNINGER, et, al., 2006).

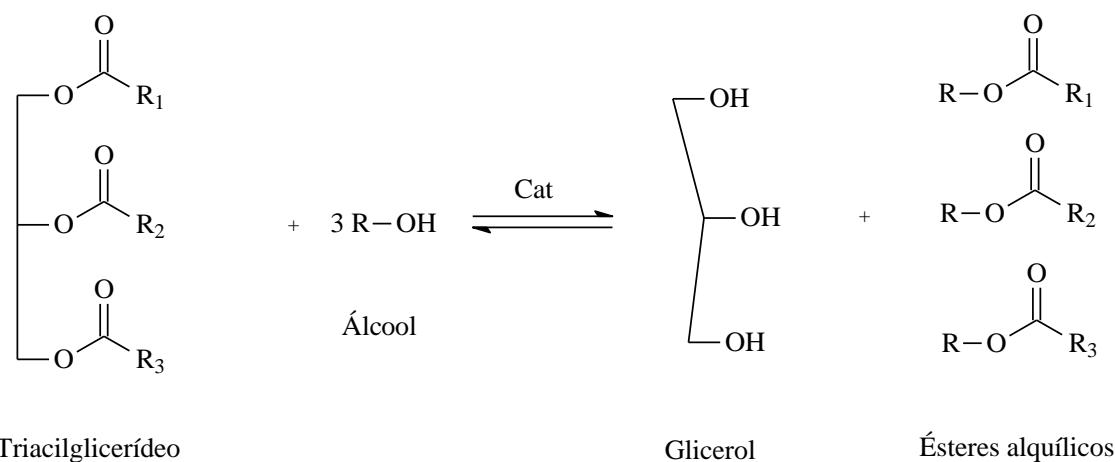
óleos de mamona, palma (dendê), girassol, babaçu, amendoim, pinhão manso, canola (Colza), macaúba (RAMADHAS *et al.*, 2004; CASTILHO; STRADOTTO, 2008; CHAVES *et al.*, 2010; BOLETIM, 2015) também são empregados. Somando-se aos anteriores, tem-se ainda, os óleos residuais de frituras e as gorduras animais (frango, suíno e sebo bovino) como eventuais fontes de produção de biodiesel (FELIZARDO *et al.*, 2006). A Figura 1 ilustra bem a grande variedade e distribuição das principais matérias primas disponível no Brasil (PIÁ, 2002).



Fonte: ANP

Figura 1- Distribuições das matérias primas nas regiões do Brasil.

A síntese pelo método da transesterificação no Brasil é o mais empregado e consiste na reação química entre um triacilglicerídeo (FONTOURA *et al.*, 2008), óleo vegetal ou gordura animal (novo ou residual), com um álcool de cadeia curta (metanol ou etanol) na presença de um catalisador. O produto da reação é uma mistura de ésteres alquílicos, glicerina e água (KNOTHE *et al.*, 2006), conforme Equação química 1.



Triacilglicerídeo

Glicerol

Ésteres alquílicos

Equação química 1 - Reação química de transesterificação.

A catálise da transesterificação pode ser enzimática, ácida ou básica, empregando para tanto, processos catalíticos homogêneos quanto heterogêneos (PHAN; PHAN, 2008). A escolha do tipo de catálise a ser empregada relaciona-se com as características da matéria-prima e do custo de produção. Sabe-se, porém que a catalise homogênea básica é a mais empregada atualmente, devido ao menor tempo de reação, baixo custo dos catalisadores, menores temperatura e pressão de reação, alta taxa de conversão (98%) e mínima ocorrência de reações paralelas quando comparada à catalise ácida (DEMIRBAS, 2008). Os catalisadores mais empregados nesta são: NaOH, KOH, CH₃OK e CH₃ONa. Todavia, ainda há a possibilidade do emprego de outros catalisadores básicos, como metais alcalinos terrosos; porém, esses normalmente são utilizados em catálises heterogêneas. A catálise heterogênea apresenta algumas vantagens frente à catálise homogênea tais como: fácil separação do biodiesel (SORIANO *et al.*, 2009), possibilidade de reutilização do catalisador após a reação, a não produção de sabão (como pode ocorrer na catalise básica) através da neutralização dos ácidos graxos livres ou saponificação dos triglicerídeos. Neste processo de produção, destaca-se o emprego de compostos de coordenação contendo Cd, Mn, Pb, Sn e Zn, ou ainda contendo dois metais, como por exemplo Zn-Fe no processo de transesterificação de óleos vegetais (SORIANO *et al.*, 2009). Entretanto, esta via de catálise é ainda desfavorável comparada à catálise homogênea.

No processo catalítico ácido, catalise homogênea, emprega-se normalmente o ácido sulfúrico ou o sulfônico (SREEPRASANTH *et al.*, 2006). Entretanto, este, em relação a catalise básica homogênea apresenta algumas desvantagens tais como: Taxa de conversão menor (96%), reação mais lenta requerendo temperaturas em torno de 100°C, tempo de reação em

torno de 8 horas (SHEEHAN *et al.*, 1998), razão molar óleo/álcool maior que 3:1. Contudo, esta catalise é mais eficiente quando se emprega óleo bruto para a síntese (RAMADHAS *et al.*, 2005).

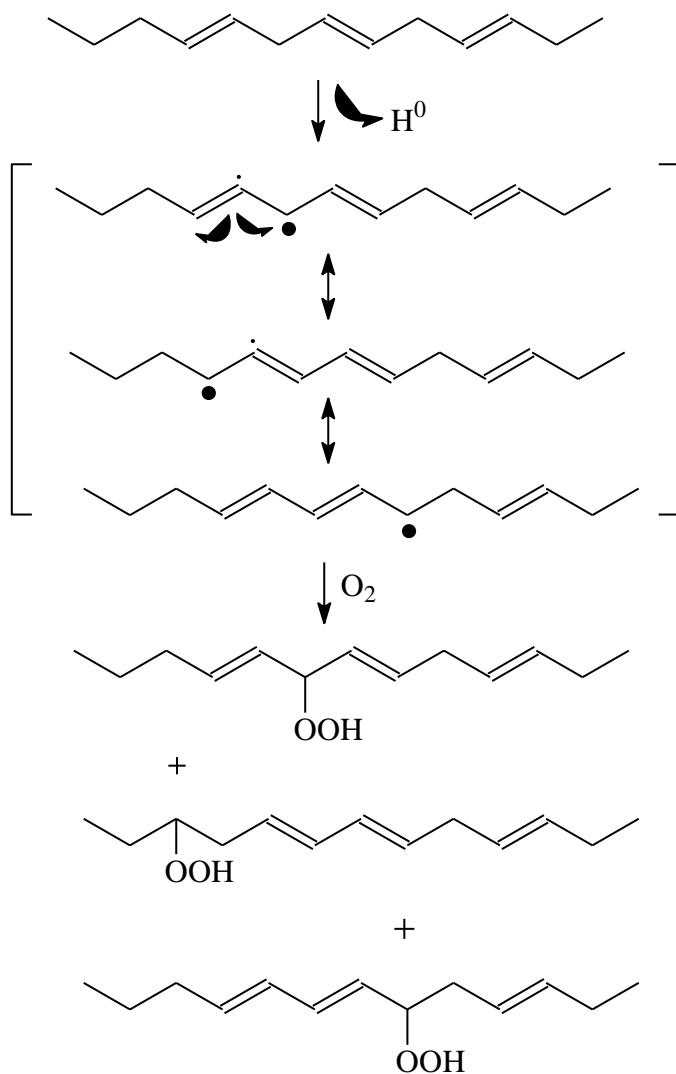
Os dois principais álcoois empregados na síntese do biodiesel são o metanol e etanol. Entretanto, o metanol é o mais empregado por questões econômicas, simplicidade do processo, redução no tempo de reação, tamanho da cadeia carbônica, maior polaridade que o etanol; o que facilita a separação das fases entre o biodiesel e a glicerina. Todavia, por ser proveniente de uma fonte renovável, o etanol torna-se mais atrativo no caso do Brasil. Aliado a este fator, soma-se a baixa toxicidade em relação ao metanol. Entretanto, apesar dessas vantagens, seu emprego não é proeminente, em função de gerar dificuldades na separação das fases biodiesel/glicerina ocasionado por sua maior cadeia carbônica e menor polaridade em relação ao metanol, além da presença de impurezas como água (FUKUDA *et al.*, 2001).

1.3- Estabilidade oxidativa

Estabilidade oxidativa (DU, *et al.*, 1985) é definida como a resistência da amostra sofrer um processo oxidativo e é expressa pelo período de indução (PI); período este que corresponde ao tempo, em horas, entre o início da medida e o aumento brusco na formação dos produtos provenientes da oxidação (GARCIA *et al.*, 1993).

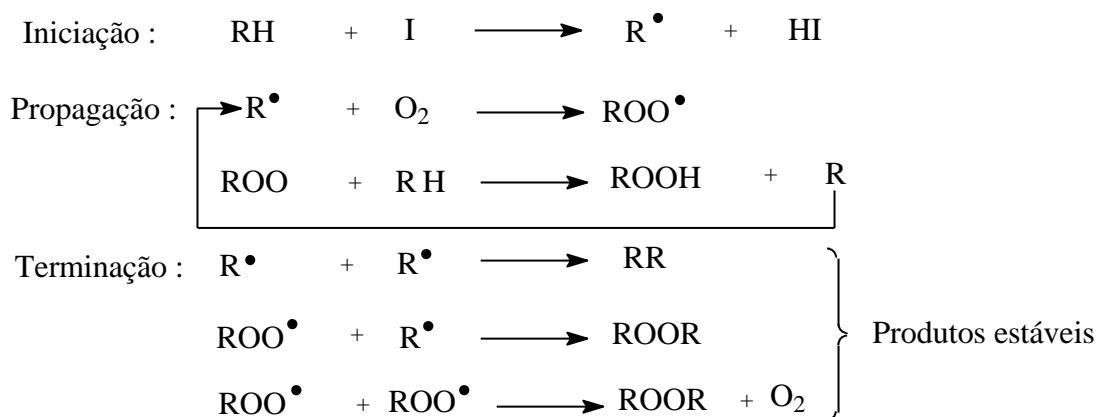
O biodiesel assim como óleos e gorduras é susceptível à oxidação (FERNANDES, *et al.*, 2012; CHRISTENSEN *et al.*, 2014) quando exposto a processos químicos e/ou bioquímicos. Nos processos bioquímicos há uma dependência da umidade, da atividade de enzima, de microorganismos; enquanto que os químicos, chamados de auto-oxidação e de foto-oxidação ocorrem via oxigênio presente no ar (SMOUSE, 1995). No caso do biodiesel, os dois processos são possíveis de ocorrência e, segundo estudos, ambos afetam a qualidade do combustível (MONYEM *et al.*, 2001; JAIN *et al.*, 2011; BARRETO *et al.*, 2012). Um parâmetro de especificação para a estabilidade à oxidação foi incluído na norma europeia de biodiesel, EN 14112. As prováveis causas para a ocorrência do mecanismo de auto-oxidação é a possível presença de ligações químicas pi (π) (HADORN *et al.*, 1974; SILVA *et al.*, 1999; FERRARI *et al.*, 2005; HOSHINO *et al.*, 2007; DE QUADROS *et al.*, 2011; AGARWAL *et al.*, 2013;) na cadeia carbônica do alquil éster, as quais, dependendo do número e da posição, (GÜNER et, al., 2006; LEHNINGER *et al.*, 2006) influenciam na velocidade deste processo. Por exemplo, das ligações CH₂-alílicas e bis-alílicas em relação às ligações duplas, são ainda mais pro-

pensas a oxidar, tal como descreve Knothe (KNOTHE *et al.*, 2005; KNOTHE *et al.*, 2007) (EQUAÇÃO QUÍMICA 2).



Equação química 2- Estabilização dos radicais livres alílicos e formação dos hidroperóxidos

Contudo, o processo de auto-oxidação, segundo SHAHIDI e RAMALHO, envolve uma reação em cadeia com três etapas: iniciação, propagação e terminação (SHAHIDI *et al.*, 2005; SIMON *et al.*, RAMALHO *et al.*, 2006) (FIGURA 2).



Onde: R^\bullet – radical livre; ROO^\bullet – Radical livre peróxido; ROOH – hidroperóxido; ROOR - peróxido

Figura 2- Etapas do mecanismo de auto-oxidação

Primeiramente, por meio da Figura 2, observa-se na etapa de iniciação a formação do radical livre carbônico do alquil éster, motivada pela presença de espécies iniciadoras como, luz, calor (CHRISTENSEN *et al.*, 2014) e traços de metais (HADORN *et al.*, 1974; KNOTHE *et al.*, 2005; KNOTHE 2007; DE QUADROS *et al.*, 2011; CHRISTENSEN *et al.*, 2014). Na segunda etapa, de propagação, o radical carbônico reage com o oxigênio (do ar) arremetendo ao processo oxidativo. Também ocorre aqui a formação dos radicais peróxidos e hidroperóxidos, ditos produtos primários. Por fim, na etapa de terminação, por cisão de ligação e rearranjos químicos, os radicais livres formam produtos secundários tais como: aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, epóxidos e polímeros (goma) (KNOTHE *et al.*, 2005); os quais podem provocar corrosão nas peças do motor e depósitos, ocasionando obstrução nos filtros e no sistema de injeção (BONDIOLI *et al.*, 2004).

O método utilizado para avaliar a estabilidade oxidativa foi proposto em 1974 por Hadorn & Zurcher (HADORN *et al.*, 1974), inicialmente para óleos e gorduras, e consiste em expor a amostra a um fluxo de ar (10 L/h) a 110°C empregando o equipamento Rancimat. A oxidação forçada é obtida fazendo-se uma corrente de ar atravessar o combustível, mantida sob aquecimento constante de 110 °C (FIGURA 3).

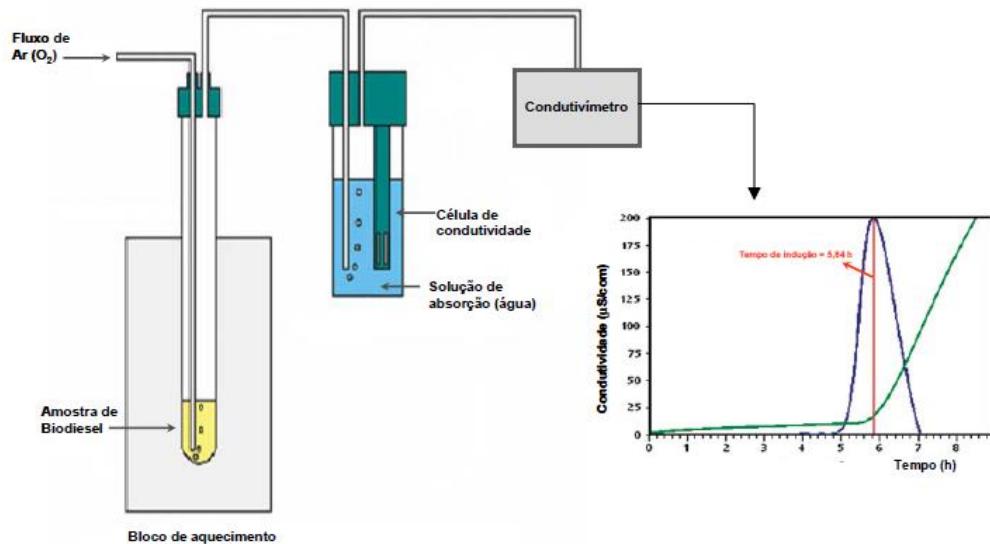


Figura 3 – Esquema básico de funcionamento do Rancimat para o teste de oxidação acelerada.

Vapores gerados pelo processo de oxidação são carregados juntamente com o ar e capturados em um frasco contendo água deionizada. A solução aquosa, formada pelos produtos de oxidação primária (hidroperóxidos), tem a sua condutividade monitorada. Manifesta-se aí a perda da estabilidade oxidativa da amostra. Atualmente, valor mínimo de estabilidade definida pela normativa da ANP para biodiesel é de mínimo 8,0 h.

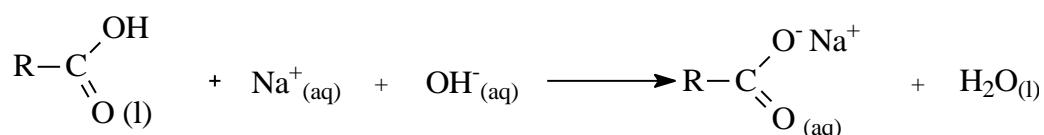
1.4- Metais em biodiesel

A presença de metais em biodiesel possui diferentes origens (BONDIOLI *et al.*, 2003; SANT'ANA *et al.*, 2007; DE QUADROS *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2015). Ferro, zinco, cobre, manganês, cromo, dentre outros, por exemplo, compõem as ligas metálicas empregada na confecção de tanques para armazenamento e transporte (COSTA *et al.*, 2005; DE QUADROS *et al.*, 2011). Desta forma, podem ser transferidos para o combustível durante o processo de estocagem ou ainda no transporte (DE QUADROS *et al.*, 2011). Contudo, existem ainda outras fontes de possíveis contaminações, como no caso dos metais alcalinos (sódio e potássio) e alcalinos terrosos (magnésio e cálcio) que podem ser provenientes:

- ❖ dos catalisadores básicos utilizados no processo de obtenção (KNOTHE *et al.*, 2006 ; de QUADROS, 2011).

- ❖ do desgaste das resinas que são utilizadas para purificação, uma vez que essas resinas, normalmente apresentam óxidos de Ca e Mg em sua composição (KORN *et al.*, 2007; KORN *et al.*, 2010).
- ❖ do próprio óleo vegetal utilizado, uma vez que estes metais podem ser encontrados como macronutrientes das oleaginosas (KNOTHE *et al.*, 2006 ; de QUADROS 2011; LIMA *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2015).

A presença dos íons alcalinos e alcalinos terrosos é responsável pela formação de sabões (EQUAÇÃO QUÍMICA 3) no biodiesel, causando entupimento de filtros (KNOTHE *et al.*, 2006 ; de QUADROS *et al.*, 2011), que consequentemente provoca danos ao sistema de injeção, na quantidade de combustível injetado e até depósitos nos bicos e peças fixas, como por exemplo, envenenamento dos catalisadores automotivos (KNOTHE *et al.*, 2006; de QUADROS *et al.*, 2011).



R - corresponde grupo alquílico proveniente do ácido graxo

Equação química 3 - Reação de formação de carboxilato metálico (sabão).

Perante este fato, a ANP por meio da Resolução nº 45/2014, estabelece que a soma das concentrações de sódio e potássio, magnésio e cálcio não deve ultrapassar 5,0 mg kg⁻¹ no biodiesel (LÔBO *et al.*, 2009; ANP, 2014). Todavia, ainda não há um limite de concentração definido para outros metais; entretanto, o monitoramento de íons Cu, Fe, Zn, Mn, Ni, Cd, Pb, além de outros é de suma importância, de forma a garantir a qualidade do produto final, vez que a presença de alguns podem acelerar processos catalíticos ocasionando uma degradação mais intensa (TAGLIABUE *et al.*, 2005; SARIN *et al.*, 2009), reduzindo a estabilidade oxidativa conforme descreve alguns trabalhos (KNOTHE 2007; DE QUADROS *et al.*, 2011; FERNANDES *et al.*, 2014).

1.4.1- Mecanismo de ação oxidativa provocada por metais

Metais de transição, como cobre, cobalto, ferro, manganês, cromo, níquel, zinco entre outros, têm sido descritos na literatura (SIMON *et al.*, 2001; SARIN *et al.*, 2009, SARIN *et al.*, 2010a; SARIN *et al.*, 2010b; SARIN *et al.*, 2010c; JAIN e SHARMA *et al.*, 2011a, JAIN e SHARMA *et al.*, 2011b; JAIN e SHARMA *et al.*, 2011c; SANTOS *et al.*, 2011; MAIA *et al.*, 2011; ALMEIDA *et al.*, 2011; BERRIOS *et al.*, 2012; PATTAMAPROMA *et al.*, 2012) por possuir habilidade de catalisar a formação de radicais livres no biodiesel, como na auto oxidação. Como descrito anteriormente, os ésteres alquílicos contêm hidrogênio alílico capaz de formar radicais livres, os quais reagem com oxigênio formando hidroperóxidos. Quantidades pequenas de metais são suficientes para iniciar a decomposição dos hidroperóxidos, bem como, acelerar a velocidade de auto-oxidação. Os mecanismos e as taxas de iniciação de reações de oxidação catalisadas por metais são determinadas por uma complexa mistura de fatores: o metal, o complexo formado, o agente complexante, o potencial redox do metal, hidroperóxidos e os seus complexos, solventes e disponibilidade de oxigênio (SIMON *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2011).

As reações descritas a seguir mostram a multiplicidade de mecanismos possíveis. A etapa de iniciação da reação de oxidação através de metais de alta valência envolve a transferência eletrônica (ROCHA, 2002) direta das olefinas para o metal e é considerado o mecanismo mais simples para a catálise com metal. Sabe-se que a transferência de elétrons do linoleato de metila é um processo exotérmico ($\Delta H = - 62,8$ kJ/mol), podendo ser, provavelmente, o mecanismo de iniciação dominante nos ésteres (SHAHIDI *et al.*, 2005). Radicais lipídicos são formados diretamente pela remoção de um elétron de uma ligação dupla (EQUAÇÃO I) ou a partir de qualquer hidrogênio alílico na parte alquílica do éster (EQUAÇÃO II) (SHAHIDI *et al.*, 2005), representadas na Figura 4.



Figura 4- Formação de radicais lipídicos formados por ataques metálicos.

A etapa de iniciação da reação de oxidação através de metais de baixa valência produz um complexo ativado com a molécula de oxigênio (O_2) segundo a equação química da Figura 5. Como os metais redutores estão livres, reagem rapidamente com o oxigênio.



Figura 5 - Formação de radicais lipídicos formados por ataques metálicos.

A reação de iniciação de oxidação lipídica por metais redutores como: Co^{2+} , Fe^{2+} , V^{2+} , Cr^{2+} , Cu^+ , Mn^{2+} , Zn^{2+} e outros, ocorrem por dois mecanismos diferentes, dependendo da disponibilidade de oxigênio no sistema e dos níveis de hidroperóxidos (SHAHIDI *et al.*, 2005):

- a) Auto oxidação de metais redutores, produzindo radicais de oxigênio que, então, irão reagir com lipídios, como mostrado para o cobre (pode ocorrer com os metais) segundo o conjunto de reações químicas na Figura 6:

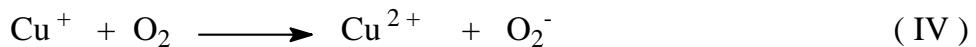
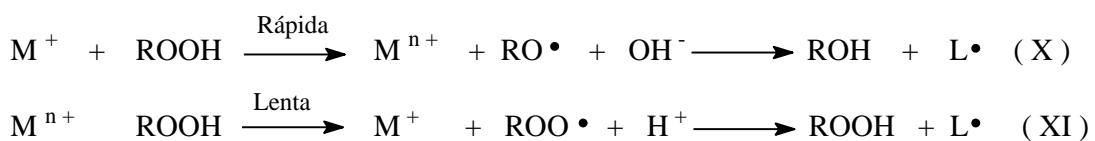


Figura 6 - Formação de radicais oxigenados por ataques de metais redutores.

- b) Redução ou oxidação de hidroperóxidos (ou qualquer outra fonte de hidroperóxidos lipídicos) para $RO\bullet$ ou $ROO\bullet$, respectivamente (Equações X e XI), que, então, reage com lipídios (SHAHIDI *et al.*, 2005), segundo reações apresentadas na Figura 7:



Onde M representa um metal (Fe, Cu, Zn e outros) e L um lípido.

Figura 7– Reação de oxidação / redução de radical hidroperóxido por ataques metálicos.

A redução do hidroperóxido lipídico também pode ocorrer e a energia de ativação (Ea) é consideravelmente menor do que a de H_2O_2 (Ea.LOOH = 12,5 kcal; Ea. H_2O_2 (HOOH) = 35 kcal) (SIMON, 2001). A evidência para este processo tem sido obtida em sistemas de micelas carregadas preparadas a partir de ácido linolênico e por quimiluminescência no início da oxidação lipídica em óleos e em uma variedade de alimentos (SIMON et al., 2001; SZTERK et al., 2010). Essas reações (Equações I a IX) são denominadas reações de Fenton² (ROCHA et al., 2002). Embora mostradas para o cobre, outros metais (Fe, Zn, Mn, etc.) também podem catalisar estas reações. Neste caso, o metal (cobre) atua como um catalisador na decomposição de hidroperóxido (reação de Fenton cuprosa), modo similar aos outros metais. Peróxidos orgânicos (RO_2H) são decompostos por esses metais, formando os radicais alcoxila ($RO\cdot$) e peroxila orgânico ($RO_2\cdot$).

Na reação de Fenton cuprosa, o complexo formado entre RO_2H e o metal é mais estável que na reação de Fenton ferrosa. Como consequência, as espécies ativadas da reação de Fenton cuprosa podem ser o radical RO ou o íon Cu^{2+} ou Cu^{3+} . A reação de Fenton cuprosa é aproximadamente três vezes mais rápida que a ferrosa (AGUIAR et al., 2007).

A auto-oxidação e decomposição de hidroperóxido por metais são processos muito ativos nos lipídeos e seu efeito é amplificado quando há reação redox cíclica. A coordenação de pares redox de metais tem o mesmo efeito nos estágios iniciais da oxidação lipídica que a decomposição bimolecular tem em fases posteriores (SIMON, 2001).

A literatura relata que a decomposição de peróxido pode ser a principal fonte prática de iniciadores da oxidação lipídica, uma vez que os peróxidos estão presentes em várias fontes naturais (ALBUQUERQUE, 2010; SHAHIDI, 2005). No entanto, como apresentam as equações da Figura 8, o ciclo redox do metal e a decomposição bimolecular do hidroperóxido,

² Homenagem a Henry John Horstman Fenton por demonstrar ao final do século XIX que as soluções de peróxido de hidrogênio e sais de ferro, eram capazes de oxidar os ácidos tartárico, mágico e outros compostos orgânicos (FENTON, 1894). Mais tarde, foi sugerida a formação de radicais hidróxi.

são reações importantes em fases posteriores à oxidação (SHAHIDI, 2005). Desta forma, os metais destacam-se como sendo os principais iniciadores do processo oxidativo.

Processo de redução do metal

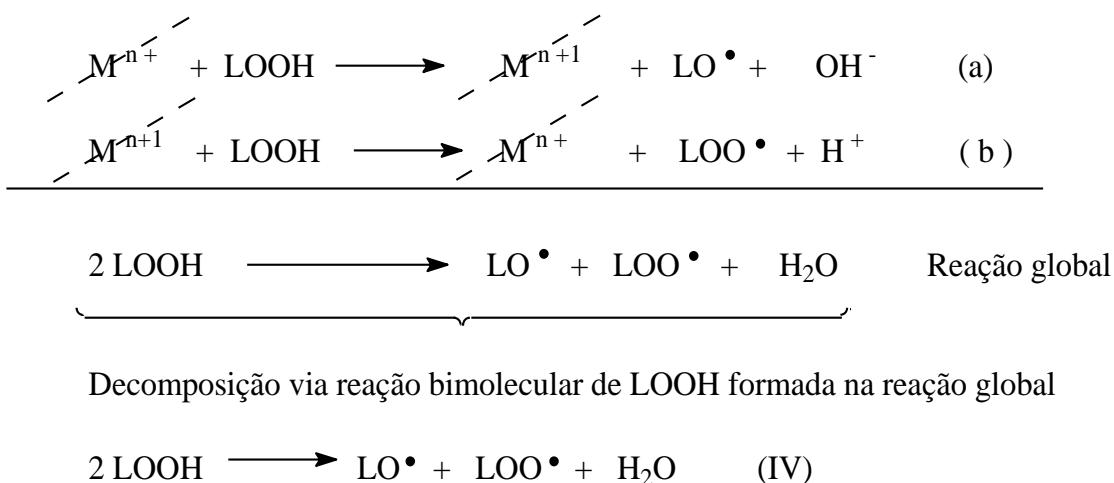


Figura 8 – Ciclo de reações redox iniciadora da oxidação lipídica.

1.5- Métodos analíticos para a determinação de metais em biodiesel.

Devido à crescente demanda de produção, aliada às perspectivas de aumento no consumo de biodiesel no Brasil, torna-se mandatório o desenvolvimento de novas metodologias de análises químicas, capazes de detectar e quantificar metais em concentrações extremamente pequenas, e neste contexto destacam-se os métodos espectrométricos e eletroquímicos.

1.5.1- Métodos espectrométricos

As técnicas empregadas para determinação de metais em combustíveis e biocombustíveis na sua maioria são técnicas espectroanalíticas. Entre essas técnicas as principais utilizadas são: espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) (ABNT NBR 15554; ABNT NBR 15555; ABNT NBR 15556; SILVEIRA *et al.*, 2010; LYRA *et al.*, 2010; BURGUERA *et al.*, 2012; FERREIRA *et al.*, 2015), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS) (AMORIM *et al.*, 2007), espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) (ABNT NBR 15553, 2009; SOUZA *et al.*, 2011; CHAVES *et al.*, 2011; Bakircioglu *et al.*, 2013; OROZCO, 2014) e espectrometria de absorção atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP AA) (ABNT NBR 15552, 2009; SOUZA *et al.*, 2011; CHAVES *et al.*, 2011; Bakircioglu *et al.*, 2013; OROZCO, 2014).

tria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) (EVANS *et al.*, 1993; PIERRE *et al.*, 2002). Essas técnicas podem ser utilizadas para a quantificação de vários metais.

As técnicas espectrométricas, apesar de serem bem difundidas na determinação de analitos metálicos nas mais diversas matrizes, e em especial a de biodiesel, sempre requerem de uma forma ou outra, o preparo da amostra antes da determinação. E neste sentido, pode-se citar uma enorme variedade de trabalhos que empregaram os mais diversos métodos, desde aqueles recomendados pela ANP acordado com Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) em consonância com a normativa do *Comité Eupopéen de Normalisation* (CEN ou EN) que dispõe de métodos de análise de biodiesel envolvendo diferentes formas de preparo de amostras (diluição nos solventes xilenos, querosene, ciclohexano com calibração empregando padrões organometálicos). Dentre os métodos recomendados pela ANP, destacam-se:

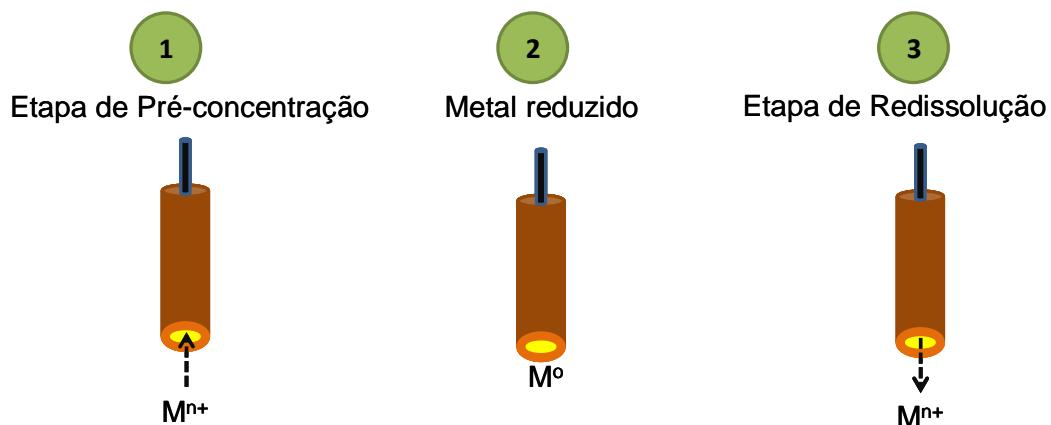
- ABNT NBR 15553, Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos /etílicos de ácidos graxos - Determinação dos teores de cálcio, magnésio, sódio, fósforo e potássio por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2009.
- ABNT NBR 15554, Produtos derivados de óleos e gorduras- Ésteres metílicos / etílicos de ácidos graxos - Determinação do teor de sódio por espectrometria de absorção atômica, Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2008.
- ABNT NBR 15555, Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos /etílicos de ácidos graxos - Determinação do teor de potássio por espectrometria de absorção atômica, Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2008.
- ABNT NBR 15556, Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos / etílicos de ácidos graxos - Determinação do teor de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica, Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2008.

Métodos espectroanalíticos alternativos aos descritos nas normas NBR citadas foram desenvolvidos e estão reunidos em uma revisão de 2007 (KORN *et al.*, 2007).

1.5.2- *Métodos eletroquímicos*

Nos últimos tempos, tem-se assistido o surgimento de estudos empregando os métodos eletroanalíticos para a análise de combustíveis (MUÑOZ *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2009). Estes métodos eletroquímicos de análise, em especial a análise por redissolução, apresentam elevada sensibilidade e moderada seletividade e, portanto, são empregados para a aná-

lise de elementos-traço (MUÑOZ *et al.*, 2005; FERREIRA *et al.*, 2009). A análise por redissolução envolve duas etapas, uma etapa de pré-concentração, em que o analito é eletrodepositado na superfície do eletrodo de trabalho, e uma segunda, em que o analito pré-concentrado é redissolvido ou “expulso” do eletrodo; sendo registrado neste ponto um sinal analítico correspondente ao (s) analito (s) (FIGURA 9).



Fonte: Almeida, 2011.

Figura 9 - Representação envolvendo a eletrodeposição e reoxidação do analito na superfície do eletrodo de trabalho.

Existem basicamente dois tipos de métodos de análise por redissolução, a análise por redissolução voltamétrica e a potenciométrica, sendo que na última destaca-se a adsorptiva, a anódica e a catódica (FERREIRA *et al.*, 2009). Os métodos potenciométricos são baseados nas medidas de potencial das células eletroquímicas na ausência de correntes apreciáveis (ESTELA *et al.*, 1995; MUÑOZ *et al.*, 2005; MUÑOZ *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2009).

Na potenciometria de redissolução, as espécies são redissolvidas quimicamente, por ação de um agente oxidante químico em solução, ou pela aplicação de uma corrente de redissolução constante (VOGUEL; SKOOG, 1992; HARRIS, 2001). Assim, o tempo de redissolução é proporcional à concentração do analito na solução-amostra (SKOOG, 1992; HARRIS, 2001).

Na voltametria de redissolução, as espécies são redissolvidas durante a varredura em potencial (anódica ou catódica) constante. Quando o potencial (de oxidação ou redução) é alcançado, as espécies são redissolvidas do eletrodo e como resultado um pico de corrente é gerado (de oxidação ou de redução). Neste caso, a corrente é proporcional à concentração do analito em solução (SKOOG, 1992; HARRIS, 2001; FERREIRA *et al.*, 2009).

O processo de varredura de potencial pode ser linear (rampa linear de potencial em função do tempo), denominando-se voltametria linear. Contudo, formas de varredura de potencial em que a corrente capacitiva (carregamento do eletrodo, corrente de fundo) é minimizada, de tal forma que a corrente faradaica (processo redox) é medida livre, foram desenvolvidas com intuito de tornar os métodos voltamétricos mais sensíveis. Dentro deste contexto, destacam-se os modos de varredura voltamétricos de pulso normal, pulso diferencial e onda-quadrada (SKOOG, 1992; HARRIS, 2001; FERREIRA *et al.*, 2009).

Todavia, os métodos eletroquímicos também apresentam desvantagens, como a exigência de espécies eletroativas, o emprego de eletrólito de suporte muito mais concentrado (~ 100 vezes mais) que o analito de interesse, janela de potencial limitada pela decomposição do solvente e do eletrólito de suporte, a dissolução do eletrodo ou formação de uma camada isolante na sua superfície, necessidade da remoção de oxigênio quando do trabalho na região catódica (evitar sua redução) ou ainda, evitar que reage com reagente e/ou produtos da reação a ser estudada no eletrodo.

1.5.2.1 - Análise potenciométrica de redissolução

Em 1976, Jagner e Graneli (JAGNER *et al.*, 1976; ESTELA *et al.*, 1995) relataram uma nova técnica de análise para a determinação de metais traços. Esta nova técnica foi por eles denominada de análise por redissolução potenciométrica (PSA, do inglês *Potentiometric Stripping Analysis*). A técnica surgiu a partir de métodos polarográficos, especificamente da voltametria de redissolução anódica (ASV, do inglês *Anodic Stripping Voltammetry*). Em ambas as técnicas, os metais contidos na amostra são concentrados eletroliticamente por eletrodeposição no eletrodo de trabalho antes da detecção.

As duas técnicas, no entanto, diferem na forma como os metais são redissolvidos e como o sinal analítico é obtido. Na ASV, a redissolução é feita eletroquimicamente, aplicando um potencial de varredura linear no eletrodo de trabalho durante um determinado período, sobre o qual a corrente que circula pelo eletrodo é registrada em função do potencial aplicado. Quando esse potencial se aproxima do potencial de oxidação de um dos metais antes depositados, o metal em questão é reoxidado do eletrodo para a solução. Neste caso, há um aumento da corrente medida. Sendo assim, cada metal é, portanto, identificado por um máximo de corrente/potencial. A posição do potencial máximo (E_p) é característica de cada metal e sua altura (I_p) é proporcional à concentração do metal na solução, quando em sua faixa linear. O sinal

é sobreposto por uma corrente de fundo não faradaica proveniente da carga elétrica na interface eletrodo-solução (dupla camada elétrica), o que constitui no maior obstáculo para ser superado quando se quer atingir baixos limites de detecção. Em PSA, nenhum controle de potencial é feito no eletrodo de trabalho durante a redissolução do metal. O que inicialmente se utilizou foi um oxidante químico em solução, geralmente oxigênio dissolvido ou Hg^{2+} .

A característica mais marcante das técnicas de redissolução é que a reoxidação dos metais concentrados no eletrodo de trabalho durante a etapa de eletrodeposição reduz substancialmente os limites de detecção. Sendo assim, a sensibilidade (da ordem de até 10^{-10}) pode ser ajustada para as necessidades específicas, escolhendo um tempo de eletrodeposição adequado.

Atualmente, a técnica PSA possui outros modos, dentre as quais podemos citar a Análise Potenciométrica de Redissolução Redutiva (RPSA) (ZHANG *et al.*, 1993; ZHANG *et al.*, 1995), aplicada a analitos que não podem ser depositados catodicamente, Análise Potenciométrica de Redissolução Adsorptiva (AdPSA) (ZEN *et al.*, 1998), desenvolvida para compostos orgânicos e alguns elementos inorgânicos, como por exemplo, ferro, cobalto e níquel, que não podem ser eletroliticamente pré-concentrados, e por último, a Análise Potenciométrica de Redissolução a Corrente Constante (CCPSA) (RENMAN *et al.*, 1986).

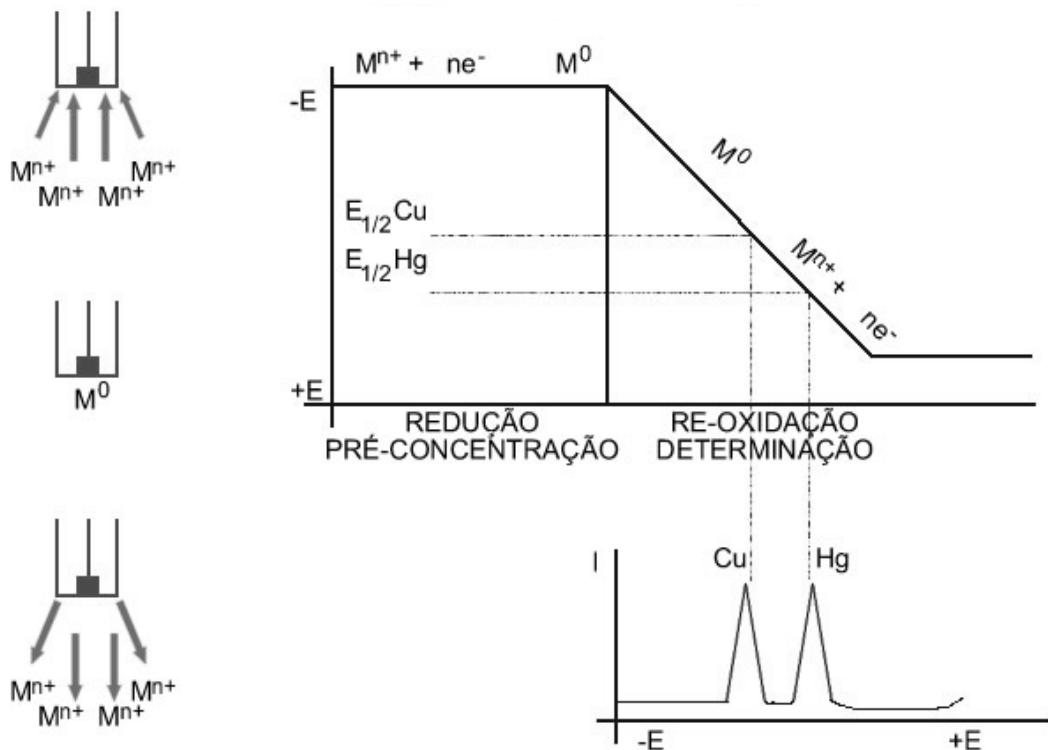
Na CCPSA (ou SCP, *stripping chronopotentiometry*), o analito é redissolvido quando uma corrente constante de oxidação passa pelo eletrodo de trabalho ao invés de um oxidante químico. Em ambas, PSA e CCPSA, o tempo necessário para a substância ser oxidada é diretamente proporcional à concentração dos íons do metal na solução, quando em sua faixa linear. Como na CCPSA há passagem de corrente elétrica durante a redissolução do analito, pode ocorrer à interferência de espécies eletroativas presentes na amostra. Quando essa técnica é utilizada, uma etapa importante é a otimização da corrente de redissolução do analito, assim como seu potencial de deposição.

A CCPSA já foi utilizada para a determinação de metais, em especial o cobre, em diversas matrizes como, óleos lubrificantes (MUNOZ *et al.*, 2005), vinho (CLARK *et al.*, 2000), água do mar (RISO *et al.*, 1997), azeite (LA PERA *et al.*, 2002), cerveja (MAYER *et al.*, 2003), material dentário (MAYER *et al.*, 2008), urina e plasma (GOZZO *et al.*, 1999), mel (MUNOZ e PALMERO, 2006), e leite (MUNOZ e PALMERO, 2004), biodiesel (ALMEIDA *et al.*, 2010) mostrando ser uma técnica bastante sensível, uma vez que atinge limites de detecção a níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$, de moderada seletividade, apresentando, portanto pouca interferência de outros metais, além de robustez frente a efeitos de matriz.

1.5.2.2 - Análise por voltametria de redissolução

A técnica de voltametria de redissolução, conforme a etapa de redissolução pode ser classificada em dois tipos: anódica e catódica (VOGUEL; SKOOG, 1992; HARRIS, 2001). Contudo, ambas são constituídas essencialmente por duas etapas. A primeira, ou etapa de deposição (pré-concentração), envolve o acúmulo eletrolítico do analito sobre o eletrodo. Por outro lado, na segunda, ou etapa de redissolução (stripping), tem-se a dissolução do depósito (pré-concentrado) formado (VOGUEL; SKOOG, 1992; HARRIS, 2001).

Na ASV, a pré-concentração é feita por deposição catódica em potencial controlado (mais negativo que o potencial de redução da espécie de interesse). A espécie alcança a superfície do eletrodo por difusão onde é reduzida e concentrada (VOGUEL; SKOOG, 1992; HARRIS, 2001) (FIGURA 10).



Fonte: WANG, 2000.

Figura 10- Esquema da etapa de redissolução anódica

Na Figura 10 é possível observar que na etapa de redissolução o potencial é varrido em sentido anódico (positivo). Durante a etapa de varredura, as espécies são reoxidadas, e a

corrente desenvolvida é medida em forma de pico anódico (VOGUEL; SKOOG, 1992; HARRIS, 2001; ALEIXO, 2011).

A corrente de pico resultante é proporcional à concentração da espécie na solução. Entretanto, vários parâmetros relativos à deposição e redissolução (tempo de deposição, transporte de massa), característicos da espécie eletroativa (número de elétrons) e geometria do eletrodo podem influenciar a resposta (ALEIXO, 2011). Uma das vantagens da utilização da ASV é a possibilidade de realizar a pré-concentração in-situ da substância a ser determinada e chegar a limites de detecção dos metais em várias faixas de concentração, podendo abranger desde mmol L^{-1} até pmol L^{-1} (WANG, 1985 e 1999).

As técnicas eletroanalíticas (voltamétricas e potenciométricas) têm se destacado na determinação de metais-traços devido a sua sensibilidade, precisão, baixo custo dos equipamentos (WANG, 1985 e 1999), possibilidade de miniaturização dos sistemas eletroanalíticos e análise em tempo real (BRETT, 1998 e 1999); além da vantagem de possibilitar determinação simultânea, tal como descrito em trabalhos da literatura (MUNOZ *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2014).

1.5.2.3 - Eletrodo de filme de mercúrio

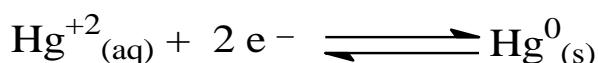
Um dos eletrodos de trabalho mais utilizados nas análises envolvendo métodos eletroquímicos, com destaque aos voltamétricos é o eletrodo de gota pendente de mercúrio (EGM). Este eletrodo apresenta vantagens tais como superfície renovável e reproduzível, alto sobrepotencial para evolução de hidrogênio e habilidade para dissolver muitos metais. Todavia, há também algumas desvantagens como: toxicidade do mercúrio ao ser humano, instabilidade da gota em relação ao fluxo da solução e a pequenas variações de temperatura.

O emprego de mercúrio metálico para detectar íons de metais, em especial os tóxicos, é um assunto bastante discutido devido a sua alta toxicidade, estabilidade e volatilidade (SHERIGARA *et al.*, 2007). Assim, vários trabalhos descritos na literatura sugerem a substituição do mercúrio por outros; tais como, ouro, platina, irídio, modificações em eletrodos de carbono, filme de bismuto e outros; todavia, nenhum deles apresenta um comportamento mais favorável analiticamente, como o eletrodo de mercúrio (VOGUEL; OHLWEILER, 1982; ZHU *et al.*, 2007; SKOOG *et al.*, 1992; HARRIS, 2001). Entretanto, o eletrodo de filme de mercúrio (EFM) vem sendo bastante utilizado em análises que empregam técnicas eletroquímicas.

micas (voltamétricas e potenciométricas) nos últimos anos, como uma forma alternativa e menos tóxica em substituição ao eletrodo de gota pendente (EGM) (SERAFIM *et al.*, 2008).

O eletrodo com filme de mercúrio consiste em uma camada muito fina de mercúrio eletrodepositado em um eletrodo sólido convencional, como ouro, platina, grafite ou carbono vítreo. Este tipo de eletrodo oferece algumas vantagens em relação ao EGM, como por exemplo, uma elevada relação área superficial / volume, que propicia uma maior concentração de metal na amálgama durante a etapa de deposição, acarretando assim, uma elevada sensibilidade (SILVA *et al.*, 1998). No caso deste trabalho, empregou-se o eletrodo de carbono vítreo (CV) para a deposição do filme de mercúrio, uma vez que este apresenta boa condutividade elétrica, elevada estabilidade térmica, inércia química, baixa porosidade e alta robustez, características estas que possibilitam a utilização do eletrodo de CV como base (substrato) para modificação, permitindo desta forma, o emprego no monitoramento de processos de transferência de carga, suporte para polímeros eletroativos e modificadores de superfície (MALEKI *et al.*, 1998).

A aplicação de EFM *in situ* ou *ex situ* produzidos em carbono vítreo para quantificar traços de metais tóxicos (pesados) utilizando técnicas eletroquímicas de redissolução (stripping) anódica (Voltamétrica como a ASV e a potenciométrica como a PSA) é bastante difundido, seja para análise de solo, água, combustíveis, biocombustíveis, e até na análise de sulfito em alimentos (MALEKI *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2002 e 2004; OTHMAN *et al.*, 2003; SHERIGARA *et al.*, 2007; MONTERROSO *et al.*, 2004; DINÇKAYA *et al.*, 2007; BOGUSLAW *et al.*, 2006; MALGORZATA *et al.*, 2008; ROBERT *et al.*, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2010). O procedimento usual para a preparação do EFM ocorre através da redução da espécie Hg^{+2} para Hg^0 em um substrato condutor, no caso, o eletrodo de carbono vítreo, por aplicação de um sobrepotencial de deposição constante em função de certo intervalo de tempo (EQUAÇÃO QUÍMICA 4).



Equação química 4 – Reação química de eletrodepositão de mercúrio (II) sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo.

A explicação para EFM serem bastante difundidos nas técnicas de redissolução anódica deve-se a sua alta sensibilidade e, a sua ampla janela de potencial catódico, variando de + 0,3 V a -2,3 V (versus eletrodo de calomelado saturado) (RICHTER *et al.*, 2003;

PEDROTTI *et al.*, 2005). Potenciais mais positivos promovem a dissolução do filme formado. A alta sensibilidade é explicada porque somente uma quantidade de mercúrio extremamente pequena é incorporada ao filme, resultando na formação de um amálgama muito concentrado durante a etapa de deposição (RICHTER *et al.*, 2003; PEDROTTI *et al.*, 2005). Este procedimento foi aplicado para métodos onde metais (Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+}) são determinados simultaneamente em biocombustíveis (álcool combustível e biodiesel) e derivados de petróleo (enxofre em gasolina) (MALEKI *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2002 e 2004; OTHMAN *et al.*, 2003; SHERIGARA *et al.*, 2007; MONTERROSO *et al.*, 2004; DINÇKAYA *et al.*, 2007; BOGUSLAW *et al.*, 2006; MALGORZATA *et al.*, 2008; ROBERT *et al.*, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2010).

1.6 - Métodos de preparo de amostras para análises de metais traços

De forma geral, ao se empregar uma técnica analítica para determinação de metais em biocombustíveis /combustíveis (amostras oleosas) normalmente, faz-se necessário algum tipo de preparo físico-químico da amostra, com o intuito de liberar o analito (metal) para a determinação de acordo com a técnica a ser utilizada (BRUTTEL *et al.*, 1992) e que, a matriz orgânica, não interfira no sistema de detecção (ZHANG *et al.*, 1995; ZHANG *et al.*, 1993; ZEN *et al.*, 1998). A escolha do (s) procedimento (s) de preparo da amostra é crítica para o sucesso de uma metodologia. Assim, vários fatores tais como: simplicidade, custo, tempo de preparo, perigos de contaminações da amostra, fator de diluição, risco ao analista, devem ser considerados (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Em especial, as análises de biocombustíveis / combustíveis geralmente proporcionam um grande desafio analítico, devido à alta complexidade dessa matriz, que possui características peculiares (alta volatilidade e/ou viscosidade) ou modificadas pela adição de aditivos. Isto faz que seja requerido procedimento(s) apropriado(s) para sua preparação (OLIVEIRA *et al.*, 2003; AINT'PIERRE *et al.*, 2004; SERAFIM *et al.*, 2008). Por exemplo, no preparo (tratamento) de amostras de combustível deve-se minimizar a carga de matéria orgânica do meio reacional reduzindo assim, prováveis interferências da matriz que podem afetar algumas características do método analítico (OLIVEIRA *et al.*, 2003); e no caso da determinação de metais em biodiesel por técnicas eletroquímicas de redissolução, a eliminação da matéria orgânica evita possível deposição desta sobre o eletrodo, não interferindo assim, na sensibilidade analítica (Rath *et al.*, 2003). Muitos procedimentos de preparo de amostras de combustíveis

em geral são aplicados, e de entre estes, podem se destacar os métodos tradicionais de decomposição, que empregam aquecimento, diluição em solventes, misturas concentradas de ácidos e outros oxidantes.

1.6.1 - Preparo de amostras por decomposição via úmida

A digestão por via úmida é um método muito útil para a oxidação de compostos orgânicos e inorgânicos presentes em uma matriz química. Aliando esta a um sistema de aquecimento³ controlado, período de tempo adequado, e da adição de agentes oxidantes fortes, traduz-se em um sistema muito eficiente (NORMAS Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 1976; OHLWEILER, 1982; DE OLIVEIRA *et al.*, 2003; KRUG *et al.*, 2010). Isto torna possível oxidar completamente a maioria das amostras, deixando os analitos a serem determinados na solução em formas inorgânicas simples e apropriados para análise.

Este método de decomposição envolve na maioria das vezes, o emprego de alguma combinação entre cinco ácidos; ácido nítrico (HNO_3), sulfúrico (H_2SO_4), perclórico (HClO_4), clorídrico (HCl) e fluorídrico (HF), além de às vezes combiná-los com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (OHLWEILER, 1982; KNAPP *et al.*, 1998; KRUG *et al.*, 2010). Esta conjugação ocorre quando há necessidade de determinação de concentrações muito baixas de algum analito, uma vez que, muitos destes, são convertidos em cátions inorgânicos simples não voláteis, que permanecem no meio ácido (OHLWEILER, 1982; NORMAS Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 1976). Quanto à escolha do ácido ou da mistura ácida (OHLWEILER, 1982; KRUG *et al.*, 2010; NORMAS Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 1976) em sistemas abertos, as seguintes observações devem ser lembradas para a decomposição de materiais orgânicos:

- É muito difícil oxidar amostras completamente utilizando somente HNO_3 , já que este ácido tem o menor ponto de ebulação e é o mais moderado dos três ácidos oxidantes. Se por um lado o baixo ponto de ebulação do azeótropo (120 °C) facilita a remoção do ácido nítrico após a oxidação, por outro, a baixa temperatura limita a sua eficiência oxidativa. Altas temperaturas são necessárias para possibilitar maior eficiência na quebra das ligações carbono-carbono nas moléculas orgânicas, por exemplo.

³ As formas de energia usualmente empregadas em procedimentos que empregam oxidação úmida a quente são a térmica, a radiante (microondas, infra-vermelho e ultravioleta) e a ultrassônica.

- O HClO_4 apresenta alto poder de oxidação, porém quando empregado de forma isolada, torna-se perigoso, devido ao risco de explosões, pela formação de percloratos instáveis. Recomenda-se na prática, empregar este ácido em combinação com outro (comumente, ácido nítrico).
- H_2SO_4 apresenta-se, como o mais útil dos três ácidos para ser utilizado sozinho, face ao seu elevado ponto de ebulição. Entretanto, o processo de oxidação é bastante lento. Na maioria dos casos, o ácido sulfúrico é utilizado em combinação com HNO_3 , HClO_4 ou H_2O_2 (OHLWEILER, 1982; KRUG *et al.*, 2010; KNAPP *et al.*, 1998).
- O HCl apresenta ponto de ebulição, 110 °C, é comercializado com alto grau de pureza a 36 – 38% (11,6 a 12,4 mol L⁻¹), e apesar de ser um ácido forte, não possui propriedades oxidantes, reage com a maioria dos cátions metálicos de transição, formando compostos de coordenação fortes com Au, Tl e Hg e mais fracos com Fe, Ga, In e Sn. Os cloretos metálicos são solúveis em água, exceto Hg_2Cl_2 e AgCl . É empregado na dissolução de metais e ligas, sais de carbonatos, fosfatos, sulfatos e alguns óxidos. Quando em misturas com HNO_3 , é empregado na dissolução de materiais geológicos e amostras ambientais. Normalmente, não é empregado para dissolução de matéria orgânica.
- Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) é empregado em procedimentos para a oxidação de materiais orgânicos com misturas ácidas. Esta tem o poder de aumentar a ação oxidante do(s) ácido(s) empregado(s). Atua também na remoção de produtos coloridos que permanecem em solução. Apresenta como vantagem o fato de ser um agente oxidante poderoso, seu produto de decomposição é a água (resíduo limpo) e pode ser encontrado com alto grau de pureza (OHLWEILER, 1982; KRUG *et al.*, 2010; NORMAS Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 1976).

Quando se utiliza esta via de decomposição em sistema aberto podem ocorrer perdas por volatilização; além, de não permitir uma interação entre a temperatura e pressão, acarretando-se um menor poder de digestão para amostras com alto teor de matéria orgânica (HURT *et al.*, 1995; MUÑOZ *et al.*, 2007; NÓBREGA *et al.*, 2012), vez que, a temperatura é limitada ao ponto de ebulição do ácido mineral ou da combinação empregada. Neste caso, pode haver um residual de matéria orgânica, contribuindo para a obtenção de falsos resultados (MUÑOZ *et al.*, 2007; NÓBREGA *et al.*, 2012). Entretanto, há vantagens no emprego da decomposição ácida, uma vez que ela facilita o procedimento de calibração, por possibilitar o uso de soluções diluídas.

ções padrões aquosas como referência, vez que as propriedades físicas e químicas da amostra tratada neste meio são similares às dos padrões aquosos. Outra contribuição, é que componentes da própria matriz também são decompostos em espécies mais simples, minimizando deste modo a possibilidade de interferências (OHLWEILER, 1982; DE OLIVEIRA *et al.*, 2003; KRUG *et al.*, 2010; NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1997; KING *et al.*, 1984).

Quando se emprega microondas no preparo de amostras, deve-se utilizá-las em conjunto com ácidos minerais, devido à influência dos momentos dipolares das moléculas na absorção das microondas. Devido às características dielétricas dos líquidos, é gerado então, o aquecimento da amostra, podendo-se criar, com isto, uma ampla corrente de convecção térmica, acarretando a dissolução da amostra (OHLWEILER, 1982; DE OLIVEIRA *et al.*, 2003; KRUG *et al.*, 2010; NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1997). Nos fornos de microondas atuais a temperatura é medida com uma sonda de infravermelho, acoplada a um computador digital, programado para controlar a operação do magnetron (KRUG *et al.*, 2010). Desde a primeira aplicação das microondas como fonte de energia para a digestão ácida por Abu-Samra (ABU-SAMARA *et al.*, 1975) em 1975, as aplicações têm crescido exponencialmente como um procedimento de preparo das mais diversas matrizes (OHLWEILER, 1982; KING *et al.*, 1984; MUÑOZ *et al.*, 2005; KRUG *et al.*, 2010; DE JESUS *et al.*, 2011; NÓBREGA *et al.*, 2012; FERREIRA *et al.*, 2009 e 2013; ORESTE *et al.*, 2013). Um ponto negativo para a análise que emprega microondas na digestão é a pequena massa de amostra que se utiliza, de menos de 1,0 g, justificada pelas altas pressões obtidas por massas superiores, o que acarretaria em perigo de explosões. Entretanto, este valor pode variar um pouco, dependendo da natureza da amostra (ABU-SAMARA *et al.*, 1975; SANT'ANA *et al.*, 2007). Uma grande vantagem no uso deste preparo consiste no fato de que a digestão é realizada em ambiente fechado, procedimento que minimiza riscos de contaminação pela atmosfera e pelos reagentes utilizados na decomposição, uma vez que são requeridas pequenas quantidades (BULDINI *et al.*, 2002; KORN *et al.*, 2003; KORN *et al.*, 2007).

Alternativamente, o uso da energia ultrassônica em procedimentos de preparo de amostras vem se destacando, sobretudo para extração /digestão de produtos derivados de petróleo e biocombustíveis (com posterior determinação empregando técnicas eletroanalíticas) uma vez que oferece: simplicidade de operação, maior segurança para o analista, extração à temperatura e pressão ambiente, redução nos volumes de ácidos e oxidantes, menores perdas

de elementos voláteis (WONDIMU *et al.*, 2000; TRINDADE *et al.*, 2006, MUÑOZ *et al.*, 2007) e baixo custo financeiro do equipamento.

1.6.2 - Preparo de amostras empregando radiação ultrassônica

A descoberta do ultrassom ocorreu em 1880, por Pierre e Jacques Curie, quando estudavam o efeito piezoelétrico⁴, que consiste na variação das dimensões físicas de certos cristais e cerâmicas quando são submetidos a campos elétricos. Contudo, Paul Langevin (LANGEVIN *et al.*, 1985) é considerado o pai do ultrassom, devido a um trabalho apresentando numa competição em 1912 com o intuito de desenvolver novas técnicas para o estudo da topografia do fundo do mar (MARTINES *et al.*, 2000).

A utilização da radiação ultrassônica (US) em extrações ou até mesmo digestões está cada vez mais frequente devido à facilidade de operação do instrumento, que pode ser utilizado à temperatura e pressão ambiente, necessitando de uma pequena quantidade de reagentes e de amostra (MARTINES *et al.*, 2000). A técnica consiste na indução de cavitação acústica em líquidos pela oscilação de cristais piezoelétricos, que gera uma onda ultrassônica em um líquido, causando um fenômeno que envolve a geração e implosões de várias bolhas minúsculas de gás, o qual é chamado de cavitação⁵ (MACINTYRE *et al.*, 1997).

Embora na área de máquinas hidráulicas a cavitação seja um problema, de um modo geral, vem sendo aplicada desde 1950 (SUSLICK *et al.*, 1999), especialmente nas áreas de química e materiais. Gogate, Tayal e seus colaboradores (GOGATE *et al.*, 2005; TAYA *et al.*, 2006) relacionaram os quatro principais tipos de cavitação e suas causas:

- **Cavitação acústica ou ultrassônica** - As variações de pressão no líquido são alcançadas usando ondas de som, usualmente ultrassom (16 kHz – 100 MHz). A cavitação induzida pela passagem de ondas de som é denominada como química sônica ou sonoquímica (*sonochemistry*) (MASON *et al.*, 1988);
- **Cavitação hidrodinâmica** - É produzida pela variação de pressão que é obtida usando a geometria do sistema criando variação de velocidade, como no caso de escoamento através de orifícios e venturis;

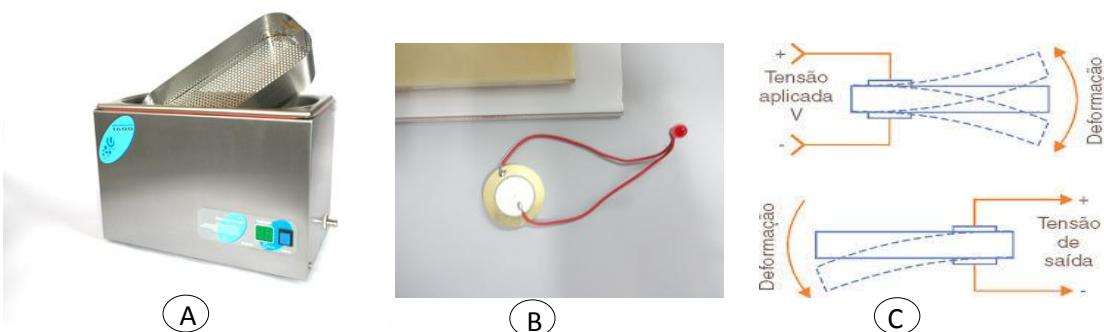
⁴ São exemplos destes materiais, cristais de quartzo e cerâmicas polarizáveis como titanato de bário e zirconato de chumbo.

⁵ Cavitação – formação de pequenas bolsas, bolhas ou cavidades em regiões de menor pressão no interior das quais o líquido se vaporiza.

- **Cavitação óptica** - É produzida por fótons de luz de alta intensidade (laser) rompendo a continuidade do líquido;
- **Cavitação de partículas** - Produzida por um feixe de partículas elementares, por exemplo, um feixe de nêutrons rompendo um líquido, como no caso da câmara de bolhas.

Após a ocorrência da cavitação (SUSLICK *et al.*, 1999; GOGATE *et al.*, 2006), haverá o aumento subsequente e colapso de cavidades (bolhas de vapor), resultando em uma variação de energia muito alta, da ordem de 1 a 10^{18} kW/m³. As ondas ultrassônicas se propagam com frequência maior que 20 kHz, através de qualquer meio material e não podem ser audidas pelo ser humano⁶. Estas ondas são divididas em faixas: a dos ultrassons de baixa frequência que variam de 20,0 kHz até 1,0 MHz, e a de alta frequência, maior que 1,0 MHz. Ondas ultrassônicas de baixas frequências apresentam alta potência, enquanto que as ondas ultrassônicas de alta frequência têm baixa potência (MASON *et al.*, 1988).

Os principais instrumentos usados nos processos de sonicação são os banhos e as sondas ultrassônicas. Os banhos de ultrassom de baixa frequência são normalmente empregados em laboratórios de química, biologia, consultórios odontológicos e até mesmo em oficinas mecânicas, seja para a limpeza de materiais, seja para o rompimento das paredes celulares (MASON *et al.*, 1988). Os banhos de ultrassom (FIGURA 11) são equipamentos fabricados pelo acoplamento de um ou mais cristais piezelétricos na parte inferior de um vaso metálico, preferencialmente construído em aço. Aplica-se uma dada diferença de potencial nas faces laterais de um transdutor piezelétrico, o que provoca vibrações nas faces perpendiculares do dispositivo e esta vibrará a uma frequência pré-determinada (MASON *et al.*, 1988).

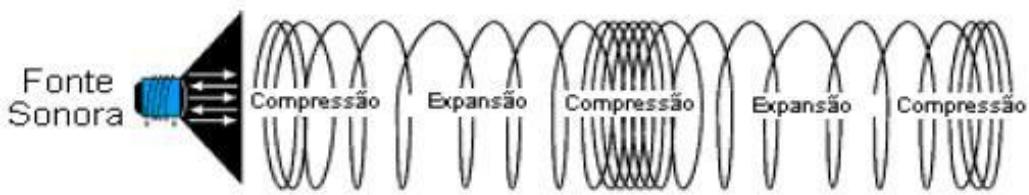


Fonte: Adaptado da WEB pelo autor

Figura 11 – A) Banho de ultrassom, **B)** Cristais piezelétricos, **C)** Vibrações provocadas devi- do aplicação de potencial aplicado.

⁶ Som audível pelo ouvido humano tem uma frequência entre 16-18 kHz

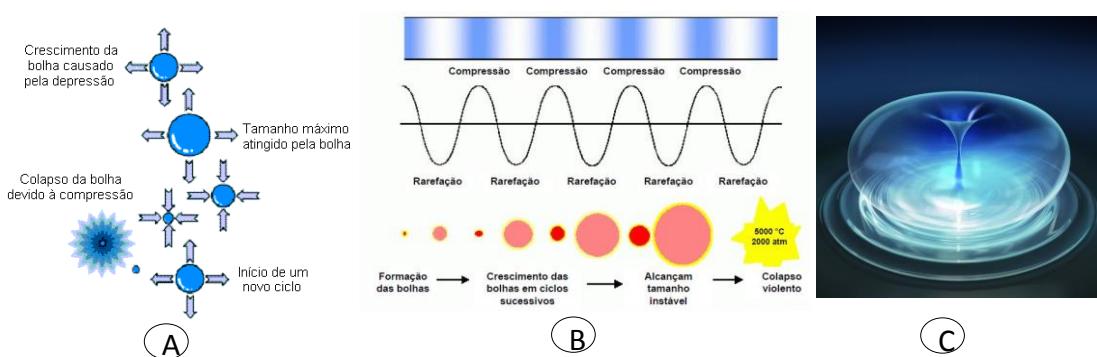
Por meio das vibrações produzidas, uma ação de propagação de ondas geradas pelo sistema piezelétrico do banho, produzirá ciclos sucessivos de compressão e expansão no meio material, sendo que, a expansão movimenta as moléculas do meio de forma a separá-las, enquanto que a compressão as empurra, voltando a juntá-las, conforme pode ser representado pela Figura 12 a seguir (KORN *et al.*, 2003; KORN *et al.*, 2000; BORGES *et al.*, 2003; MATOS *et al.*, 2006).



Fonte: MATOS, 2006

Figura 12- Ciclo de expansão e compressão das ondas de ultrassom.

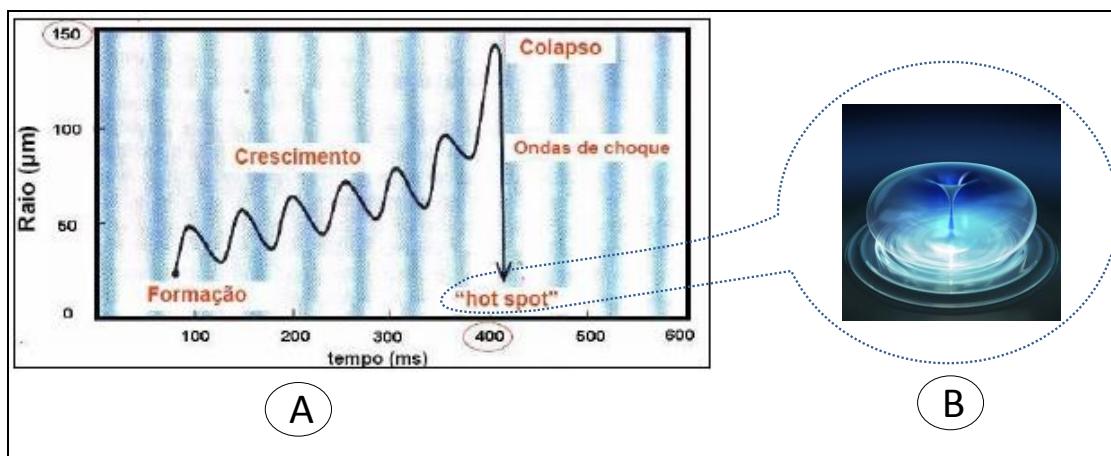
Devido ao ciclo de expansão e compressão das ondas, ocorre um efeito conhecido como cavitação (descrito anteriormente), na qual a depressão gerada pelo ciclo propicia a formação de bolhas ou cavidades (SANTOS JR *et al.*, 2004). A bolha durante o seu crescimento absorve eficientemente energia ultrassônica, até uma determinada condição crítica, onde a partir deste ponto, deixa de conseguir fazê-lo, implodindo-se devido ao ciclo de compressão, como a ilustra a seguir a Figura 13.



Fonte: Adaptado da WEB pelo autor

Figura 13 - A) Ilustração da formação de bolhas, B) Variação de temperatura e pressão atingidos na implosão de uma microbolha, c) Visualização do momento da implosão microbolha sobre a superfície do material.

A rápida compressão adiabática dos gases e vapores nas bolhas produz pontos quentes de altas temperaturas (~ 5000 °C) e elevadas pressões (~ 2000 atm) com taxas de aquecimento e resfriamento extremamente velozes (acima de 10^{10} K s $^{-1}$) (SUSLICK *et al.*, 1999) como ilustrado na Figura 14.



Fonte: Adaptado da WEB pelo autor

Figura 14 – A) Formação, crescimento e tamanho das bolhas de vapor com tempo (milissegundos) para colapso e **B)** Representação do colapso da bolha.

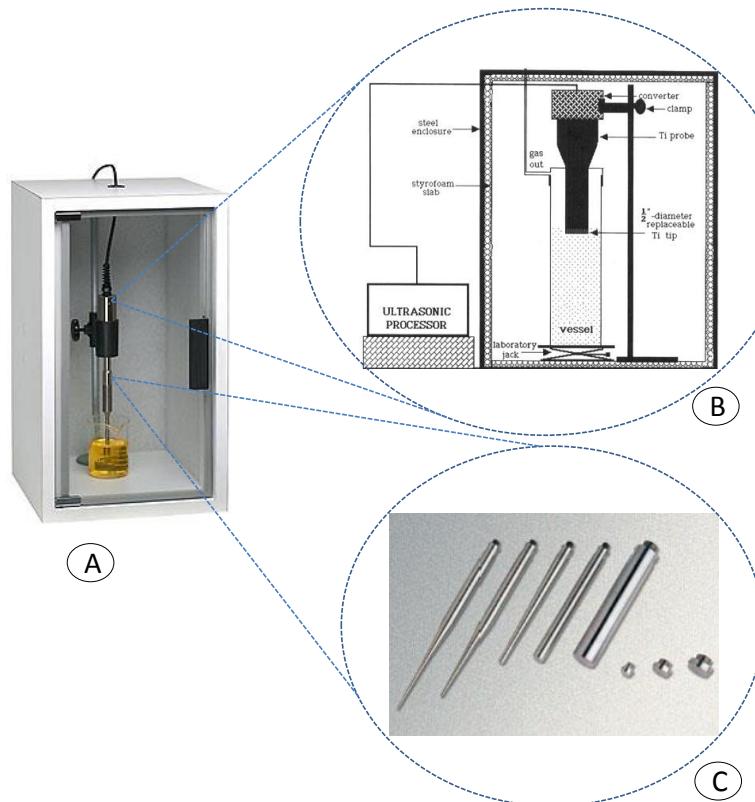
Devido à grande diferença de densidade entre as bolhas e o líquido total, o calor produzido é rapidamente dissipado sem haver mudanças apreciáveis nas condições do meio. A cavitação providencia uma interação única entre a energia e a matéria. As altas temperaturas e pressões produzidas levam à formação de radicais livres (hidroxila e peróxido de hidrogênio, este último a partir da hidrólise da água) e outros componentes (DOKTYCZ *et al.*, 2014). Em líquidos puros, a cavidade mantém a sua forma esférica durante o colapso, mas quando o efeito ocorre perto de uma superfície sólida, o colapso da cavidade é assimétrico e produz micro-bolhas. Ondas ultrassônicas de frequência de 20 kHz e intensidade de 1,0 W cm $^{-2}$ ao se propagarem pela água (velocidade do som de ~ 1500 m s $^{-1}$ e densidade = 1,0 g cm $^{-3}$), provocam um deslocamento de um corpúsculo (microjatos de líquidos) aproximadamente de 0,93 mm, em torno de um ponto central, com velocidade próximas de 400 Km h $^{-1}$. Isto pode conduzir a sérios danos na zona de impacto da superfície sólida e produzir novas superfícies altamente reativas (MATOS *et al.*, 2006; CAPOTE *et al.*, 2007; LUQUE *et al.*, 2007).

Segundo MUÑOZ *et al.*, dos artigos que relatam a utilização do banho de ultrassom na extração de metais em amostras, a maioria emprega técnicas espectrométricas para a quan-

tificação do analito em relação ao emprego das técnicas eletroquímicas (MUÑOZ *et al.*, 2005; MUÑOZ *et al.*, 2006). Os autores destacam que a provável razão disto pode estar na possível interferência de compostos orgânicos residuais provenientes do processo de extração/digestão na detecção dos metais. Deste modo, haveria a necessidade de aplicação de etapas adicionais de preparo de amostra (através de filtrações ou ainda, promover a decomposição destes, por irradiação ultravioleta para remover os interferentes).

Dos trabalhos relatando o emprego do banho de ultrassom para o preparo de amostras, destacam-se a análise de fertilizantes inorgânicos (BIZARRO *et al.*, 2008; FREITAS *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2012; LIMA *et al.*, 2011 e 2015), de solos e sedimentos (NASCENTES *et al.*, 2001; KAZI *et al.*, 2009; MATOS *et al.*, 2009; MONTGOMERY, 1978), alimentos (ZAKHAROVA *et al.*, 2005), amostras biológicas (MUÑOZ *et al.*, 2006), óleos e derivados de petróleo (FONTANA *et al.*, 1996; MUÑOZ *et al.*, 2006 e 2007, FERREIRA e BARBEIRA, 2006).

Uma alternativa à baixa potência dos banhos de ultrassom seria o emprego da sonda de ultrassom, conforme representação na Figura 15.



Fonte: Extraído do site do fabricante COLE PARMER.

Figura 15 - A) Sonda Ultrassônica com caixa acústica, B) Representação dos componentes eletrônicos, C) Ponteiras com diferentes espessuras.

Esta opera em menor frequência, consequentemente apresentando maior potência. Desta forma, possibilitaria assim maior eficiência nos processos de preparo de amostras, uma vez que nesse caso, a fonte emissora de ondas encontra-se ligada à ponta do dispositivo (normalmente é feita de titânio de modo a permitir a imersão direta no meio líquido) e é introduzida diretamente na amostra de interesse a ser sonicada. Desta maneira, a energia ultrassônica é focalizada diretamente no ponto em que se deseja promover o efeito de cavitação. É bom ressaltar, que o sistema de sonda pode introduzir na amostra uma intensidade até 100 vezes superior à do sistema de banho, permitindo que a aplicação atinja objetivos não alcançados no banho de ultrassom (LUQUE *et al.*, 2007). Entretanto, existem algumas desvantagens, quanto ao emprego da sonda, e uma delas é a possibilidade tratar apenas uma amostra por vez, além do risco de contaminação ser maior já que a sonda é inserida diretamente na amostra (MAMBA *et al.*, 1995; WIBETOE *et al.*, 1999).

Contudo, para o preparo de amostras é mais comum o emprego dos banhos de ultrassom, que apesar de apresentar uma potência menor se comparado a alguns modelos de sondas, permite o tratamento de várias amostras simultâneas, e o risco de contaminação da amostra é muito pequeno (KORN *et al.*, 2000 e 2003; BORGES *et al.*, 2003). Todavia, mesmo com a limitação descrita, há de certa forma, um grande relato de trabalhos empregando a radiação de sondas ultrassônicas em extrações de diversos elementos de amostras biológicas (FERNANDEZ *et al.*, 2011), de plantas (LAVILLA *et al.*, 2006), de sedimentos (MARIN *et al.*, 2001; LUQUE-GARCÍA *et al.*, 2003) e derivados de petróleo (SALEH *et al.*, 1991).

1.7- Planejamento químiométrico

O planejamento experimental é uma ferramenta importante no aprimoramento e desenvolvimento de novos processos. Contudo, só a partir da década de 1920, que passou a ter uma metodologia confiável que permitiu planejar, executar e analisar os resultados experimentais (MONTGOMERY, 1978; NETO *et al.*, 2010). Todavia, aplicações rotineiras de métodos químiométricos (NETO *et al.*, 2010) são relatadas na literatura em química analítica, mas apenas uma pequena fração desta literatura está associada ao campo da eletroquímica e eletroanalítica. Embora, mesmo sendo limitado o número de grupos que empregam métodos químiométricos em eletroquímica e eletroanalítica, progressos têm sido verificados (BROWN *et al.*, 1993).

Ao estudar a influência de uma ou mais variáveis em um determinado processo, como $y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$, mudando-se cada variável independente (x), uma de cada vez, consegue-se compreender claramente a influência dessa variável no processo. Entretanto, se o objetivo é determinar a influência simultânea ou as interações entre essas variáveis independentes, faz-se necessário um grande número de ensaios e consequentemente a realização de um planejamento de experimentos em que se devam estudar os fatores ou variáveis e as respostas de interesse para o sistema (MONTGOMERY, 1978; NETO *et al.*, 2010).

As técnicas de planejamento e análise de experimentos (*Design of Experiment – DOE*) são muito utilizadas para melhorar a qualidade dos processos em estudo, reduzindo a quantidade de experimentos, tempo de análise, custos envolvidos, variabilidade de resultados, além de otimizar o uso de recursos do experimento (MONTGOMERY, 1978; BUTTON, 2005; NETO *et al.*, 2010). Alguns dos problemas encontrados ao realizar os ensaios é a necessidade de estudar simultaneamente o efeito dos fatores com diferentes níveis de regulagens. Observa-se assim que o número de testes requerido para a experimentação tende a crescer na medida em que aumenta a quantidade de fatores tornando inviáveis economicamente, visto que os custos e o tempo de execução são elevados (MONTGOMERY, 1978). Neste caso, às vezes torna-se necessário analisar a influência de um ou mais fatores; empregando para isso, experimentos completamente aleatorizados (MONTGOMERY, 1978). O planejamento de experimentos consiste no estudo dos métodos da amostragem e dos problemas correlatos que surgem. Seu princípio básico permite variar de uma só vez todos os níveis de todas as variáveis, discretas ou contínuas (chamadas de fatores) a cada experiência, de maneira programada e racional (MONTGOMERY, 1978).

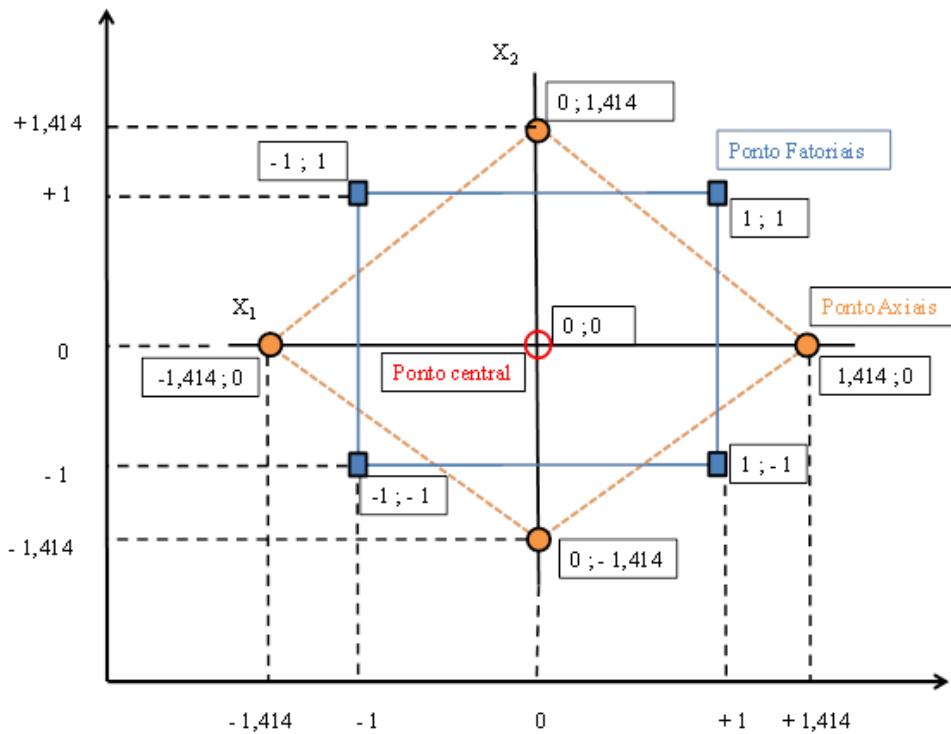
Todavia, quando é importante investigar o efeito provocado nas respostas dos experimentos por dois ou mais fatores de controle, sendo cada um deles com dois ou mais níveis de regulagens; recomenda-se o uso de técnicas clássicas de planejamento, como a técnica de planejamento fatorial completo, fatorial fracionado ou experimentos com pontos centrais (MONTGOMERY, 1978; NETO *et al.*, 2010).

1.7.1 - Planejamento Composto Central

Os planejamentos compostos centrais (PCC ou CCD, do Inglês *Central Composite Design*) foram apresentados como uma evolução dos planejamentos 3^3 , que necessitavam de muitos experimentos para um pequeno número de fatores, mesmo que fracionários (NETO *et al.*, 2010).

al., 2010). Estes devem ser planejados com base em uma matriz experimentos, podendo ser empregando diversas técnicas de análise, e de experimentos (MONTGOMERY, 1978). Já para um modelo de segunda ordem, o planejamento deve conter pelo menos três (3) níveis para cada fator (NETO *et al.*, 2010); assim, pode ser utilizado na técnica de superfície de resposta de segunda ordem; sendo, neste caso chamados de planejamentos rotáveis (*rotatable second design*) (NETO *et al.*, 2010).

Um experimento é rotável se a variância da resposta estimada, para algum ponto xi , é em função da distância do ponto ao centro e não em função da direção (MONTGOMERY, 1978; NETO *et al.*, 2010). A classe de planejamento rotável mais empregada para ajustar o modelo de segunda ordem é o planejamento composto central. Este consiste de um 2^k fatorial ou fatorial fracionado 2^{k-p} mais $2k$ pontos axiais e nc pontos centrais (NETO, *et al.*, 2010). Os $2k$ pontos axiais são localizados em $(\pm \alpha_1, 0, 0, \dots, 0)$, $(0, \pm \alpha_1, 0, \dots, 0)$, $(0, 0, \pm \alpha_1, \dots, 0)$, ..., $(0, 0, 0, \dots, \pm \alpha_1)$. Sendo que $\pm \alpha_1$ é dado pela equação: $\alpha_1 = (2^k)^{1/4}$. O ponto axial no planejamento é utilizado para garantir que o experimento seja rotável. Com esse ponto é possível estimar os coeficientes da superfície em todas as direções possíveis, mesmo que, o valor de alfa (α_1) dependa do número de pontos na porção fatorial do planejamento. A configuração do CCD com dois fatores é apresentada na Figura 16, sendo que o quadrado com círculos sólidos nas arestas representa o fatorial 2^2 , o círculo no centro representa o ponto central nc e o losango com quadrados nas arestas, representa os pontos axiais (NETO *et al.*, 2010).



Fonte: NETO et al., 2010

Figura 16 - Representação gráfica do planejamento composto central, modelo quadrático: $(\hat{y} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2)$.

Outra propriedade do planejamento composto central é que pode ser controlado pela escolha do número de pontos centrais nc , ou seja, com um número apropriado de pontos centrais o planejamento é ortogonal e pode ser de precisão uniforme. Nesse caso, a variância da resposta estimada na origem é igual para as distâncias unitárias desde a origem (NETO *et al.*, 2010). O número de variáveis a ser estudada, aliada à necessidade de obter uma estimativa de parâmetros para uma superfície de segunda ordem, e ainda a redução do esforço experimental, levou a utilização do CCD; que são planejamentos fatoriais de 1º ordem, aumentado por pontos adicionais para permitir a estimativa dos parâmetros de uma superfície de 2º ordem. Como exemplo, é apresentado no esquema a seguir o CCD para um planejamento fatorial a dois níveis com duas variáveis (2^2), acrescido de uma triplicata no ponto central e ainda quatro experimentos nos pontos axiais ($\pm \alpha$), totalizando 11 experimentos (TABELA 1).

Tabela 1 - Planejamento Composto Central.

Variáveis escalonadas			
Ensaio	X1	X2	Pontos
1	-1	-1	
2	+1	-1	Planejamento
3	-1	+1	Fatorial 2 ^K
4	+1	+1	
5	0	0	
6	0	0	Pontos
7	0	0	Centrais
8	- 1,41	0	
9	0	+ 1,41	Pontos Axiais
10	+ 1,41	0	2 K
11	0	- 1,41	

*Fonte: NETO, et al., 2010

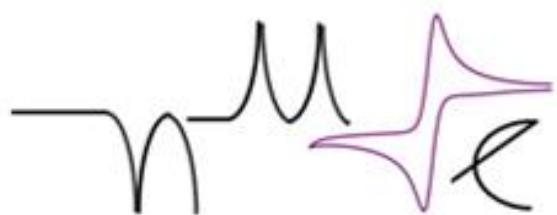
1.7.1.1- Metodologia de superfície de resposta

A metodologia de superfície de resposta (RSM, Response Surface Methodology) é uma técnica de otimização baseada no emprego de planejamentos fatoriais (NETO *et al.*, 2010) e tem sido utilizada com grande sucesso nas mais diversas modelagem. Consiste de um gráfico que apresenta o comportamento da resposta em função de dois ou mais fatores. Ela oferece uma maneira conveniente de visualizar, como os fatores afetam as medidas do sistema (BEZERRA *et al.*, 2008), possibilitando assim a tomada de decisão e que caminho seguir (NETO *et al.*, 2010).

A RSM é essencialmente um conjunto de técnicas estatísticas usadas, com a finalidade de determinar as melhores condições e proporcionar maior conhecimento sobre a natureza de certos fenômenos (BEZERRA *et al.*, 2008; NETO *et al.*, 2010). Ela vem sendo estudada por estatísticos desde 1970, sendo utilizada na etapa de otimização propriamente dita. Sua aplicação permite selecionar a combinação de níveis ótimos na obtenção da melhor resposta para uma dada situação. Empregando a metodologia, é possível aproximar um modelo empírico a uma relação desconhecida / conhecida entre os fatores e as respostas do processo. Neste

método são realizados planejamentos fatoriais cujos resultados são ajustados aos modelos matemáticos. Estas etapas, conhecidas como etapas de deslocamento e modelamento, podem ser repetidas quantas vezes forem necessárias, até que se atinja uma região de ótimo (máximo ou mínimo) da superfície estudada. A modelagem normalmente é feita ajustando-se modelos lineares ou quadráticos a resultados experimentais obtidos a partir de planejamentos experimentais. O modelamento ocorre em busca do caminho de máxima inclinação de um determinado modelo, sendo o caminho onde a resposta varia de forma mais pronunciada (NETO *et al.*, 2007 e 2010). O relacionamento entre as respostas e os níveis de fatores busca atingir um dos objetivos a seguir: estabelecer uma descrição de como uma resposta é afetada por um número de fatores em alguma região de interesse; estudar e explorar a relação entre várias respostas; localizar e explorar a vizinhança de resposta.

A RSM é útil quando o pesquisador não conhece a relação exata entre os diversos fatores. Dentre as vantagens da metodologia, a principal é que seus resultados são resistentes aos impactos de condições não ideais, como erros aleatórios e pontos influentes, devido à robustez da metodologia. Outra vantagem é a simplicidade analítica da superfície de resposta obtida, vez que a metodologia gera polinômios de duas ou mais variáveis de funções contínuas. Assim, torna-se absolutamente fácil o uso de métodos tradicionais de otimização em processos ou sistemas modelados por superfícies de resposta, principalmente quando o processo tem muitas variáveis afetando a resposta. A técnica do planejamento fatorial, junto com a metodologia da superfície de resposta vem se apresentando eficiente para estimar o impacto das incertezas e é útil para a melhor compreensão do sistema, permitindo a análise individual do efeito de cada variável na resposta desejada (RODRIGUES *et al.*, 2005). Desta forma, este modelo empregado ao pré-tratamento de amostras é um passo crucial, vez que a otimização univariada pode não permitir o conhecimento dos efeitos entre as variáveis, além de gerar um grande número de experimentos, acarretando também grande consumo de reagentes e tempo (NETO *et al.*, 2010).



Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica
UFU - Santa Mônica - Uberlândia



CAPITULO - 2

OBJETIVOS

Epígrafe

*"De nada vale ao homem a pura compreensão de todas as coisas,
se ele tem algemas que o impedem de levantar os braços para o
alto."*

Vinicio de Moraes

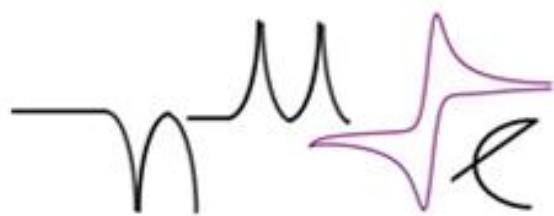
2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

Este trabalho tem por objetivo o desenvolvimento de métodos de preparo de amostras empregando a radiação ultrassônica no processo de digestão de amostras de biodiesel puro (B100) para posterior determinação dos metais zinco, cádmio, chumbo e cobre empregando métodos eletroanalíticos de análises.

2.1.1- Objetivos específicos

- Desenvolver procedimento para extração quantitativa de metais em amostras de biodiesel empregando radiação ultrassônica;
- Empregar técnicas quimiométricas de otimização (planejamento fatorial e superfície de resposta) para obtenção da condição ótima de extração dos metais Zn, Cd, Pb e Cu;
- Definir a quantidade máxima de massa de biodiesel em que o método otimizado permite a digestão completa da amostra;
- Estudar relação entre os volumes de ácido clorídrico (HCl) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a serem empregados, tanto na utilização do banho de ultrassom, como no emprego da sonda de ultrassom objetivando o menor consumo deles;
- Comparar a eficiência de extração dos metais e /ou digestão da amostra aplicando o banho e a sonda de ultrassom;



Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica
UFU - Santa Mônica - Uberlândia



CAPITULO - 3

PROCEDIMENTO

EXPERIMENTAL

Epígrafe

"Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer."

Albert Einstein

3- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 -- Equipamentos e Materiais

3.1.1 - *Sistema eletroquímico*

As medidas potenciométricas e voltamétricas foram feitas em um potenciómetro/galvanostato Micro Autolab tipo III (EcoChemie, Utrecht, Netherlands) e software GPES 4.9 interfaceado a um microcomputador Celeron D Intel (memória RAM de 4,0 Gb, sistema Operacional Windows).

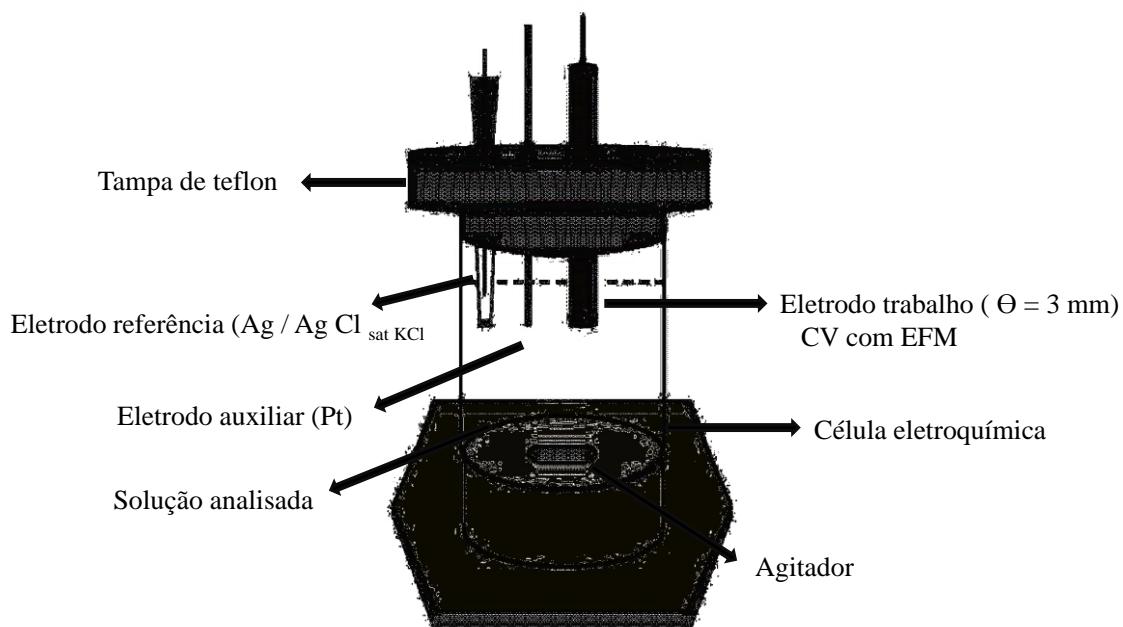
3.1.2 - *pH-metro*

As medidas de pH foram realizadas em um pHmetro digital Quimis modelo Q400A, com eletrodo combinado de vidro à uma temperatura de 25°C.

3.1.3 - *Célula eletroquímica e eletrodos*

As medidas voltamétricas foram realizadas em células de vidro pirex, com capacidade de 10 mL, contendo um EFM (eletrodo de trabalho) depositado eletrodicamente sobre um eletrodo de carbono vítreo. Um fio de platina foi empregado como eletrodo auxiliar e o eletrodo de Ag/AgCl foi empregado como eletrodo de referência (FIGURA 17).

O eletrodo de referência Ag/AgCl/KCl(sat) foi construído no próprio laboratório, empregando um fio de prata recoberto por AgCl posicionado no interior de uma ponteira da Eppendorf, de 10 a 100 μ L. Esta é preenchida com solução de KCl saturada, contendo também íons Ag^+ (aq). A ponta porosa deste eletrodo foi obtida com a fixação de material microporoso (utilizado separador de baterias) sob pressão no interior (na extremidade inferior) da ponteira (PEDROTTI et al, 1996; SILVA et al., 1998 e 2000; RICHTER et al, 2003). Destaque-se aqui, que todos os potenciais apresentados nesta tese são referidos em relação a este eletrodo.



Fonte: Autor

Figura 17: Representação de célula eletroquímica típica composta por um sistema de três eletrodos: Trabalho (EFM), auxiliar (Pt) e referência (Ag/AgCl).

3.1.3.1 - *Eletrodo de trabalho*

O eletrodo de carbono vítreo ($\varnothing = 3,0$ mm) apresenta propriedades de adsorver compostos orgânicos em sua superfície, além de ser um substrato inerte, possibilitando o estudo de processos eletródicos e como eletrodo quimicamente modificado (EQMs).

A modificação da superfície do eletrodo foi realizada de acordo com os procedimentos descritos posteriormente (3.3.4), apresentando uma boa adsorção do filme de mercúrio na sua superfície.

3.1.4 - *Banho de ultrassom*

Um banho ultrassônico UltraCleaner Unique, modelo 1650A (com módulo de aquecimento) operando em frequência de 40 kHz com potência de 120 W, foi utilizado para as digestões /extrações de metais do biodiesel.

Frascos de vidro (Pyrex Nº. 9825) com capacidade interna de 20 mL e 50 mL respectivamente com tampas rosqueáveis foram utilizados nos processos de digestão/extração em

banho e sonda de ultrassom (FIGURA 18). Estes frascos foram lavados com água deionizada e condicionados em solução ácida conforme descrito no item 3.3.1 previamente as digestões.



Figura 18 - A) Banho de ultrassom e B) frascos de vidro empregado para digestão das amostras nos experimentos.

3.2 - Reagentes e Soluções

Todos os reagentes e padrões de metais utilizados para o preparo das soluções foram de pureza analítica e de procedência MERCK, VETEC, SYNTH, QUIMILAB, AUDAZ. As soluções foram preparadas em água deionizada e purificada em um sistema NANOPURE Thermo Scientific, modelo 11901 ($R \geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).

Os seguintes reagentes e soluções foram usados no presente trabalho:

- ❖ Etanol P.A. (99,5 % v/v)
- ❖ Ácido acético (HAc) P.A. (99 % v/v)
- ❖ Acetato de sódio (NaAc) P.A. (98% v/v) (Solução aquosa 0,5 mol L⁻¹)
- ❖ Tampão ácido acético / Acetato de sódio (HAc/NaHAc) (Solução aquosa 0,1 mol L⁻¹)
- ❖ Ácido clorídrico P.A. (37% v/v)
- ❖ Ácido nítrico P.A. (65% v/v)
- ❖ Peróxido de hidrogênio (30% v/v)
- ❖ Solução aquosa de ácido nítrico (1% e 10% v/v)
- ❖ Solução padrão de zinco (Tritisol) 1000,0 mg L⁻¹ (50,0 mg L⁻¹; 10,0 mg L⁻¹; 5,0 mg L⁻¹)
- ❖ Solução padrão de cádmio (Tritisol) 1000,0 mg L⁻¹ (50,0 mg L⁻¹; 10,0 mg L⁻¹; 5,0 mg L⁻¹)
- ❖ Solução padrão de chumbo (Tritisol) 1000,0 mg L⁻¹ (50,0 mg L⁻¹; 10,0 mg L⁻¹; 5,0 mg L⁻¹)
- ❖ Solução padrão de cobre (Tritisol) 1000,0 mg L⁻¹ (50,0 mg L⁻¹; 10,0 mg L⁻¹; 5,0 mg L⁻¹)

- ❖ Solução padrão de mercúrio (Tritisol) 1000,0 mg L⁻¹ (100,0 mg L⁻¹)

3.2.1 - Solução de eletrólito suporte

A solução de eletrólito suporte (tampão HAc/NaAc 0,1 mol L⁻¹) foi preparada diluindo-se 5,72 mL de ácido acético e 8,203 g de acetado de sódio em água deionizada ($R \geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) suficiente para um volume de 1000 mL (MORITA et al., 2007).

3.2.2 - Solução padrão de metais

Utilizando-se soluções padrões concentradas (1000,0 mg L⁻¹) dos metais Zn²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺ e Cu²⁺, foram preparadas soluções hidroetanólicas (contendo entre 75 e 99,5% etanol P.A) padrão individuais dos metais nas concentrações de 250,0 mg L⁻¹; 125,0 mg L⁻¹; 100,0 mg L⁻¹; 50,0 mg L⁻¹; 38,0 mg L⁻¹; 23,0 mg L⁻¹; 10,0 mg L⁻¹ e 5,0 mg L⁻¹, respectivamente. Todas as soluções preparadas foram acidificadas com solução aquosa 1% v/v de ácido nítrico. As alíquotas necessárias para o preparo das soluções foram medidas com micropipetas “Digi-ped” com capacidades nas faixas de 5 a 10 µL, de 10 a 100 µL e 100 a 1000 µL, respectivamente.

3.2.3 - Solução padrão de mercúrio

No preparo do EFM foi utilizada como solução estoque, uma solução padrão de Hg²⁺ com concentração em íons mercúrio de 100,00 mg L⁻¹ ($4,99 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) acidificada com solução aquosa 1% v/v de ácido nítrico. A partir desta solução foi feita a diluição no eletrólito suporte para o preparo do EFM.

3.3 - Procedimentos e medidas experimentais

3.3.1 - Limpeza dos materiais e vidrarias

Todos os materiais utilizados nos experimentos, como por exemplo, célula eletroquímica, ponteiras, barras magnéticas, balões volumétricos, bêckeres e pipetas volumétricas,

foram deixados por 24 horas em uma solução aquosa 10% (v/v) de ácido nítrico e lavados com água purificada desionizada ($R \geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) antes da utilização.

3.3.2 - Aquisição e armazenamento das amostras de biodiesel

As amostras de biodiesel (B100), produzidas a partir de óleo de soja usando metanol e NaOH pela reação de transesterificação, empregadas no estudo foram gentilmente cedidas pela EMPRESA CARAMURU ALIMENTOS (Unidade de São Simão – GO) ao longo dos anos de 2011 a 2015, sendo estas coletadas sempre ao final do processo incluindo o laudo físico-químico de qualidade. Biodiesel produzido a partir de sebo bovino foi também cedido pela EMPRESA CARAMURU. As amostras foram preservadas em frascos de polietileno e de vidro (âmbar) com batoque entre a tampa (polietileno) com rosca em temperatura ambiente de laboratório (20 a 25 °C). A amostra obtida em 2011 foi usada para a otimização do processo de digestão assistida por ultrassom (banho e sonda).

Alguns biodieseis (algodão, canola, macaúba, girassol e óleo residual de fritura) foram produzidos no próprio laboratório por meio da reação de transesterificação com metanol e KOH usando óleos comerciais e usados (de fritura).

3.3.2.1 - Parâmetros físico-químicos da amostra

As amostras de biodiesel em estudo encontram-se de acordo com os parâmetros de qualidade controlados e especificados pela Agência Nacional de Petróleo e Gás (ANP) conforme consta no ANEXO 1. As amostras produzidas em laboratório também estavam dentro das especificações da ANP, e os valores obtidos para cada parâmetro estão publicados na literatura (SERQUEIRA *et al.*, 2015).

3.3.3 - Pré-tratamento da superfície do eletrodo de carbono vítreo

Para a limpeza da superfície do eletrodo de carbono vítreo, foi inicialmente submetido a um polimento manual, em suspensão de alumina de 0,3 µm. Em seguida, o eletrodo foi lavado com água purificada e, logo após, imerso em água submetida ao banho ultrassom durante 10 minutos, para remoção de possíveis partículas de alumina da superfície do eletrodo.

3.3.4 - Preparação do EFM

Para o preparo do EFM foi utilizado o procedimento *ex-situ*. Neste, a preparação do EFM é realizada fora da célula que contém a amostra.

A deposição eletroquímica do filme de mercúrio foi realizada sobre um eletrodo de carbono vítreo adicionando 10 mL de solução padrão de Hg^{2+} 1,0 mmol L⁻¹ em 0,1 mol L⁻¹ de HCl (aq) aplicando-se um potencial de -800 mV por 5 min, utilizando agitação mecânica (~ 1500 rpm) com barra magnética adequada ao tamanho da célula eletroquímica. Todavia, a cada análise, foi preparado um novo EFM.

Após a formação do filme, o eletrodo foi lavado com água desionizada e deixado em solução do eletrólito suporte até a realização das medidas eletroquímica mediante agitação magnética (~ 1500 rpm) com barra magnética adequada ao tamanho da célula eletroquímica.

3.3.5 - Composição do meio reacional

Para a realização das medidas potenciométricas e voltamétricas foram realizados um estudo das amostras em função da resposta potenciométrica e voltamétrica (forma e definição dos picos) no meio reacional buscando uma resposta adequada para a presença de cada metal. Durante esse estudo, definiu-se o tampão NaAc/HAc como sendo eletrólito suporte ideal.

3.3.6 – Medidas eletroquímicas

A análise das amostras digeridas de biodiesel fortificadas com soluções etanólicas de zinco e zinco + cádmio foi realizada por potenciometria de redissolução (PSA) aplicando-se um potencial de deposição de -1,4 V por 30 s, usando oxigênio dissolvido como agente oxidante dos metais.

Depois de otimizada as condições de digestão assistida por banho de ultrassom das amostras contendo zinco e zinco + cádmio, obteve-se a digestão da amostra de biodiesel fortificada simultaneamente com soluções etanólicas dos quatro metais (Zn, Cd, Pb e Cu). As análises foram obtidas aplicando-se voltametria de redissolução anódica de onda quadrada (SWASV do inglês: *square-wave anodic stripping voltammetry*) com os seguintes parâmetros (TABELA 2). Todas as determinações foram realizadas usando-se o método de adição de padrão.

Tabela 2 – Parâmetros empregados na determinação de Zn, Cd, Pb e Cu por SWASV em amostras de biodiesel digeridas empregando banho de ultrassom.

Parâmetros da técnica (unidades)	Unidades	Valores
Potencial de condicionamento	Volts	- 0,05
Tempo de condicionamento	Segundos (s)	20,0
Potencial de deposição	Volts (V)	- 1,4
Tempo de deposição	Segundos (s)	30,0
Tempo de equilíbrio	Segundos (s)	5,0
Frequência	Hertz (Hz)	20,0
Potencial inicial	Volts(V)	- 1,4
Potencial Final	Volts(V)	- 0,05
Intervalo	Volts(V)	0,008
Amplitude	Volts (V)	0,025

Fonte: Autor

3.3.7 – Otimização das condições de digestão empregando banho de ultrassom

Na otimização das variáveis, volume de ácido clorídrico e peróxido de hidrogênio empregado no processo de digestão (adotando-se o tempo máximo de sonicação do equipamento de 30 minutos) das amostras de biodiesel, empregou-se um planejamento fatorial composto central completo (compreendido por 11 experimentos com triplicata no ponto central) 2^2 tipo estrela. Adotou-se neste, como níveis baixo e alto, para os volumes de HCl e H₂O₂ 2,0 e 4,0 mL, respectivamente, como apresentado na Tabela 3.

Otimizada as variáveis, volume de ácido clorídrico e de peróxido de hidrogênio a ser empregados no processo de digestão das amostras de biodiesel, fez-se um novo planejamento fatorial composto central completo (compreendido por 11 experimentos com triplicatas no ponto central) 2^2 tipo estrela, a fim de delinear a influência das variáveis tempo de sonicação e temperatura da água do banho. Para isto, adotou-se como níveis baixo e alto, respectivamente, para o tempo (20 e 40 minutos) e temperatura do banho (20 e 40°C) conforme Tabela 4.

Tabela 3 - Matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização dos volumes de HCl e H₂O₂ consumidos no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro.

<u>Variáveis</u>	<u>Níveis</u>			
	Baixo (-)	Alto (+)		
X[Volume de ácido Clorídrico (mL)]	2,0	4,0		
Y[Volume Peróxido de Hidrogênio (mL)]	2,0	4,0		
<u>Variáveis escalonadas</u>		<u>Variáveis reais (mL)</u>		
<u>Experimentos</u>	X	Y	X	Y
1	-1,0	-1,0	2,0	2,0
2	1,0	-1,0	4,0	2,0
3	-1,0	1,0	2,0	4,0
4	1,0	1,0	4,0	4,0
5	0,0	0,0	3,0	3,0
6	0,0	0,0	3,0	3,0
7	0,0	0,0	3,0	3,0
8	-1,41	0,0	1,6	3,0
9	1,41	0,0	4,4	3,0
10	0,0	-1,41	3,0	1,6
11	0,0	1,41	3,0	4,4

Fonte: Autor

**Equações de escalonamento*

$$X = [(V_{HCl} - 3,0) / (1,0)] \text{ e } Y = [(V_{H_2O_2} - 3,0) / (1,0)]$$

Tabela 4 - Matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização do tempo de sonicação e temperatura a ser empregado no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro.

<u>Variáveis</u>	Níveis			
	Baixo (-)	Alto (+)		
X [Tempo de sonicação (min)]	20,0	40,0		
Y [Temperatura do banho (°C)]	20,0	40,0		
Variáveis escalonadas		Variáveis reais		
Experimentos	X	Y	X	Y
1	-1,0	-1,0	20,0	20,0
2	1,0	-1,0	40,0	20,0
3	-1,0	1,0	20,0	40,0
4	1,0	1,0	40,0	40,0
5	0,0	0,0	30,0	30,0
6	0,0	0,0	30,0	30,0
7	0,0	0,0	30,0	30,0
8	-1,41	0,0	15,9	30,0
9	1,41	0,0	44,1	30,0
10	0,0	-1,41	30,0	15,9
11	0,0	1,41	30,0	44,1

Fonte: Autor

- *Variáveis reais* – X (tempo de sonicação), minutos e Y (Temperatura do banho), °C.

*Equações de escalonamento

$$X = [(tempo - 30,0) / (10,0)] \text{ e } Y = [(T \text{ } ^\circ\text{C} - 30,0) / (10,0)]$$

A massa de 50, 100, 150, 200 e 250 mg de biodiesel foi otimizada univariadamente, empregando as condições de ótimo encontrada anteriormente para todas as variáveis otimizadas em planejamento fatorial, a fim de obter a massa em que a digestão é completa. Esta experimentação ocorreu com os tubos digestores abertos e fechados hermeticamente.

Após sonicação de 50,0 mg de biodiesel puro (B100) nas condições de ótimo encontrado, os digeridos foram deixados em repouso durante cerca de 20 minutos à temperatura

ambiente. Alíquotas de 1,0 mL do digerido foram diluídas em 14,0 mL de acetato de sódio 0,5 mol L⁻¹. Deste diluído, retirou-se uma alíquota de 5,0 mL, elevando seu volume a 10,0 mL na célula eletroquímica por meio da adição de 5,0 mL de solução tampão HAc/NaAc 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, procederam-se as leituras via redissolução anódica potenciométrica e voltamétrica.

3.3.8 – Otimização das condições de digestão empregando sonda ultrassônica

Na otimização das variáveis, tempo de sonicação (minutos) e amplitude (%) empregado no processo de digestão (adotando-se o tempo máximo de sonicação de 20 minutos) das amostras de biodiesel via sonda de ultrassom, utilizou-se um planejamento fatorial composto central completo 2² tipo estrela. Adotou-se como níveis baixo e alto, para o tempo de sonicação 5,0 e 20,0 minutos, respectivamente, e 15,0 e 35,0 %, respectivamente para amplitude (TABELA 5).

Tabela 5 - Matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização do tempo de sonicação e amplitude a ser empregado no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro empregando sonda ultrassônica.

<u>Variáveis</u>	Níveis			
	Baixo (-)	Alto (+)		
X [Tempo de sonicação (min)]	5,0	20,0		
Y [Amplitude (%)]	15,0	35,0		
Variáveis escalonadas		Variáveis reais		
Experimentos	X	Y	X	Y
1	-1,0	-1,0	5,0	15,0
2	1,0	-1,0	20,0	15,0
3	-1,0	1,0	5,0	35,0
4	1,0	1,0	20,0	35,0
5	0,0	0,0	12,5	25,0
6	0,0	0,0	12,5	25,0
7	0,0	0,0	12,5	25,0
8	-1,41	0,0	1,89	25,0
9	1,41	0,0	23,1	25,0
10	0,0	-1,44	12,5	10,85
11	0,0	1,44	12,5	39,0

Fonte: Autor

- *Variáveis reais* – X (tempo de sonicação), minutos e Y (Amplitude), %

**Equações de escalonamento*

$$X = [(tempo(min) - 12,5) / (7,5)] \text{ e } Y = [(Ampl \%) - 25,0] / (10,0)$$

Fixando-se as variáveis, tempo de sonicação e amplitude a ser empregado no processo de digestão das amostras, empregou-se um novo planejamento fatorial composto central completo 2^2 tipo estrela, a fim de verificar a influência das variáveis volumes de ácido clorídrico e peróxido de hidrogênio no processo de pré-tratamento. Adotou-se para isto, como níveis baixo e alto, os volumes de HCl e H₂O₂ de 2,0 e 4,0 mL, respectivamente (TABELA 6).

Tabela 6 - Matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2² completo tipo estrela (CCD) visando a otimização dos volumes de HCl e H₂O₂ consumidos no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro empregando sonda ultrassônica.

<u>Variáveis</u>	Níveis			
	Baixo (-)	Alto (+)		
X[Volume de ácido clorídrico (mL)]	2,0	4,0		
Y[Volume Peróxido de hidrogênio (mL)]	2,0	4,0		
<u>Variáveis escalonadas</u>		<u>Variáveis reais (mL)</u>		
<u>Experimentos</u>	X	Y	X	Y
1	-1,0	-1,0	2,0	2,0
2	1,0	-1,0	4,0	2,0
3	-1,0	1,0	2,0	4,0
4	1,0	1,0	4,0	4,0
5	0,0	0,0	3,0	3,0
6	0,0	0,0	3,0	3,0
7	0,0	0,0	3,0	3,0
8	-1,41	0,0	1,59	3,0
9	1,41	0,0	4,41	3,0
10	0,0	-1,41	3,0	1,59
11	0,0	1,41	3,0	4,41

Fonte: Autor

**Equações de escalonamento*

$$X = [(V_{HCl} - 3,0) / (1,0)] \text{ e } Y = [(V_{H2O2} - 3,0) / (1,0)]$$

Após sonicação de 100,0 mg de biodiesel puro (B100) nas condições de ótimo encontrado, os digeridos foram deixados em repouso durante cerca de 20 minutos à temperatura ambiente, e alíquotas de 1,0 mL do digerido foram diluídas em 14,0 mL de acetato de sódio 0,5 mol L⁻¹. Deste diluído, retirou-se 5,0 mL, elevando seu volume a 10,0 mL na célula elektroquímica por meio da adição de 5,0 mL de solução tampão HAc/NaAc 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, procederam-se as leituras via redissolução anódica potenciométrica e voltamétrica.

3.3.9 – Testes de adição e recuperação

Para o estudo de adição e recuperação do metal (is) em amostras de biodiesel, as mesmas foram fortificadas por meio de adição de soluções etanólicas de concentração conhecida preparadas a partir de soluções padrões de 1000,0 mg L⁻¹.

3.3.10 – Determinação do teor de carbono residual nos digeridos

Empregando-se uma massa fixa (TABELA 7) de diversas amostras de biodiesel puro (B100) sintetizado a partir de diferentes matérias primas, procedeu-se a digestão empregando banho e sonda de ultrassom. As digestões foram efetuadas empregando todas as variáveis otimizadas (condição satisfatória) nos estudos anteriores. Os digeridos foram diluídos para 20,0 mL com água desionizada. Em seguida, as amostras foram pré-filtradas com um filtro Millex LCR, e em seguida, colocadas no compartimento de amostra.

A medição do teor de carbono residual (% RCC) foi realizada em um analisador de carbono orgânico total (TOC) Shimadzu TOC-CVSP / CPN, equipado com amostrador automático ASI-V. As amostras foram introduzidas automaticamente em um tubo de combustão e aquecida a 680 °C. Em seguida, foram arrastadas por gás oxigênio a uma taxa de 150 mL/min, resultando em uma combustão completa.

Tabela 7 – Massa de biodiesel empregada nas análises de teor de carbono residual encontrado após digestão em banho de ultrassom.

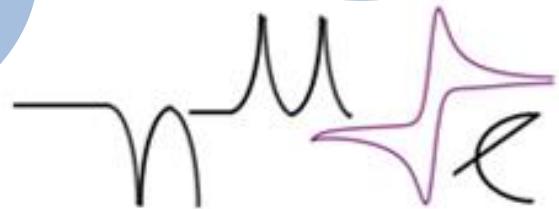
Amostras de Biodiesel	Banco de ultrassom		Sonda de ultrassom
	Massa (mg) de amostra de biodiesel digerida		Massa (mg) de amostra de biodiesel digerida
	Frascos		Frascos
Amostras de Biodiesel	Aberto	Fechado	Aberto
Sebo	50,0	50,0	102,0
Canola	50,4	50,1	100,0
Girassol	50,1	50,0	100,0
Milho	50,5	50,4	100,0
Residual	50,0	50,0	100,0
Algodão	50,1	50,5	100,0
Soja	50,0	50,0	100,0

Fonte: Autor

**Condições experimentais:*

- Banco de ultrassom: foram empregados 3,0 mL de HCl (P.A.) e 4,4 mL de H₂O₂ (30%), tempo de sonicação de 40,0 minutos e temperatura de 25°C.
- Sonda de ultrassom: foram empregados 1,59 mL de HCl (P.A.) e 3,0 mL de H₂O₂ (30%), tempo de sonicação de 12,5 minutos e amplitude de 25 % com tempo de pulso de 5,0 segundos em intervalo 2,0 s.

Depois de ocorrida a combustão da amostra, os produtos foram carregados ao desumidificador (aquecidos e secos). O gás de arraste carreou os produtos da combustão através de um tubo em que cloro e outros halogenados foram removidos. Finalmente então, o gás de arraste transporta os produtos até uma célula de amostragem, onde o dióxido de carbono (CO₂) gasoso é detectado e quantificado por radiação infravermelha (IR).



Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica
UFU - Santa Mônica - Uberlândia



CAPITULO - 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Epígrafe

"O ser humano vivencia a si mesmo, seus pensamentos, como algo separado do resto do universo - numa espécie de ilusão de ótica de sua consciência. E essa ilusão é um tipo de prisão que nos restringe a nossos desejos pessoais, conceitos e ao afeto apenas pelas pessoas mais próximas. Nossa principal tarefa é a de nos livrarmos dessa prisão, ampliando o nosso círculo de compaixão, para que ele abranja todos os seres vivos e toda a natureza em sua beleza. Ninguém conseguirá atingir completamente este objetivo, mas lutar pela sua realização já é por si só parte de nossa liberação e o alicerce de nossa segurança interior".

Albert Einstein

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Radiação ultrassônica

Como destacado na revisão bibliográfica, a energia ultrassônica vem sendo largamente utilizada no preparo de amostras (KORN *et al.*, 2003). Essa fonte de energia de baixo custo pode ser obtida por meios de banhos e sondas ultrassônicas comumente encontrados em laboratórios não apenas de química. Não sendo diferente, no laboratório do núcleo de pesquisas em eletroanalítica (NUPE), um banho (3,0 litros de capacidade) e uma sonda ultrassônica de bancada foram avaliados no estudo da extração de metais em biodiesel.

Todavia, a energia ultrassônica dos banhos não é distribuída uniformemente. Apenas algumas regiões do banho proporcionam os efeitos de cavitação. O perfil de intensidade ultrassônica nos banhos depende inteiramente da localização dos transdutores, ou seja, dos cristais piezoelétricos (NASCENTES *et al.*, 2001). Desta forma, previamente ao uso, a eficiência do banho de ultrassom foi avaliada por meio de um teste empregando uma folha de alumínio. Esta foi colocada ao fundo do banho (em contato com o metal) e, em seguida adicionado água, e logo após, acionou-se o ultrassom. Em poucos segundos foi observada a perfuração da folha de alumínio, sendo mais intenso este processo sobre a região dos cristais piezoelétricos, possibilitado pelo maior efeito da cavitação (FIGURA 19). Caso não fosse observado este fenômeno em poucos segundos, poder-se-ia concluir que o banho de ultrassom não estava em condições adequadas para este tipo de aplicação.



Figura 19 – Avaliação da distribuição da energia no banho de ultrassom. A) disposição do papel alumínio, B) Apresentação das regiões de maior perfuração da folha de alumínio provocada pelo piezoelétricos.

Este teste permitiu a escolha das regiões, que apresentaram a maior concentração de perfuração na folha de alumínio, no interior da cavidade do banho. Nesta região, a radiação é mais intensa, possibilitando assim um melhor aproveitamento dessa radiação. Assim, as amostras a serem digeridas foram colocadas nestas regiões, permitindo deste modo que, o processo de digestão fosse mais eficiente. No caso da sonda ultrassônica, este teste não é necessário, já que a radiação concentra-se na ponta da ponteira, a qual é mergulhada diretamente na amostra, de forma que receba toda a energia dissipada.

4.2 - Extração de metais em combustíveis empregando banho de ultrassom

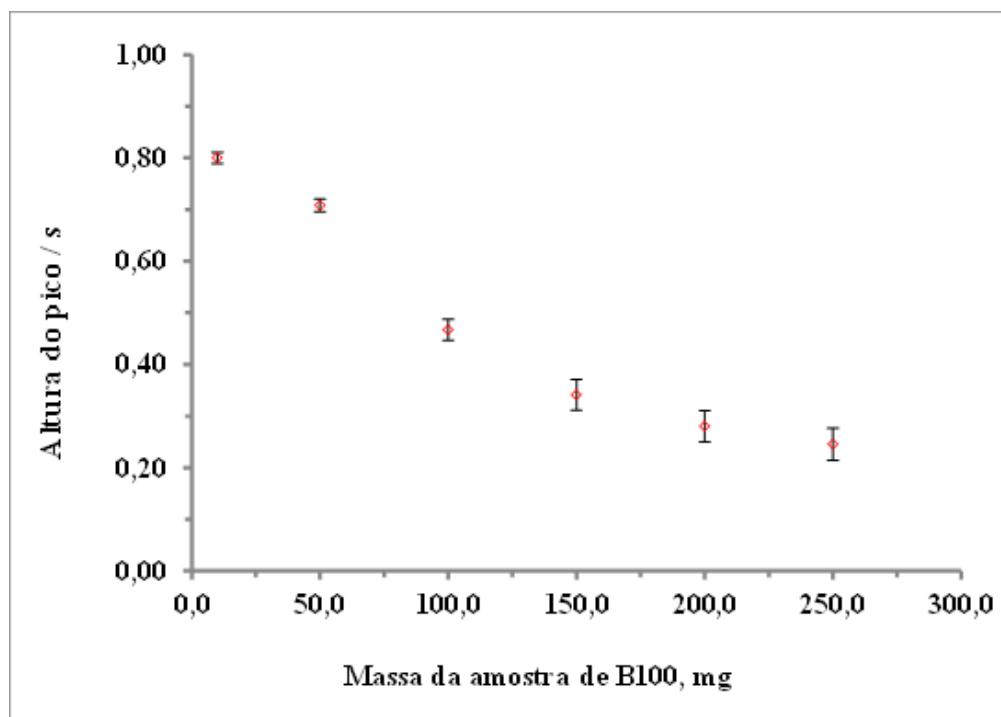
Antes de iniciar os testes, alguns parâmetros analíticos foram pré-definidos, como a massa de amostra a ser estudada, a composição da solução extratora e o tempo de sonicação. Essas variáveis foram escolhidas em função de outros trabalhos que empregam a sonicação no processo de preparo de amostras de combustíveis e de óleos vegetais, visando à extração acelerada de metais (MUNOZ *et al.*, 2006; KAZI *et al.*, 2009; HATJE *et al.*, 2009, FERREIRA e BARBEIRA, 2006).

MUNOZ *et al.*, (2006) descreveram o uso da mistura oxidante composta por H_2O_2 (30%) e $HCl_{(Conc)}$ para a extração assistida por ultrassom de metais em óleos lubrificantes (MUNOZ *et al.*, 2006). Neste estudo, verificou-se que o emprego do HNO_3 no tratamento de amostras orgânicas, como óleos e gorduras, provoca a formação de nitro-compostos que impedem a determinação de metais por técnicas eletroquímicas de redissolução com exatidão (estes compostos são eletroativos e podem se adsorver na superfície do eletrodo de trabalho). Os autores relatam também que ao empregar somente $HCl_{(Conc)}$ ou H_2O_2 (30%) não foi possível obter uma extração eficiente; contudo, ao combinar a ação oxidante do H_2O_2 (30%), alcançaram uma eficiência na extração, além de uma clarificação do resíduo de óleo não digerido (ação oxidante do H_2O_2).

Os estudos iniciais desta tese foram voltados à extração de zinco, por ser um metal constituinte das ligas dos materiais de armazenamento, transporte, fertilizantes e catalisadores empregados no processo de produção do biodiesel, como relatado na revisão bibliográfica (COSTA *et al.*, 2005, KNOTHE *et al.*, 2006, QUADROS *et al.*, 2011, LIMA *et al.*, 2011 e 2015). Inicialmente, as análises das soluções foram realizadas (em triplicata) por redissolução potenciométrica, visando à determinação do metal, uma vez que esta técnica é menos sujeita à interferência de compostos orgânicos que se adsorvem à superfície do eletrodo, o que provo-

caria a falta de repetibilidade do sinal analítico, ou mesmo, o bloqueio do eletrodo (JAGNER *et al.*, 1976; RENMAN *et al.*, 1986).

Empregando-se um tempo de sonicação de 30 minutos em temperatura ambiente do banho de ultrassom e uma mistura de 2,0 mL de HCl e 2,0 mL de H₂O₂, como empregado por Munoz (MUNOZ *et al.*, 2006), fez-se o estudo da otimização (maximização) da massa de biodiesel em triplicatas, a ser empregada nos estudos (FIGURA 20). Os frascos de vidro contendo a massa de amostra foram arranjados em um suporte metálico com capacidade para 20 tubos e inserido na cavidade do banho preenchido com água em sua capacidade máxima (3 L) recomendada no equipamento. Neste estudo inicial, uma amostra de biodiesel de soja foi tratada com a mistura previamente descrita na literatura.



Fonte: Autor

Figura 20 - Otimização da massa de biodiesel a ser empregada na extração de zinco empregando banho de ultrassom (n= 3).

- Condições de realização do experimento
- Tempo de sonicação 30,0 minutos.
- Volume de HCl de 2,0 mL
- Volume de H₂O₂ de 2,0 mL.
- Função de temperatura do banho em modo desligado.

Observa-se por meio da análise da Figura 20 que, à medida há o aumento da massa da amostra empregada, existe uma diminuição na extração do metal, tendendo a uma constante a partir de 150,0 mg. Provavelmente isto é associado à saturação dos volumes dos reagentes extractores. Todavia, ao empregar uma massa de amostra, variando de 10,0 a 50,0 mg, observou-se que poderia haver uma completa digestão dessas massas de amostra para os volumes de reagentes empregado. Este fato proporcionaria uma maior eficiência no processo de “extração” do metal, além de possibilitar uma economia de reagentes. Diante isto, adotou-se o valor de massa de 50,0 mg de amostra de biodiesel como o valor máximo passível de completa digestão para os estudos posteriores.

4.2.1 – Otimização das condições de digestão empregando banho de ultrassom

Diante da observação de que o volume de ácido clorídrico e peróxido de hidrogênio empregado ocasionou uma completa digestão de 50,0 mg de biodiesel, realizou-se um planejamento fatorial composto central completo (compreendido por 11 experimentos com triplicata no ponto central) 2^2 tipo estrela, conforme apresentada no experimental (TABELA 3) e visualizado por meio da Tabela 8 afim de estabelecer o volume ideal destes oxidantes a serem empregados nas digestões posteriores.

Tabela 8 – Matriz planejamento estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) com variáveis, níveis e resposta visando a otimização dos volumes de HCl e H₂O₂ consumidos no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro (B100) (n= 3).

Variáveis	Níveis				
	Baixo (-)	Alto (+)			
X[Volume de ácido clorídrico (mL)]	2,0	4,0			
Y[Volume Peróxido de hidrogênio (mL)]	2,0	4,0			
Variáveis escalonadas		Variáveis reais, mL			
Experimentos	X	Y	X	Y	Resposta*
1	-1,0	-1,0	2,0	2,0	$2,7 \pm 0,3$
2	1,0	-1,0	4,0	2,0	$3,8 \pm 0,4$
3	-1,0	1,0	2,0	4,0	$4,1 \pm 0,1$
4	1,0	1,0	4,0	4,0	$4,7 \pm 0,3$
5	0,0	0,0	3,0	3,0	$5,7 \pm 0,3$
6	0,0	0,0	3,0	3,0	$4,9 \pm 0,3$
7	0,0	0,0	3,0	3,0	$5,1 \pm 0,3$
8	-1,41	0,0	1,59	3,0	$3,8 \pm 0,1$
9	1,41	0,0	4,41	3,0	$4,8 \pm 0,1$
10	0,0	-1,41	3,0	1,59	$3,6 \pm 0,1$
11	0,0	1,41	3,0	4,41	$6,6 \pm 0,1$

Fonte: Autor

- Condições de realização do experimento
- Tempo de sonicação 30,0 minutos.
- Função de temperatura do banho em modo desligado
- Resposta em função da concentração de Zn ($\mu\text{g L}^{-1}$ de B100)

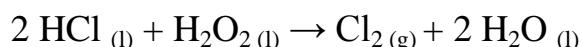
Empregando-se os valores da altura de pico para calcular as concentrações extraídas de zinco e um programa de regressão múltipla (STATISTICA), obteve-se a equação do modelo matemático polinomial (EQUAÇÃO 1), que descreve o comportamento da sensibilidade do sistema e a consequente influência dos volumes dos reagentes oxidantes empregados.

$$\text{Conc}_{(\text{Zn})} = 5,2459 + 0,3979 \text{ X} + 0,8069 \text{ Y} - 0,6573 \text{ X}^2 - 0,1136 \text{ XY} - 0,2939 \text{ Y}^2$$

Onde: X = volume (mL) de HCl (Conc.), Y = volume de H₂O₂ (mL) e concentração (Conc._{Zn}) de zinco em μg L⁻¹.

Equação polinomial 1 – Regressão múltipla gerado pelo software Statistica para otimização do volume de HCl e H₂O₂ com digestão em banho de ultrassom.

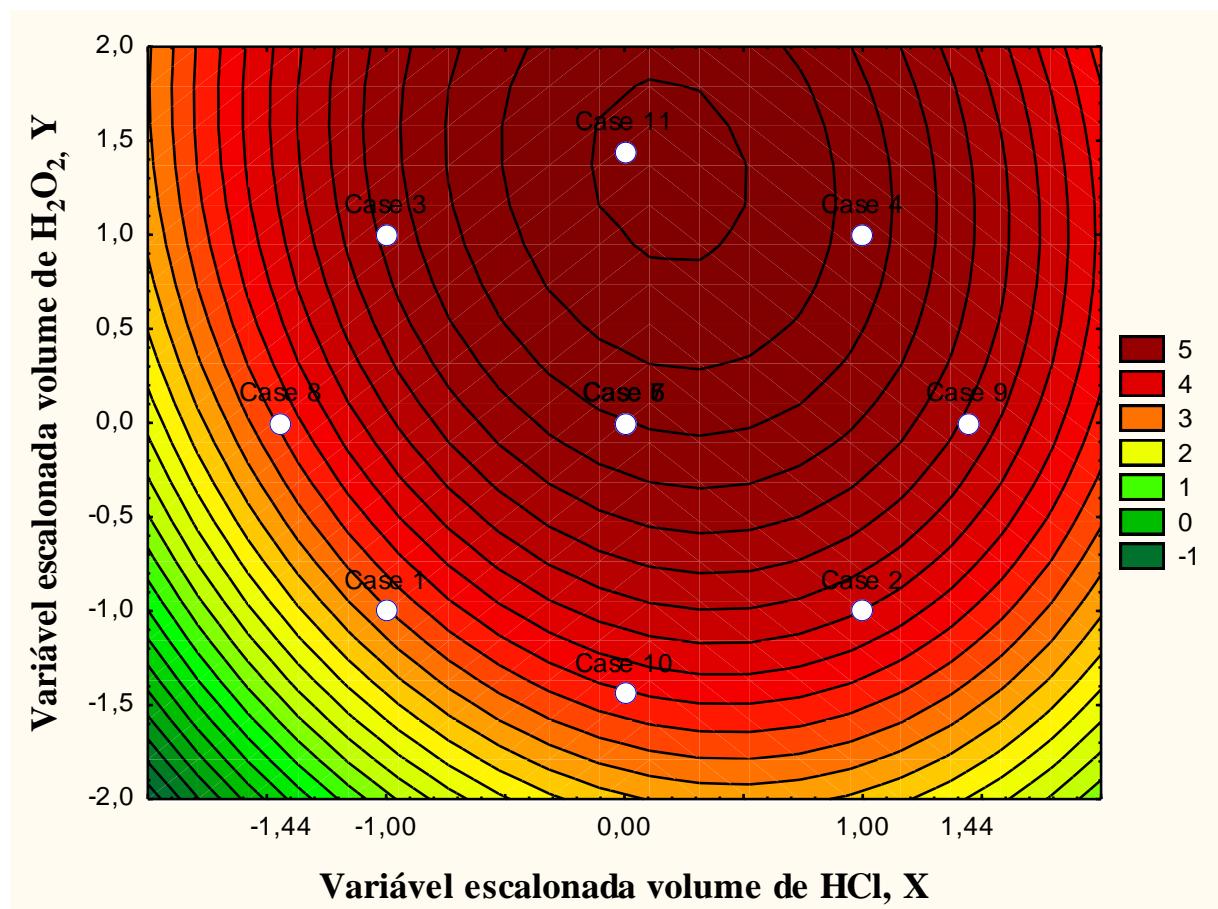
Observa-se através dos coeficientes da equação, que a interação (XY) entre os reagentes HCl e H₂O₂ é pouco significativa em relação aos efeitos das variáveis independentes X e Y. Isto provavelmente é explicado pelo fato do ácido reagir com o peróxido (EQUAÇÃO QUÍMICA 5) (KORN *et al.*, 2003).



Equação química 5 - Reação química entre o HCl e o H₂O₂.

Pode-se observar por meio da equação acima, que a mistura de ácido clorídrico com peróxido de hidrogênio favorece a formação de moléculas de cloro (KORN *et al.*, 2003), forte agente oxidante que possivelmente é um dos responsáveis pela digestão da matriz orgânica presente. Isto explicaria o processo de digestão ocorrido nas amostras.

A partir da equação matemática polinomial 1 e software computacional gráfico (STATISTICA 8.0) plotou-se as linhas de contorno e a superfície de resposta do modelo matemático (FIGURAS 21 e 22).

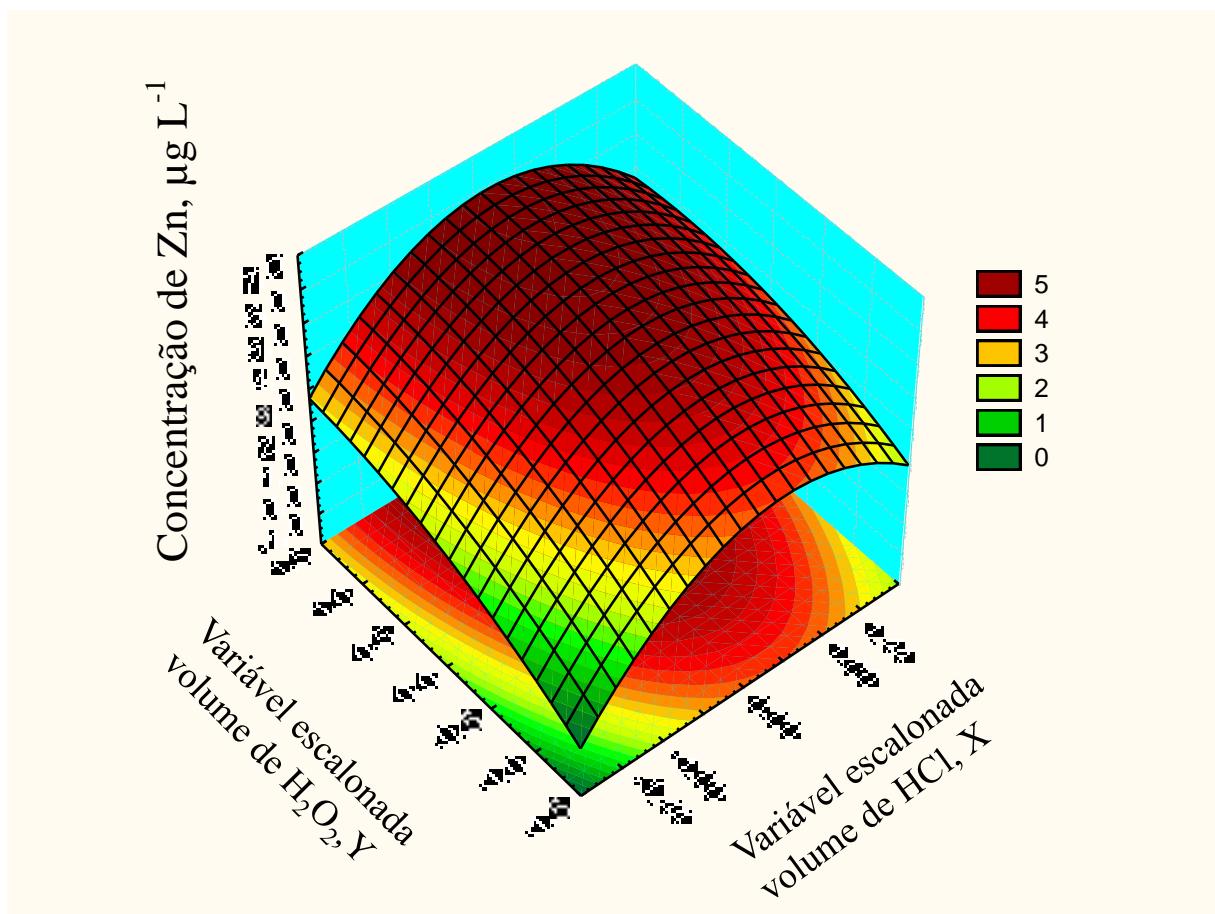


Fonte: Autor

Figura 21 - Linhas de contorno da superfície resposta para otimização dos volumes de HCl e H_2O_2 empregados na digestão de 50,0 mg de biodiesel puro enriquecido com zinco.

- Condições de realização do experimento
- Tempo de sonicação 30,0 minutos.
- Função de temperatura do banho em modo desligado
- Resposta em função da concentração de Zn ($\mu\text{g L}^{-1}$ de B100)

Pode-se observar também por meio da Figura 22 a superfície de resposta associada às linhas de contorno da Figura 21.



Fonte: Autor

Figura 22- Superfície de resposta para otimização dos volumes de HCl e H₂O₂ empregados na digestão de 50,0 mg de biodiesel puro enriquecido com zinco.

- *Condições de realização do experimento*
- *Tempo de sonicação 30,0 minutos.*
- *Função de temperatura do banho em modo desligado*
- *Resposta em função da concentração de Zn (µg L⁻¹ de B100)*

Por meio da análise das linhas de contorno e da superfície de respostas (FIGURAS 21 e 22), é possível concluir que a proporção que melhor contribui para o processo de digestão corresponde aos valores de 3,0 mL para HCl_(Conc.) e 4,4 mL para H₂O₂ (30%), o que corresponde a valores das variáveis escalonadas X= 0,0 e Y= 1,41 do planejamento experimental CCD (Experimento 11). A partir deste estudo, fixando-se a massa da amostra em 50,0 mg de B100, os volumes de HCl e H₂O₂ respectivamente em 3,0 e 4,4 mL, realizou-se um novo planejamento fatorial completo 2² afim de verificar uma possível influência do tempo de sonicação e da temperatura do banho no processo de digestão das

amostras do biocombustível (TABELA 4). Os resultados do estudo são apresentados na Tabela 9.

Empregando-se os valores da altura de pico proveniente das medidas potenciométricas para calcular as concentrações de íons zinco após o processo de digestão das amostras de B100 e um programa de regressão múltipla (STATISTICA 8.0), obteve-se a equação matemática polinomial para o modelo (EQUAÇÃO 2). Esta descreve a influência das variáveis analisadas o comportamento, e a consequente influência destas na sensibilidade do sistema.

$$\text{Conc.}_{\text{Zn}} = 19,2249 + 1,2856 \text{ X} - 0,8818 \text{ Y} - 0,3806 \text{ X}^2 - 3,208 \text{ XY} - 0,0659 \text{ Y}^2$$

Onde: $X = \text{tempo de sonicação (min.)}$, $Y = \text{Temperatura do banho (}^{\circ}\text{C)}$ e

Conc._{Zn} é a concentração de zinco em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Equação polinomial 2 – Regressão múltipla gerado pelo software Statistica para otimização do tempo de sonicação e temperatura do banho de ultrassom.

Observa-se por meio dos coeficientes da equação, que a interação (XY) entre variável tempo de sonicação (X) e temperatura da água do banho (Y) contribui de forma negativa ao sistema, quando comparada aos efeitos da variável independente X, a qual é bem significativa para o sistema, como pode ser analisada pelo valor de sua intensidade ante os outros valores. Isto sugere que um aumento desta pode melhorar ainda mais o processo de digestão.

Tabela 9 – Resposta da matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização do tempo de sonicação e temperatura a ser empregado no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro (n= 3).

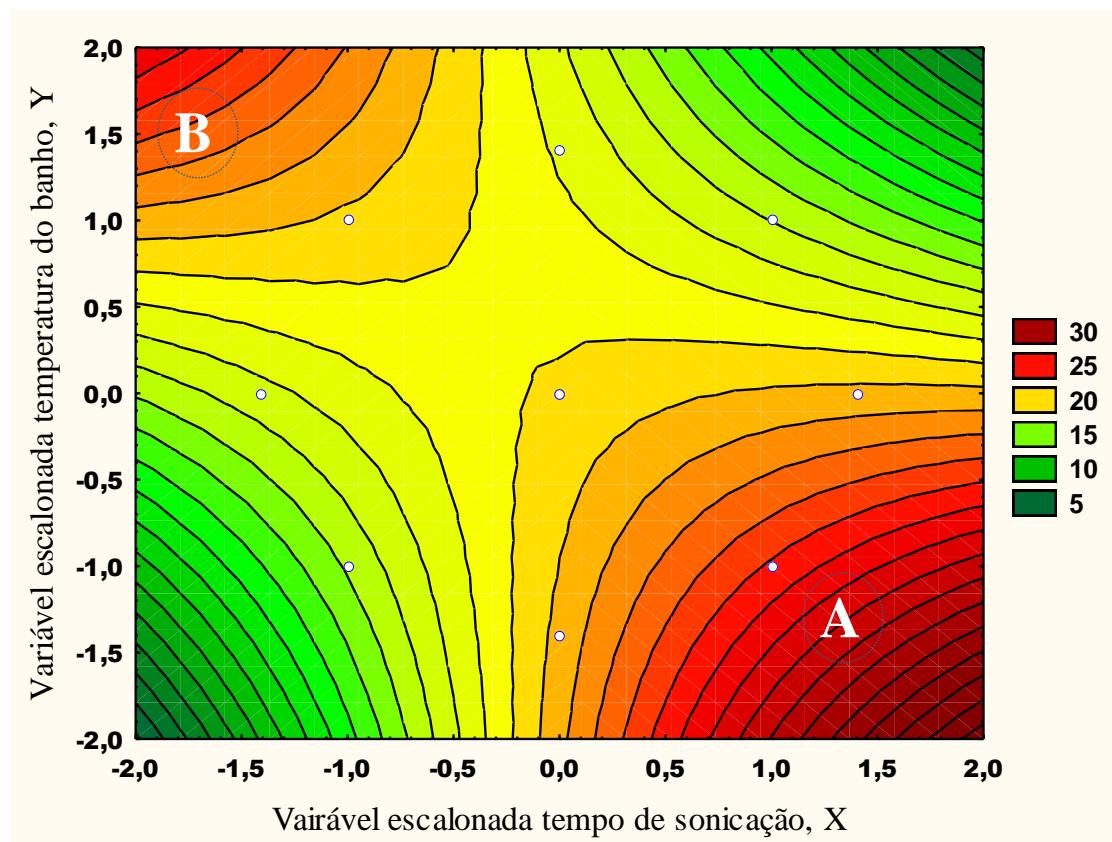
Variáveis	Níveis				
	Baixo (-)	Alto (+)			
X[Tempo de sonicação (min)]	20,0	40,0			
Y[Temperatura do banho (°C)]	20,0	40,0			
Variáveis escalonadas		Variáveis reais			
Experimentos	X	Y	X	Y	Resposta*
1	-1,0	-1,0	20,0	20,0	$13,1 \pm 0,4$
2	1,0	-1,0	40,0	20,0	$23,7 \pm 0,2$
3	-1,0	1,0	20,0	40,0	$20,4 \pm 0,3$
4	1,0	1,0	40,0	40,0	$20,3 \pm 0,2$
5	0,0	0,0	30,0	30,0	$20,0 \pm 0,3$
6	0,0	0,0	30,0	30,0	$19,5 \pm 0,3$
7	0,0	0,0	30,0	30,0	$18,7 \pm 0,3$
8	-1,41	0,0	15,9	30,0	$18,2 \pm 0,3$
9	1,41	0,0	44,1	30,0	$16,5 \pm 0,3$
10	0,0	-1,41	30,0	15,9	$21,1 \pm 0,3$
11	0,0	1,41	30,0	44,1	$14,8 \pm 0,4$

Fonte: Autor

- Condições de realização do experimento
- Massa da amostra B100 empregada de 50,0 mg
- Volume de HCl de 3,0 mL
- Volume de H₂O₂ de 4,4 mL
- Função de temperatura do banho em modo acionado e controlando a temperatura.
- Resposta em função da concentração de Zn (μg L⁻¹ de B100)

Observa-se também pela equação que a variável independente Y, temperatura do banho não é significante como X, causando um efeito antagônico ao sistema. Pode-se observar também um efeito negativo dos termos quadráticos para as variáveis X e Y. A partir

da equação matemática polinomial 2 e do software computacional STATISTICA 8.0 (for Windows) plotou-se as linhas de contorno e a superfície de resposta do modelo matemático (FIGURAS 23 e 24).

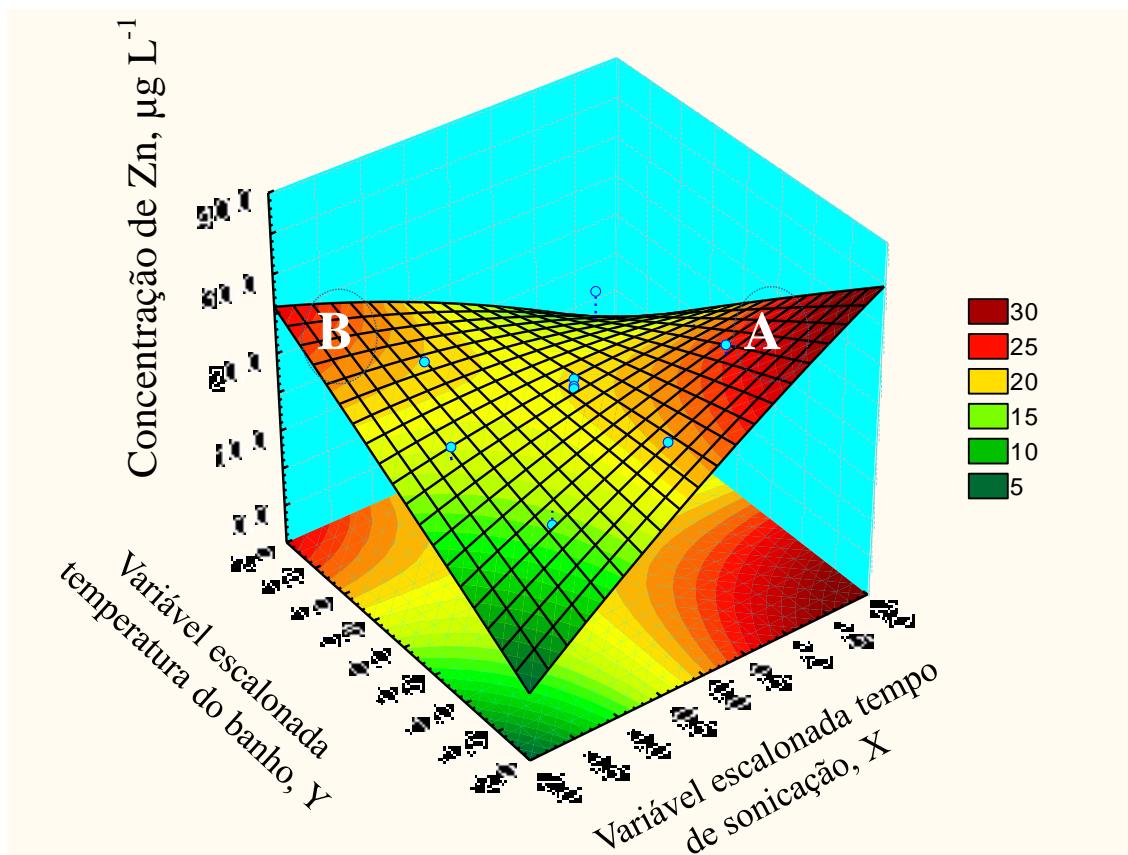


Fonte: Autor

Figura 23 - Linhas de Contorno da superfície de resposta para otimização do tempo de sonicação e temperatura da água do banho empregados na digestão de 50,0 mg de biodiesel puro com 3,0 mL de HCl e 4,4 mL de H₂O₂.

- Condições de realização do experimento
 - Massa da amostra B100 empregada de 50,0 mg
 - Volume de HCl de 3,0 mL
 - Volume de H₂O₂ de 4,4 mL.
 - Função de temperatura do banho em modo acionado e controlando a temperatura.
 - Resposta em função da concentração de Zn ($\mu\text{g L}^{-1}$ de B100)

Pode-se também por meio da Figura 24 observar a superfície de resposta associada às linhas de contorno.



Fonte: Autor

Figura 24- Superfície de resposta para otimização do tempo de sonicação e temperatura da água do banho empregado na digestão de 50,0 mg de biodiesel puro com 3,0 mL de HCl e 4,4 mL de H₂O₂.

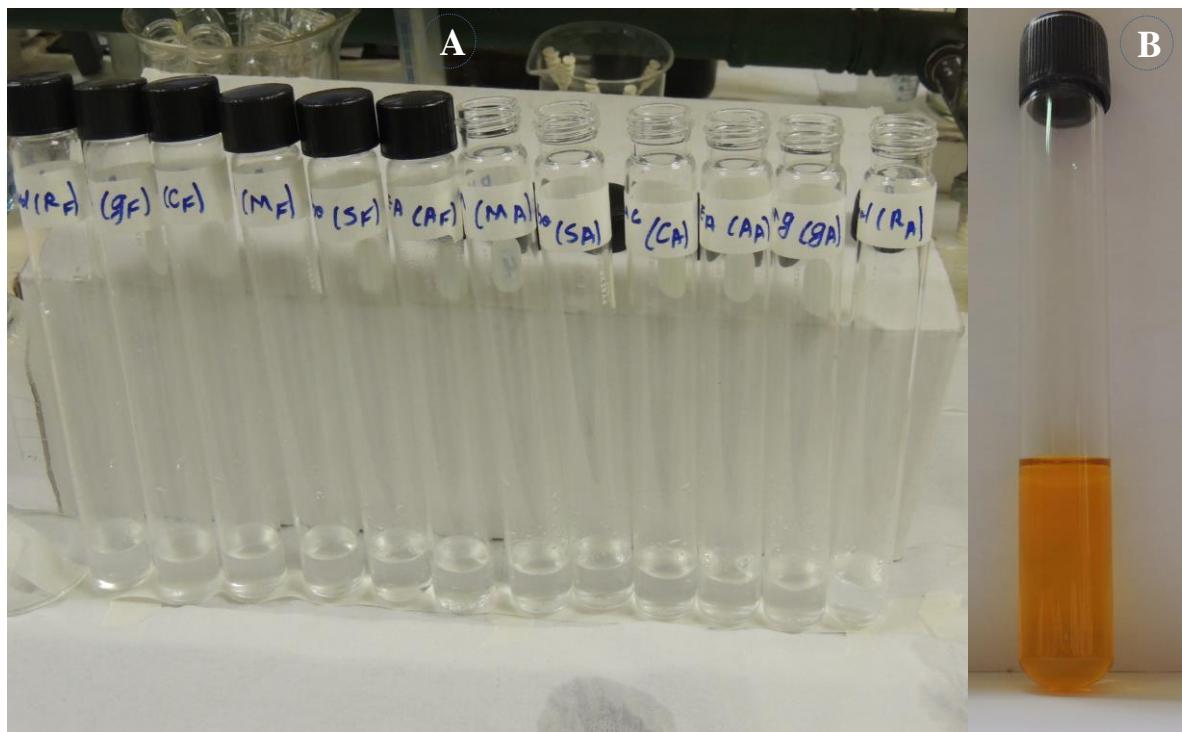
- *Condições de realização do experimento*

- *Massa da amostra B100 empregada de 50,0 mg*
- *Volume de HCl de 3,0 mL*
- *Volume de H₂O₂ de 4,4 mL.*
- *Função de temperatura do banho em modo acionado e controlando a temperatura.*
- *Resposta em função da concentração de Zn (µg L⁻¹ de B100)*

É possível verificar por meio das linhas de contorno e da superfície de resposta a presença de duas possíveis regiões de condição satisfatória (representadas por A e B). Contudo, a região representada por B não foi explorada, devido à dificuldade em manter a temperatura do banho acima do estudado (TABELA 9). Outro problema para a não realização de estudos nessa região, com elevação da temperatura, é o fato de que poderia provo-

car o rompimento dos frascos de vidros (abertos ou fechados) empregados, como ocorreu com alguns. Analisando os resultados obtidos (TABELA 9), verifica-se que a temperatura de 20°C para a água do banho (Experimento 2) fornece satisfatoriamente a melhor resposta.

A região representada por A, foi passível de uma avaliação via estudo de caminho a ascensão ao máximo até um limite de tempo de 90 minutos, mantendo-se a temperatura da água do banho em 20 °C. Porém, o estudo não forneceu um aumento significativo na sensibilidade do sistema. Isto é explicado pelo fato de que o calor da água do banho (~ 20°C) combinado ao tempo de sonicação de 40 minutos foi suficiente para promover o processo de completa digestão das amostras, conforme pode ser visualizado na Figura 25, e não somente uma simples extração como inicialmente esperado.



Fonte: Autor

Figura 25 – Fotos de amostras de biodiesel digeridos em sistema de frascos abertos e fechados (A) e de uma amostra não digerida (biodiesel puro) (B).

- *Condições de realização do experimento*

- *Massa da amostra B100 empregada de 50,0 mg, enriquecida com solução etanólica de Zn²⁺ 100,0 mgL⁻¹.*

- *Volume de HCl de 3,0 mL*

- *Tempo de sonicação 40,0 minutos.*

- *Volume de H₂O₂ de 4,4 mL.*

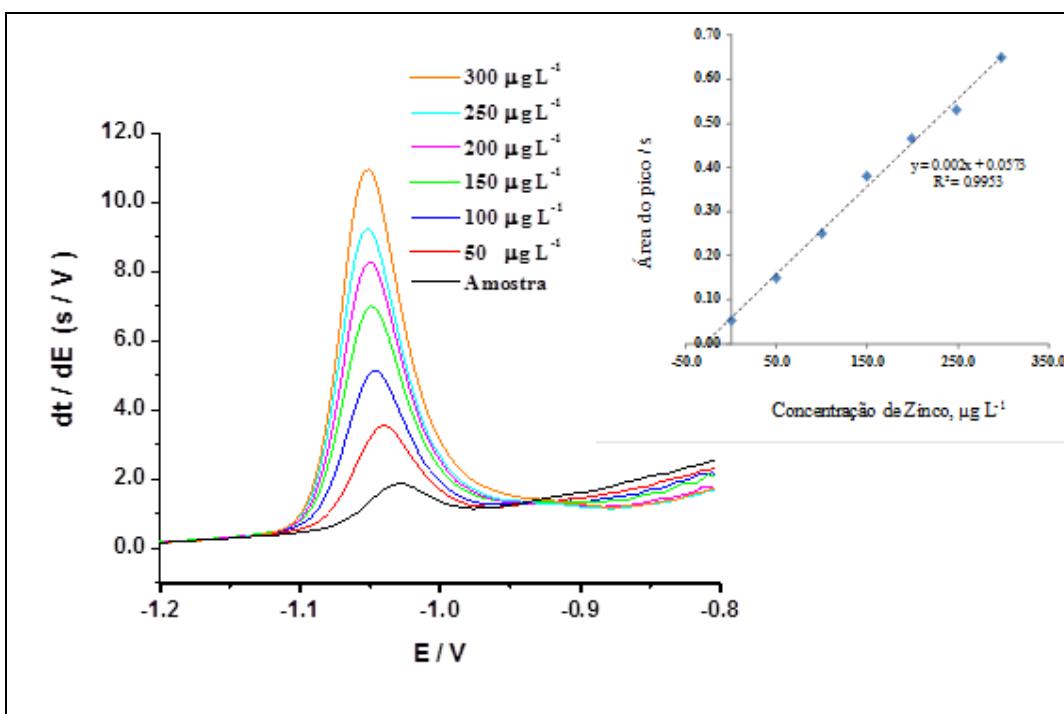
- *Temperatura da água do banho 20°C.*

Este estudo permitiu observar que, em um tempo de sonicação de 40 minutos combinado à temperatura de 20 °C da água contida no banho de ultrassom, que corresponde às variáveis escalonadas de X = 1 e Y= -1 (Experimento 2) do planejamento fatorial 2² completo, conferiu uma completa digestão completa das amostras de biodiesel.

Diante de todas as variáveis que possivelmente influenciariam a determinação de zinco em biodiesel na condição satisfatória, realizou-se um teste de adição e recuperação a fim de verificar as suas eficiências.

4.2.1.1 - Estudo de adição e recuperação para íons zinco em amostras de biodiesel puro.

A exatidão pode ser calculada como porcentagem de recuperação de uma quantidade conhecida do analito adicionado à amostra, ou ainda, como a diferença percentual entre as médias e o valor verdadeiro aceito (DE QUADROS *et al.*, 2011; TONIETTO *et al.*, 2012). Para este estudo, fortificou-se uma amostra de biodiesel metílico de soja com uma solução etanólica de 100,0 mg L⁻¹ de íons zinco, e em seguida, submeteu-a ao processo de digestão nas condições otimizadas nos estudos anteriores. O estudo, realizado em triplicata (n=3), permitiu uma recuperação variando de 96 a 100%, cujo potenciograma de redissolução juntamente com a curva de adição de padrão são apresentados na Figura 26.



Fonte: Autor

Figura 26 – Potenciograma de redissolução anódica para uma amostra de biodiesel puro digerida em sistema aberto com consecutivas adições. Junto ao potenciograma esta disposta curva de adição de padrão para metal zinco.

- *Condições de realização do experimento*

- *Massa da amostra B100 empregada na digestão de 50,0 mg, enriquecida com solução etanólica de Zn^{2+} 100,0 mgL^{-1} .*
- *Volume de HCl de 3,0 mL*
- *Volume de H_2O_2 de 4,4 mL.*
- *Tempo de sonicação 40,0 minutos.*
- *Temperatura da água do banho 20°C.*

Por meio da curva de adição de padrão obtida dos potenciogramas de redissolução anódica (FIGURA 26) observa-se um intercepto ocorrendo no valor correspondente à adição do metal referente ao estudo de recuperação. Analisando a curva analítica apresentada na figura, pode-se observar um coeficiente de correlação de 0,993; um coeficiente angular de $0,002\ s\ L\ \mu g^{-1}$. O limite de detecção (LD) foi estimado em $4,5\ \mu g\ L^{-1}$ (ou $5,1\ \mu g\ Kg^{-1}$) de zinco em biodiesel, calculado em relação a $3 \times SD$ (desvio padrão) do ruído do sinal analítico ($n=12$) aplicado ao coeficiente angular da curva analítica, e um limite de quantificação (LQ) de $14,9\ \mu g\ L^{-1}$ (ou $16,8\ \mu g\ Kg^{-1}$) calculados em relação a $3,3 \times LD$. Deste mo-

do, pode-se concluir que o processo de digestão de amostra de biodiesel metílico puro, empregando banho de ultrassom é eficiente para a determinação de íons zinco.

4.2.1.2 - Estudo de adição e recuperação para determinação simultânea de íons zinco e cádmio em amostras de biodiesel.

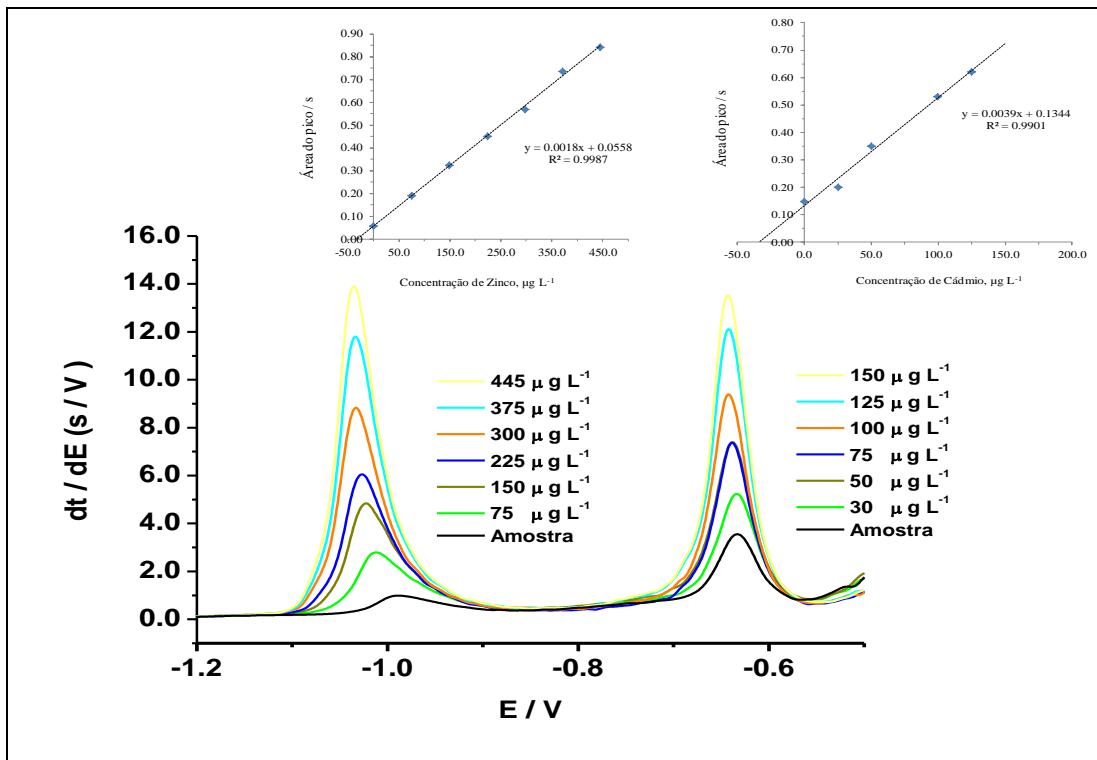
Empregando-se amostras de biodiesel metílico de soja enriquecido com soluções etanólicas de zinco e cádmio 100,0 mg L⁻¹ e submetida ao processo de digestão com banho de ultrassom nas condições satisfatórias definidas, efetuaram-se testes de adição e recuperação.

Na Figura 27 são apresentados os potenciogramas e as curvas analíticas de adição de padrão para os dois metais. Observa-se através desta que as curvas apresentam uma boa correlação (R^2) respectivamente para zinco e cádmio de 0,998 e 0,990 e coeficientes angulares de 0,0018 s L μ g⁻¹ para zinco e 0,0039 s L μ g⁻¹ para cádmio. Os limites de detecção respectivamente para zinco e cádmio em biodiesel foram calculados em LD_{Zn} = 5,0 μ g L⁻¹ (ou 5,6 μ g Kg⁻¹); LD_{Cd} = 2,3 μ g L⁻¹ (ou 2,6 μ g Kg⁻¹) calculados em relação a 3 x SD do ruído analítico (n=12) aplicado ao coeficiente angular da curva analítica e os respectivos limites de quantificações para zinco e cádmio de LQ_{Zn} = 16,5 μ g L⁻¹ (ou 18,5 μ g Kg⁻¹); LQ_{Cd} = 7,6 μ g L⁻¹ (ou 8,5 μ g Kg⁻¹), calculados em relação a 3,3 x LD.

O estudo revela que a determinação simultânea de zinco e cádmio é possível, uma vez que os valores de recuperação encontrados foram de 98 a 104% para zinco e 96 a 102% para cádmio. Diante dos resultados obtidos e da possibilidade da determinação simultânea de outros metais que também contribuem com o processo de oxidação do biodiesel (DE QUADROS *et al.*, 2011), fez-se um estudo a fim de verificar a possibilidade de inclusão dos metais chumbo e cobre, que segundo a literatura (EMSLEY *et al.*, 2001; MEDEIROS *et al.*, 2012) é concomitante nas fontes de origem. Contudo, a possibilidade de determiná-los empregando potociometria de redissolução anódica não se revelou satisfatória. Um dos fatores que possivelmente contribui para isto é a baixa sensibilidade para o íon chumbo, em função da presença de um meio oxigenado (RICHTER, 2001), em relação aos outros metais. Além deste, observou-se também uma interferência grande no pico do zinco, pelo surgimento de outro pico à sua esquerda (potencial mais negativo), possivelmente devido a dois processos de redissolução do mesmo metal; ou ainda, devido à forma-

ção de um composto intermetálico entre zinco e cobre (PADILHA *et al.*, 1997; TONIETTO *et al.*, 2012).

Perante esta problemática, optou-se por fazer a determinação simultânea empregando-se a SWASV, pois segundo a literatura (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 1990) o sinal do oxigênio não seria interferente.



Fonte: Autor

Figura 27 - Potenciograma de redissolução anódica para uma amostra de biodiesel puro digerida em sistema aberto com consecutivas adições. Junto ao potenciograma está disposta curva analítica de adição de padrão para os metais zinco e cádmio.

- *Condições de realização do experimento*
- *Massa da amostra B100 empregada na digestão de 50,0 mg, enriquecida com solução etanólica de Cd²⁺ e Zn²⁺ 100,0 mgL⁻¹.*
- *Volume de HCl de 3,0 mL*
- *Volume de H₂O₂ de 4,4 mL.*
- *Tempo de sonicação 40,0 minutos.*
- *Temperatura da água do banho 20°C.*

4.2.1.3 - Estudo de adição e recuperação para determinação simultânea de íons zinco, cádmio, chumbo e cobre em amostras de biodiesel empregando SWASV.

Empregando-se amostras de biodiesel metílico de soja fortificada com soluções etanólicas dos metais em estudo e promovendo a digestão em banho de ultrassom nas condições otimizadas fez-se um estudo de adição e recuperação para estes com determinação empregando SWASV. O estudo apresentou recuperação variando de 97 a 107%, conforme pode ser visualizado na Tabela 10.

Tabela 10 - Resultados para testes de recuperação para zinco, cádmio, chumbo e cobre em amostras de biodiesel dopadas após digestão em banho de ultrassom (n=3).

Metais	Concentração, $\mu\text{g L}^{-1}$			
	Não Fortificada	Fortificação	Recuperado	% Recuperação
Zinco	152,7	250,0	401,8	100 \pm 4
Cadmio	0,8	76,0	80,4	105 \pm 5
Chumbo	4,4	45,6	53,4	107 \pm 4
Cobre	6,7	76,0	80,4	97 \pm 4

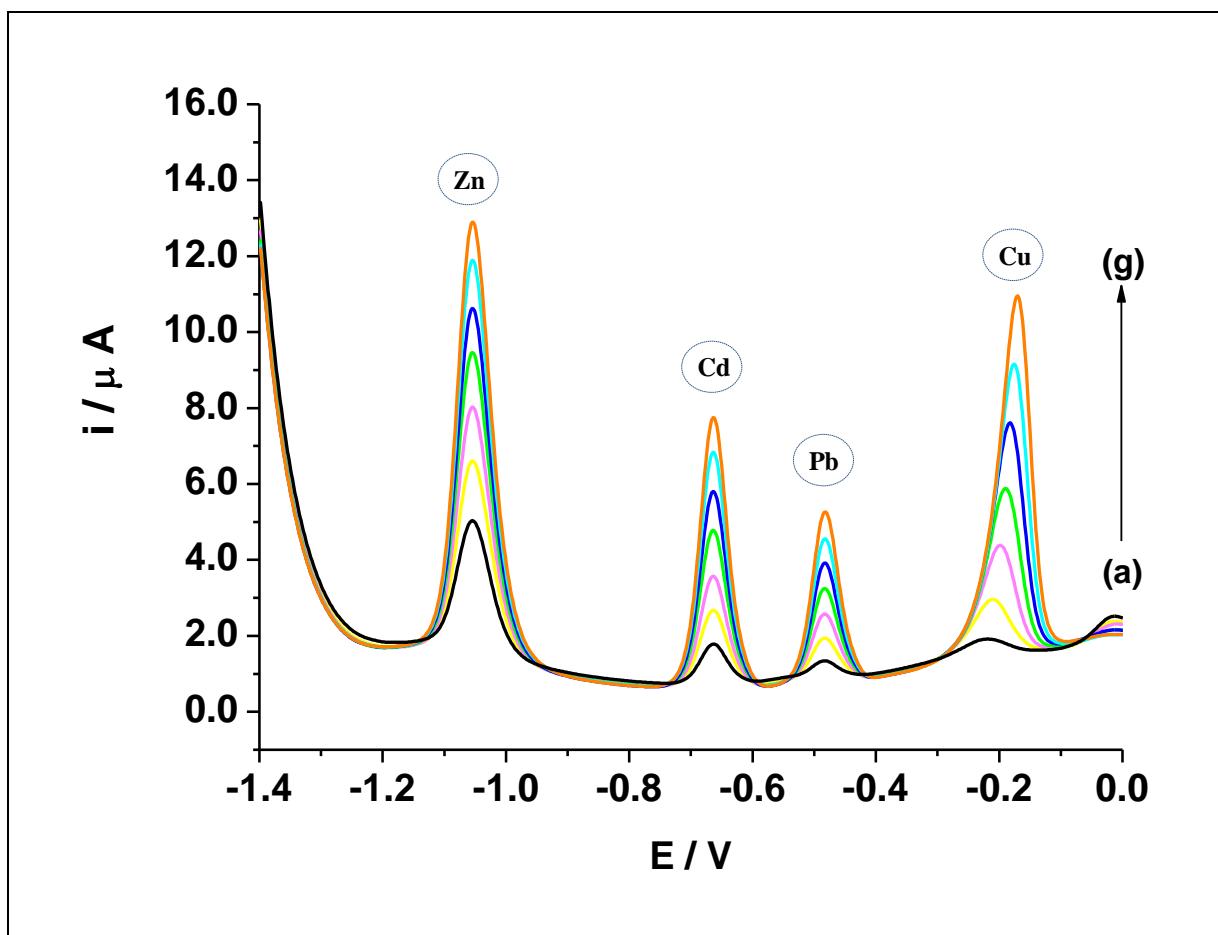
Fonte: Autor

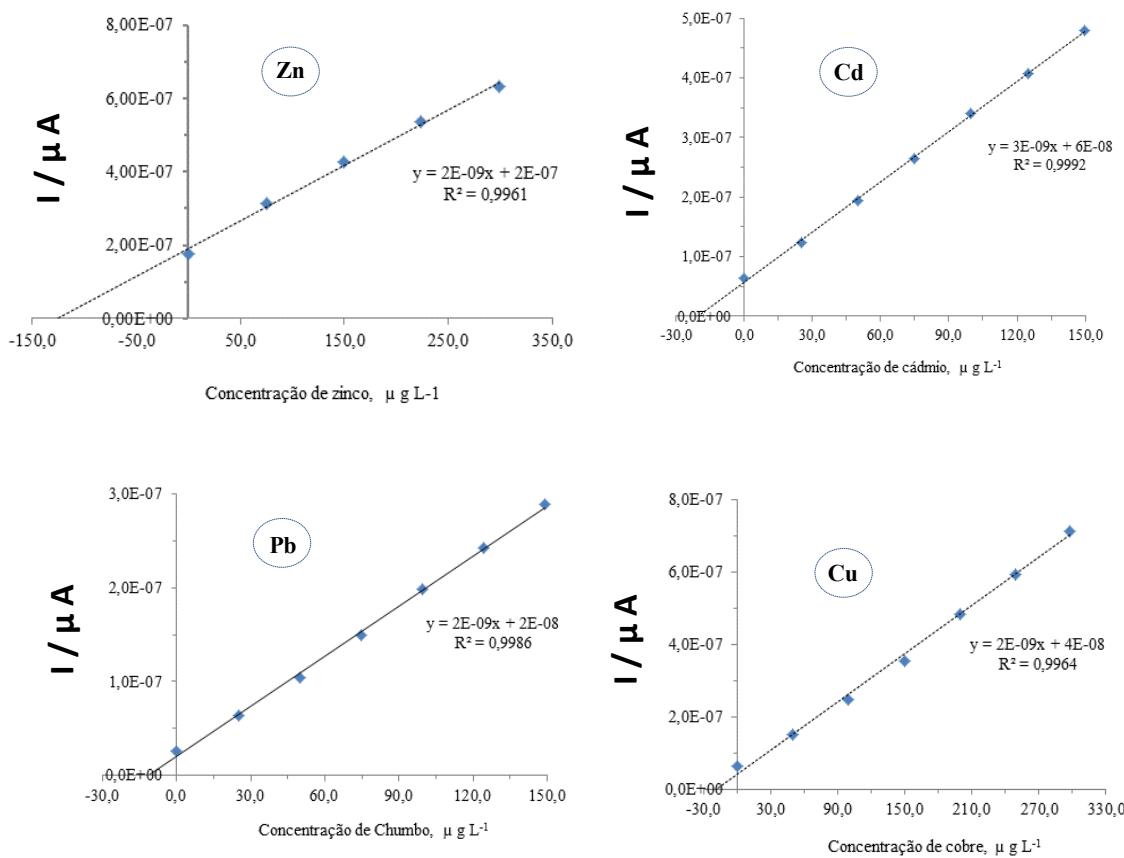
- Condições de realização do experimento
 - Massa da amostra de B100 empregada na digestão de 50,0 mg
 - Volume de HCl de 3,0 mL
 - Volume de H_2O_2 de 4,4 mL.
 - Temperatura do banho de 20°C.
 - Tempo de sonicação de 40 minutos.

Visualiza-se por meio da Figura 28, na qual são apresentados os voltamogramas e as curvas analíticas de adição de padrão para os quatro metais. Observa-se que as curvas analíticas apresentam uma correlação (R^2) de 0,997 para zinco, cádmio e chumbo e 0,996 para cobre. Os coeficientes angulares respectivamente de $2,0 \times 10^{-9} \mu\text{A V L} \mu\text{g}^{-1}$ para zin-

co, de $3,0 \times 10^{-9} \mu\text{A V L} \mu\text{g}^{-1}$ para cádmio, de $2,0 \times 10^{-9} \mu\text{A V L} \mu\text{g}^{-1}$ para chumbo e $2,0 \times 10^{-9} \mu\text{A V L} \mu\text{g}^{-1}$ para cobre. Os limites de detecção para zinco, chumbo e cobre são de: $\text{LD} = 39 \text{ ng L}^{-1}$ (ou $44,0 \text{ ng Kg}^{-1}$); e para cádmio de: $(\text{LD}_{\text{Cd}}) = 26,0 \text{ ng L}^{-1}$ (ou $30,0 \text{ ng Kg}^{-1}$) calculados em relação a $3 \times \text{SD}$ do ruído do sinal analítico ($n=12$) aplicado ao coeficiente angular da curva analítica. Os limites de quantificações calculados a $3,3 \times \text{LD}$ para zinco, chumbo e cobre foram: $\text{LQ} = 128,7 \text{ ng L}^{-1}$ (ou $145,0 \text{ ng Kg}^{-1}$), e para cádmio de $\text{LQ} = 86,0 \text{ ng L}^{-1}$ (ou $96,0 \text{ ng Kg}^{-1}$).

Outra comprovação que este estudo possibilitou, foi de que a suspeita de formação de composto intermetálico não era real, uma vez que não houve o aparecimento do segundo pico como descrito anteriormente. Com isso, a formação deste segundo pico ao lado esquerdo do zinco, quando do emprego de potenciometria de redissolução, possivelmente trata-se de dois processos de redissolução do mesmo metal. Entretanto, isto deve ser passível de estudos futuros.





Fonte: Autor

Figura 28 - Medidas realizadas empregando SWASV para amostras digeridas de biodiesel (50,0 mg) nas condições de ótimo experimental. a) Adição de amostra de biodiesel digerida, b-g) adições de 15,0 μL , 5,0 μL , 10,0 μL e 10,0 μL respectivamente de Zn, Cd, Pb e Cu (50 $\mu\text{g L}^{-1}$) e os respectivos coeficientes de correlação linear para Zn ($R^2 = 0,996$), Cd ($R^2 = 0,999$), Pb ($R^2 = 0,994$) e Cu ($R^2 = 0,996$).

4.2.2 – Otimização das condições de digestão empregando sonda de ultrassom

Sabendo-se que o volume de reagentes oxidantes, assim como o tempo de sonicação, temperatura e possivelmente a potência (amplitude) da radiação ultrassônica influencia no processo de digestão de amostras de óleo lubrificante (SABIO *et al.*, 2011), fez-se um estudo quimiométrico para verificar tais influências no processo de pré-tratamento de amostras de biodiesel empregando uma sonda ultrassônica. Os estudos foram realizados voltados à digestão de amostras de biodiesel metílico de soja visando-se de início a deter-

minação de íons zinco (NASCENTES *et al.*, 2001; KAZI *et al.*, 2009; HATJE *et al.*, 2009; SABIO *et al.*, 2011) por potenciometria de redissolução anódica (JAGNER *et al.*, 1976; RENMAN *et al.*, 1986) em eletrodo de CV modificado com filme de mercúrio.

Empregando-se inicialmente um tempo de sonicação de 40,0 minutos, temperatura de 20°C, e uma mistura de 3,0 mL de HCl (Conc.) e 4,5 mL de H₂O₂ (30%), condição otimizada na primeira parte deste trabalho (empregando banho de ultrassom), e adotando-se uma amplitude de 20% com intermitência de pulso de 5,0 s em intervalo de 2,0 s, para uma sonda de ultrassom, fez-se uma otimização da nova massa de biodiesel a ser digerida em frascos de vidro aberto de 50 mL (FIGURA 29).

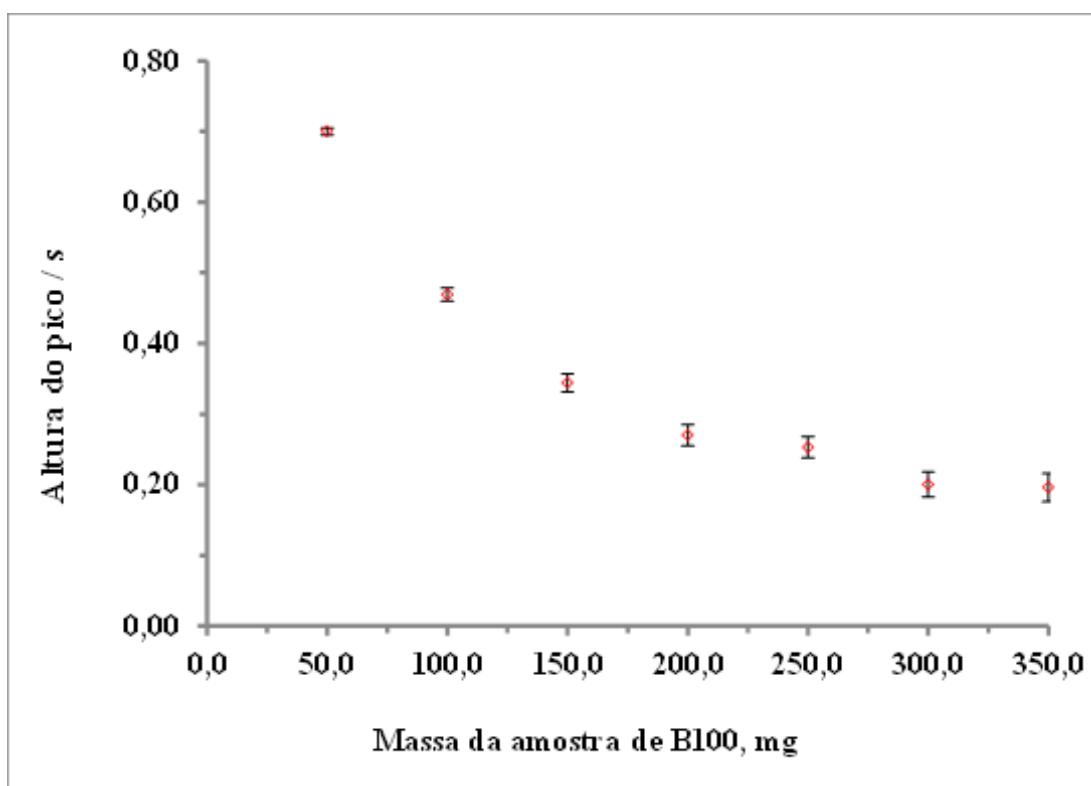


Figura 29 - Estudo da otimização da massa de biodiesel a ser empregada na extração de zinco empregando sonda de ultrassom.

- Condições de realização do experimento
 - Massa inicial de amostra de biodiesel metílico de soja de 50 mg.
 - Volume de HCl de 3,0 mL
 - Volume de H₂O₂ de 4,4 mL.
 - Tempo de sonicação de 40 minutos
 - Amplitude do pulso de 20%
 - Intervalo do pulso de 5 s intercalado a cada 2 s

Pode-se observar por meio da análise da Figura 29 que, à medida que ocorre o aumento da massa da amostra de biodiesel empregada, há uma diminuição na extração do metal, como ocorrido no estudo da otimização para o banho de ultrassom. Todavia, ao empregar uma massa de amostra variando de 50,0 a 350,0 mg de biodiesel, observou-se haver uma completa digestão em torno de 100 mg da amostra. Adotando-se a massa de amostra de 100,0 mg de biodiesel, procedeu-se um novo estudo de otimização dos volumes de HCl e H₂O₂, tempo de sonicação e amplitude da sonda de ultrassom, a serem empregados nas digestões. Estas otimizações foram realizadas em dois estudos de planejamento fatorial 2² a fim de verificar a influência de cada conjunto das variáveis reagentes e das variáveis instrumentais.

O primeiro estudo partiu-se de um novo planejamento fatorial composto central completo (compreendido por 11 experimentos com triplicata no ponto central) 2² tipo estrela (triplicata), conforme condições experimentais apresentada na Tabela 11. Fixou-se neste estudo volume de HCl em 3,0 mL e 4,5 mL de H₂O₂; condições de ótimo para o banho de ultrassom. Adotou-se uma intermitência de pulso de 5,0 s em intervalo de 2,0 s, condições técnicas para a espessura da ponteira da sonda (3,0 mm) fornecida pelo equipamento; sem indução de aquecimento (não disponível no sonda de ultrassom, até porque neste processo pode ocorrer aumento de temperatura da solução sonicada devido à potência da sonda onde toda radiação está centralizada).

Tabela 11 – Resposta da matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecido para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando à otimização do tempo de sonicação e amplitude a ser empregado no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro empregando sonda ultrassônica (n=3).

Variáveis	Níveis				
	Baixo (-)	Alto (+)			
X[Tempo de Sonicação (min)]	5,0	20,0			
Y[Amplitude de sonicação (%)]	15,0	35,0			
Variáveis escalonadas		Variáveis reais			
Experimentos	X	Y	X	Y	Resposta*
1	-1,0	-1,0	5,0	15,0	$56,0 \pm 0,1$
2	1,0	-1,0	20,0	15,0	$27,5 \pm 0,2$
3	-1,0	1,0	5,0	35,0	$41,0 \pm 0,1$
4	1,0	1,0	20,0	35,0	$9,1 \pm 0,2$
5	0,0	0,0	12,5	25,0	$103,0 \pm 0,1$
6	0,0	0,0	12,5	25,0	$104,0 \pm 0,1$
7	0,0	0,0	12,5	25,0	$105,1 \pm 0,1$
8	-1,44	0,0	1,89	25,0	$3,9 \pm 0,2$
9	1,44	0,0	23,1	25,0	$88,4 \pm 0,1$
10	0,0	-1,44	12,5	10,85	$64,1 \pm 0,1$
11	0,0	1,44	12,5	39	$100,0 \pm 0,1$

Fonte: Autor

- Condições de realização do experimento
- Massa da amostra biodiesel empregada de 100,0 mg
- Volume de HCl de 3,0 mL
- Volume de H₂O₂ de 4,4 mL
- *Resposta em função da concentração de Zn, ($\mu\text{g L}^{-1}$ de B100)

Empregando-se os valores da altura de pico proveniente das medidas potenciométrica de redissolução anódica para calcular as concentrações extraídas de zinco após o processo de

digestão das amostras de B100 e o programa de regressão múltipla (STATISTICA 8.0 for Windows), obteve-se a equação polinomial do modelo matemático (EQUAÇÃO 3).

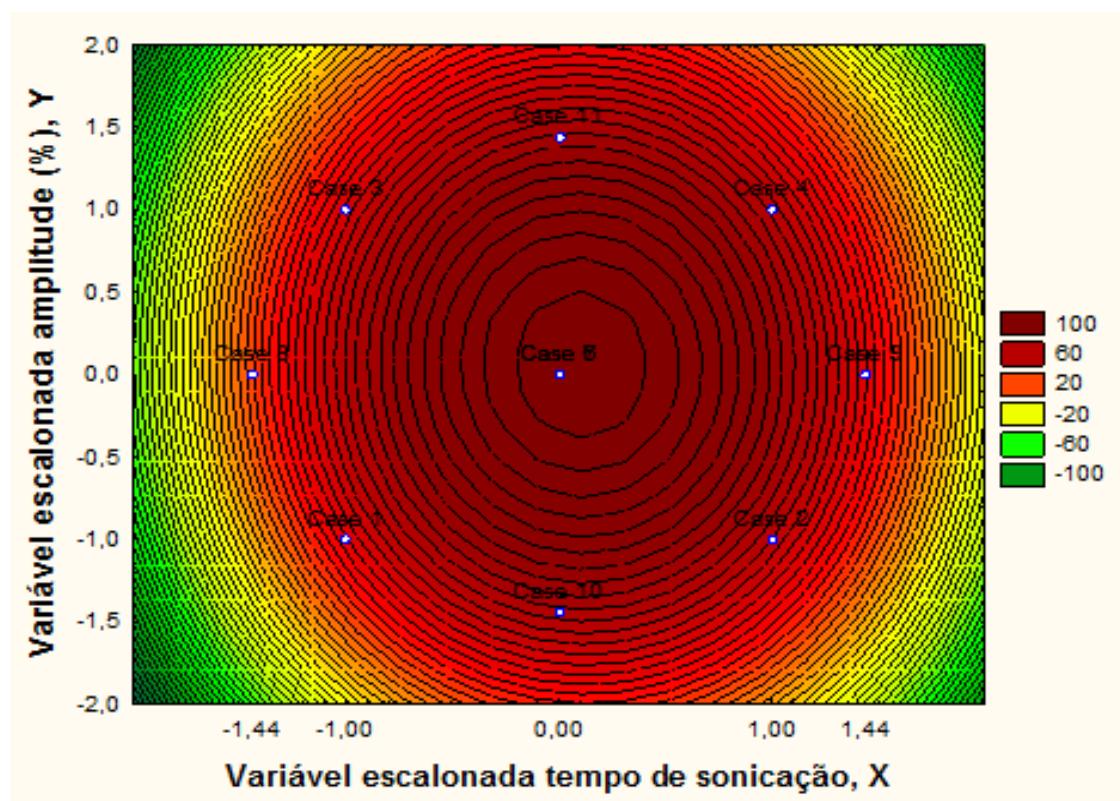
$$\text{Conc}_{(\text{Zn})} = 103,1607 + 7,5168 \text{ X} + 3,7882 \text{ Y} - 35,7329 \text{ X}^2 - 0,8725 \text{ XY} - 16,2957 \text{ Y}^2$$

Onde: X = tempo de sonicação (min.), Y = Amplitude da sonicação (%) e Conc._{Zn} é a concentração de zinco em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Equação polinomial 3 – Regressão múltipla gerado pelo software Statistica para otimização do tempo de sonicação e amplitude de sonicação (%) para sonda de ultrassom.

Observa-se por meio dos coeficientes da equação, que a interação entre variável tempo de sonicação (X) e a amplitude de sonicação (Y) contribui de forma negativa ao processo de digestão quando comparada aos efeitos da variável independente X e Y, as quais são bastante influentes no processo de digestão. Observa-se também pela equação que a variável independente Y, amplitude da sonicação da sonda também se apresenta significativa como X, porém com menor intensidade.

A partir da equação matemática polinomial 3 e do software computacional STATISTICA 8.0 (for Windows) plotou-se as linhas de contorno e a superfície de resposta para o modelo matemático (FIGURAS 30 e 31).



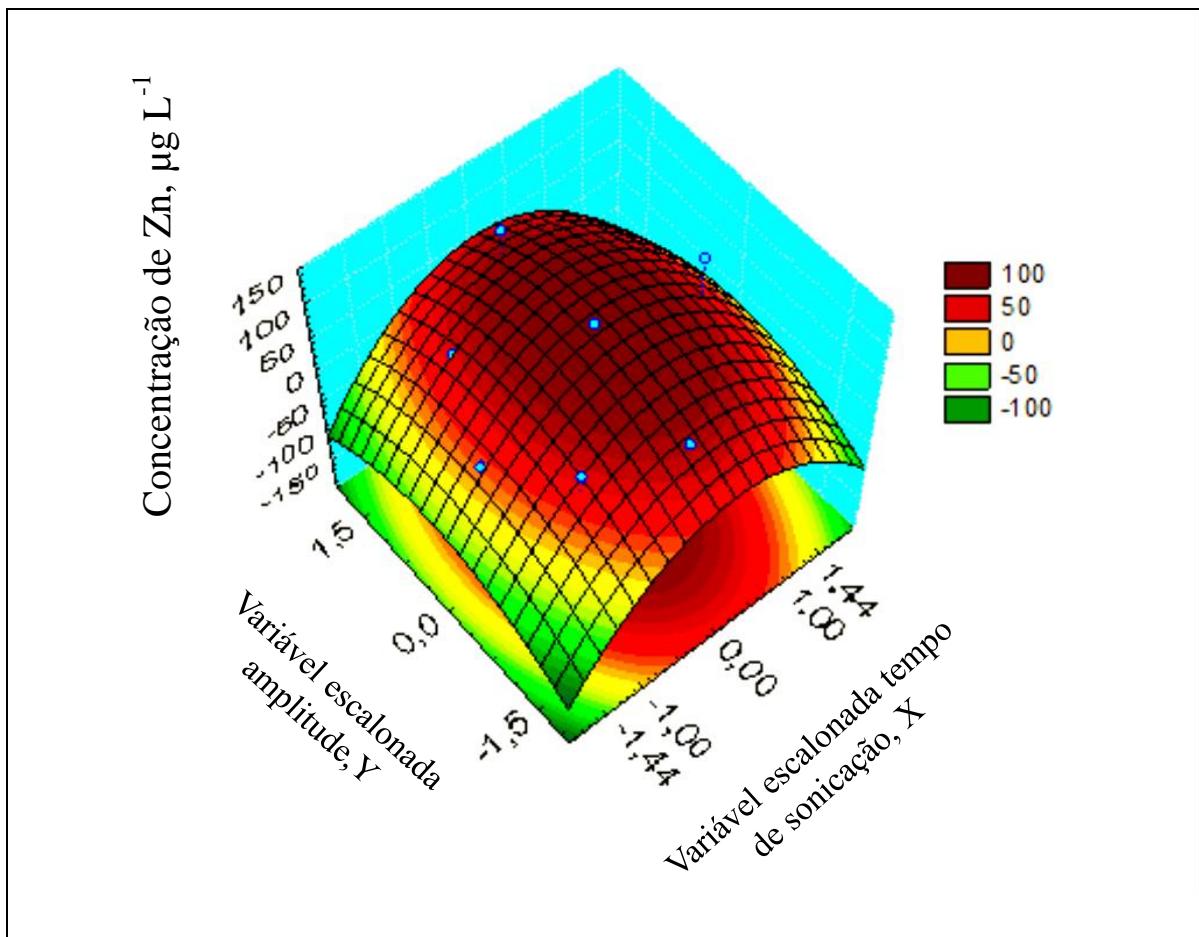
Fonte: Autor

Figura 30 - Linhas de Contorno da superfície de resposta para otimização do tempo de sonicação e amplitude da sonda de ultrassom empregada na digestão de 100,0 mg de biodiesel puro com 3,0 mL de HCl e 4,4 mL de H₂O₂ (30%).

*Condições de realização do experimento

- Massa da amostra biodiesel empregada de 100,0 mg
- Volume de HCl de 3,0 mL
- Volume de H₂O₂ de 4,4 mL.
- *Resposta em função da concentração de Zn ($\mu\text{g L}^{-1}$ de B100)

Pode-se observar por meio da Figura 31 a superfície de resposta associada às linhas de contorno da figura anterior.



Fonte: Autor

Figura 31- Superfície de resposta para otimização do tempo de sonicação amplitude da sonda de ultrassom empregada na digestão de 100,0 mg de biodiesel puro com 3,0 mL de HCl e 4,4 mL de H₂O₂.

- *Condições de realização do experimento*

- *Massa da amostra biodiesel empregada de 100,0 mg*
- *Volume de HCl de 3,0 mL*
- *Volume de H₂O₂ de 4,4 mL*
- **Resposta em função da concentração de Zn (µg L⁻¹ de B100)*

Como pode se observado pelo valor positivo das intensidades das variáveis independentes X e Y e por meio das linhas de contorno ou da própria superfície de resposta, um aumento destas variáveis, sugere que, poderia haver uma melhoria no processo de digestão. Entretanto, um aumento da variável X, tempo de sonicação, maiores que os estudados, não é sugestivo vez que, no processo digestivo é feito uma amostra por vez. Isto demandaria muito tempo em um sistema de rotina. Já para a variável amplitude de sonicação,

variável Y, um aumento de valor igual ou maior que 40% não são recomendados; visto que estes poderiam ocasionar quebra da ponteira, segundo o fabricante das ponteiras de ultras-som empregada. Pode-se observar também um efeito negativo dos termos quadráticos para as variáveis X^2 e Y^2 com intensidade bastante elevada; isto acarreta uma diminuição da influência das variáveis independentes X e Y.

Todavia, este estudo permitiu observar que o emprego do tempo de sonicação de 12,5 minutos e uma amplitude de 25%, que correspondem às variáveis escalonadas de $X = 0,0$ e $Y = 0,0$ (Experimento 5 a 7 – *ponto central*) do planejamento fatorial completo 2^2 , confere a melhor resposta ao processo de digestão. A partir deste momento, fixam-se estas duas variáveis nestes valores de ótimo (condição satisfatória) encontrado para a realização de um novo estudo quimiométrico, a fim de verificar se há ou não, uma redução nos volumes dos agentes oxidantes empregado para promover a digestão completa da matriz. Este novo estudo, foi realizado empregando-se um novo planejamento fatorial completo (compreendido por 11 experimentos com triplicatas no ponto central) 2^2 tipo estrela, conforme apresentada no procedimento experimental e visualizado por meio da Tabela 12, considerando uma massa de amostra a ser digerida de 100,0 mg.

Tabela 12 – Resposta da matriz planejamento com variáveis e níveis estabelecidos para construção do planejamento fatorial 2^2 completo tipo estrela (CCD) visando a otimização dos volumes de HCl e H₂O₂ consumidos no pré-tratamento de amostras de biodiesel puro empregando sonda ultrassônica (n=3).

Variáveis	Níveis				
	Baixo (-)	Alto (+)			
X[Volume de ácido clorídrico (mL)]	2,0	4,0			
Y[Volume Peróxido de hidrogênio (mL)]	2,0	4,0			
Variáveis escalonadas		Variáveis reais, mL			
Experimentos	X	Y	X	Y	Resposta
1	-1,0	-1,0	2,0	2,0	53,0 \pm 0,4
2	1,0	-1,0	4,0	2,0	86,3 \pm 0,2
3	-1,0	1,0	2,0	4,0	75,2 \pm 0,2
4	1,0	1,0	4,0	4,0	29,8 \pm 0,5
5	0,0	0,0	3,0	3,0	55,0 \pm 0,4
6	0,0	0,0	3,0	3,0	59,9 \pm 0,5
7	0,0	0,0	3,0	3,0	51,8 \pm 0,5
8	-1,41	0,0	1,59	3,0	100,6 \pm 0,1
9	1,41	0,0	4,41	3,0	37,2 \pm 0,4
10	0,0	-1,41	3,0	1,59	34,7 \pm 0,3
11	0,0	1,41	3,0	4,41	62,0 \pm 0,3

Fonte: Autor

- Condições de realização do experimento
- Massa da amostra B100 empregada de 100,0 mg
- Tempo de sonicação de 12,5 minutos.
- Amplitude de 25%
- * Resposta em função da concentração de Zn, ($\mu\text{g L}^{-1}$ de B100)

Empregando-se as concentrações de zinco encontradas por meio da altura de picos nos potenciogramas da análise de redissolução anódica e o programa de regressão múltipla STATISTICA 8.0 FOR WINDOWS, obteve-se a equação polinomial do modelo matemático (EQUAÇÃO 4). Esta descreve o comportamento da influência nos volumes dos rea-

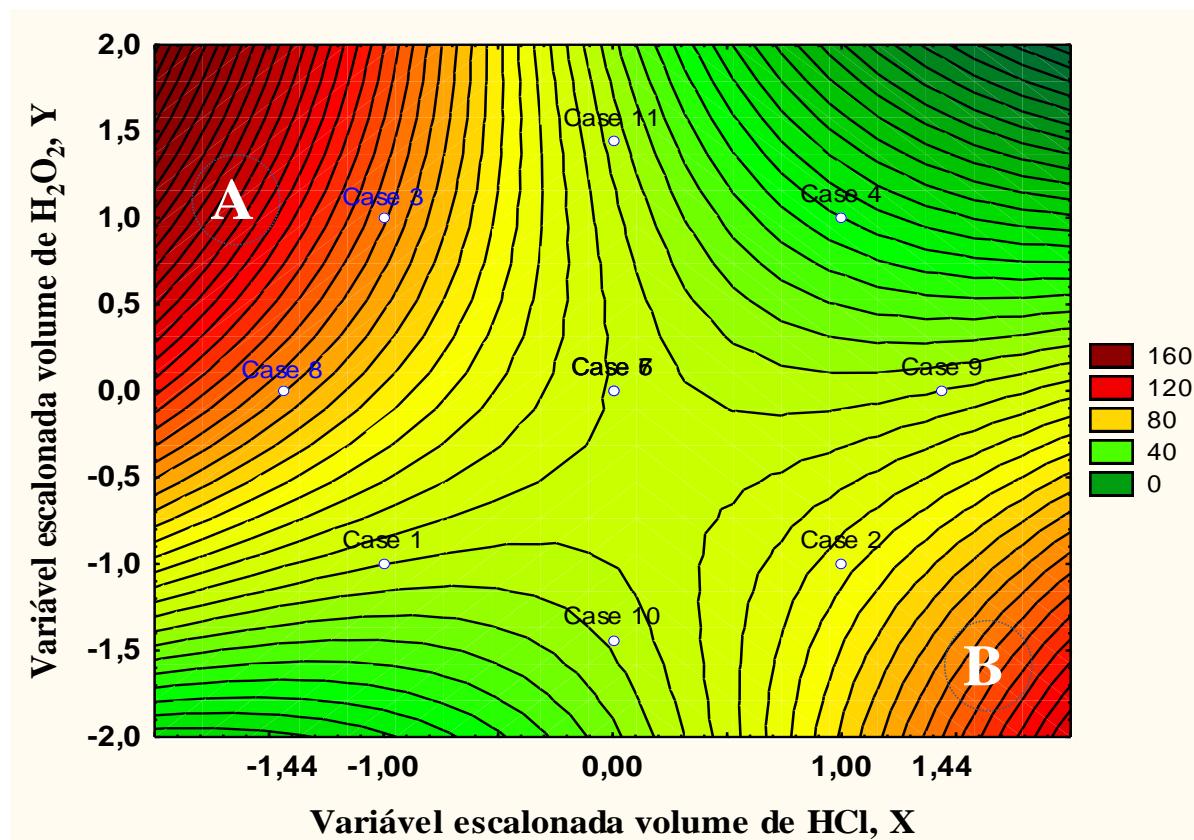
gentes oxidantes empregados sobre o processo de digestão e consequentemente sensibilidade do sistema em relação ao íon zinco.

$$\text{Conc.}_{\text{Zn}} = 55,63 - 12,6852 \text{ X} + 0,6153 \text{ Y} + 7,0289 \text{ X}^2 - 19,6825 \text{ XY} - 2,8838 \text{ Y}^2$$

Onde: $X = \text{volume (mL) de HCl}$, $Y = \text{volume de H}_2\text{O}_2(\text{mL})$ e concentração (Conc._{Zn}) de zinco em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Equação polinomial 4 - Regressão múltipla gerado pelo software Statistica para otimização do volume de HCl e H₂O₂ com digestão em sonda de ultrassom.

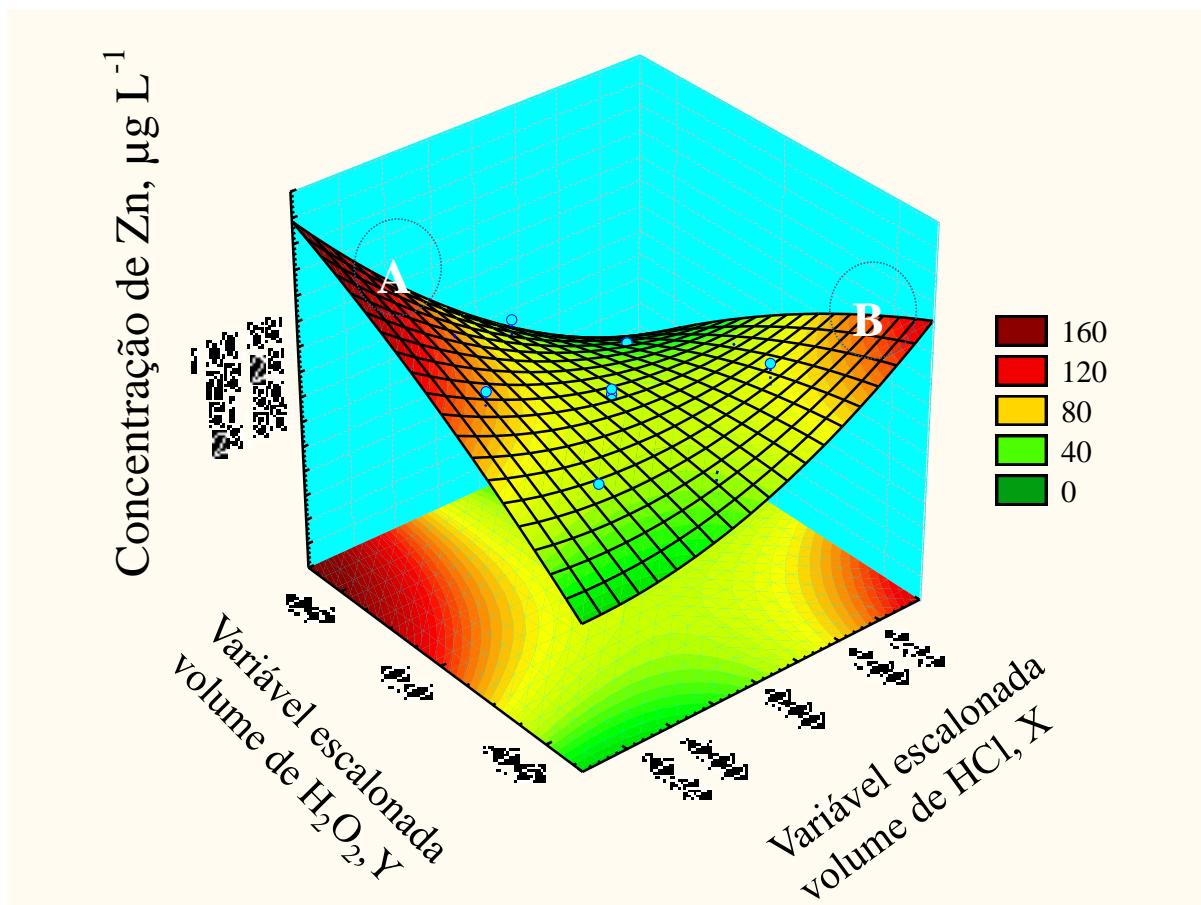
A partir da equação polinomial 4, plotaram-se as linhas de contorno e a superfície do modelo matemático para o estudo (FIGURAS 32 e 33).



Fonte: Autor

Figura 32 - Linhas de contorno da superfície de resposta para otimização dos volumes de HCl e H₂O₂ na empregado na digestão de 100,0 mg de biodiesel puro por sonda de ultrassom.

- Condições de realização do experimento
- Massa da amostra B100 empregada na digestão de 100,0 mg, enriquecida com solução etanólica de Zn²⁺ 100,0 mgL⁻¹.
- Tempo de sonicação de 12,5 minutos.
- Amplitude de 25%



Fonte: Autor

Figura 33 - Superfície de resposta para otimização dos volumes de HCl e H₂O₂ na empregado na digestão de 100,0 mg de biodiesel puro por sonda de ultrassom.

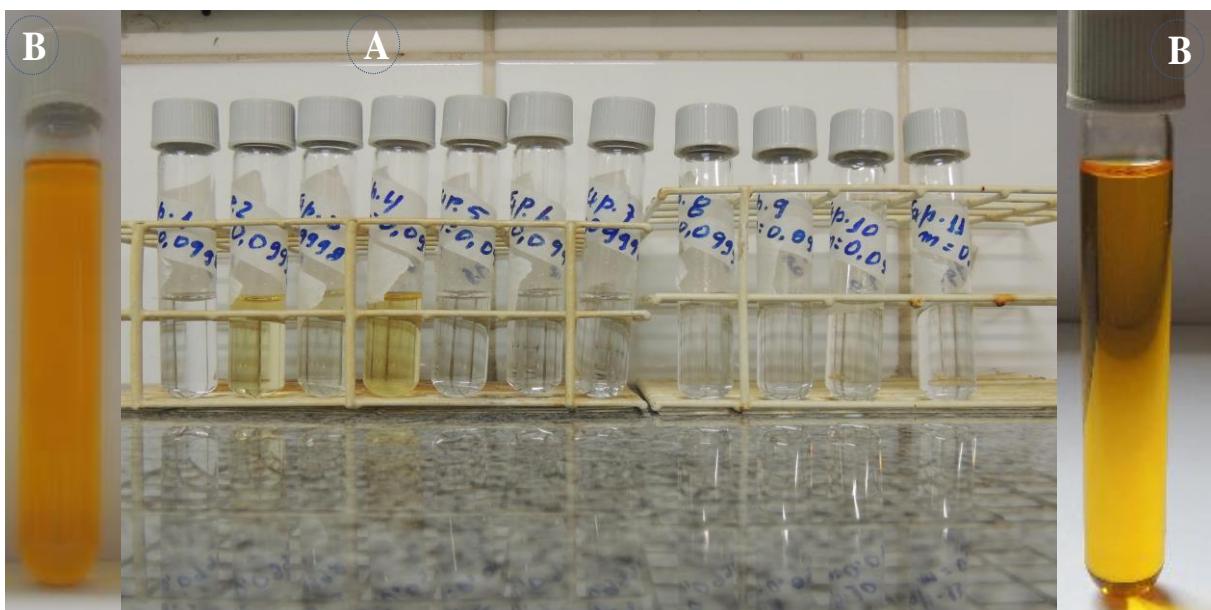
- *Condições de realização do experimento*

- *Massa da amostra B100 empregada na digestão de 100,0 mg, enriquecida com solução etanólica de Zn²⁺ 100,0 mg L⁻¹.*
- *Tempo de sonicação de 12,5 minutos.*
- *Amplitude de 25%*

Observa-se através dos coeficientes da equação matemática polinomial 4, que a interação entre os reagentes HCl_(Conc.) e H₂O_{2(30%)}, variáveis escalonadas (X) e (Y), causa um efeito negativo ao sistema. Porém, as variáveis independentes X e Y provocam um efeito antagônico ao processo digestivo, como pode ser observado pelo sinal de suas intensidades. Além disso, pela análise das linhas de contorno e da superfície de resposta do modelo matemático, uma melhoria no processo de digestão. Isto sugere que a reação química

segundo a Equação química 5 na presença de uma maior potência na radiação ultrassônica deve ser mais eficiente na produção de $\text{Cl}_{2(g)}$; o que resultaria em um processo de digestão mais eficiente.

Também é possível observar por meio das linhas de contorno e da superfície de resposta, a presença de duas possíveis regiões satisfatórias (representadas por A e B). Contudo, essas regiões não foram exploradas em um novo planejamento fatorial e /ou via estudo de caminho de ascensão ao máximo (visando obter uma melhor ou pior resposta), uma vez que o estudo focava a redução dos volumes oxidantes empregados no processo de digestão da matriz. O resultado foi alcançado, conforme pode ser visualizado na Figura 34.



Fonte: Autor

Figura 34 – Fotos dos digeridos em sistema de frascos abertos empregando radiação de sonda ultrassônica (A) e de amostras não digeridas (biodiesel puro) (B).

- Condições de realização do experimento

- Massa da amostra B100 empregada na digestão de 100,0 mg, enriquecida com solução etanólica de Zn²⁺ 100,0 mgL⁻¹.

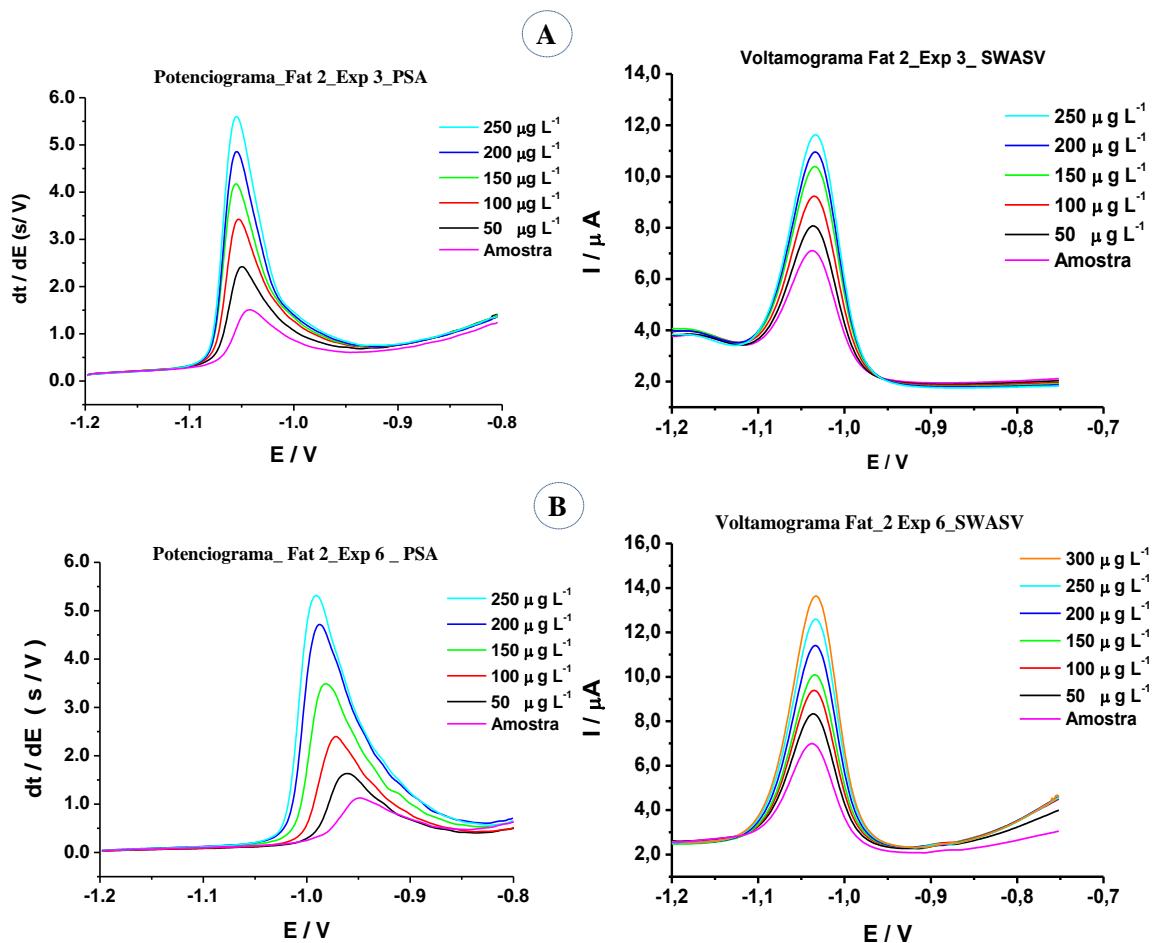
- *Tempo de sonicação de 12,5 minutos.*

- Amplitude de 25%

Este estudo permitiu observar que o emprego de 1,59 mL de HCl (variável escalonada $X = -1,41$) e 3,0 mL de H_2O_2 (variável escalonada $Y = 0,0$) proporciona a melhor

digestão da matriz (experimento 8 da matriz resposta). Contudo, como pode ser observado na Figura 34, “não houve” digestão por completo de duas amostras (frascos com solução amarelada e uma fina camada oleosa sobrenadante). Todavia, houve digestão das demais amostras em outras composições dos agentes oxidantes empregados (aspecto límpido dos demais frascos e ausência da camada oleosa sobrenadante).

Entretanto, no momento da coleta do sinal analítico, houve um deslocamento nos potenciais de pico do Zn no sentido de potenciais menos negativo na potenciometria de redissolução anódica, o que não foi observado quando se emprega a voltametria de redissolução anódica de onda quadrada (FIGURA 35).



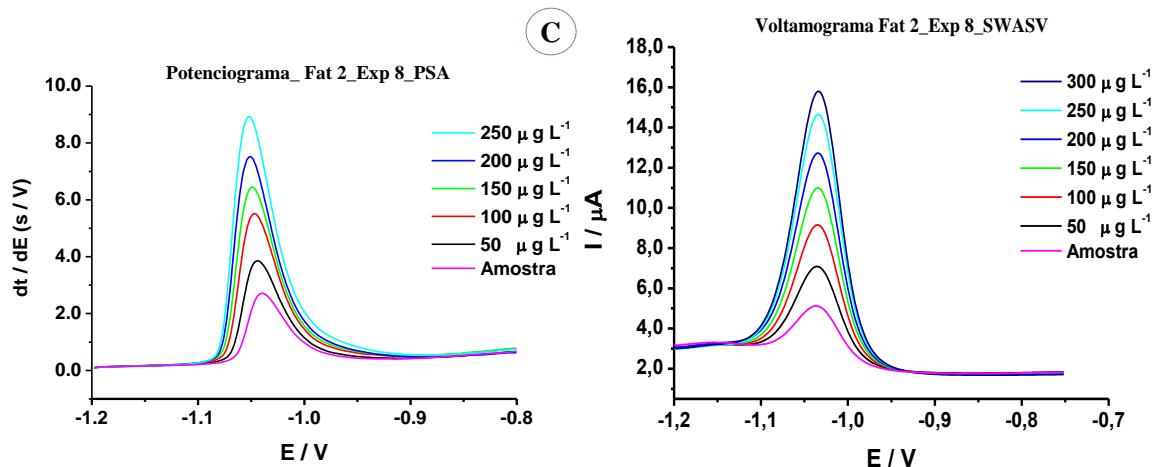


Figura 35 – Comparação de deslocamentos nos potenciogramas e voltamogramas em função a composição entre os agentes oxidantes observado no planejamento experimental.

- *Condições de realização do experimento*

- *Massa da amostra B100 empregada na digestão de 100,0 mg, enriquecida com solução etanólica de Zn²⁺ 100,0 mg L⁻¹.*
- *Tempo de sonicação de 12,5 minutos.*
- *Amplitude de 25%.*

Analizando os potenciogramas (PSA) e os voltamogramas (SWASV) apresentados na Figura 35, pode-se observar um maior deslocamento do potencial de pico no potenciograma da Figura B (Exp 6) em relação ao voltamograma obtido na mesma condição. Nas outras duas condições (FIGURAS A e B) do experimento nota-se uma ligeira inclinação nos picos dos potenciogramas em relação aos voltamogramas. Isto provavelmente está associado à pequena variação de pH /força iônica ocasionada em função da composição dos volumes dos agentes oxidantes (amostra representadas por A e B utilizaram maior volume do ácido em relação à condição C). Em termos de H₂O₂, a solução obtida na condição A apresentou maior teor deste oxidante em relação a B, apesar de ser coletada a mesma quantidade de alíquota (5,0 mL do digerido depois de avolumado a 15,0 mL com NaAc 0,5 mol L⁻¹) e da adição do mesmo volume (5,0 mL) de solução tampão HAc/NaAc 0,1 mol L⁻¹ visando a manutenção do pH em torno de 5 para ambos. Portanto, a relação entre os volumes dos agentes oxidantes também exerce uma influência neste deslocamento.

4.2.2.1 - Estudo de adição e recuperação para íons zinco em amostras de biodiesel submetidas ao processo de digestão empregando sonda de ultrassom.

Neste estudo, uma amostra de biodiesel foi fortificada com uma solução etanólica de $100,0 \text{ mg L}^{-1}$ de íons zinco, e em seguida, submetida ao processo de digestão nas condições satisfatórias definidas previamente. Este estudo realizado em triplicata permitiu uma recuperação dos entre 96 a 100%. Os potenciogramas de redissolução juntamente com a curva de adição de padrão são apresentados na Figura 36.

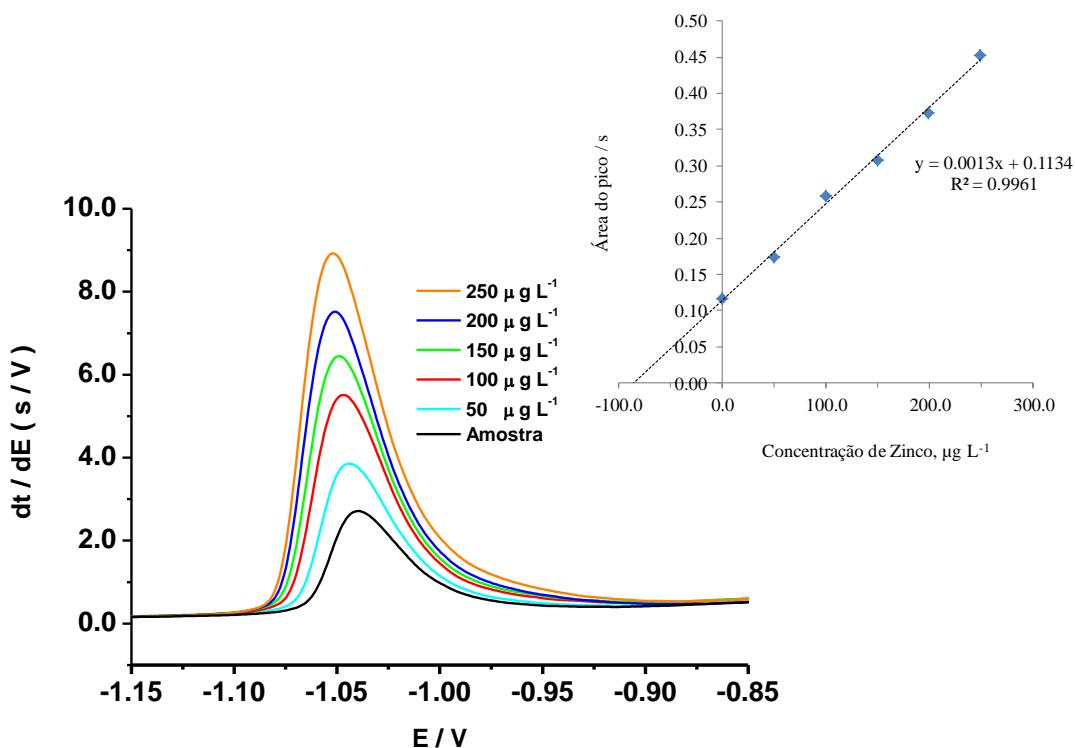


Figura 36 - Potenciograma de redissolução anódica para uma amostra de biodiesel após digestão empregando sonda de ultrassom. Junto ao potenciograma esta disposta curva analítica de adição de padrão para metal zinco.

- Condições de realização do experimento

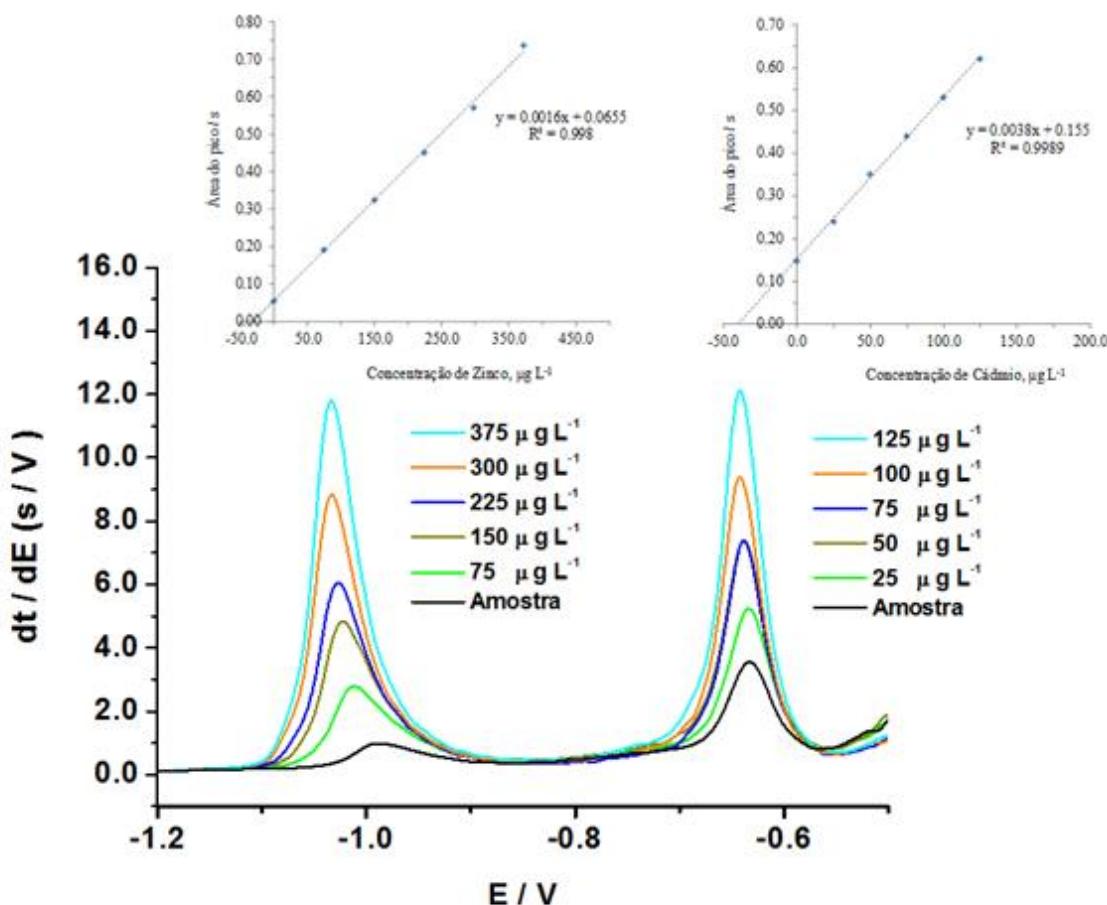
- Massa da amostra B100 empregada na digestão de $100,0 \text{ mg}$, enriquecida com solução etanólica de $\text{Zn}^{2+} 100,0 \text{ mg L}^{-1}$.
- Volume de HCl de $1,59 \text{ mL}$.
- Volume de H_2O_2 de $3,0 \text{ mL}$.
- Tempo de sonicação de $12,5 \text{ minutos}$.
- Amplitude de 25% .

Por meio da curva de adição de padrão obtida e dos potenciógramas de redissolução anódica observa-se um intercepto ao eixo correspondente à concentração do metal recuperado em estudo. Analisando-se também a curva da Figura 36, pode-se observar um coeficiente de correlação de 0,996, um coeficiente angular de $0,0013 \text{ s L } \mu\text{g}^{-1}$. O LD foi estimado em $6,9 \mu\text{g L}^{-1}$ (ou $7,7 \mu\text{g Kg}^{-1}$), calculado a $3 \times \text{SD}$ do ruído do sinal analítico ($n=12$) aplicado ao coeficiente angular da curva analítica e um $\text{LQ} = 22,7 \mu\text{g L}^{-1}$ (ou $25,6 \mu\text{g Kg}^{-1}$) calculado em relação a $3,3 \times \text{LD}$.

4.2.2.2 - Estudo de adição e recuperação para íons zinco e cádmio em amostras de biodiesel fortificadas submetidas ao processo de digestão empregando sonda de ultrassom.

Empregando-se amostras de biodiesel metílico de soja enriquecido com soluções etanólicas de zinco e cádmio $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ e submetida ao processo de digestão empregando sonda de ultrassom nas condições satisfatórias, efetuou-se testes de adição e recuperação em triplicata.

Na Figura 37 são apresentados os potenciógramas e as curvas analíticas de adição de padrão para os dois metais. Observa-se através desta que as curvas apresentam uma boa correlação (R^2) respectivamente para zinco e cádmio de 0,998 e 0,999. Os respectivos coeficientes angulares de $0,0016 \text{ s L } \mu\text{g}^{-1}$ para zinco e $0,0038 \text{ s L } \mu\text{g}^{-1}$ para cádmio. Os limites de detecção respectivamente para zinco e cádmio são: $\text{LD}_{\text{Zn}} = 5,6 \mu\text{g L}^{-1}$ (ou $6,3 \mu\text{g Kg}^{-1}$); $\text{LD}_{\text{Cd}} = 2,4 \mu\text{g L}^{-1}$ (ou $2,7 \mu\text{g Kg}^{-1}$) calculados em relação a $3 \times \text{SD}$ do ruído do sinal analítico ($n=12$) aplicado a sensibilidade da curva analítica. Os respectivos limites de quantificações para zinco e cádmio calculados em relação a $3,3 \times \text{LD}$ foram: $\text{LQ}_{\text{Zn}} = 18,48 \mu\text{g L}^{-1}$ (ou $20,8 \mu\text{g Kg}^{-1}$); $\text{LQ}_{\text{Cd}} = 7,9 \mu\text{g L}^{-1}$ (ou $8,9 \mu\text{g Kg}^{-1}$).



Fonte: Autor

Figura 37 - Potenciograma de redissolução anódica para uma amostra de biodiesel após digestão empregando sonda de ultrassom com consecutivas adições. Junto aos potenciogramas estão dispostas as curvas analíticas de adição de padrão para os metais zinco e cádmio.

- *Condições de realização do experimento*

- *Massa da amostra B100 empregada na digestão de 100,0 mg, enriquecida com solução etanólica de Cd²⁺ e Zn²⁺ 50,0 mgL⁻¹.*
- *Volume de HCl de 1,59 mL*
- *Volume de H₂O₂ de 3,0 mL.*
- *Tempo de sonicação de 12,5 minutos.*
- *Amplitude de 25%*

O estudo revela que a determinação simultânea de zinco e cádmio é possível, uma vez que os valores de recuperação encontrados foram de 98 % para ambos os metais.

4.2.2.3 - Estudo de adição e recuperação simultânea para íons zinco, cádmio, chumbo e cobre em amostras de biodiesel fortificadas submetidas ao processo de digestão empregando sonda de ultrassom por SWASV.

Empregando-se biodiesel metílico de soja fortificada com soluções etanólicas dos metais em estudo e promovendo-se a digestão via sonda de ultrassom nas condições otimizadas fez-se um estudo de adição e recuperação com determinação empregando SWASV. Os resultados de recuperação são Tabela 13.

Tabela 13 - Resultados para testes de recuperação para zinco, cádmio, chumbo e cobre em amostras de biodiesel dopadas após digestão em banho de ultrassom (n=3).

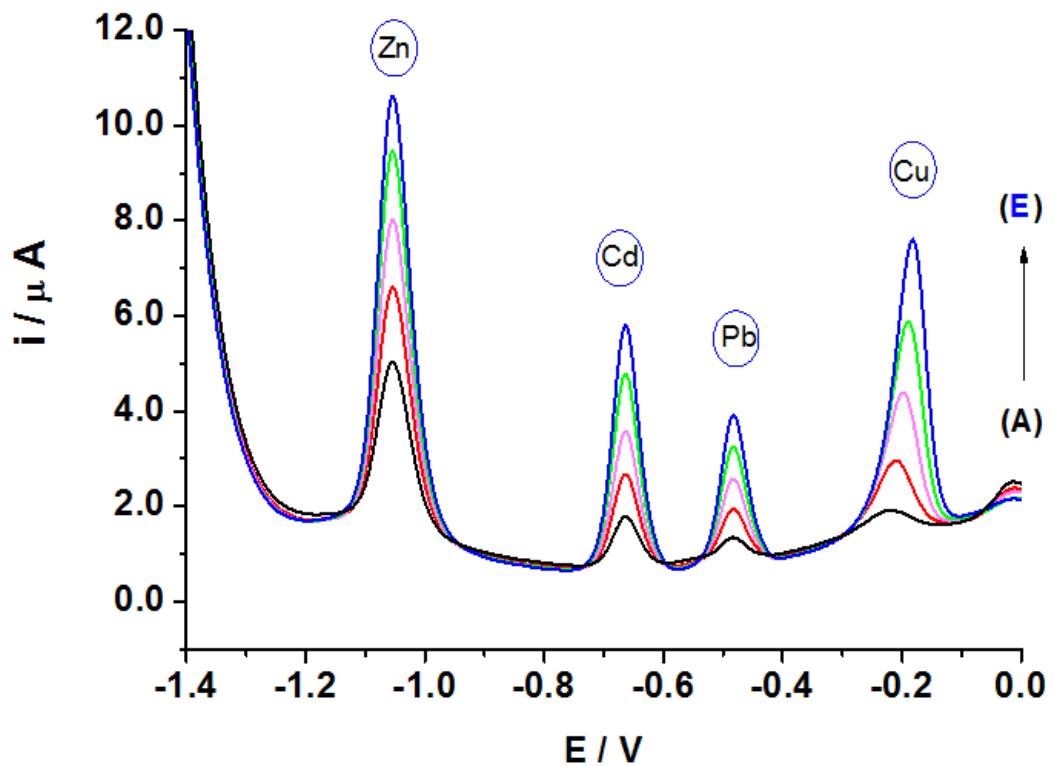
Metais	Concentração, $\mu\text{g L}^{-1}$			
	Não Fortificada	Fortificação	Recuperado	% Recuperação
Zinco	51,0	125,0	180,8	104 \pm 2
Cadmio	0,3	38,0	36,2	95 \pm 3
Chumbo	0,8	23,0	24,1	101 \pm 1
Cobre	3,4	38,0	42,2	102 \pm 2

Fonte: Autor

- Condições de realização do experimento
 - Massa da amostra de B100 empregada na digestão de 100,0 mg
 - Volume de HCl de 1,59 mL
 - Volume de H_2O_2 de 3,0 mL.
 - Tempo de sonicação de 12,5 minutos.
 - Amplitude de 25%)

Visualiza-se por meio da Figura 38, onde são apresentados os voltamogramas e as curvas de adição de padrão para os quatro metais. Observa-se que as curvas analíticas apresentam uma correlação (R^2) de 0,997 para zinco, cádmio e chumbo e 0,996 para cobre. Os coeficientes angulares respectivamente de $2,0 \times 10^{-9} \mu\text{A V L} \mu\text{g}^{-1}$ para zinco, de $3,0 \times$

$10^{-9} \mu\text{A V L} \mu\text{g}^{-1}$ para cádmio, de $2,0 \times 10^{-9} \mu\text{A V L} \mu\text{g}^{-1}$ para chumbo e $2,0 \times 10^{-9} \mu\text{A V L} \mu\text{g}^{-1}$ para cobre. Os limites de detecção para zinco, cádmio e cobre, foram estimados em: $(LD) = 25,0 \text{ ng L}^{-1}$ (ou $28,0 \text{ ng Kg}^{-1}$) e, para chumbo de: $(LD) = 50,0 \text{ ng L}^{-1}$ (ou $56,0 \text{ ng Kg}^{-1}$) calculados em relação a $3 \times \text{SD}$ do ruído do sinal analítico ($n=12$) aplicado ao coeficiente angular da curva analítica. Os limites de quantificações para zinco, cádmio e cobre, foram determinados em: $(LQ) = 83,0 \text{ ng L}^{-1}$ (ou $93,0 \text{ ng Kg}^{-1}$) e, para chumbo de: $(LQ) = 165,0 \text{ ng L}^{-1}$ (ou $185,0 \text{ ng Kg}^{-1}$), calculados em relação a $3,3 \times LD$.



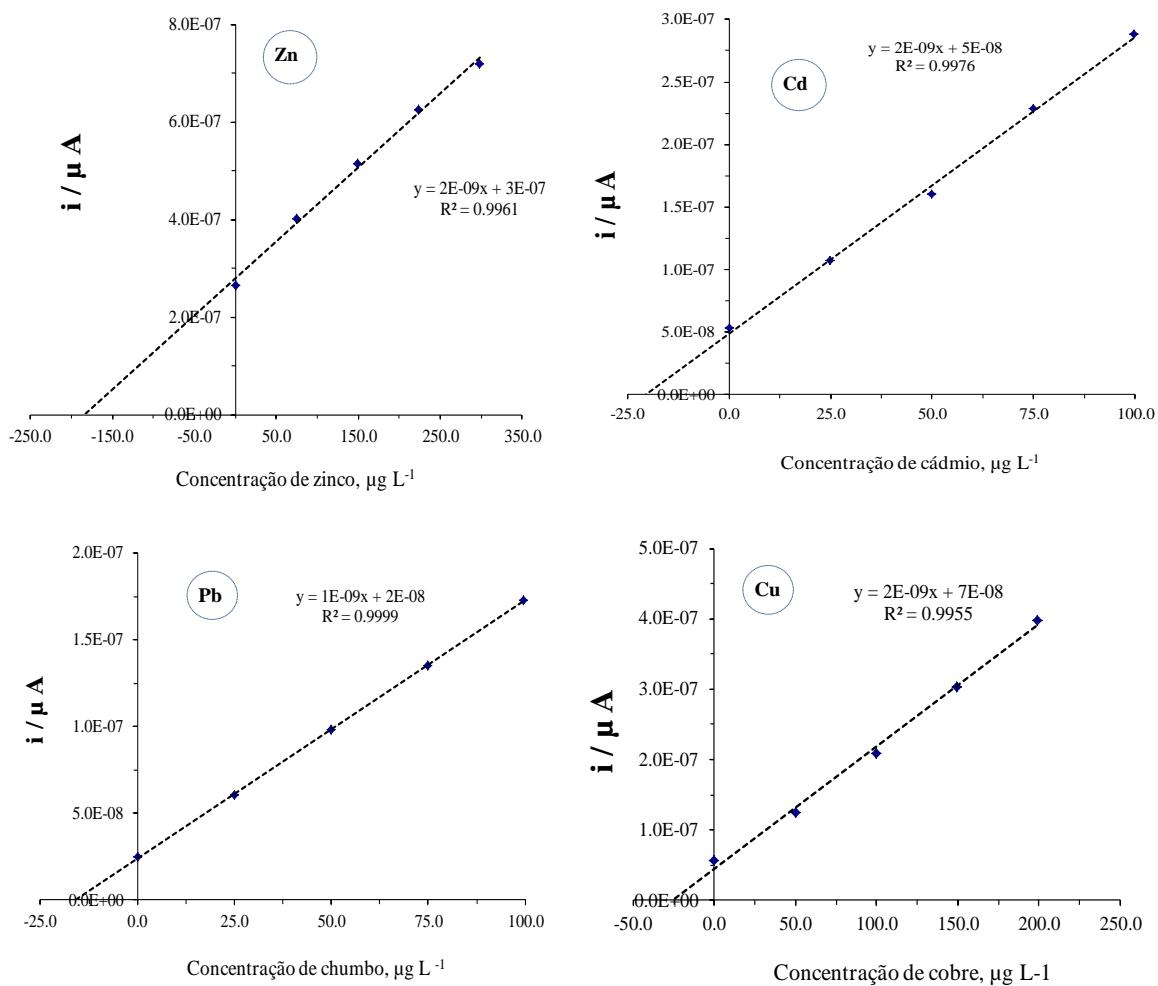


Figura 38 - Medidas realizadas empregando SWASV para amostras digeridas de biodiesel (100,0 mg) nas condições de ótimo experimental empregando sonda de ultrassom. a) Adição de amostra de biodiesel digerida, A-E) adições de 15,0 μL , 5,0 μL , 10,0 μL e 10,0 μL respectivamente de Zn, Cd, Pb e Cu e os respectivos coeficientes de correlação linear para Zn ($R^2 = 0,9961$), Cd ($R^2 = 0,9976$), Pb ($R^2 = 0,999$) e Cu ($R^2 = 0,9955$).

4.3 – Determinação do teor de carbono residual nos digeridos empregando banho e sonda de ultrassom.

A fim de atestar a eficiência dos processos digestivos, nas condições satisfatórias encontradas nos estudos, para o emprego do banho e da sonda de ultrassom, o teor de carbono residual (% RCC) foi determinado para biodiesel sintetizados a partir de diferentes matérias primas e tratados pelos métodos de preparo de amostra otimizados usando banho

de ultrassom e sonda ultrassônica (TABELA 14). Os resultados são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Teor de carbono residual encontrado após digestão em banho e sonda de ultrassom para amostras de biodiesel de Sebo, Canola, Girassol, Milho, Algodão, Soja, Residual de cozinha.

Biodiesel	Banho de ultrassom				Sonda de ultrassom	
	Amostra digerida, mg		Resposta (% RCC)		Amostra digerida, mg	
	Frascos		Frascos		Frascos	Resposta
	Aberto	Fechado	Aberto	Fechado	Aberto	% RCC
Sebo	50,0	50,0	3,306	3,607	102,0	0,502
Canola	50,4	50,1	3,750	4,016	100,0	0,475
Girassol	50,1	50,0	3,631	3,908	100,0	0,462
Milho	50,5	50,4	3,501	3,757	100,0	0,472
Algodão	50,1	50,5	3,589	2,968	100,0	0,544
Soja	50,0	50,0	3,046	3,404	100,0	0,435
Residual	50,0	50,0	3,306	3,607	100,0	0,455

Fonte: Autor

- Condições de realização do experimento

- **Banho de ultrassom**

- Temperatura do banho de 20°C.

- Tempo de sonicação de 40,0 minutos

- Volume de HCl de 3,0 mL

- Volume de H₂O₂ de 4,5 mL

- Resposta em % RCC

- **Sonda de ultrassom**

- Temperatura ambiente da sonda

- Tempo de sonicação de 12,5 minutos

- Volume de HCl de 1,59 mL

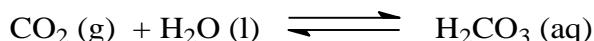
- Volume de H₂O₂ de 3,0 mL

- Resposta em % RCC

Analizando-se os valores de carbono residual (% RCC) encontrado nos digeridos, conclui-se que, a digestão é eficiente em ambos os sistemas. Entretanto, as digestões realizadas empregando banho de ultrassom (frascos abertos e fechados), apresentaram um teor

de carbono residual maior em relação aos que foram submetidos à digestão empregando a sonda de ultrassom, mesmo sendo maiores o tempo de sonicação e volume dos oxidantes. Isto pode ser explicado em parte pela maior potência da radiação ultrassônica desprendida pela sonda em relação ao banho. Outra provável explicação seria o fato de, ao empregar a sonda, a energia é focalizada diretamente na amostra; enquanto que no banho de ultrassom, a energia é transmitida para a água contida na cavidade do banho, e não diretamente na amostra, fazendo-se com que parte desta energia seja dissipada no meio, acarretando-se desta maneira, uma menor eficiência quando comparada à sonda, mesmo empregando massas de amostras diferentes.

Observa-se também que ao empregar frascos abertos e fechados contendo a mesma massa de amostra e utilizando o banho de ultrassom para promover a digestão, há uma menor porcentagem de carbono residual nos digeridos que ocorreram em frascos abertos. Isto provavelmente pode estar ligado à formação de ácido carbônico (EQUAÇÃO QUÍMICA 6), mediante a um equilíbrio químico que se estabelece entre o CO₂ formado no meio, com os complexos produtos presentes na solução digestora ou ainda, com a água proveniente da reação química entre o ácido clorídrico e o peróxido de hidrogênio (EQUAÇÃO QUÍMICA 5). Desta forma, o carbono fica retido no interior do digerido, contribuindo para valores percentuais de RCC maiores, fato que não ocorre ao empregar frascos abertos, uma vez que ocorre o desprendimento do gás para a atmosfera externa.



Equação química 6 - Equilíbrio químico entre o CO₂ formado na digestão e a solução digerida.

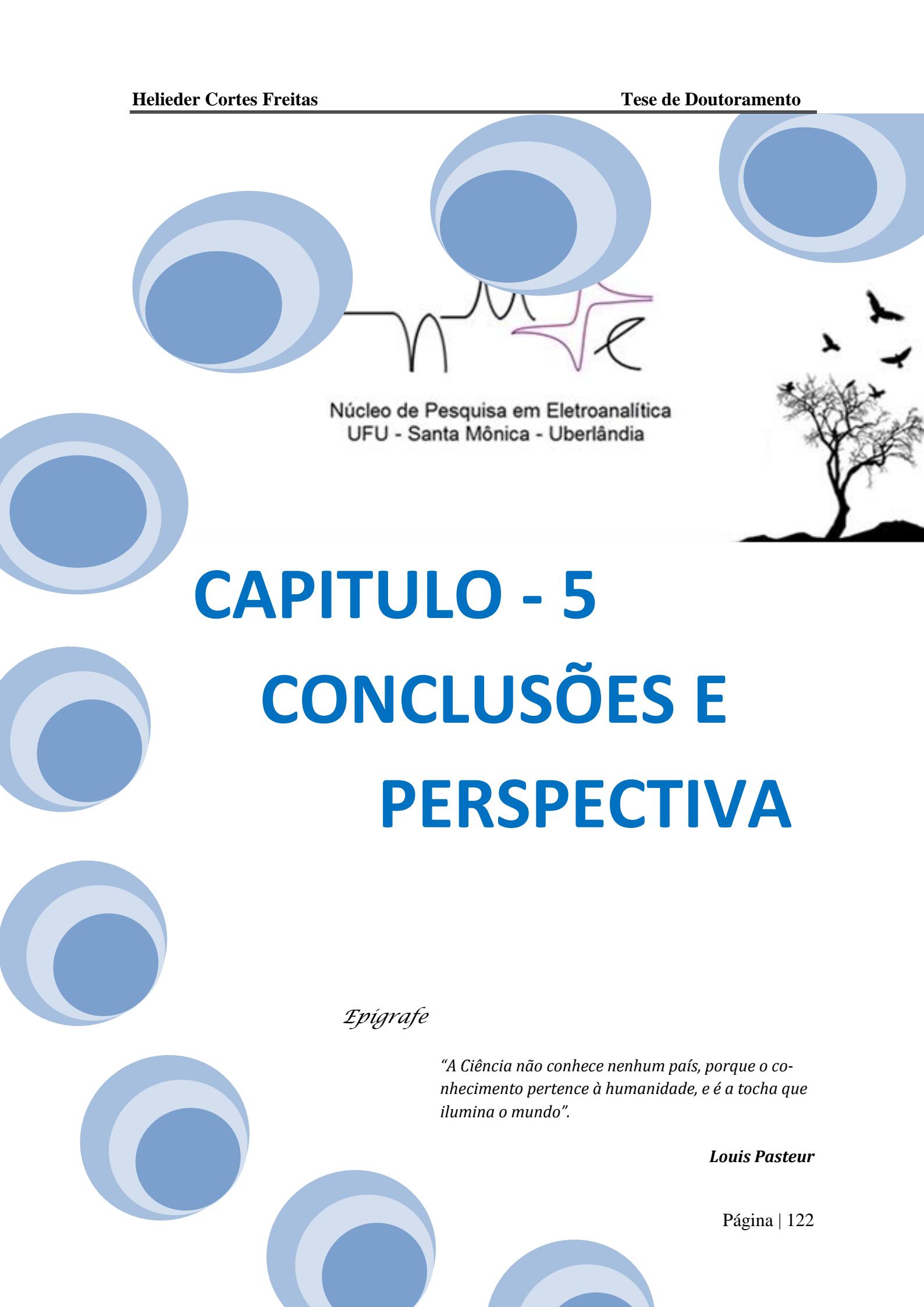
A Tabela 15 lista os valores de RCC obtidos nos digeridos deste trabalho com dados da literatura para o tratamento de amostras semelhante, empregando digestão (via úmida) por forno de microondas (GOUVEIA et al., 2001; COSTA et al., 2005; MUÑOZ et al., 2006; SANT'ANA et al., 2007; NÓBREGA et al., 2012). Notam-se valores compatíveis, principalmente quando se emprega a sonda de ultrassom.

Tabela 15 - Teor de carbono residual em amostras orgânicas após digestão empregando forno de micro-ondas (MW) e ultrassom (banho e sonda otimizados neste trabalho).

Amostras	Massa (g)	Reagentes	Digestão	Potência (W)	Tempo (min)	Temperatura °C	% RCC	Referência
Lubrificante	0,1 - 0,2	HNO ₃ + H ₂ O ₂	M W	0 - 600	1-5	95 - 250	4,1-18,4	a
Diesel	1,5 - 3,0	H ₂ SO ₄ + H ₂ O ₂ + HNO ₃	M W	60 -150	3-10	-	0,3-6,5	b
Óleo de soja	0,25	HNO ₃ + H ₂ O ₂	M W	0 - 800	1-7,5	120	3,9-14,1	c
Biodiesel	0,5	HNO ₃	M W	1500	8-14	120 - 250	0,93	d
Biodiesel	0,05	HCl + H ₂ O ₂ (30%)	US	120	40	20	2,9- 4,1	e
Biodiesel	0,1	HCl + H ₂ O ₂ (30%)	US	-	12,5	-	≤ 0,5	e

Fonte: ^a COSTA *et al.*, 2005; ^b SANT'ANA *et al.*, 2007; ^c GOUVEIA *et al.*, 2009; ^d NÓBREGA *et al.*, 2012; ^e Este trabalho.

Diante os resultados obtidos para teores de RCC e associados aos valores de recuperação nos estudos anteriormente realizados; pode-se dizer que o emprego do banho ou da sonda de ultrassom, com frascos abertos e /ou fechados (no caso do banho), no processo de pré-tratamento de amostras de biodiesel para posterior determinação de metais empregando técnicas eletroanalíticas, torna-se uma nova opção.



Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica
UFU - Santa Mônica - Uberlândia

CAPITULO - 5

CONCLUSÕES E

PERSPECTIVA

Epígrafe

"A Ciência não conhece nenhum país, porque o conhecimento pertence à humanidade, e é a tocha que ilumina o mundo".

Louis Pasteur

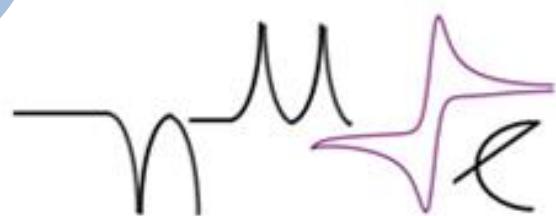
5 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.

Dentre os positivos resultados alcançados, conclui-se que:

- Este projeto de pesquisa previa de início o desenvolvimento de uma metodologia de extração de metais em amostras de biodiesel empregando banho de ultrassom. Contudo, no decorrer do projeto, verificou-se a possibilidade de decomposição completa desta matriz orgânica para posterior determinação simultânea dos metais.
- É possível o emprego da radiação ultrassônica, tanto na forma de banho de ultrassom, assim como na forma de sonda de ultrassom para o pré-tratamento de amostras de biodiesel puro (B100).
- Nos dois sistemas, banho de ultrassom e sonda ultrassônica, há um processo de digestão da matriz, resultando em um digerido homogêneo e incolor.
- O digerido apresenta um baixo teor de carbono residual (RCC), podendo ser comparado a outros sistemas de pré-tratamento de amostras usando forno de microondas e outros.
- Ao empregar a radiação ultrassônica por meio de um banho de ultrassom, os estudos revelaram que o emprego de 3,0 mL de ácido clorídrico concentrado combinado a 4,5 mL de peróxido de hidrogênio (30%) com um tempo de sonicacão de 40,0 minutos em temperatura de 20°C (ambiente do laboratório) promove a digestão completa de 50,0 mg da amostra de biodiesel B100.
- Ao empregar o banho de ultrassom nas condições de ótimos citadas, recomenda-se o emprego de frascos de vidro de 50 mL abertos ao invés de fechados, devido ao menores valores de RCC e por questões de segurança. No caso dos frascos fechados, há uma pressurização dos mesmos, podendo ocasionar o rompimento (RECOMENDA-SE USO DE FRASCOS COM VÁLVULA DE ALÍVIO DE PRESSÃO PARA SEGURANÇA). Recomenda-se um frasco com capacidade mínima de 50,0 mL para uma massa de amostra não superior a 50,0 mg, uma vez que há uma efervescência no momento inicial da adição da mistura dos agentes oxidantes, assim como durante o processo de sonicacão.

- Nos estudos realizados empregando a sonda de ultrassom, na presença dos agentes oxidantes ácido clorídrico concentrado e peróxido de hidrogênio (30%) pôde-se digerir completamente cerca de 100,0 mg de biodiesel B100.
- O estudo de otimização para o emprego da sonda de ultrassom revelou que o emprego de 1,56 mL do ácido e 3,0 mL do peróxido é suficiente para a digestão da amostra. Isto evidencia uma maior economia de reagente em relação ao emprego do banho de ultrassom. Estes estudos também revelaram que ao empregar a sonda de ultrassom, um tempo de sonicação de 12,5 minutos e uma amplitude de 25% com intermitência de pulso de 5 segundos com intervalo de 2 segundos foi suficiente para provocar a digestão completa da matriz orgânica.
- Os teores de carbono residuais determinados quando do emprego da sonda de ultrassom combinado aos agentes oxidantes revelaram resultados menores do que quando se emprega o banho de ultrassom.
- A determinação monoelementar de zinco, assim como simultânea para zinco e cádmio com eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de mercúrio ex-situ em tampão HAc/NaAc como eletrólito suporte é possível tanto pelo emprego da potenciometria de redissolução anódica, assim como voltametria.
- A determinação simultânea de zinco, cádmio, chumbo e cobre foi realizada empregando voltametria por onda quadrada de redissolução anódica. A limitação em relação à potenciometria de redissolução se dá devido à baixa sensibilidade observada para o íon chumbo nas concentrações testadas e interferência na determinação dos íons zinco e cobre.

Como perspectiva da continuação desse trabalho, o emprego de sistema do tipo *cup horn* poderia ser avaliado para a digestão de amostras de biodiesel, uma vez que combina uma sonda de alta potência com a possibilidade de tratar mais amostras simultaneamente.



Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica
UFU - Santa Mônica - Uberlândia



CAPITULO - 6

REFERÊNCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

Epígrafe

“Não é a força, mas a perseverânci que realiza grandes coisas”.

Samuel Johnson

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ABU-SAMARA, A., MORRIS J. S., KOIRTYOHANN S. R.; Wet ashing of some biological samples in a microwave oven. *Journal of Analytical Chemistry*, nº 47 p.1475-1477, 1975.
- ABNT NBR 15554, Produtos derivados de óleos e gorduras- Ésteres metílicos / etílicos de ácidos graxos-Determinação do teor de sódio por espectrometria de absorção atômica, Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2008.
- ABNT NBR 15555, Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos /etílicos de ácidos graxos-Determinação do teor de potássio por espectrometria de absorção atômica, Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2008.
- ABNT NBR 15553, Produtos derivados de óleos e gorduras - Ésteres metílicos /etílicos de ácidos graxos - Determinação dos teores de cálcio, magnésio, sódio, fósforo e potásio por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2009.
- AGARWAL, A. K. ; Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines, *Progress in Energy and Combustion Science* , v. 33, p. 233–271, 2007.
- AGARWAL, A.K; KHURANA, D. Long-term storage oxidation stability of Karanja biodiesel with the use of antioxidants. *Fuel Processing Technology*, v. 106, p. 447-452, 2013.
- AGROENERGIA, P. N. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de produção e Agroenergia. Brasília, 2006. Disponível em: <<http://www.scribd.com/doc/7069260/Plano-Nacional-de-Agroenergia-2006>>. Acesso em: 30 Junho 2011.
- AGUIAR, A.; FERRAZ, A.; CONTRERAS, D.; RODRÍGUEZ, J.; Mecanismo e aplicações da reação de fenton assistida por compostos fenólicos redutores de ferro. *Rev. Química Nova*, v. 30, p. 623-628, 2007.
- ALBUQUERQUE, A. R; DANTAS M. B.; BARROS, A. K.; RODRIGUES FILHO, M.G.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; SINFRÔNIO, F. S. M.; ROSENHAIM, R.; SOLEDADE, L. E. B.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. *Fuel*, v. 90, p. 773–778, 2011.

- ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e Técnicas. Chemkeys. Disponível on-line em: <http://www.chemkeys.com>, Acessado em junho de 2011.
- ALMEIDA, E. S., MONTEIRO, M. A. N. A., MONTES, R. H. O., MOSQUETTA, R.L, COELHO, N. M. M., RICHTER, E. M., MUÑOZ, R. A. A.; direct determination of copper in biodiesel using stripping analysis; *Electroanalysis*, v. 22, No. 16, p. 1846 – 1850, 2010.
- ALMEIDA, E. S.; PORTELA, F. M.; SOUSA, R. F. M.; DANIEL D.; TERRONES, M. G. H.; RICHTER, E. M. R.; MUÑOZ, R. A. A.; Behavior of the antioxidant tert-butyl hydroquinone on the storage stability and corrosive character of biodiesel. *Fuel*, v. 90, p.3480-3484, 2011.
- 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; *Journal Brazilian Chemical Society*, vol.18 no.8 São Paulo 2007.
- ANP- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS Resolução nº 7 de 19/03/2008 (DOU 20/03/2008).
- ARANHA, S., NISHIKAWWA, A. M., TAKA, T., SALIONE, E. M. C.; Níveis de cádmio e chumbo em fígado e rins de bovinos: *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v: 54, p. 16-20, 1994
- ASSOCIAÇÃO DAS INDÚSTRIAS BRASILEIRAS DE ÓLEOS VEGETAIS. Disponível em: <http://www.abiove.org.br/>; Acessado em 22 de Março de 2015.
- BARRETO, C.C. K; OLIVEIRA, C.C.; SOUZA, G.G.; ET AL. Evaluation of the stability during storage of a diesel-like fuel obtained by the pyrolysis of soybean oil. *Biomass & Bioenergy*, v. 37, p. 42-48, 2012.
- BAKIRCIOLU, D.; KURTULUS, Y. B.; YURTSEVER, S.; Comparison of extraction induced by emulsion breaking, ultrasonic extraction and wet digestion procedures for determination of metals in edible oil samples in Turkey using ICP-OES, *Food Chemistry* v.138, p. 770–775, 2013.
- BELLAVER, C, *et al.* Parâmetros de Qualidade em Gorduras e Sub-produtos protéicos de Origem Animal. Santos: Apinco, 2004.
- BEZERRA, M. A. ET AL. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, nº 76, p. 965, 2008.

- BERRIOS, M.; MARTÍN, M. A.; CHICA, A. F.; MARTÍN, A. Storage effect in the quality of different methyl esters and blends with diesel, *Fuel*, v. 91, p. 119–125, 2012.
- BIZARRO, V. G.; MEURER, E. J.; TATSCH, F. R. P.; - Teor de Fertilizantes fosfatados comercializados no Brasil, *Ciência Ruaral – Santa Maria*, v. 38, nº 1, p. 247-250, 2008.
- BIZZI, C. A.; FLORES, E. M. M.; PICOLOTO, R. S.; BARIN, J. S. & NÓBREGA, J. A. “Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid”. *Analytical Methods*, 2: 734, 2010.
- <http://www.biodieselbr.com/biodiesel/social/aspectos-sociais.htm>; acesso em 15/04/2015 as 18:04 h.
- <http://www.biodieselbr.com>, site acessado em 15/04/15 as 19:00 h.
- BONDIOLI, P.; GASPAROLI, A.; DELLA BELLA, L.; TAGLIABUE, S.; LACOSTE, F.; LAGARDERE, L. Biodiesel stability under commercial storage conditions over one year *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, nº 105, p.735-741, 2003.
- BONDIOLI, P.; GASPAROLI, A.; DELLA BELLA, L.; TAGLIABUE, S.; LACOSTE, F.; LAGARDERE, L. The prediction of biodiesel storage stability. Proposal for a quick test. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, p.822-830, 2004.
- BOLETIM MENSAL DO BIODIESEL - Fevereiro de 2015. Disponível em: www.anp.gov.br. Acessado em 22 de Março de 2015.
- BORGES, S.S; KORN, M.; ANDRADE, M.V.A.; SOUSA, C.S.; OLIVEIRA, F.S.; Reagent generation assisted by ultrasonic irradiation; *J. Braz. Chem. Soc.* 14, p .254-258, 2003.
- BOGUSŁAW, B.; Refreshable mercury film silver based electrode for determination of chromium(VI) using catalytic adsorptive stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, v. 570 , p. 195–201, 2006.
- BRASIL, Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nos 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/CCIVIL/Ato2004-006/2005/Lei/L11097.htm>, Acesso em: 15 de dezembro de 2014.
- BRETT, C.M.A., Electroanalytical Techniques for the Future: The Challenges of Miniaturization and of Real-Time Measurements. *Eletroanalysis*. 11: 1013, 1999.

- BRUTTEL, P. A.; SCHÄFER, J. Sample preparation techniques in voltammetric trace analysis. Metrohm, Herisau, 1992.
- BULDINI, P.L.; RICCI, L.; SHARMA, J. L. Recent applications of sample preparation in food analysis, *Journal of chromatography A*, n° 47, p. 975, 2002.
- BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M.; Analytical applications of emulsions and micro-emulsions; *Talanta*, v. 96, p.11– 20, 2012.
- CARASEK, E.; TONJES, J. W.; SHARF, MAURO; Pré-Concentração de Chumbo e Cádmio em um sistema de micro extração líquido-líquido e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama: *Química Nova*, Vol. 25, p. 748-752, 2002.
- CASTILHO, M. S.; STRADIOTTO, N. R. Determination of potassium ions in biodiesel using a nickel (II) hexacyanoferrate-modified electrode, *Talanta*, n°.74, p. 1630-1634, 2008.
- CAPOTE, F. P., LUQUE DE CASTRO, M. D.; Ultrasound in analytical chemistry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387, p. 249-257, 2007.
- CHAVES, E. S.; LEPRI, F. G.; SILVA, J. S. A.; QUADROS, D. P. C.; PIERRE, T. D. S.; CURTIUS, A. J. Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS; *Journal of Environmental Monitoring*, n° 10, p. 1211-1216, 2008a.
- CHAVES, E. S.; PIERRE, T. D. S.; SANTOS, E. J. dos; TORMEN, L.; BASCUÑAN, V. L. A. F.; CURTIUS, A. J. Determination of Na and K in biodiesel by flame atomic emission spectrometry and microemulsion sample preparation; *Journal Brazilian Chemical Society* v. 19, p. 856-861, 2008b.
- CHAVES, E. S.; SANTOS, E. J.; ARAUJO, R. G. O.; OLIVEIRA, J. V.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Metals and phosphorus determination in vegetable seeds used in the production of biodiesel by ICP OES e ICP-MS. *Microchemical Journal*, n°. 96, p. 71-76, 2010.
- CHAVES, E. DO S.; LOOS-VOLLEBREGT, M.T.C. DE.; CURTIUS, A. J.; VANHAECKE, F.; Determination of trace elements in biodiesel and vegetable oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following alcohol dilution *Spectrochimica Acta Part B*, v. 66, p. 733–739, 2011- doi:10.1016/j.sab.2011.09.006.
- CHRISTENSEN, E; MCCORMICK, R.L. Long-term storage stability of biodiesel and biodiesel blends. **Fuel Processing Technology**, v. 128, p. 339-348, 2014- 6- 66.

- CHUMBO; <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Chumbo>> Acessado em 19 abril de 2015.
- CLARK, A.C.; . SCOLLARY, G.R, ; Determination of total copper in white wine by stripping potentiometry utilising medium exchange. *Analytica Chimica Acta*,. 413(1-2): p. 25-32, 2000.
- CORSINI, M. DA S., JORGE, N., MIGUEL, A. M. R. DE O., Vicente, E.; perfil de ácidos graxos e avaliação da alteração em óleos de fritura, *Rev. Quim. Nova*, Vol. 31, No. 5, p. 956-961, 2008.
- COSTA, L. M.; FERREIRA, S. L. C.; NOGUEIRA, A. R. A. & NÓBREGA, J. A. “Use of factorial design for optimization of microwave-assisted digestion of lubricating oil”. *Journal Brazilian Chemical Society*, nº16, p.1269-1274, 2005.
- CORBI, J. J., CUIN, A., ET AL; O Cádmio e seus efeitos no Homem e no meio ambiente: *Jornal de Bioquímica Médica*, 2002.
- COSTA, A. C. S., NOZAKI, J., ET AL ; Determinação de cobre, alumínio e ferro em solos derivados do basalto através de extrações seqüenciais: *Química Nova*, Vol. 25, p. 548-552 , 2002.
- COSTA, L. M., SILVA, F. V., GOUVEIA, S. T., NOGUEIRA, A. R. A., NÓBREGA, J. A.; Focused microwave-assisted acid digestion of oils: an evaluation of the residual carbon content, *Spectrochimica Acta Part B* 56, p. 1981-1985, 2001.
- DEMIRBAS, A.; Importance of biodiesel as transportation fuel *Energy Policy*, v. 35, P. 4661-4670, 2007.
- DEMIRBAS, Ayhan. *Biodiesel: a realistic fuel alternative for diesel engines*. London; Springer-Verlag, 2008.
- DE QUADROS, D. P, C.; CHAVES, E. S.; SILVA, J. S. A.; TEIXEIRA, L. S. G. CURTIUS, A. J.; PEREIRA, P. A. P.; Contaminantes em Biodiesel e Controle de Qualidade, *Rev. Virtual Quim.* Vol 3, No. 5, p. 376-384, 2011.
- DE OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.14, p.174-182, 2003.
- DE JESUS, R. M., JUNIOR, M. M. S., MATOS, G. D., DOS SANTOS, A. M. P. FERREIRA, S. L. C. Validation of a digestion system using a digester block/cold finger system for the determination of lead in vegetable foods by 109 electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of AOAC International*, v. 94, p. 942-946, 2011.

- DINÇKAYA, E.; SEZGINTÜRK, M. K.; AKYILMAZ, E.; ERTAS, F. N.; Sulfite determination using sulfite oxidase biosensor based glassy carbon electrode coated with thin mercury film. *Food Chem.* v. 101, p. 1540-1544, 2007.
- DOKTYCZ, S.J., SUSLICK, K.S.;- Interparticle Collisions Driven by Ultrasound, *Science* 247, p. 1067, 1990- Downloaded from www.sciencemag.org em julho, 2014.
- DORSA, R. *Tecnologia de Óleos Vegetais*. Campinas, 2004: Westfalia Separator de Brasil Ltda.
- DU PLESSIS, L. M.; DE VILLIERS, J. B. M.; VAN DER WALT, W. H. Stability studies on methyl and ethyl fatty acid esters of sunflowerseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 62, n. 4, p. 748-752, 1985.
- DU, B.; WEI, Q.; WANG, S.; YU, W.; *Talanta*, nº 44, p. 1803, 1997
- EMSLEY, J.; Moléculas em exposição, Tradução: Gianluca C. Azzellini et ali: Edgard blucher LTDA, São Paulo, 2001.
- ESTELA, J.M., ET AL., *Potentiometric Stripping Analysis - A Review*. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1995. **25**(2); p. 91-141.
- EVANS, E. H.; GIGLIO, J. J.; Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry, A review; *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 8, p. 1-18, 1993.
- FABIANO, D. P.; ROSA, C. A. da; MARCINIUK, L. L.; CARDOSO, D. Simulação da reação de esterificação para obtenção do biodiesel. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/producao/60.pdf>>. Acessado em 10 setembro, 2013.
- FERNANDES, D. M., SERQUEIRA, D. S., PORTELA, F. M., ASSUNÇÃO, R. M., MUÑOZ, R. A.A, TERRONES, M. G.H. Preparation and characterization of methylic and ethylic biodiesel from cottonseed oil and effect of tert-butylhydroquinone on its oxidative stability. *Fuel*, v. 97, p. 658-661, 2012.
- FERNANDES, L. H.; MAINIER. F. B.; - Os riscos da exposição ocupacional ao cádmio; *Sistemas & Gestão* 9, p. 194-199, 2014, DOI: 10.7177/sg.2014.v9.n2.a3.
- FERNANDEZ, L.; SANTOS, HUGO. M. ; NUNES-MIRANDA, J. D.; LODEIRO, C.; CAPELO, J.. L.; - Ultrasonic Enhanced Applications in Proteomics Workflows: single probe versus multiprobe - *Journal of integrated omics a methodological journal*, vol 1, p. 144-150, 2011 - DOI: 10.5584.

- FERREIRA, H. B. P., BARBEIRA, P. J. S.; Voltammetric Determination of Zinc in Lubricating Oils, *Energy Fuels*, v.23, p. 3048–3053, 2009.
- FERREIRA, C. C.; COSTA, L. M.; BARBEIRA, P. J. S.; Methyl oleate as matrix simulacrum for the simultaneous determination of metals in biodiesel samples by flame atomic emission spectroscopy; *Talanta*, v. 138, p. 8–14, 2015
- FERREIRA, S. L. C., SILVA, L. O. B., SANTANA, F. A., JUNIOR, M. M. S., MATOS, G. D., DOS SANTOS, W. N. L. A review of reflux system using cold finger for sample preparation in the determination of volatile elements; *Microchemical Journal*, v. 106, p. 307-310, 2013.
- FERRARI, A.R., OLIVEIRA, V.S., SEABIO, A. Biodiesel from soybean: Characterization and consumption in an energy generator *Química Nova*, 28, p.19-23, 2005.
- FERREIRA, S. L. C., DE JESUS, R. M., MATOS, G. D., DE ANDRADE, J. B., BRUNS, R. E., DOS SANTOS, W. N. L., CAVALCANTE, D. D., VALE, M. G. R., DESSUY, M. B. Multivariate optimization and validation of an analytical method for the determination of cadmium in wines employing ET AAS, *Journal of the Brazilian Chemical society*, v. 20, p. 788-794, 2009.
- FIRME, L. P.; VILLANUEVAA, F. C. A.; RODELLAB, A. A.; - Solo contaminado com cádmio: extratibilidade do metal e cinética química de degradação da matéria orgânica de torta de filtro; *Revista Química Nova*, Vol. 37, No. 6, 956-963, 2014; <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140173>.
- FLORES, E. M. M, BARIN, J. S., PANIZ J. N. G., MEDEIROS J. A., KNAPP G.; Microwave-assisted sample combustion: A technique for sample preparation in trace element determination; *Analytical Chemistry*, 76 (13), 3525 – 3529, 2004.
- FONTOURA, L. A. ET AL. A química, os processos de obtenção e especificações do biodiesel. *Revista Analytica*, fev/mar, 2008.
- FONTANA, A.; BRAEKMAN-DANHEUX , C.; JUNG , C.G.; - Ultrasonic removal of heavy metals from waste oils Original Research Article *Fuel Processing Technology*, V. 48, P. 107-113, *Fuel Process. Technol.* 502, p. 107, 1996.
- FRANKEL, E.N. *Lipid Oxidation*, The Oily Press, Dundee, Scotland, 1998.
- FREITAS, E. V. DE S., DO NASCIMENTO, C. W. A, GOULART, D. F. , DA SILVA , J. P. S.; - Disponibilidade de cádmio e chumbo para milho em solo adubado com fertilizantes fosfatados; *Revista Brasileira Ciência do Solo*, nº 33, p.1899-1907, 2009.

- FREIRE R.; Disponibilidade dos metais cobre e chumbo em um canal de maré receptor de efluentes de carcinicultura. Fortaleza (CE): Universidade Federal do Ceará, (2009). 134 p. (Tese de Mestrado).
- FREITAS, H. C., ALMEIDA, E. S., TORMIN, T. F., RICHTER, E. M., MUÑOZ, R. A. A.; Ultrasound-assisted digestion of biodiesel samples for determination of metals by stripping voltammetry; Analytical Methods, View Article Online, www.rsc.org/methods,- DOI: 10.1039/c4ay02313g.
- GERPEN, J.V, et al. Manual de Biodiesel. 1^a Edição, São Paulo: Edgard Blucher, 2006.
- GHESTI, G. F., MACEDO, J. L. DE., DIAS, J. A., DIAS, S. C. L.; Produção de biodiesel via transesterificação etílica com zeólitas básicas, Revista *Química Nova*, Vol. 35, No. 1, p. 119-123, 2012.
- GOGATE, P.R.; PANDIT A. B. A; - Review and assessment of hydrodynamic cavitation as a technology for the future. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 12, p. 21-27, 2005.
- GOLDEMBERG, J.; Energia para o desenvolvimento econômico. TAQ, TA Queiroz Editor, 1988.
- GOZZO, M.L., ET AL., Determination of copper, zinc, and selenium in human plasma and urine samples by potentiometric stripping analysis and constant current stripping analysis. *Analytica Chimica Acta*, v. 285, p. 53-68, 1999.
- GOUVEIA, S. T., SILVA, F. V., COSTA, L. M., NOGUEIRA, A. R. A., NÓBREGA, J. A.; Determination of residual carbon by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry with axial and radial view configurations, *Analytica Chimica Acta*, nº 445, p. 269–275, 2001.
- GÜNER, F.S.; YAĞCI, Y.A.; ERCIYES, T. Polymers from triglyceride oils. *Progress in Polymer Science*, 31, p.633-670, 2006.
- HADORN H.; ZURCHER K. Zur Bestimmung der Oxydations-stabilitat von Olen und Fetten. *Dtsch Lebensm Rundsch*, 70, p.57–65, 1974.
- HATJE V., COSTA L. M., KORN M. G. A., COTRIMA G.; Speeding up HCl Extractions by Employing Ultrasound Energy to Evaluate Trace Elements Bioavailability in Sediments. *Journal Brazilian Chemical Society* (20), p. 846-852, 2009.
- HARRIS, D. C.; Análise química quantitativa, Tradução: Riechl. C. A. S.: 5^a edição, Editora: Livros técnicos e científicos, Rio de Janeiro, 2001.

- HOSHINO, T.; IWATA, Y.; KOSEKI, H. Oxidation stability and risk evaluation of biodiesel. *Thermal Science*, 11, p.87-100, 2007.
- HURT, R. H.; GIBBINS, J. R. Residual carbon from pulverized coal fired boilers. I: Size distribution and combustion reactivity. *Fuel*, 74: 471, 1995.
- INFORME AGROPECUÁRIO - EPAMIG. Belo Horizonte, v.26, n.229 , 2005.
- IQBAL J.; CARNEY, W. A., LACAZE, S.; THEEGALA, C. S.; Metals Determination in Biodiesel (B100) by ICP-OES with Microwave Assisted Acid Digestion; *Analytical Chemistry Journal*, 4, 18-26, 2010.
- <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/defaulttab.shtml>; acessado em 15/04/15 as 18:30 h.
- JAGNER, D. ; GRANELI, A.; *Potentiometric stripping analysis*. *Analytica Chimica Acta*, v. 83, p. 19-26, 1976
- JAIN, S.; SHARMA, M. P. Long term storage stability of Jatropha curcas biodiesel. *Energy*, n° 36, p.5409-5415, 2011.
- JAIN, S.; SHARMA, M. P.; Thermal stability of biodiesel and its blends; A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 15, p. 438-448, 2011.
- JAIN, S.; SHARMA, M. P. Correlation development for effect of metal contaminants on the oxidation stability of Jatropha curcas biodiesel; *Fuel*, v. 90, p. 2045–2050, 2011.
- JAIN, S.; SHARMA, M. P. Correlation Development for the Effect of Metal Contaminants on the Thermal Stability of Jatropha curcas Biodiesel. *Energy Fuels*, v. 25, p. 1276–1283, 2011.
- JAIN, S.; SHARMA, M. P.; Oxidation stability of blends of jatropha biodiesel with diesel. *Fuel*, v. 90, p. 3014–20, 2011.
- JAIN, S.; SHARMA, M. P.; Study of oxidation stability of Jatropha curcas biodiesel/diesel blends. *International Journal of Energy and Environment*, v. 2, p.533-542, 2011.
- KALICANIN, B.M., NIKOLIC, R.S.; Potentiometric stripping analysis of zinc and copper in human teeth and dental materials. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 22(2): p. 93-99, 2008.
- KAZI, T. G., JAMALIA, M. K., ARAINA, M. B., AFRIDI , H. I., JALBANI, N., SARFRAZA, R. A., ANSARI, R.; Evaluation of an ultrasonic acid digestion procedure for total heavy metals determination in environmental and biological samples. *Journal*

- of Hazardous Materials (161), p. 1391–1398, 2009.
- KING, A. D.; HILLIGOSS, D. R.; WALLACE, G.F. Comparison of results for determination of wear metals in used lubricating oils by flame atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma emission spectrometry. *Atomic Spectroscopy*, (5)4: 189, 1984.
 - KNOTHE, G. ET AL. Manual de Biodiesel. 1 ed. São Paulo: Edgard Blucher, p. 352., 2006.
 - KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Process Technol*, n° 86, p. 1059–1070, 2005.
 - KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. *Fuel Processing Technology*, v. 88, n. 7, p. 669-677, 2007.
 - KNAPP, G. Decomposition of Organic Materials Fundamentals. II Workshop sobre métodos de decomposição de amostras, CENA-USP, Piracicaba – São Paulo, 1998.
 - KORN, M. G. A.; SANTOS, D. C. M. B.; GUIDA, M. A. B.; BARBOSA, I. S.; PASSOS, M. L. C.; SARAIVA, M. L. M. F. S. & LIMA, J. L. F. C. “Evaluation of digestion procedures for simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by inductively coupled plasma optical emission spectrometry” *J. Braz. Chem. Soc.*, 21: 2278, 2010.
 - KORN, M.; ANDRADE, M. V.A.; BORGES, S. S. Procedimentos analíticos assistidos por ultra-som, *Revista analytica*, 34: 39, 2003.
 - KORN, M.G. et al, Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels – a review, *Talanta*, v. 73; p.1-11, 2007.
 - KORN, M.; Aplicações analíticas de ondas ultrasônicas, 2000, em <http://www.iqm.unicamp.br/sbq/dqa/ondaultrasom.htm>, acessado em 01/01/2012 as 20:0 h.
 - KRUG, F. J.; - Métodos de Preparo de Amostras: Fundamentos sobre métodos de preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1. ed. Piracicaba: Edição do autor., v. 01, p. 340, 2010.
 - LAVILLA, I., PEREZ-CID, B., BENDICHO, C.; Leaching of Heavy Metals from an Aquatic Plant (*Lagarosiphon Major*) used as Environmental Biomonitor by Ultrasonic Extraction Intern. *J. Anal. Chem.* n° 7; p. 47 - 57 ,1997- Published online: 22 Sep 2006 - DOI: 10.1080/03067319808032643.

- LAGERWEFFJ. V.; Lead, mercury, and cadmium as environmental contaminants. In: Morvedt J. J., Giordano P. M., Lindsay W. L.; (Eds.). Micronutrients in agriculture. Madison: Soil Sciences Society of America (1972) 593-636.
- LA PERA, L., ET AL., Derivative potentiometric stripping analysis (dPSA) used for the determination of cadmium, copper, lead, and zinc in Sicilian olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,. 50(11): p. 3090-3093, 2002.
- LANGEVIN, D.; JACQUES, M.; CAZABAT, A.; Les microemulsions ; La recherche, vol. 16, 720,1985.
- LEWIS, G. P., COUGHLIN, L., JUSKO, W., HARTZ, S.; Contribution of cigarette smoking to cadmium accumulation in man: *Lancet*, Vol. 1, p. 291-292, 1972.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, MICHAEL M.; Princípios de Bioquímica, 4^a edição, Sarvier: São Paulo, 2006.
- LIMA, A. F.; MUÑOZ, R. A. A. ; RICHTER, EDUARDO M.; Alternative analytical method for metal determination in inorganic fertilizers based on ultrasound-assisted extraction; *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 22, p. 1519-1524, 2011.
- LIMA, P. C. R. O biodiesel e a inclusão social. “Câmara dos Deputados” – 2004.
- LIMA, A. F.; COSTA, M. C.; FERREIRA, D. C.; RICHTER, EDUARDO M.; MUÑOZ, RODRIGO A. A.; Fast ultrasound-assisted treatment of inorganic fertilizers for mercury determination by atomic absorption spectrometry and microwave-induced plasma spectrometry with the aid of the cold-vapor technique. *Microchemical Journal*; v. 118, p. 40-44, 2015.
- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: Parâmetros de Qualidade e Métodos Analíticos; *Química Nova*, v. 32, p. 1596-1608, 2009.
- LUQUE, DE CASTRO, M.D., CAPOTE, F. P. – Analytical applications of ultrasound, techniques and instrumentation in analytical chemistry, Volume 26, Elsevier, Oxford, 2007.
- LUQUE-GARCÍA, J.L., RUIZ-JIMÉNEZ , J., DE CASTRO,M.D.L .; Dynamic ultrasound-assisted extraction of cadmium and lead from plants prior to electrothermal atomic absorption spectrometry; *Analytica Chimica Acta* 480, p. 231–237, 2003. - DOI:10.1016/S0003-2670(02)01658-6.
- LYRA, F. H.; CARNEIRO, M. T. W. D.; BRANDÃO , G. P.; PESSOA, H. M.; , CASTRO, E. V. DE; Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by

- flame atomic absorption spectrometry (FAAS) using microemulsion as sample preparation; *Microchemical Journal* , v. 96, p. 180–185, 2010.
- MAGNA, G. A. M.; MACHADO, S. L.; PORTELLA, R. B.; CARVALHO, M. DE F.; - Chumbo e cádmio detectados em alimentos vegetais e gramíneas no município de santo amaro-bahia; *Rev. Quim. Nova*, Vol. 36, No. 7, 989-997, 2013.
 - MAIA E. C. R.; BORSATO, D.; MOREIRA, I.; SPACINO, K. R.; RODRIGUES, P. R. P.; GALLINA, A. L. Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants; *Fuel Processing Technology*, v. 92, p. 1750-1755. 2011.
 - MALGORZATA G.; BOGUSŁAW, B.; MIECZYSŁAW K. Application of a renewable silver based mercury film electrode to the determination of Cr(VI) in soil samples. *Microchim Acta*, 2008, (<http://www.springerlink.com/content/c4u1952221520581/>).
 - MAYER, H., ET AL., Determination of Cu(II) in beer by derivative potentiometric stripping analysis. *Journal of the Institute of Brewing*, 109(4): p. 332-336, 2003.
 - MARTINES, M. A. U., DAVOLOS , M. R., JÚNIOR, M . J; O efeito do ultra-som em Reações Químicas; *Rev. Química Nova (Divulgação)*, 23(2), p. 251 – 256, 2000.
 - MACINTYRE, A.J.; - Bombas e Instalações de Bombeamento. 2.ed. revista. Rio de Janeiro: LTC, 1997.
 - MASON, T. J., LORIMER J. P.; SONOCHEMISTRY: Theory, Applications and Uses of Ultrasound in Chemistry, Ellis Horwood Limited, Chichester, UK, 1988.
 - MATOS, M., SILVA H., SILVA N., FIGUEIRA C., BARROS E; Análise de Metais Pesados em Amostras Reais usando Tecnologia de Ultrassons para a sua preparação. Seminário do Semestre de Verão 2005/2006 da Licenciatura em Engenharia Química, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, 2006.
 - MAMBA, S., KRATOCHVIL, B.; Application of Ultrasound to Dissolution of Environmental Samples for Elemental Analysis ; *Intern. J. Anal. Chem.* 60 p. 295, 1995. - DOI: 10.1080/03067319508042885.
 - MALEKI, H.; COJOCARU, C. D.; BRETT, C. M. A.; JENKINS, G. M.; SELMAN, J. R. Changes in the electrochemical behavior of polymeric carbon induced by heat - treatment and doping with lithium ions. *J. Electroch. Soc., New Jersey*, v. 145, n. 3,p. 721, 1998.
 - MARIN , A. , LÓPEZ-GONZÁLEZ , A. , BARBAS, C .; Development and validation of extraction methods for determination of zinc and arsenic speciation in soils using

- focused ultrasound Application to heavy metal study in mud and soils; *Anal. Chim. Acta* 442, p. 305, 2001. - PII:S0003-2670(01)01169-2.
- MESKO, M. F., DE MORAES D. P., BARIN J. S., DRESSLER V. D., KNAPP G., FLORES E. M. M.; Digestion of biological materials using the microwave-assisted sample combustion technique. *Microchemical Journal*, nº 82, p. 183-188, 2006.
 - MEDEIROS, M. DE A.; ZINCO; *Revista Química Nova na Escola* v. 34, n° 3, p. 159-160, 2012.
 - MOURA, C.V.R.; CASTRO, A.G.; ET AL.. Heterogeneous Catalysis of Babassu Oil Monitored by Thermogravimetric Analysis. *Energy & Fuel*, 24, p. 6527–6532, 2010.
 - MONYEM, A., VAN GERMEN, J.H. The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions. *Biomass & Bioenergy*, 20, p.317-325, 2001
 - MORRISON, G. H.; FREISER, H. Solvente extraction in analytical chemistry: New York, john Wiley & Sons, 1957.
 - MONTGOMERY, D. C. "The economic design of control charts: a review and literature survey." *Journal of Quality Technology*, v. 12, n. 2, p. 75-87, 1978.
 - MONTERROSSO, S. C. C.; CARAPUÇA, H. M.; SIMÃO, J. E.J.; DUARTE, A. C.; Optimisation of mercury film deposition on glassy carbon electrodes: evaluation of the combined effects of pH, thiocyanate ion and deposition potential. *Anal. Chim. Acta*. v. 503, p. 203-212, 2004.
 - MORITA, T., ASSUMPÇÃO, R. M. V. *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes*, 2^a Edição Revista, Pg. 724, editora Edgard Blucher, 2007.
 - MUÑOZ, R. A. A., OLIVEIRA, P. V., ANGNES, L.; Combination of ultrasonic extraction and stripping analysis: An effective and reliable way for the determination of Cu and Pb in lubricating oils, *Talanta* 68, p. 850-856, 2006.
 - MUÑOZ, R. A. A., SILVA , C. S., CORREIA, P. R. M., OLIVEIRA , P. V., ANGNES, L., Potentiometric stripping analysis for simultaneous determination of copper and lead in lubricating oils after total digestion in a focused microwave-assisted oven, *Microchim. Acta* 149 (2005) 199-204.
 - MUÑOZ, E., PALMERO, S.; Determination of heavy metals in honey by potentiometric stripping analysis and using a continuous flow methodology. *Food Chemistry*, 94(3): p. 478-483, 2006.

- MUÑOZ, E.; PALMERO, S.; Determination of heavy metals in milk by potentiometric stripping analysis using a home-made flow cell. *Food Control.*, 15(8): p. 635-641, 2004.
- MUÑOZ, R.A.A. et al., Ultrasound-assisted treatment of coconut water samples for potentiometric stripping determination of zinc.; *Journal Brazilian Chemical Society*, v.18, p. 410-415, 2007.
- MUÑOZ, R. A. A., CORREIA , P. R. M., NASCIMENTO, A. N., C. S. SILVA, OLIVEIRA, P. V., ANGNES, L.; Electroanalysis of crude oil and petroleum-based fuel for trace metals: evaluation of different microwave-assisted sample decompositions and stripping techniques, *Energy Fuels* 21, p. 295–302, 2007.
- MUÑOZ, R. A. A., FELIX, F; AUGELLI, M.; PAVESI, T.; ANGNES, L.; Fast ultrasound-assisted treatment of urine samples for chronopotentiometric stripping determination of mercury at gold film electrodes; *Analytica Chimica Acta*, v. 571, p. 93-98, 2006.
- NAPPO, M. Biodiesel no Brasil - A Visão da Indústria de Óleos Vegetais . VI Forúm de Debates sobre Qualidade e Uso de Combustíveis. ABIOVE/IBP, 01 de jun. 2006.
- NASCENTES, C. C., KORN M., ARRUDA M. A. Z.; A fast ultrasound-assisted extraction of Ca, Mg, Mn and Zn from vegetables. *Microchemical Journal* 69 p. 37-43, 2001.
- NETO, B. B., SCARMINIO, I. S., BRUNS, R. E.; - *Como Fazer Experimentos: Aplicações na Ciência e na Indústria*, Editora Bookman, nº p. 414, Edição 4^a, 2010.
- NÓBREGA, J. A., PIROLA, C., FIALHO, L. L, ROTA, G., DE CAMPOS JORDÃO, C. E. K. M. A., POLLO, F.; Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become?, *Talanta* nº 98, p.272–276, 2012.
- NÓBREGA, J. A.; TREVIZAN, L. C.; ARAÚJO, G. C. L. & NOGUEIRA, A. R.A. “Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation – review.” *Spectrochimica Acta Part B*, 57: 1855, 2002.
- NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ – Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. Instituto Adolfo Lutz - São Paulo, 1976. v. 1, ed 2º.
- NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A.; MORAES, D. P.; FLORES, E. M. M.; KRUG, F. J.; KNAPP, G.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F; “Decomposições assistidas por radiação micro-ondas”. IN: *Métodos de preparo de amostras – Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*. KRUG, F. J. (Ed.). Piracicaba_SP, p. 276-325 , 2010.

- OHLWEILER, O.A. Química Analítica Quantitativa, 3^a ed., Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos v.1, 1982.
- OLIVEIRA, E., Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends, Journal Brazilian Chemical Society, 14: 174, 2003.
- 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; Química Nova, Vol.27, n° 1, 131-138, 2004.
- OLIVEIRA, M. F. DE; SACZK, A. A.; OKUMURA, L. L.; FERNANDES, A. P.; MORAES, M. DE; STRADIOTTO, N. R.; Simultaneous determination of zinc, copper, lead, and cadmium in fuel ethanol by anodic stripping voltammetry using a glassy carbon–mercury-film electrode. Anal. Bioanal Chem., v. 380 p. 135-140, 2004.
- OLIVEIRA, M. F.; OKUMURA, L. L. Determinação de zinco em álcool combustível por voltametria de redissolução anódica. Revista Eclética Química, v 27, n°.spe, p.153-160, 2002. ISSN 0100-4670.
- OLIVEIRA, M. F.; SACZK, A. A.; OKUMURA, L. L.; STRADIOTTO, N. R. Determinação de zinco em álcool combustível por voltametria de redissolução anódica;Revista Eclética Química, n°. 27, 2002.
- OLIVEIRA, A. P. de; VILLA, R. D.; ANTUNES, K. C. P.; MAGALHÃES, A. de; 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.
- ORESTE, E. Q., OLIVEIRA, R. M., NUNES, A. M., VIEIRA, M. A., RIBEIRO, A. S. Sample preparation methods for determination of Cd, Pb and Sn in meat samples by GFAAS: use of acid digestion associated with a cold finger apparatus versus solubilization methods, Analytical Methods, v. 5, p. 1590-1595, 2013.
- OROZCO, F. D. A.; KOVACHEV, N.; PASTOR, M. Á. A.; DOMINI, C. E.; BAND, B. S. F.; HERNÁNDEZ, A. C.; Analysis of metals and phosphorus in biodiesel B100 from different feedstock using a Flow Blurring multinebulizer in inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, Analytica Chimica Acta, v. 827, p. 15–21, 2014 – doi.org/10.1016/j.aca.2014.04.016

- OTHMAN, A. F.; Direct and simultaneous voltammetric analysis of heavy metals in tap water samples at Assiut city: an approach to improve the analysis time for nickel and cobalt determination at mercury film electrode. *Microchem. J.*, v. 75, p. 119-131, 2003.
- PADILHA, A. F.; Materiais de engenharia microestrutura e propriedades; ed. hemus livraria, distribuidora e editora S.A., Curitiba_PR, 1997.
- PHAN, A. N.; PHAN, T. M. Biodiesel production from waste cooking oils; *Fuel* v.87, p.3490 –3496, 2008.
- PARENTE, EXPEDITO DE SÁ et ali.; Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado; Tecbio, Fortaleza- CE., 2003.
- PATTAMAPROMA, C.; PAKDEE, W.; NGAMJAROEN, S. Storage degradation of palm-derived biodiesels: Its effects on chemical properties and engine performance; *Renewable Energy*, v. 37, p. 412- 418, 2012.
- PEIXOTO, J. A, ET AL. Estudo sobre as particularidades do biodiesel no brasil. Campinas/SP, 2008. Disponível em: <http://www.nipeunicamp.org.br/agrener/anais/2008/Artigos/15.pdf>, Acesso em: 24 de junho 2011.
- PEDROTTI, J. J., ANGNESS, L., GUTZ, I. G. R.; Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions, *Electroanalysis* 8 (1996) 673, Article first published online: 25 APR 2005, - DOI: 10.1002/elan.1140080713.
- PETERSON, C. L.; HUSTRULID, T. Carbon cycle for rapeseed oil biodiesel fuels; *Biomass and Bioenergy*, nº. 14, p. 91-101, 1998.
- PIÁ, J.; Perspectivas do Biodiesel no Brasil. Índice Econômico, FEE, Porto Alegre, v.30, n.º 2, 179-190, 2002.
- PIERRE, S., DIAS, T. D.; FELICIDADE, L.; POZEBON, D.; AUCELIO, R. Q.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B. Determination of Cu, Mn, Ni and Sn in gasoline by electro-thermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, and emulsion sample introduction; *Spectrochimica Acta, Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 57B, nº 12, p.1991-2001, 2002.
- PETERSON, C. L.; HUSTRULID, T.; Carbon cycle for rapeseed oil biodiesel fuels; *Biomass and Bioenergy*, nº 14, p. 91-101, 1998.

- PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P. de; ANDRADE, J. B. Biodiesel: An Overview; *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 16, p. 1313-1330, 2005.
- PORTARIA MINISTRO DE ESTADO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA (MCT) Nº 702, de 30 de outubro de 2002.
- RATH, S.; O uso de técnicas voltamétricas na análise de solos e água; Unicamp, 2003
- RATHMANN, R, et al. Biodiesel: Uma alternativa estratégica na matriz brasileira? I Congresso da Rede de Tecnologia de Biodiesel, 2006. Disponível em:<<http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>> . Acesso em 15 Junho. 2011.
- RASHID, U.; ANWAR, F. Production of biodiesel through optimized alkaline-catalyzed transesterification of rapeseed oil; *Fuel*, nº 87, p. 265–273, 2008.
- RAMADHAS, A. S.; JAYARAJ, S.; MURALEEDHARAN, C. Use of vegetable oils as I.C. energine fuels – a review; *Renewable Energy*, nº 29, p. 727–742, 2004.
- RENMAN, JAGNER, L. D.; BERGLUND R., computer-system and flow cell for automated potentiometric and constant-current stripping analysis; *Analytica Chimica Acta*, nº188; p. 137-150, 1986.
- RICHTER, E. M., DE JESUS, D. P., NEVES, C. A., LAGO, C. L. DO, ANGNES, L.; Aplicações eletroanalíticas com eletrodos de prata confeccionados a partir de CDs graváveis, *Revista Química Nova*, Vol. 26, No. 6, 839-843, 2003.
- RICHTER, E. M.; Desenvolvimento e aplicações de eletrodos de ouro confeccionados a partir de discos compactos graváveis (CD-Rs), *Dissertação de mestrado - Universidade de São Paulo (USP)*, 2001.
- RISO, R.D., LECORRE, P.; CHAUMERY, C. J.; Rapid and simultaneous analysis of trace metals (Cu, Pb and Cd) in seawater by potentiometric stripping analysis; *Analytica Chimica Acta*, nº 351, p. 83-89,1997.
- RIBEIRO, A. S; ORESTE, E. Q., JESUS, A., OLIVEIRA, R. M., SILVA, M. M., VIEIRA, M. A., New design of cold finger for sample preparation in open system: Determination of Hg in biological samples by CV AAS, *Microchemical Journal*, v. 109, p. 5-9, 2013.
- ROCHA, R. C.; TOMA, H. E. Transferência de elétrons em sistemas inorgânicos de valência mista. *Química Nova*, v. 25, p. 624-638, 2002.

- ROJAS, E., HERRERAS, L. A., POIRIER, L. A., ET AL; Are metals dietary carcinogens? *Mutat*, v. 443, p. 157-181, 1999.
- RODRIGUES, M. A.; SILVA, P. P.; GUERRA ,W.; COBRE; *Rev. Química nova na escola* v. 34, n° 3, p. 161-162, 2012.
- ROMERO, J.S. E.; AFONSO, E. F. S.; ALVAREZ-COQUE, M. G. G.; RAMOS, G. R.; *Analytica Chimica Acta*, n° 235, p. 317, 1990
- RODRIGUES, M. I., IEMMA, A. F. *Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos*. Casa do Pão Editora. Campinas, 2005.
- ROBERT, P.; BOGUSŁAW, B.; WŁADYSŁAW, W. K. The cyclic renewable mercury film silver based electrode for determination of manganese(II) traces using anodic stripping voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 621,(1), p. 43-48, 2008.
- ROBERT, P.; BOGUSŁAW, B.; WŁADYSŁAW, W. K. The cyclic renewable mercury film silver based electrode for determination of molybdenum(VI) traces using adsorptive stripping voltammetry; *Talanta*, n° 76, p. 295-300, 2008.
- SABIO, R. M.; OLIVEIRA, S. R.; TOGNOLLI, J. O.; NETO, J. A. G.; - *Determination of Zinc in Lubricating oil by flame AAS Employing Ultrasonic Extraction; ATOMIC SPECTROSCOPY -NORWALK CONNECTICUT-*; n° 32, p.240-245, 2011.
- SANT'ANA, F. W., SANTELLI, R. E., CASSELLA, A.R. & CASSELLA, R. J. "Optimization of an open-focused microwave oven digestion procedure for determination of metals in diesel oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry" *Journal. Hazard. Mater.*, n° 149, p.67, 2007.
- SANTOS, A. L., TAKEUCHI, R. M., MUÑOZ, R. A. A., ANGLES, L., STRADIOTTO, N. R., *Electrochemical Determination of Organic Compounds in Automotive Fuels; Electroanalysis*, n°26, p. 233-242, 2014.
- SANTOS, N. A.; DAMASCENO, S. S.; ARAUJO, P. H. M.; MARQUES, V. C.; ROSENHAIM, R.; FERNANDES, JR. V. J.; QUEIROZ, N.; SANTOS, I. M. G.; MAIA, A. S.; SOUZA, A. G.; Caffeic acid: an efficient antioxidant for soybean biodiesel contaminated with metals; *Energy Fuels*, v. 25, p. 4190–4194, 2011.
- SANTOS JR, D. *Uso da Energia de Ondas Ultra-Sônicas no Preparo de Amostras*. Workshop sobre Preparo de Amostras. CENA/USP. Apresentação. Outubro/2004

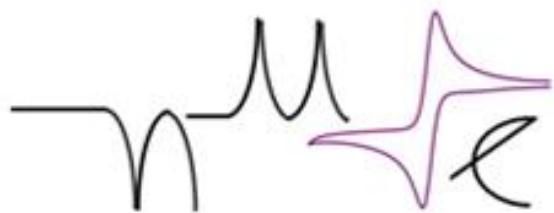
Disponível em: <http://allchemistry.iq.usp.br/agregando/wpa/Palestra18.pdf>, Acessado 29/4/15 as 20:00 h.

- SAINT'PIERRE , T. D. , DIAS, L. F. ; MAIA, S. M.; CURTIUS, A. J.,Determination of Cd, Cu, Fe, Pb and Tl in gasoline as emulsion by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry with analyte addition and isotope dilution calibration techniques, *Spectrochimica Acta Part B*, 59: 551, 2004.
- SALEH, M.I., JAB, M.S., RAHMAN, I.A., NORASIAH, S.,; Aqueous Extraction of Copper and Iron From Palm Oil by Ultrasonic Cavitation ; *Analyst* 116, p.743, 1991.
- SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; SHARMA, M.; MALHOTRA, R. K. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel; *Energy*, v. 34, p. 1271-1275, 2009.
- SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; RAKESH, S.; SHARMA, M.; MALHOTRA, R. K. Effect of Metal Contaminants and Antioxidants on the Oxidation Stability of the Methyl Ester of Pongamia; *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 87, p. 567–572, 2010a.
- SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; RAKESH, S.; MALHOTRA, R. K. Oxidation Stability of Palm Methyl Ester: Effect of Metal Contaminants and Antioxidants; *Energy Fuels*, v. 24, n.2652–2656, 2010b.
- SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; SARIN, R.; MALHOTRA, R. K.; RAKESH, S.; SHARMA, M.; KHAN, A. A. Synergistic effect of metal deactivator and antioxidant on oxidation stability of metal contaminated Jatropha biodiesel; *Energy*, v. 35, p. 2333-2337, 2010c.
- SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of Vegetable oils: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, nº 9, p. 199-210, 1998.
- SERAFIM, D. M.; STRADIOTTO, N. R. Determination of sulfur compounds in gasoline using mercury film electrode by square wave voltammetry, *Fuel*, 87: 1007, 2008.
- SERQUEIRA, D. S.; DORNELLAS, R. M.; SILVA, L. G.; MELO, P. G. DE; CASTELLAN, A.; RUGGIERO, R.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A.; Tetrahydrocurcuminoids as potential antioxidants for biodiesel; *Fuel*, v. 160, p. 490–494, 2015.
- SHAHIDI, F., Ed. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Vol. 1. 6. ed.; John Wiley and Sons, Inc.: New Jersey, 2005.

- SHEEHAN, J.; CAMOBRECO, V.; DUFFIELD, J.; GRABOSKI, M.; SHAPOURI, H; An overview of biodiesel and petroleum diesel life cycles; National Renewable Energy Laboratory.1998. Disponível em:
<http://www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24772.pdf>. Acessado em 15 março 2013.
- SHERIGARA, B. S.; SHIVARAJ, Y.; MASCARENHAS, R. J.; SATPATI, A. K.; Simultaneous determination of lead, copper and cadmium onto mercury film supported on wax impregnated carbon paste electrode Assessment of quantification procedures by anodic stripping voltammetry. *Electrochim. Acta* v. 52, p. 3137-3142, 2007.
- SREEPRASANTH, P. S; SRIVASTAVA, R.; SRINIVAS, D.; RATNASAMY, P. Hydrophobic, solid acid catalysts for production of biofuels and lubricants; *Applied Catalysis A: General* v.314, p. 148-159, 2006.
- SILVA, R.C. AND I.G.A.D. SOUZA, Eletrodos artesanais para voltametria. *Rev. Química Nova*, 21: p. 477-480, 1998.
- SIMON, P.; KOLMAN, L. DSC study of oxidation induction periods *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 64, p. 813-820,
- SILVA, F.A.M., BORGES, M.F.M., FERREIRA, M.A. Methods for the evaluation of the decree of lipid oxidation and the antioxidant activity; *Revista Química Nova*, v. 22, p.94-103, 1999.
- SILVA JR. A. Í., FILHO, H. DA C. A., SILVA, R. C.; Testes de desempenho de eletrodos: eletrodos de referência; divulgação; *Revista Química Nova*, v. 23, 2000.
- SILVEIRA, E. L., CARDOSO, COELHO, R. DO C., NETO, J. M. M., DE MOURA, C. V. R., DE MOURA, E. M.; Determinação de metais em óleos lubrificantes, provenientes de motores de ônibus urbano, utilizando a FAAS; *Revista Química Nova*, v. 33, No. 9, p.1863-1867, 2010
- SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.A.; *Fundamentals of analytical chemistry*. Saunders College Publishing, Fort Worth, 1992.
- SOUZA, J. R. DE; SANTOS, E. F. DOS; DUYCK, C. B.; SAINTPIERRE, T. D.; Comparison of parallel flow and concentric micronebulizers for elemental determination in lubricant oil, residual fuel oil and biodiesel by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, v. 66, p. 356–361, 2011 - doi:10.1016/j.sab.2011.04.010

- SORIANO Jr., N. U.; VENDITTI, R.; ARGYROPOULOS, D. S.; Biodiesel synthesis via homogeneous Lewis acid-catalyzed transesterification; *Fuel*, nº 88, p. 560–565, 2009.
- SPIRO T. G.; Copper proteins – Metal ions biology, Krieger Pub Co., p. 411, 1981.
- SUAREZ, P.A.Z.; MENEGHETTI, S.M. P; MENEGHETTI, M.R.; WOLF, C.R.; Transformação de Triglicerídeos em Combustíveis, Materiais Poliméricos e Insumos Químicos: Algumas Aplicações da Catálise na Oleoquímica. *Química Nova*, v.30,p. 667-676, 2007.
- SUSLICK, K.S.; DIDENKO, Y.; FANG, M.M.; HYEON, T.; KOLBECK, K.J.; - Mcnamara III, W.B.; Mdleleni, M.M.; Wong, M. Acoustic cavitation and its chemical consequences. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Physical, Mathematical and Engineering Sciences – The Royal Society*. v. 357, p. 335-353, 1999.
- SZTERK, A.; ROSZKO M.; SOSINSKA, E.; DEREWIAKA, D.; LEWICKI, P. P. Chemical Composition and Oxidative Stability of Selected Plant Oils; *J Am Oil Chem Soc.*, v. 87, p. 637–645, 2010.
- TAYAL, R.K .; GOGATE, P.R.; PANDIT, A.B. Cavitation: A technology on the horizon. *Current Science*, v. 91, n. 1, p. 35-46, 2006.
- TAGLIABUE, S.; GASPAROLI, A.; DELLA BELLA, L.; BONDIOLI, P., Influenza dela contaminazione mettalica sulla stabilità térmico ossidativa del biodiesel. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, nº 82, p. 93-96, 2005
- TONIETTO, A. E.; Grassi, M. T.; Análise de especiação de cobre e zinco empregando voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial; *Rev. Quim. Nova*, Vol. 35, No. 1, 170-174, 2012.
- TRINDADE, J. M.; MARQUES, A. L.; LOPES, G. S.; MARQUES, E. P.; ZHANG, J.; *Fuel* 2006, 85,2155.
- VOGUEL, A. L.; Análise química quantitativa, Tradução: Júlio C. A. et al.: 6^a edição, Editora: Livros técnicos e científicos, , Rio de Janeiro.
- ZEN, J.M., WANG, W.M.; ILANGOVAN, G.; Adsorptive potentiometric stripping analysis of dopamine on clay-modified electrode. *Analytica Chimica Acta*, nº 372, p. 315-321, 1998.
- ZHANG, Y., ET AL., reductive potentiometric stripping analysis of lead with potassium ferrocyanide as the reducing agent on a glassy-carbon electrode. *Electroanalysis*, v. 7, p. 283-286, 1995.

- ZHANG, Y.L., et al., reductive potentiometric stripping analysis of manganese with potassium hexacyanoferrate(ii) as reducing agent on a glassy-carbon electrode. *Analytica Chimica Acta*, nº 282, p. 125-132,1993.
- ZHU, W. W.; LI, N. B.; LUO, H. Q.; Simultaneous determination of chromium(III) and cadmium(differential pulse anodic stripping voltammetry on a stannum film electrode. *Talanta*, v. 72, p. 1733-1737, 2007.
- WANG, J. *Stripping analysis: principles, instrumentation and applications*. Florida: VCH Publishers, 1985.
- WANG, J. et al. *Stripping analysis into the 21st century: faster, smaller, simpler and better*. *Anal. Chim. Acta*, 385: 429, 1999.
- WANG, J.; *Analytical electrochesmistry*_Second Edition; Florida: WILEY-VCH Publication, ISBN 0-471-22823-0; 2000.
- WIBETOE, G.; TAKUWA, D.T. ; LUND ,W. ;SALUWA, G. , FRESENIUS, J.; - Coulter particle analysis used for studying the effect of sample treatment in slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry; *Analytical Chemistry*, v. 363, p. 46, 1999.
- WILLIAMS, E. V.; Low-temperature oxygen – fluorine radiofrequency ashing of biological materials in poly(tetrafluoroethylene) dishes prior to the determination of tin, iron, lead and chromium by atomic absorption spectroscopy. *Analyst*, 107 (1278), 1006 – 1013, 1982.
- WONDIMU, T.; GOESSLER, W.; BULL. *Chem. Soc. Ethiop.* 2000, 14(2), 99.
- Wojciechowski , M.; Balcerzak, J.; Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry at Glassy-Carbon-Based Thin Mercury Film Electrodes in Solutions Containing Dissolved Oxygen; *Analytical Chemistry*, v. 62, nº. 13, p. 1325-1331;1990.



Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica
UFU - Santa Mônica - Uberlândia



ANEXO-1

Epígrafe

“A sabedoria é a coisa principal; adquire, pois a sabedoria emprega tudo o que possuis na aquisição de entendimento”.

Provérbios 4:7

ANEXO -1

Característica	Unidade	Limite	Método		
			ABNT NBR	ASTM D	EM / ISO
Aspecto	-	LII (1) (2)	-	-	-
Massa específica (20°C)	Kg /m ³	850 a 900	7148 / 14065	1298 4052	EN ISO 3675 EN ISO 3675
Viscosidade cinemática (40°C)	Mm ² /s	3,0 a 6,0	10441	445	EN ISO 3104
Teor de água, máx.	mg /kg	200,0 (3)	-	6304	EN ISO 12937
Contaminação total , máx.	mg /kg	24	15595	-	EN 12662 (5)
Ponto de fulgor, min. (4)	°C	100	15598	93	EN ISO 3679
Teor de éster, mín.	% massa	96,5	15764	-	EN 14103 (5)
Cinzas sulfatadas, máx. (6)	% massa	0,02	6294	874	EN ISO 3987
Enxofre total, máx.	mg /kg	10	15867	5453	EN ISO 20846 EN ISO 20884
Sódio + Potássio, máx.	mg /kg	5	15554 / 1553 / 15555 / 15556	-	EN 14108 (5) EN 14109 (5) EN 14538 (5)
Cálcio + Magnésio, máx.	-mg /kg	5	15553 / 15556		EN 14538 (5)
Fósforo (7)	mg /kg	10	15553	4951	EN 14107 (5) EN 16294 (5)

Corrosividade ao cobre, 3h a 50°C, máx (6)	-	1	14359	130	EN ISO 2160
Número de cetano (6)	-	Anotar	-	613 / 6890 (8)	EN ISO 5165
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	(9)	147474	6371	EN 116
Índice de acidez, máx.	mg _{KOH} /g	0,5	14448	664	EN 14104 (5)
Glicerol livre, máx.	% massa	0,02	15771 / 15908 (5)	6584 (5)	EN 14105 (5) EN 14106 (5)
Glicerol total, máx. (10)	% massa	0,25	15344 / 15908 (5)	6584 (5)	EN 14105 (5)
Monoacilglicerol, máx.	% massa	0,7	15342 / 15344 / 15908 (5)	6584 (5)	EN 14105 (5)
Diacilglicerol, máx.	% massa	0,2	15342 (5) / 15344 / 15908 (5)	EN 14105 (5)	EN 14105 (5)
Triacilglicerol, máx.	% massa	0,2	15342 (5) / 15344 / 15908 (5)	6584 (5)	EN 14105 (5)
Metanol e/ou etanol, máx.	% massa	0,2	15342 (5) / 15344 / 15908 (5)	-	EN 14110 (5)
Índice de iodo	g /100 g	Anotar	-	-	EN 14111 (5)
Estabilidade a oxidação a 110°C, mín. (11)	h	6 (12)	-	-	EN 14112 (5) EM 15751 (5)

Quadro 1- Especificação do Biodiesel - Resolução ANP nº 45, DE 25.08.14 - DOU 26.08.2014

O limite máximo de entupimento a frio por unidades federativas pode ser visualizada no quadro 2.

UNIDADES DA FEDERAÇÃO	LIMITE MÁXIMO, PARA PONTO DE ENTUPIMENTO A FRIO, °C											
	JAN.	FEV	MARÇ	ABRI	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
SP – MG – MS	14	14	14	12	8	8	8	8	8	12	14	14
GO/DF – MT - ES - RJ	14	14	14	14	10	10	10	10	10	14	14	14
PR – SC - RS	14	14	14	10	5	5	5	5	5	10	14	14

Quadro 2- Limite máximo de entupimento a frio por unidades federativas.

- (1) Límpido e isento de impurezas, com anotação da temperatura de ensaio. Em caso de disputa, o produto só poderá ser considerado como não especificado no Aspecto, caso os parâmetros teor de água e/ou contaminação total estejam não conformes.
- (2) Para efeito de fiscalização, nas autuações por não conformidade no Aspecto, deverão ser realizadas as análises de teor de água e contaminação total. O produto será reprovado caso pelo menos um desses dois últimos parâmetros esteja fora de especificação.
- (3) Para efeito de fiscalização, nas autuações por não conformidade, será admitida variação de +50 mg/kg no limite do teor de água no biodiesel para o produtor e de +150 mg/kg para o distribuidor.
- (4) Quando a análise de ponto de fulgor resultar em valor superior a 130°C fica dispensada a análise de teor de metanol ou etanol.
- (5) Os métodos referenciados demandam validação para os materiais graxos não previstos no método e rota de produção etílica.
- (6) Estas características devem ser analisadas em conjunto com as demais constantes da Tabela de Especificação a cada trimestre civil. Os resultados devem ser enviados à ANP pelo Produtor de biodiesel, tomando uma amostra do biodiesel comercializado no trimestre e, em caso de neste período haver mudança de tipo de material graxo, o Produtor deverá analisar número de amostras correspondente ao número de tipos de materiais graxos utilizados.
- (7) Em caso de disputa, deve ser utilizado o método EN 14107 como referência.
- (8) O método ASTM D6890 poderá ser utilizado como método alternativo para determinação do número de cetano.
- (9) Limites conforme Tabela II. Para os estados não contemplados na tabela o ponto de entupimento a frio permanecerá 19°C.
- (10) Poderá ser determinado pelos métodos ABNT NBR 15908, ABNT NBR 15344, ASTM D6584 ou EN14105, sendo aplicável o limite de 0,25% em massa. Para biodiesel oriundo de material graxo predominantemente láurico, deve ser utilizado método ABNT NBR 15908 ou ABNT NBR 15344, sendo aplicável o limite de 0,30% em massa.
- (11) O limite estabelecido deverá ser atendido em toda a cadeia de abastecimento do combustível.
- (12) A estabilidade à oxidação a 110 °C terá seu limite mínimo de 8 horas, a partir de 1º de novembro de 2014.