

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**PROCEDIMENTO ELETROANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE
CÁLCIO EM BIODIESEL**

São Luís
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOSEANY DE MORAES SANTOS ALMEIDA

**PROCEDIMENTO ELETROANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE
CÁLCIO EM BIODIESEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Aldaléa Lopes
Brandes Marques

São Luís
2013

Almeida, Joseany de Moraes Santos.

Procedimento Eletroanalítico para determinação de cálcio em biodiesel / Joseany de Moraes Santos Almeida. – São Luís, 2013.

83 f.

Impresso por computador (fotocópia).

Orientadora: Aldaléa Lopes Brandes Marques.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.

1. Biodiesel. 2. Microondas - Digestão. 3. Cálcio.
4. Ácido etilenodiaminotetracético. 5. Carbono vítreo. I. Título

CDU 662.756.3

JOSEANY DE MORAES SANTOS ALMEIDA

PROCEDIMENTO ELETROANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM BIODIESEL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Aldaléa Lopes Brandes Marques (Orientadora - UFMA)

Prof. Dr. Ricardo Queiroz Aucélio (PUC-Rio)

Prof. Dr. Roberto Batista de Lima (UFMA)

*Aos meus queridos pais Maria e José
Carlos, irmãos Joseana e Carlos Wendel pela
oportunidade e incentivo aos estudos.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente, pela força de seguir em frente;

Aos professores Dr^a. Aldaléa Lopes Brandes Marques e Dr. Edmar Pereira Marques “pais acadêmicos” por terem me aceito no laboratório, pela oportunidade, amizade, carinho, confiança, incentivo e ensinamentos no meu crescimento acadêmico e profissional, por acreditar na minha capacidade, pela orientação recebida e compreensão;

Ao professor Dr. Ricardo Queiroz Aucélio, da PUC-Rio, pela oportunidade de desenvolver parte deste trabalho em seu laboratório, pela imensa ajuda na elaboração do artigo científico, pela amizade e dedicação.

Ao Rafael Machado Dornellas, aluno de doutorado da PUC-Rio, verdadeiro motivador para a elaboração deste trabalho e do artigo científico. Sempre paciente e incentivador e que sempre esteve comigo em todos os momentos passados em seu laboratório;

Aos meus pais que sempre estiveram empenhados, com muito amor e carinho em favor da minha educação;

Aos meus irmãos Joseana e Carlos Wendel pela paciência e incentivo;

Ao meu querido primo Fernando Almeida, pelo carinho, apoio, força e incentivo dedicado a mim nos momentos difíceis. Á Flavia querida amiga, pelos momentos de alegria, descontração, e motivação durante a minha estadia no Rio de Janeiro.

Às minhas primas, Myhiam, Jéssica e Karol pela força nesta etapa da minha vida;

À toda minha família que sempre esteve ao meu lado nas horas alegres e nas mais difíceis também;

À Mirela Ghisi, minha amiga de todas as horas, por ter me ajudado na elaboração deste trabalho, agradeço pelo seu tempo disponível, dedicação e por sua amizade. Ao Marco de Bona por sua amizade, apoio e incentivo.

À Maria e Amanda, minhas grandes amigas para todas as horas, agradeço pelas ótimas conversas e momentos de descontração.

À Daniella Salles, por sua amizade, força, incentivo, dedicação e ajuda para o melhoramento do trabalho.

Aos amigos que pertencem ou pertenceram ao LPQA e que colaboraram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho: Sakae, Verônica, Helmara, Ediane, Augusto (Bacabal), Alex, Jethânia, Isabelle, Madson, Fernando, Daniel, Renata, Paulina, Myrna, Ana Beatriz (Bia), Eva Michelly, André, Fabiana, Lucy Rose, Érica, Janyeid, Lorena, Rondinelli,

Nills, Elmo, Rodrigo, Pedro, Carlos. Aos professores do LPQA Cristina, Maira, Manuel Fernandes e Djavânia.

Aos amigos do LAPQAP, Conceição, Raimunda, Marcelo, Glene Henrique, Iolândia, Marcos, Raquel, Cícero, Claudiana e Zeca;

À todos os amigos do curso de mestrado da UFMA;

Aos professores do curso de mestrado da UFMA;

Ao grande amigo Juliano (Juh), da PUC-Rio, pela amizade, carinho e imensa força que me deu para não desistir e pelo grande apoio emocional a que me foi dedicado;

Aos demais amigos do laboratório da PUC-Rio, Lili, Juliana, Júlia, Paulo, Andréa, Juan, Catalina, Sarzamim, Cabrini, Alessandra, Júnior, Mônica, Luís, Ana Paula, Adriana, Sônia, pela atenção, amizade e carinho;

Aos colegas do Laboratório de Física da PUC-Rio, Éric e Duniester pelo apoio e ajuda durante o decorrer desse trabalho.

A CAPES por ter concedido a bolsa e pelo incentivo à pesquisa;

Enfim, a todas as pessoas que passaram na minha vida e me influenciaram de alguma forma, mas não foram citadas, tenham certeza de que vocês são importantes para mim, e também às pessoas que irão ler este trabalho, com o qual eu espero que sirva de alguma forma como fonte de conhecimento.

“O motor a diesel pode ser alimentado por óleos vegetais, e ajudará no desenvolvimento agrário dos países que vierem a utilizá-lo... O uso de óleos vegetais como combustível pode parecer insignificante hoje em dia. Mas com o tempo irão se tornar tão importante quanto o petróleo e o carvão são atualmente.”

(Rudolf Diesel, 1911)

PROJETOS DE PESQUISA OS QUAIS ESTA DISSERTAÇÃO É VINCULADA:

DADOS DA DISSERTAÇÃO:

Título: Procedimento Eletroanalítico para Determinação de Cálcio em Biodiesel.

Autora (Aluna de Mestrado da UFMA): Joseany de Moraes Santos Almeida.

Orientadora: Aldaléa Lopes Brandes Marques.

DADOS DOS PROJETOS:

(1) Projeto PETROBRAS

Título do Projeto: Estudo de Metodologias Eletroanalíticas Aplicadas à Determinação de Metais em Matrizes de Interesse da Indústria do Petróleo.

Dados da Institucionalização do Projeto na UFMA:
Resolução UFMA CONSEPE Nº 936, 17/08/2012

Fonte Financiadora: PETROBRAS
Termo de Cooperação No 0050.0074883.12.9
D.O.U. 206, Seção 3, Pag. 53, 24/10/2012

(2) Projeto PROCAD

Título do Projeto: Rede de cooperação acadêmica para a formação de recursos humanos em desenvolvimento e validação de métodos para análises de amostras relevantes para a agroindústria, a indústria do petróleo, a indústria farmacêutica e para o meio ambiente.

Fonte Financiadora: Edital CAPES PROCAD 01/2007 - Programa Nacional de Cooperação Acadêmica.

VÍNCULO INSTITUCIONAL:

Departamento Acadêmico (Unidade Executora na UFMA):
Departamento de Tecnologia Química - DETQI
Laboratório de Pesquisa em Química Analítica – LPQA

Grupo de Pesquisa (CNPq-Lattes/UFMA): Química Analítica

Linha(s) de Pesquisa (vínculo do projeto na UFMA): Química Analítica de Petróleo, Metodologia Analítica (Eletroanalítica).

PUBLICAÇÕES:

1. E. P. Marques.; V. D. Silva.; **J. M. S. Almeida.**; H. D. Costa.; G. H. R. Cavalcante.; A. L. B. Marques. Metodologia Analítica para Glicerol em Biodiesel: Cenário Atual. **Cadernos de Pesquisa** – Universidade Federal do Maranhão, v. 18, p. 70-79, 2011.
2. Martiniano, L. C.; **ALMEIDA, J. M. S.**, CAVALCANTE, G. H. R., MARQUES, E. P.; FONSECA, T. C. O., PAIM, L. L., GOUVEIA, A. S., STRADIOTTO, N. R., AUCELIO, R. Q., MARQUES, A. L. B. Simple, direct and simultaneous stripping voltammetric determination of lead and copper in Gasoline using na in situ mercury film electro. **Current Analytical Chemistry**, 2012.

ARTIGO ACEITO:

1. Ferreira Júnior, E. S.; **J. M. S. Almeida.**, D. B. Marques., E. P. Marques.; A. L. B. Marques. Determinação simultânea de metais em gasolina, através de método eletroanalítico alternativo, com o uso de calibração multivariada / redes neurais. **Cadernos de Pesquisa** – Universidade Federal do Maranhão, v. 00, p. 00-00, 2013.
2. **Almeida, J. M. S.**; Dornellas, R. M.; Yotsumoto Neto, S.; Ghisi, M.; Furtado, J. G. C.; Marques, E. Pereira; Aucélio, R. Q; Marques, A. L. Brandes. Simples procedimento eletroanalítico para determinação de cálcio em biodiesel. **Fuel**; v.00, p. 00 – 00, 2013.

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS E EVENTOS

1. Apresentação Oral no(a) SIBEE- XIX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2013. (Congresso). DETERMINAÇÃO DE CA (II) EM BIODIESEL POR VOLTAMETRIA DE REDISSOLUÇÃO ANÓDICA NO MODO ONDA QUADRADA.
2. Apresentação de Poster / Painel no(a) ENQUIMA- Encontro de Química do Maranhão: Ensino, Pesquisa & Desenvolvimento em Química, 2012. (Encontro). DETERMINAÇÃO DE CA (II) EM ÁGUA POR VOLTAMETRIA DE REDISSOLUÇÃO NO MODO ONDA QUADRADA.
3. Apresentação de Poster / Painel no(a) 35º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2012. (Congresso). ESTUDO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO POR VOLTAMETRIA ADSORTIVA DE REDISSOLUÇÃO ANÓDICA NO MODO ONDA QUADRADA.

RESUMO

A presença de metais no biodiesel está diretamente relacionada com a matéria-prima utilizada e também com o processo utilizado para a obtenção do biodiesel. Este trabalho apresenta um procedimento eletroanalítico simples para a determinação direta de Ca^{2+} em biodiesel com um eletrodo de carbono vítreo. A determinação foi feita com a técnica Voltametria de Redissolução Anódica no modo onda quadrada (SWASV), usando-se o EDTA como agente complexante. As amostras de biodiesel foram submetidas a um processo de digestão ácida por via úmida por radiação, em sistema fechado, com o uso de um microondas. O procedimento para digestão das amostras foi realizado pela adição de 4 mL de ácido nítrico ultrapuro (HNO_3), 2 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e 1 mL de água deionizada em 300 mg de amostra de biodiesel. As amostras foram aquecidas a uma temperatura de 90 °C, durante 10 minutos, em potência de 300 W e 5 minutos em potência de 450 W. As determinações foram feitas utilizando-se tampão amônio ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$), pH 9,4, como eletrólito suporte e EDTA $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ como ligante, nas seguintes condições: potencial de deposição (E_{dep}) = -1000 mV; tempo de pré-concentração ($t_{\text{pré}}$) = 120 s; frequência (Freq.) = 30 Hz; amplitude (Amp) = 100 mV e potencial de escada (ΔE_{escada}) = 15 mV. A exatidão do método foi verificada através de testes de recuperação. Os resultados foram concordantes, estatisticamente, considerando o teste-t de student para um nível de confiança de 95%. Os valores de CV foram menores que 11%, as recuperações foram entre 102,9 % e 102,4 % e os valores dos limites de detecção foram de $1,9 \times 10^{-8}$ e de $1,6 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ para as amostras analisadas, mostrando boa exatidão e sensibilidade do método proposto. Os valores obtidos para as amostras analisadas situaram-se entre $2,8 \times 10^{-6} \pm 5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,4 \times 10^{-7} \pm 5,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ para Ca^{2+} nas amostras de biodiesel.

Palavras-chave: Digestão em microondas; Cálcio; Ácido Etilenodiaminotetraacético (EDTA); Voltametria de Redissolução Anódica no Modo Onda Quadrada (SWASV); Carbono Vítreo; Biodiesel.

ABSTRACT

Metal traces are often detected in biodiesel samples due to its presence in the raw materials or solubilization during its manufacturing. Thus, this work aims to propose an electroanalytical methodology for the direct determination of Ca^{2+} in biodiesel using with a glassy carbon electrode. The metal quantification was developed according to Anodic Stripping Voltammetry Mode square-wave (SWASV) technique applying EDTA as the complexing agent. Thus, all samples were pretreated according to wet acid digestion processing and microwave radiation. Therefore, a solution of 4 mL of ultrapure nitric acid (HNO_3), 2 mL of hydrogen peroxide (H_2O_2) and 1 mL deionized water were added to 300 mg sample of biodiesel. Later, such mixtures was thermal treated at 90 °C using 300 W (10 min) and 450 W (5 min) of microwave radiations. The analytical determinations were carried out using ammonium buffer (0.01 mol L^{-1} , $\text{pH} = 9.4$) as supporting electrolyte and EDTA ($1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) as ligand. The optimized voltammetric conditions were $E_{\text{DEP}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pre}} = 120 \text{ s}$; Frequency = 30 Hz; Amplitude = 100 mV and $\Delta E_{\text{step}} = 15 \text{ mV}$. The accuracy was verified by recovery tests. In all cases, the metal quantizations were statistically consistent considering the t-test student for a confidence level of 95%. The CV values were lower than 11%, the recoveries were between 102.9% to 102.4% and the values of the detection limits were 1.9×10^{-8} and $1.6 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ for the samples, showing good accuracy and sensitivity of the proposed method. The values obtained for the samples ranged from $2.8 \times 10^{-8} \pm 5.0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ and $3.4 \times 10^{-7} \pm 5.0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ for Ca^{2+} in evaluated biodiesel.

Keywords: Digestion in microwave; Calcium; ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), anodic stripping voltammetry Square-Wave Mode (SWASV); Vitreous Carbon; Biodiesel.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Reação de transesterificação metílica de triacilgliceróis (triglicerídeos), onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos.....	24
Figura 2: Representação esquemática do quelato formado de EDTA e um cátion bivalente (M).....	36
Figura 3: Aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada (ALEIXO, 2003).....	39
Figura 4: Parâmetros da voltametria de onda quadrada, na qual: τ = tempo de um ciclo de onda quadrada; $1/\tau$ = frequência da onda quadrada em Hz; E_{sw} = amplitude de pulso da onda quadrada em mV; E_{etapa} = potencial em mV da etapa de rampa de potencial em degraus e $2E_{sw}$ é a amplitude de pico a pico da onda quadrada em mV (ALEIXO, 2003).....	39
Figura 5: Voltametria cíclica: avaliação qualitativa da determinação de Ca^{2+} -EDTA em tampão amônio sobre o eletrodo de carbono vítreo. Condições experimentais: eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L ⁻¹ pH = 9,4; 4×10^{-3} mol L ⁻¹ de EDTA; $V = 100$ mV s ⁻¹ ; $E_i = -1000$ mV; $E_f = 1000$ mV.....	53
Figura 6: Estudo da adição de EDTA para a determinação de Ca^{2+} , utilizando eletrodo de carbono vítreo e SWASV. Condições experimentais: eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L ⁻¹ pH = 9,4; 1×10^{-6} mol L ⁻¹ de Ca^{2+} + $V_{edta} = 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700$ e 800 μ L de EDTA 1×10^{-2} mol L ⁻¹ ; $E_{dep} = -1000$ mV; $t_{pré} = 120$ s; Amp = 100 mV; Freq = 30 mV; $\Delta E_{escada} = 15$ mV.	55
Figura 7: Estudo do pH da solução para a determinação de Ca^{2+} , utilizando SWASV. Condições experimentais: eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L ⁻¹ pH = 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,4; 9,5; 10,0; 10,5 e 11,0 + 4×10^{-4} mol L ⁻¹ de EDTA + 1×10^{-6} mol L ⁻¹ de Ca^{2+} ; $E_{dep} = -1000$ mV; $t_{pré} = 120$ s; Amp = 100 mV; Freq = 30 mV; $\Delta E_{escada} = 15$ mV.	56
Figura 8: A Estudo do potencial de acúmulo e B Estudo do tempo de pré-concentração para a determinação de Ca^{2+} , utilizando SWASV. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L ⁻¹ (pH 9,4) + 4×10^{-4} mol L ⁻¹ de EDTA + 1×10^{-6} mol L ⁻¹ de Ca^{2+} ; A $E_{dep} = 0; -100; -200; -300; -400; -500; -600; -700; -800; -900$ e -1000 mV; B $t_{pré} = 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210$ e 240 s; Amp = 100 mV; Freq = 30 Hz; $\Delta E_{escada} = 15$ mV.....	58
Figura 9: A Estudo da amplitude de pulso; B Estudo da frequência e C Estudo do incremento de varredura para a determinação de Ca^{2+} , utilizando SWASV; Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L ⁻¹ (pH 9,4) + 4×10^{-4} mol L ⁻¹ de EDTA + 1×10^{-6} mol L ⁻¹ de Ca^{2+} ; A Amp = 25, 50, 75, 100, 125 e 150 mV; B Freq = 5, 10, 15, 20,	

25, 30, 35, 40, 45 e 50 Hz; **C** $\Delta E_{\text{escada}} = 5, 10, 15, 20 \text{ e } 25 \text{ mV}$; $E_{\text{dep}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$.

.....59

Figura 10: **A** Resposta Voltamétrica do método desenvolvido para a determinação de Ca^{2+} , em condições otimizadas (Tabela 4). Outras condições: tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pH 9,4; $[\text{Ca}^{2+}] = 8 \times 10^{-7}$ a $3,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $E_{\text{dep}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$; $\text{Amp} = 100 \text{ mV}$; $\text{Freq} = 30 \text{ mV}$; $\Delta E_{\text{escada}} = 15 \text{ mV}$; **B** Curva analítica para Ca^{2+}61

Figura 11: Estudo de interferentes na determinação de Ca^{2+} . $E_{\text{dep}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$; $\text{Amp} = 100 \text{ mV}$; $\text{Freq} = 30 \text{ mV}$; $\Delta E_{\text{escada}} = 15 \text{ mV}$. Adições de 1×10^{-7} ; 2×10^{-7} ; 3×10^{-7} ; 4×10^{-7} ; 5×10^{-7} ; 6×10^{-7} ; 7×10^{-7} ; 8×10^{-7} e $9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de Mg^{2+} , Ba^{2+} e Sr^{2+} respectivamente.62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estudo para a escolha dos materiais para a análise de Ca^{2+} .	43
Tabela 2: Estudo para a escolha do método de preparo da amostra para a análise de Ca^{2+}	44
Tabela 3: Programa utilizado para a digestão das amostras biodiesel no forno micro-ondas.	45
Tabela 4: Condições eletroquímicas para a determinação de Ca^{2+} , por voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada.	49
Tabela 5: Influência de alguns cátions nas correntes de pico de Ca^{2+} nas condições otimizadas.....	64
Tabela 6: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Ca^{2+} em amostras de água por SWASV.	65
Tabela 7: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Ca^{2+} em amostra de biodiesel pela SWASV.	68
Tabela 8: Concentrações obtidas para Ca^{2+} (mol L^{-1}) nas amostras de água mineral e potável sem pré-tratamento e nas amostras de biodiesel digeridas após a adição de mol L^{-1} do analito.	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS: Espectrometria de absorção atômica (Atomic absorption spectrometry)

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANP: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

ASTM: American Society for Testing and Materials

SWASV: Voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada

ASV: Voltametria de Redissolução Anódica

BAPTA: 1,2-Bis (2-aminoprenoxy) ethane-N,N,N',*N'-tetraacetic acid

BiFE: Eletrodo de filme de bismuto

BPR: Vermelho de Bromopirgalol

CNPE: Conselho Nacional de Política Energética

CV: Coeficiente de variação

DOU: Diário Oficial da União

DP: Diferencial de pulso

EDTA: Ácido etilenodiaminotetraacético

EGTA: Ácido etilenoglicoldiaminitetracético (Ethylene Glycol Tetraacetic Acid)

EU: União Européia (Union European)

ETAAS: Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (Electrothermal atomic absorption spectrometry)

ETV-ICPMS: Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com introdução de amostra por vaporização eletrotérmica (Electrothermal vaporization inductively plasma mass spectrometry)

FAAS: Espectrometria de absorção atômica com chama (Flame atomic absorption spectrometry)

FAES: Espectrometria de emissão atômica com chama (Flame atomic emission spectrometry)

GFAAS: Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite

HR-CS ETAAS: Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e atomização eletrotérmica (High resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry)

IC: Cromatografia de íons (Ionic Chromatography)

ICPOES: Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Inductively coupled plasma optical emission spectrometry)

ICPMS: Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (Inductively coupled plasma mass spectrometry)

IL CPE: Eletrodo de pasta de carbono com o líquido iônico

LD: Limite de detecção

LQ: Limite de quantificação

NIST: Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (National Institute of Standards and Technology)

PNPB: Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel

PoPD/MWNTs: poli-ofenilenodiamina e nanotubos de carbono

RSD: Desvio padrão relativo (Relative standard derivation)

SVRS: Violeta de solocromo

SW: Onda quadrada (square-wave)

SWAdSV: Voltametria adsorptiva de redissolução anódica no modo onda quadrada

TCPE: Eletrodo tradicional de pasta de carbono

TBATPB: Tetrabutyl-amônio tetrafenilborato

TMAH: Hidróxido de tetrametilamônio (Tetramethylammonium hydroxide)

TPS: Tiopentato de sódio

UV: Ultravioleta

VC: Voltametria cíclica

VR: Voltametria de redissolução

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	22
2.1 Biodiesel	22
2.2 Biodiesel no Brasil e no mundo	23
2.3 Metais em biodiesel e derivados de petróleo.....	24
2.4 Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de Ca em biodiesel por SWV	31
2.4.1 Metodologias para determinação de Cálcio em Biodiesel	32
2.5 Tratamento de amostras.....	35
2.6 EDTA	35
2.7 Técnicas de análise	36
2.7.1 Voltametria de Redissolução Anódica (ASV)	37
2.7.2 Voltametria de Onda Quadrada (SW)	37
3 OBJETIVOS	41
3.1 Objetivos específicos	41
4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS	42
4.1 Instrumentação	42
4.2 Materiais e reagentes	42
4.3 Limpeza dos materiais.....	43
4.4 Estudo Exploratório dos materiais avaliados para determinação de Ca^{2+}	43
4.5 Avaliação dos procedimentos de preparo de amostras para determinação de Ca^{2+} em Biodiesel.	44
4.6 Preparo das amostras de Biodiesel.....	45
4.7 Validação da metodologia proposta	45
4.7.1 Linearidade.....	46
4.7.2 Sensibilidade	46

4.7.3 Precisão	46
4.7.4 Limite de detecção	47
4.7.5 Limite de quantificação	48
4.7.6 Exatidão.....	48
4.7.7 Procedimento de Análise.....	49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5.1 Estudos Preliminares para escolha da metodologia de tratamento das amostras de biodiesel.....	50
5.1 Comportamento Voltamétrico do complexo Ca^{2+} -EDTA	52
5.2 Estudo da Concentração de EDTA	55
5.3 Efeito do pH.....	56
5.4 Estudo do Potencial e Tempo de acúmulo	57
5.5 Estudo da amplitude de pulso, frequência e delta de escada	59
5.6 Viabilidade para determinação de Ca^{2+}	60
5.7 Estudo de Interferência	61
5.8 Aplicação Analítica	65
5.8.1 Aplicação do Procedimento Proposto na Determinação de Ca^{2+} em amostras reais de Água.	65
5.8.2 Aplicação do Procedimento Proposto na Determinação de Ca^{2+} em amostras reais de biodiesel, após Digestão Ácida.....	66
5.9 Parâmetros de Mérito.....	67
5.9.1 Verificação da exatidão através do Teste de Recuperação	69
6 CONCLUSÃO.....	70
REFERÊNCIAS.....	71

1 INTRODUÇÃO

A presença de contaminantes nos combustíveis pode levar a problemas operacionais considerados determinantes na definição dos critérios de controle de qualidade. No caso do biodiesel, a Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM) e a Organização de Normas Europeia (EN) propõem métodos (ASTM D6751 e EN 14214), pelos quais a qualidade do biodiesel puro (B100) é avaliada. Os testes realizados em biodiesel baseiam-se em propriedades físicas, e envolvem geralmente métodos cromatográficos e espectroscópicos. Um dos parâmetros de controle de qualidade para a comercialização do biodiesel é a determinação da concentração de espécies metálicas, pois estes podem causar vários problemas mecânicos aos veículos, como a corrosão de peças e a desativação dos catalisadores (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Entre os contaminantes do biodiesel estão os metais Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} , os quais, juntamente com o elemento P, compõem os elementos que são oficialmente testados em termos do padrão de qualidade do biodiesel. Na^+ e K^+ são oriundos de resíduos dos catalisadores, ao passo que Mg^{2+} e Ca^{2+} são introduzidos no biodiesel durante o processo purificação, por lavagem com água dura ou ainda através de agentes de secagem como MgSO_4 e CaO . Estes cátions inorgânicos também podem estar presentes na matéria-prima e permanecem no produto final (CALAND *et al.*, 2012). Esses metais podem formar depósitos residuais em componentes do sistema de injeção de combustível e controle de emissão de veneno de pós-tratamento de sistemas (OLIVEIRA *et al.*, 2009; NOGUEIRA e DO LAGO, 2011).

A determinação de espécies metálicas em combustíveis é geralmente difícil e exige cuidados especiais no procedimento de preparo de amostras, devido à alta complexidade da matriz (KORN *et al.*, 2007). No caso do biodiesel, o procedimento de preparo de amostras recomendado pela Legislação Brasileira e Internacional é a dissolução da amostra em xileno e a posterior determinação por FAAS ou por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado ICPOES (LOBO *et al.*, 2009). Esse procedimento apresenta algumas desvantagens, dentre elas, a utilização de padrões organometálicos, de custos elevados e formadores de soluções de baixa estabilidade.

Os contaminantes Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ e K^+ , são os únicos metais que têm concentrações máximas especificadas no padrão de qualidade do biodiesel. O principal método oficial utilizado na determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} é o EN 14538, o qual é vinculado à especificação do biodiesel, segundos as normas oficiais dos Estados Unidos (ASTM D6751), na Europa

(EN 14214) e no Brasil (RANP 14/2012). No Brasil, dois métodos oficiais são usados: 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 – ICPOES) e 15556 (Produtos derivados de óleos e gorduras – Ésteres Metílicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica). Essas técnicas necessitam de uma instrumentação complexa e de pessoas altamente especializadas para sua manipulação.

A determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} em biodiesel têm sido feita, em sua maioria, por técnicas espectroscópicas (LOBO *et al.*, 2009) e cromatográficas (CALAND *et al.*, 2012), sendo que as mais aplicadas, e que constituem os métodos oficiais, são as espectroscópicas.

A Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) (LOBO *et al.*, 2009; GHISI *et al.*, 2011) e a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICPMS) (MURILLO *et al.*, 1999; SOUZA *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2007; LYRA *et al.*, 2010; AMAIS *et al.*, 2012) têm sido comumente utilizadas na determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} .

SANTOS *et al.*, 2007 desenvolveram um método para determinação de Ca^{2+} , P, Mg^{2+} , K^+ e Na^+ em biodiesel usando etanol como solvente, e utilizou como método de análise a técnica de espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado. Os limites de detecção obtidos em $\mu\text{g g}^{-1}$, considerando 2,5 g de amostra em um volume final de 25 mL, foram: 0,03 para Ca^{2+} ; 0,5 para P; 0,005 para Mg^{2+} ; 0,3 para K^+ e 0,1 para Na^+ . Os resultados das recuperações encontradas estiveram no intervalo de 82 a 114% para todos os analitos.

Apesar da importância das técnicas espectroscópicas e cromatográficas, na análise de contaminantes inorgânicos em biodiesel, estas possuem como desvantagem o alto custo de equipamentos e manutenção, quando comparadas com técnicas mais simples como as voltamétricas, que além de utilizarem instrumentação simples, são de custo relativamente baixo. Além disso, uma das principais vantagens das técnicas eletroquímicas é o fato das mesmas não necessitarem, muitas vezes, de exaustivo processo de pré-tratamento na maioria das matrizes analisadas inclusive em combustíveis (OLIVEIRA *et al.*, 2002; FREITAS *et al.*, 2009).

Muitos outros métodos têm sido propostos pela comunidade científica mundial, para a determinação de metais derivados de petróleo e em amostras de biodiesel (AUCÉLIO e CURTIUS, 2002; AUCÉLIO *et al.*, 2004; TRINDADE *et al.*, 2006; CASTILHO e STRADIOTTO, 2008; CARDOSO *et al.*, 2010; TORREZANI *et al.*, 2011; TRINDADE *et al.*, 2012; MARQUES *et al.*, 2012; ZEZZA *et al.*, 2012; MARTINIANO *et al.*, 2013). Em

termos de métodos existentes na literatura, para determinação de metais alcalinos terrosos em biodiesel, não se encontrou nenhum método eletroquímico para determinação de cálcio ou magnésio; entretanto, os métodos eletroquímicos têm sido aplicados na determinação de cálcio ou magnésio em outras matrizes, principalmente, em água (BOOTH *et al.*, 1969; CHESNEY *et al.*, 1998; ZHOU *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2010).

A determinação de metais alcalinos terrosos por técnicas eletroquímicas tem sido, geralmente, com eletrodos quimicamente modificados. As principais vantagens dos eletrodos quimicamente modificados são sua detectibilidade e seletividade. Uma técnica muito conveniente do ponto de vista analítico e que tem sido incorporada em diversos instrumentos comerciais é a voltametria de onda quadrada (SOUZA *et al.*, 2003). Esta técnica pode ser usada para realização de experimentos eletroquímicos de um modo bem mais rápido do que a técnica voltamétrica de pulso diferencial, com sensibilidade semelhante, pois nesta técnica também ocorrem compensações da corrente capacitiva.

Remetendo-se à BOOTH *et al.*, 1969, que em relação aos vários métodos eletroanalíticos para determinação de cálcio, utilizaram procedimentos polarográficos com dois eletrodos diferentes, para a indicação de cálcio e magnésio, podemos constatar que, no primeiro procedimento (soma) o cálcio e o magnésio são determinados a partir da diminuição da altura da onda anódica de EDTA. Já no segundo procedimento, porém, apenas o cálcio é determinado utilizando-se o EGTA, um derivado do EDTA. Entretanto, os dois procedimentos mostraram-se satisfatórios para a determinação de cálcio e magnésio combinados, como também para a determinação de cálcio isolado.

Aliando-se ao fato de não termos encontrado na literatura, métodos eletroanalíticos para Ca em Biodiesel, outros fatores motivaram o presente estudo. Entre tais fatores, destacamos a importância de métodos alternativos na avaliação da qualidade do biodiesel e o uso de um procedimento robusto que utilizasse a clássica reação do EDTA, o que tornaria viável a possibilidade de aplicação em diversas outras matrizes. Esses fatores definiram o objetivo do trabalho, qual seja o de desenvolver um método eletroquímico alternativo para a determinação de cálcio em Biodiesel, através da técnica voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada, utilizando-se um eletrodo de carbono vítreo, na presença de EDTA como agente complexante.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Biodiesel

Devido ao atual consumo de produtos derivados do petróleo, como a gasolina e o diesel, e o crescente esforço em reduzir o aquecimento global causado pelas emissões dos gases, combustíveis alternativos que sejam fontes renováveis e resultem em menor impacto ambiental têm atraído à atenção de mercados do mundo inteiro (LAMERS *et al.*, 2008). Na procura por novas fontes de energia, o biodiesel aparece como uma alternativa promissora (DEMIRBAS, 2008; PINTO *et al.*, 2005).

O biodiesel é uma fonte renovável de energia, biodegradável e é menos poluente do que os combustíveis derivados do petróleo, além de reduzir as emissões de gases causadores do aquecimento global e as emissões nos escapamentos dos automóveis, incluindo gases tóxicos (DEMIRBAS, 2008; PINTO *et al.*, 2005).

A combustão do biodiesel resulta em menores emissões de monóxido de carbono, hidrocarbonetos e materiais particulados, quando comparados com o combustível de petróleo, contribuindo para a qualidade da atmosfera (PINTO *et al.*, 2005; LÔBO *et al.*, 2009). Além disso, considerando o ciclo do carbono, o CO₂ emitido pela combustão do biodiesel é fixado pelas plantas que serão usadas para a produção do biodiesel e, conseqüentemente, reduz o impacto no efeito estufa, quando comparado ao uso de combustíveis de origem fóssil (PETERSON e HUSTRULID, 1998).

O Biodiesel pode ser misturado em qualquer proporção com diesel para ser usado como combustível ou pode ser usado na sua forma pura. Como o diesel, o biodiesel opera em um motor ignição-compressão (diesel), e essencialmente requer pouca ou nenhuma modificação no motor, pois possui propriedades similares ao diesel mineral (AGARWAL, 2007; BENJUMEA *et al.*, 2008).

Entretanto, o biodiesel apresenta algumas desvantagens:

a) Menor estabilidade oxidativa, decorrente das ligações insaturadas nas cadeias carbônicas provenientes dos ácidos graxos. Fato pode comprometer a armazenagem e utilização do biocombustível, porém pode ser superada pela utilização de antioxidantes que melhorem sua conservação (SARIN *et al.*, 2009);

b) Propriedades a baixa temperatura, como ponto de névoa e ponto de entupimento, pois em baixas temperaturas, o biodiesel tende a solidificar-se parcialmente ou a

perder sua fluidez, implicando negativamente no funcionamento do filtro de combustível, bem como do sistema de alimentação do motor quando o mesmo é acionado sob baixas temperaturas. Quanto maior for o tamanho da cadeia e/ou o caráter saturado das moléculas do biodiesel, mais altos serão os valores destes parâmetros (LÔBO *et al.*, 2009);

c) O menor poder calorífico do biodiesel; ou seja, uma menor quantidade de energia por unidade de massa quando ele é queimado. Porém, como o biodiesel possui uma queima melhor, seu desempenho no motor será equivalente ao do diesel mineral (LÔBO *et al.*, 2009).

2.2 Biodiesel no Brasil e no mundo

O mercado do biodiesel vem crescendo consideravelmente nos últimos anos em função das preocupações de vários países com o meio ambiente e a intenção de reduzir a dependência do petróleo importado (MELLO *et al.*, 2007).

O biodiesel é utilizado comercialmente nos Estados Unidos e em países da União Européia. A Alemanha é responsável por mais da metade da produção europeia de combustíveis e já conta com centenas de postos que vendem o biodiesel puro (B100), com plena garantia dos fabricantes de veículos de que não é necessário realizar mudanças nos motores. O total de biodiesel produzido na Europa já ultrapassa um bilhão de litros por ano, entretanto, o continente tem restrições quanto à área de cultivo disponível para oleaginosas e a capacidade industrial, o que abre oportunidades ao Brasil para exportar seu combustível (BRASIL, 2004).

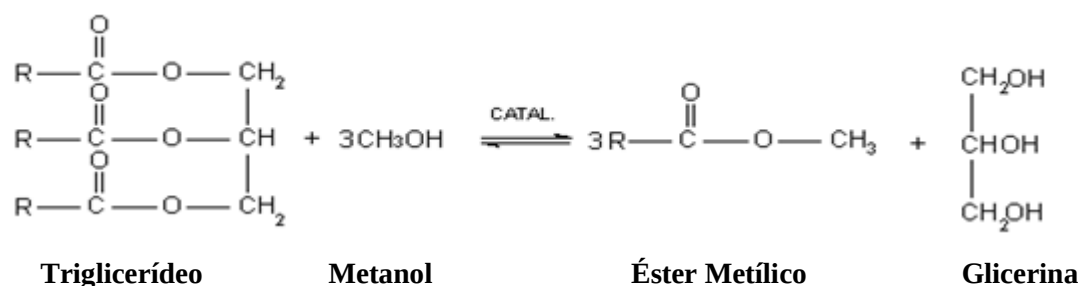
Assim, em dezembro de 2004 foi instituído o Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel (PNPB) pelo Governo Federal, que objetiva a produção e uso do biodiesel, com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, via geração de emprego e renda. A ação mais importante deste programa foi à introdução de biocombustíveis derivados de óleos e gorduras na matriz energética brasileira por meio da Lei nº 11.097, datada de 13 de janeiro de 2005. Esta lei estabelece a obrigatoriedade da adição de um percentual mínimo de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor, em qualquer parte do território nacional. Foi previsto o uso obrigatório de B2 até o começo de 2008, ou seja, após três anos de publicação da referida Lei (BRASIL, 2004; POUSA *et al.*, 2007).

Desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 6/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), publicada no Diário Oficial da União (DOU) em 26 de outubro

de 2009, que aumentou de 4% para 5% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel (ANP, 2011b).

O processo de transesterificação do biodiesel envolve uma reação com óleos vegetais ou gordura animal, novos ou usados, com um álcool de cadeia curta, geralmente metanol ou etanol. NaOH ou KOH são usualmente utilizados como catalisadores. Esta reação produz alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa e glicerina como um subproduto, como mostrado na Figura 1 (LÔBO *et al.*, 2009; RAMOS *et al.*, 2009; FELIZARDO *et al.*, 2006; GERPEN, 2005). Além da glicerina, a cadeia produtiva do biodiesel gera uma série de outros coprodutos que podem agregar valor e se constituir em outras fontes de renda importantes para os produtores, como torta, farelo, etc. (BRASIL, 2004).

Figura 1: Reação de transesterificação metílica de triacilgliceróis (triglicerídeos), onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos.



Fonte: A. K. Agarwal, Progress in Energy and Combustion Science, 33, 233-271, 2007.

2.3 Metais em biodiesel e derivados de petróleo

Muitos elementos metálicos podem estar presentes em várias matrizes da indústria do petróleo, como a gasolina e o diesel, inclusive nos biocombustíveis. Metais podem ser incorporados em combustíveis e também no biodiesel durante o processo de produção, por contato com equipamentos de refino ou destilação, estocagem e transporte, e alguns compostos metálicos podem ser adicionados para melhorar as características dos produtos. Com exceção dos aditivos específicos, utilizados para melhorar as características dos combustíveis, a presença de elementos metálicos é indesejável, mesmo em baixas concentrações (KNOTHE, 2005; WANG *et al.*, 2003).

O biodiesel reduz o desgaste das partes do motor em função da redução da quantidade de resíduos metálicos, tais como: Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn, presentes principalmente nos óleos lubrificantes (AGARWAL, 2007). A determinação destes metais é importante para garantir a qualidade do produto e o controle da poluição, pois reduz a eficiência dos reatores

catalíticos no sistema de escape, aumentando a emissão de gases, sendo esta uma das fontes mais comuns de metais traços no ambiente (KNOTHE, 2005; WANG *et al.*, 2003).

No caso do biodiesel, a presença de metais pode também ser atribuída à absorção dos metais do solo pelas plantas das quais o biodiesel é produzido (ANSARI *et al.*, 2009). A maioria dos metais presentes nos óleos vegetais vem das sementes, na qual a composição mineral das sementes depende da presença e disponibilidade destes metais no solo ou de outras fontes (pesticidas, fertilizantes, etc.) (CHAVES *et al.*, 2010). Ademais, nas sementes podem ser transferidos para o óleo vegetal e para o biodiesel durante o processamento (SNAPE; NAKAJIMA, 1996).

Métodos analíticos baseados nas técnicas de espectrometria de absorção atômica (AAS) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICPMS) são desenvolvidos para a determinação de elementos metálicos em matrizes complexas como os combustíveis e os biocombustíveis por serem técnicas que apresentam alta sensibilidade (CHAVES *et al.*, 2008a; JESUS *et al.*, 2008; SAINT' PIERRE *et al.*, 2005). No entanto, amostras viscosas e complexas, tais como amostras de combustíveis, requerem a conversão em uma forma compatível com o instrumento utilizado, permitindo, se possível, uma calibração simples e eficiente (AUCÉLIO e CURTIUS, 2000).

No Brasil, as especificações do biodiesel são estabelecidas pela ANP, através da Resolução nº 7 de 2008. A ANP assumiu a atribuição de regular e fiscalizar as atividades relativas à produção, controle de qualidade, distribuição, revenda e comercialização do biodiesel e da mistura óleo diesel biodiesel – BX.

Contaminantes procedentes da matéria prima, como Ca, Mg, P e S, e/ou provenientes do processamento, tais como Na e K, podem ser encontrados no biodiesel. A ANP estabelece limites para as concentrações desses elementos no biodiesel. Por exemplo, o valor máximo de P aceito no biodiesel é de 10 mg kg⁻¹ e de S é de 50 mg kg⁻¹. O valor máximo para a soma das concentrações de Ca e de Mg é de 5 mg kg⁻¹, o mesmo valor estabelecido para a soma das concentrações de Na e K (ANP, 2008a; LÔBO *et al.*, 2009).

A espectrometria de absorção atômica é amplamente utilizada para a determinação de elementos traço em matrizes complexas. A FAAS tem sido empregada para a determinação de Ca, Mg e Zn em óleos lubrificantes após a formação de uma solução de três componentes (ZMOZINSKI *et al.*, 2010). A determinação direta de Cu em gasolina por GFAAS foi desenvolvida (SOUSA *et al.*, 2008). A HR-CS ETAAS foi empregada para a determinação simultânea de Cr e Fe em petróleo por análise direta da amostra (DITTERT *et al.*, 2009).

A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e atomização eletrotérmica (ETV-ICPMS) foi utilizada com sucesso na determinação de Ag, As, Cd, Cu, Co, Fe, Mn, Ni, Pb, Sn e Tl em amostras de álcool combustível utilizando calibração externa (SAINT' PIERRE *et al.*, 2005). Alguns métodos já foram propostos para a determinação de elementos metálicos em amostras de biodiesel por AAS. As técnicas de espectrometria de absorção atômica (AAS) com chama e espectrometria de emissão atômica com chama (FAES) são técnicas muito utilizadas para a determinação de Na, K, Ca e Mg em biodiesel, por serem técnicas simples e de baixo custo.

CHAVES *et al.*, (2008a) desenvolveram um método para a determinação de Na e K em biodiesel por FAES, após a formação de microemulsão das amostras e uso de padrões inorgânicos para a calibração. Para tanto, as microemulsões foram preparadas com propan-1-ol e solução ácida aquosa, sem surfactante. Nesse caso, n-propanol foi utilizado como cosolvente, sendo este o responsável pela homogeneidade do sistema. Foram comparadas a introdução discreta e aspiração contínua da amostra, apresentando LD semelhantes, na ordem de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ para ambos analitos. A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação e comparação dos resultados obtidos por ICP OES.

A FAES também foi utilizada por OLIVEIRA *et al.* (2009) para a determinação de Na em amostras de biodiesel utilizando o tratamento da amostra por decomposição seca. Para a preparação da amostra, aproximadamente 0,5 g foi pesada e aquecida em um forno mufla a 250°C por 1 h e depois disso a temperatura foi aumentada para 600°C , mantendo a amostra nessa temperatura por 4 h. Os resíduos foram dissolvidos e avolumados para 100 mL com 1% v/v de HNO_3 . A calibração externa foi escolhida para as determinações. O método apresentou LD de $1,3 \mu\text{g g}^{-1}$. A exatidão do método foi confirmada por testes de recuperação.

Técnicas mais sensíveis como a ETAAS, ICP MS e ICPOES têm sido usadas para a determinação de metais em biodiesel. SANTOS *et al.* (2007) propuseram um método simples e rápido para a determinação simultânea de Ca, P, Mg, K e Na em biodiesel por ICPOES por diluição direta da amostra em etanol após otimização multivariada. A calibração foi feita com soluções padrão em etanol, usando Ítrio como padrão interno. Os LD obtidos foram de 0,03; 0,5; 0,005; 0,3 e $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ para Ca, P, Mg, K e Na, respectivamente. Testes de recuperação foram feitos para comprovar a exatidão do método proposto.

Referindo-se a CHAVES *et al.* (2008b) que determinaram Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V em amostras de diesel e biodiesel por ETV-ICPMS através de emulsão como preparo da amostra, adotando o seguinte procedimento: 1,0 g de amostra (diesel ou biodiesel) com 2,0 mL de Triton X-100 5% (m/v) e 0,5 mL de HNO_3 concentrado. Essas determinações foram feitas

com padrões aquosos de calibração e Rh foi usado como padrão interno. Os LD obtidos foram de 0,5; 1,5; 3; 0,3; 0,5 e 1 ng g⁻¹ para Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V, respectivamente. A exatidão do método foi atestada através de análise de óleo combustível residual de referência NIST 1634-c, testes de recuperação e comparação dos resultados com aqueles obtidos por GFAAS.

AMAIIS *et al.* (2010) propuseram um procedimento analítico para a determinação de Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn, em biodiesel, por ICPMS usando microemulsão para a preparação da amostra. A microemulsão foi composta por 0,25 mL de Triton X-100, 0,25 mL 20% v/v de HNO₃, 0,50 mL de biodiesel e 4,0 mL de *n*-propanol (volume final de 5 mL). O mesmo procedimento foi adotado para o preparo das soluções de referência e óleo mineral foi usado no lugar da amostra de biodiesel para simular a matriz. Uma mistura de argônio e oxigênio foi adicionada no plasma como gás auxiliar para corrigir efeitos de matriz causados pelo alto conteúdo de carbono devido às microemulsões. Os LD encontrados foram na faixa de µg L⁻¹ para todos os analitos. A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação.

WOODS e FRYER, (2007) fizeram a determinação direta de 29 elementos em amostras de biodiesel diluídas com querosene utilizando um ICPMS com célula de reação. Gás oxigênio foi utilizado. As amostras foram preparadas através da diluição com querosene. A calibração foi realizada com padrões organometálicos, utilizando padronização interna. Os LD obtidos foram na ordem de µg kg⁻¹ para quase todos os analitos e mg kg⁻¹ para o S.

A ETAAS tem sido utilizada com sucesso, devido a sua alta sensibilidade e à capacidade de eliminação da matriz através de um programa de temperatura. Comprovando a afirmação em lide, citamos SILVA *et al.* (2010) que utilizaram microemulsão como preparação da amostra para avaliar diferentes técnicas de calibração e modificadores para a determinação de Cd, Pb e Tl, em biodiesel, por GFAAS. As microemulsões foram preparadas pela mistura de 2 g de biodiesel, 1 mL de solução aquosa de HNO₃ 10% (v/v) e *n*-propanol para um volume final de 10 mL. O Paládio foi utilizado como modificador permanente para Cd e Tl, e Ru como modificadores permanentes para Pb. A calibração aquosa não corrigiu as interferências não espectrais, mas a calibração com simulação de matriz produziu resultados exatos. Os LD obtidos foram de 0,5; 6 e 1 ng g⁻¹ para Cd, Pb e Tl, respectivamente. Os resultados obtidos usando-se calibração por adição de analito e por simulação de matriz foram concordantes, confirmando a exatidão do procedimento proposto e padrões organometálicos não foram necessários.

LOBO *et al.* (2009) propuseram uma comparação de métodos univariados e multivariados na otimização de condições experimentais para a determinação de Cu, Pb, Ni e Cd em biodiesel por GFAAS, usando dois procedimentos de preparo da amostra, formação de

microemulsão e digestão ácida total em forno microondas. No método de microemulsão, as amostras foram preparadas pela mistura do biodiesel com o surfactante (Triton X-100) e o volume foi completado com HNO_3 1% (v/v). O procedimento de digestão em micro-ondas foi feito com HNO_3 concentrado, H_2O_2 e V_2O_5 como catalisador. Diferentes modificadores químicos foram utilizados, como Pd + Mg e W. Os resultados obtidos para Cu e Pb indicaram que as variáveis de preparo da amostra para a digestão em micro-ondas foram o mais importante para os dois analitos.

Em outro trabalho, LOBO *et al.* (2011) propõem um método para determinar Ni e Cd em amostras de biodiesel por GFAAS. O Tungstênio foi usado como modificador químico permanente e as amostras foram preparadas na forma de microemulsão pela mistura de aproximadamente 0,5 g de biodiesel com 5,0 g de surfactante (Triton X-100) e completando o volume com HNO_3 1% (v/v). Os LD obtidos para Ni e Cd foram inferiores a 0,9 e 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A exatidão foi confirmada por testes de recuperação. Como vantagens desse método, podem ser citadas a rápida e fácil preparação das amostras e o uso de padrões inorgânicos para a calibração.

SIVEIRA *et al.* (2011) determinaram P em biodiesel por Espectrofotometria de Absorção Molecular. As amostras foram mineralizadas utilizando um procedimento de calcinação a 550 °C, seguido da dissolução do resíduo. O procedimento analítico baseou-se na formação de um complexo azul de molibdênio. 1-amino-2-naftol-4-sulfônico, o ácido foi usado como agente redutor. O método foi aplicado para amostras de biodiesel preparadas a partir de soja, canola e girassol e de sebo bovino. O limite de detecção foi de 0,57 mg kg^{-1} e o limite de quantificação foi de 1,7 mg kg^{-1} . O desvio padrão relativo foi de cerca de 5%. A simplicidade do procedimento, a exatidão, precisão e o baixo custo sugerem que o método é uma excelente opção para a determinação do fósforo em biodiesel.

GHISI *et al.*, (2011) propuseram um método simples para a determinação de Cu e Fe por Espectrometria de Absorção Atômica em amostras de biodiesel tratadas hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). Através desse estudo, os autores mostraram a eficiência do tratamento da amostra, evitando assim a contaminação da amostra e perda do analito, pois a digestão não foi necessária. A exatidão foi avaliada através do teste de recuperação, obtendo os valores entre 105 e 120%. A precisão, expressa pelo desvio padrão relativo foi inferior a 3% para Cu e menor do que 7% para Fe.

Na literatura existem vários métodos eletroquímicos para a determinação de elementos traço em biodiesel empregando diferentes técnicas analíticas, como por exemplo, potenciometria e voltametria que são considerados métodos simples, sensíveis e baratos

quando comparados às técnicas espectroscópicas. Dentre esses podemos destacar CASTILHO e STRADIOTTO (2008) que propuseram um novo método para a determinação de íons potássio em biodiesel usando um eletrodo modificado de hexacianoferrato de Ni^{2+} por potenciometria. O eletrodo modificado exibiu uma resposta linear para íons potássio na faixa de concentração de $4,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $1,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O método desenvolvido foi comparado com fotometria de chama e a concentração de K encontrada no biodiesel mostrou que o método do eletrodo modificado apresentou resultados similares àqueles obtidos por fotometria de chama.

Em FARGHALY (2004) há o relato da determinação indireta do magnésio em filme de mercúrio usando eletrodo de pasta de carbono e óleo de parafina como substrato por SWAdSV, na presença de tiopentato de sódio (TPS) como ligante eletroativo em condições alcalinas. Os resultados experimentais mostraram que o método é sensível e seletivo, mas sofre interferência de alguns elementos em meio alcalino. O limite de detecção de Mg^{2+} de 0,14 ppb e o desvio padrão relativo de 0,5% ($n = 5$) comprovam a boa sensibilidade do método. O método proposto foi aplicado com sucesso à determinação do Mg^{2+} na urina e amostras de água de torneira com resultados satisfatórios. Os dados obtidos foram comparados com o método padrão espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS).

ZHOU *et al.* (2006) determinaram magnésio em meio de hidróxido de potássio utilizando o complexo Mg^{2+} -BPR, de cor vermelha, o qual produz uma onda polarográfica em -1,30V. O intervalo linear de concentração para o magnésio foi de 0,05 a $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ e o limite de detecção foi de $0,012 \mu\text{g mL}^{-1}$. O método mostrou que a onda polarográfica do complexo advém da redução do complexo Mg^{2+} -BPR. O método mostrou-se sensível, seletivo, de fácil execução.

CARDOSO *et al.* (2007) realizou um estudo mostrando a determinação de Cu^{2+} e Pb^{2+} , em microemulsão de gasolina através do filme de bismuto por voltametria de redissolução. No entanto, nesse estudo, Cu^{2+} e Pb^{2+} , foram determinados através de um processo realizado em dois estágios, usando dois tipos diferentes de eletrodos, sendo o Pb^{2+} , determinado após determinação Cu^{2+} , através do segundo eletrodo, cujo processo de resultados depois de longo tempo análise. Os resultados foram considerados satisfatórios, já que as concentrações de Pb^{2+} e Cu^{2+} foram da ordem de 10^{-10} e $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

MIGUEL *et al.* (2010) propuseram uma metodologia para determinar Pb^{2+} em querosene através da voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada com eletrodo de filme de bismuto (BiFE) através de microemulsão. Nesse trabalho foi realizado o estudo de proporcionalidade entre os componentes da microemulsão. A exatidão foi avaliada

pelo método de recuperação com amostra certificada, e confirmada pela técnica espectroscopia de absorção atômica. Os resultados da recuperação aproximaram-se de 99%. O estudo metrológico foi feito através do método de incerteza incluindo o cálculo da incerteza associada à medição voltamétrica indicando que a reprodutibilidade (variações na formação de filmes diferentes e no comportamento do analito nas microemulsões) é a principal contribuição da incerteza de medição.

FRAZÃO (2010) desenvolveu um procedimento de determinação simultânea de Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+} em biodiesel por ASV nos modos DP e SW, usando eletrodos de filme de mercúrio, preparados no modo *ex-situ* e *in-situ*. As amostras foram diluídas em uma solução de ácido acético em metanol para uma concentração final de $3,3 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos indicam que a ASV no SW quadrada apresentou resultados mais sensíveis (concentração de metais no nível de $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$) do que os resultados obtidos no modo de DP (concentração de metais no nível de $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$). A voltametria de redissolução no modo de varredura linear não apresentou sensibilidade suficiente nas condições estudadas. Foram obtidos limites de detecção na ordem de $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ nas análises no modo de pulso diferencial e de $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ para o modo onda quadrada. O metal Cd^{2+} não foi detectado nas amostras analisadas. Testes de recuperação foram realizados para avaliar a exatidão do método proposto.

FRENA *et al.*, (2011), demonstraram a aplicabilidade do eletrodo de filme de bismuto pelo método *in situ* na determinação eletroanalítica de Sn^{4+} , na ausência e presença do ácido caféico como agente complexante em amostras de biodiesel por Voltametria de Redissolução Anódica, utilizando o modo Onda Quadrada. Os valores para as concentrações de Sn em três amostras de biodiesel comercial foram obtidos na faixa de 152 a $321 \mu\text{g g}^{-1}$ e o CV foi de 1,02 a 1,74%. Para validação foi utilizado a técnica de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua.

TRINDADE *et al.* (2012) propuseram um método rápido de voltametria de redissolução anódica (ASV) para a determinação simultânea de Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+} em amostras de gasolina. Para tanto, um procedimento de digestão assistida em microondas para gasolina foi estabelecido. O limite de determinação foi de $0,24 \text{ mg L}^{-1}$ para o Zn^{2+} , $8,58 \times 10^{-4} \text{ mg L}^{-1}$ para Cd^{2+} , $0,13 \text{ mg L}^{-1}$ para Pb^{2+} , e $0,87 \text{ mg L}^{-1}$ para Cu^{2+} . Verificou-se que as interferências de íons concomitantes foram negligenciáveis. Amostras de gasolina coletadas na cidade de São Luis (MA), Brasil, foram analisadas usando este método desenvolvido, e os resultados demonstraram que este método era confiável e preciso.

MARTINIANO *et al.* (2013a) desenvolveram um método envolvendo voltametria de redissolução anódica no modo diferencial de pulso, usando eletrodo de carbono vítreo com filme de mercúrio, preparado *in situ* para determinação simultânea de Pb^{2+} e Cu^{2+} em microemulsão de biodiesel (biodiesel: propan-1-ol: ácido nítrico). A técnica foi escolhida devido ao baixo custo, alta sensibilidade e considerável seletividade. Uma resposta linear foi obtida para o Pb (II) e Cu (II) no intervalo de concentração $2,00 \times 10^{-8}$ - $1,00 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e os limites de detecção foram $2,91 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ e $4,69 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, a precisão foi avaliada através da repetibilidade, apresentando valores de CV de 19,4 e 18,0% para o Pb (II) e Cu (II), respectivamente, com a recuperação de cerca de 100,0%.

MARTINIANO *et al.*, (2013b) desenvolveram um método envolvendo voltametria de redissolução anódica, usando eletrodo de carbono vítreo com filme de mercúrio preparado *in situ* para determinação de chumbo em microemulsão de gasolina (gasolina: propan-1-ol: ácido nítrico). Com o objetivo de eliminar a etapa de pré-tratamento da amostra, uma microemulsão de gasolina foi avaliada como meio alternativo para o acesso aos metais pelas técnicas voltamétricas, apresentando boa precisão e exatidão. Os limites de detecção muito baixas ($2,1 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ para o Pb (II) e $2,4 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ de Cu (II)) comprovam a sensibilidade do método. O método foi aplicado com sucesso para amostras de gasolina reais, apresentando bons resultados para a precisão (coeficientes de variação de 12,4 e 10,2%) e precisão (recuperações variando de 96,7 a 99,33% e 101,33 para 102,67%), para o Pb (II) e Cu (II), respectivamente.

2.4 Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de Ca em biodiesel por SWV

Dentre as técnicas eletroquímicas, a Voltametria de Redissolução (VR) tem sido usada para análise de traços de metais com relativa facilidade e grande sucesso, em várias aplicações analíticas. Essa técnica oferece vantagens nas aplicações em amostras de combustíveis e biocombustíveis, (TRINDADE *et al.*, 2012) devido a sua alta sensibilidade, determinação simultânea, capacidade de especiação, baixo custo e adequabilidade a este tipo de amostra, (CARDOSO *et al.*, 2010) o que permite a análise de matrizes sem pré-tratamento.

2.4.1 Metodologias para determinação de Cálcio em Biodiesel

Pesquisas e metodologias analíticas para determinação de Ca em biodiesel são desenvolvidas ao longo dos anos com o intuito de tornar a análise mais rápida e simples do ponto de vista do preparo da amostra e quantificação da espécie de interesse.

Uma preparação similar das amostras de biodiesel e óleos vegetais por microemulsão, mas com a presença de surfactante, utilizando padrões aquosos microemulsionados para calibração foi aplicada para a determinação de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} por FAAS por JESUS *et al.*, (2008; 2010). Os valores obtidos para o LD foi na ordem de 0,1 e 0,06 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Na e K, respectivamente, e 0,04 e 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Ca e Mg, respectivamente. Para avaliar a exatidão do método, esta determinação foi feita também de acordo com as Normas Europeias EN 14108 (Na), EN 14109 (K) e NBR 15556 (Ca e Mg), além de testes de recuperação.

LYRA *et al.* (2010) propôs um procedimento para determinar Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} em biodiesel por espectrometria de absorção atômica (FAAS), em amostra microemulsionada, composta de biodiesel [10% (m/v)], n-propanol [75% (v/v)], ácido nítrico concentrado [1% (v/v)] e solução aquosa de ácido nítrico (0,2% (v/v) e supressor de ionização [0.5% (v/v)]. Boa estabilidade do sinal analítico foi obtida (em 15 dias) nessas condições. Os cátions foram determinados pelo método de adição padrão, usando soluções de padrão organometálicos e apresentaram bons limites de detecção (LD). O método foi comparado satisfatoriamente com o método padrão (ABNT/NBR 15556, em termos de exatidão. Os resultados encontrados neste estudo mostram que o procedimento proposto é uma boa alternativa para a determinação de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} , por FAAS em amostras de biodiesel.

RAPOSO (2010) determinou, simultaneamente Na^+ , K^+ e Ca^{2+} em biodiesel por espectrometria de emissão atômica com chama em conjunto com o detector de emissão contínua, utilizando emulsão como preparo das amostras. Para o preparo das emulsões foi realizado um planejamento experimental no qual as condições ótimas experimentais encontradas foram de: 0,4 mL de HNO_3 e 1,0 g de Triton X-100. O método apresentou boa linearidade ($R > 0,999$) e RSD menores que 5%, os LQ de 0,32 e 0,16 mg kg^{-1} para Na^+ e K^+ respectivamente, mostraram alta sensibilidade do método, mas o alto LQ para Ca^{2+} de 10,8 mg kg^{-1} , mostrou baixa sensibilidade do método proposto para esse analito. A exatidão do método foi avaliada através da comparação dos resultados obtidos pelo método de referência (NBR 15553) e por ensaios interlaboratoriais, além de testes de recuperação. O método apresentou bons percentuais de recuperação e boa exatidão na análise de Na^+ , K^+ e Ca^{2+} em amostras de biodiesel de diferentes oleaginosas.

CALAND *et al.*, (2012) relataram um procedimento com base em cromatografia de íons (IC) para a determinação quantitativa de cátions inorgânicos (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+}) em amostras de biodiesel, de diferentes óleos vegetais e gorduras. O método utilizou a extração de água, aquecimento e ultrassom e apresentou bons resultados de limites de detecção (LD) (mg kg^{-1}) para cada íon. O método foi considerado pelos autores, de grande simplicidade operacional que, associada à exatidão e precisão sugere que o mesmo se constitua em boa alternativa para a determinação de cátions inorgânicos em biodiesel.

Dentre os vários métodos eletroanalíticos para determinação de cálcio, podemos citar o método desenvolvido por ZHENG *et al.*, 2007 que utilizaram um líquido iônico (1-pentil-3-metilimidazolhexafluorofosfato), em eletrodo de pasta de carbono para determinar cálcio. As respostas eletroquímicas do cálcio foram investigadas no eletrodo de pasta de carbono com o líquido iônico (IL-CPE) e no eletrodo tradicional de pasta de carbono (T-CPE). Os resultados mostraram a superioridade do IL-CPE em termos de maior sensibilidade, rapidez e melhor reversibilidade de transferência eletrônica. A dependência da corrente de pico foi linear na faixa de $8,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $4,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando voltametria de pulso diferencial.

MARECEK e SAMEC (1983) determinaram íons de cálcio, bário e estrôncio por voltametria de pulso diferencial utilizando um eletrodo de gota suspensa de mercúrio. Nesse trabalho utilizou-se como eletrólito suporte, uma solução de nitrobenzeno no qual ocorria a transferência dos íons da água para a solução, foi utilizado ainda como agente complexante o Tetrabutyl-amônio tetrafenilborato (TBATPB).

CHESNEY *et al.*, (1998) desenvolveram um sensor eletroquímico para determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} através de derivados do ferroceno em solução de acetonitrila utilizando a técnica de voltametria cíclica. É interessante salientar que, mesmo em grande excesso de outros sais metálicos, não ocorreu interferência na determinação dos íons em questão.

SHAMSIPUR *et al.* (2001) sintetizaram o 1,4-diazo-2,3;8,9-dibenzo-7,10-dioxaciclododecano-5,12-diona e utilizaram-na em eletrodo de pasta de carbono para determinação potenciométrica de cálcio. O intervalo linear abrangeu uma ampla faixa de concentração de $1,3 \times 10^{-6}$ a $3,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ tendo um limite de detecção de 0,032 ppm.

ZHANG *et al.*, (2008) utilizaram o poli-ofenilenodiamina e nanotubos de carbono (PoPD/MWNTs) para modificar o eletrodo de carbono vítreo e identificar íons cálcio. As propriedades eletroquímicas do eletrodo modificado foram caracterizadas por voltametria cíclica. O comportamento eletroquímico do cálcio no eletrodo modificado também foi investigado. O aumento nas correntes de pico do cálcio no eletrodo modificado e atribuído ao

efeito causado pela propriedade eletrocatalítica do poli-*o*-fenilenodiamina e dos nanotubos de carbono. A corrente de pico de redução aumenta linearmente com a concentração de cálcio apresentando um limite de detecção de $0,035 \mu\text{mol L}^{-1}$.

WANG *et al.*, (1985) traçaram medidas de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} e Ba^{2+} por Voltametria Adsorbtiva de Redissolução empregando um eletrodo de gota estática de mercúrio. O agente complexante utilizado foi o Violeta de Solocromo (SVRS) na concentração de $1 \times 10^{-6} \text{mol L}^{-1}$, como eletrólito suporte foi utilizado o tampão fosfato (pH 9,5) $0,03 \text{mol L}^{-1}$. As medidas desses analitos baseados na redissolução adsorbtiva na formação de quelatos com SVRS forneceu um meio sensível para medições de traços de metais alcalinos terrosos, atribuído pelos curtos períodos de pré-concentração e baixos limites de detecção na ordem de (26-44 ppt).

WU *et al.*, (2010) determinaram Mg^{2+} e Ca^{2+} em amostras biológicas por Análise Adsorbtiva Potenciométrica. As reações de substituição entre o complexo Ca^{2+} e Zn-EGTA e entre o complexo Mg^{2+} e Zn-EDTA foram avaliadas. As determinações foram realizadas em soluções tampão $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3$ - de pH 9,54 para cálcio e de pH 10,18 para o magnésio, respectivamente. A análise quantitativa foi realizada pelo método de adição de padrão. A Linearidade para a determinação de magnésio foi encontrada na faixa de $6 \sim 120 \mu\text{g L}^{-1}$ com um $R = 0,997$ ($n=6$). Para cálcio encontrou-se valores na faixa de $10 \sim 250 \mu\text{g L}^{-1}$ com um $R = 0,995$ ($n=6$). O LD foi de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ magnésio e cálcio. O método apresentou boa recuperação e de acordo com os resultados da técnica de Espectrometria de emissão atômica com Plasma Indutivamente acoplado (ICP AES).

ZEZZA (2011) determinou Mg^{2+} e Ca^{2+} em biodiesel utilizando Redissolução Adsorbtiva com Voltametria de Onda Quadrada e Diferencial de Pulso em Eletrodo de Pasta de Grafite modificado com Filme de Mercúrio. As determinações de Mg^{2+} e Ca^{2+} foram baseadas na formação de complexos coloridos. Sendo utilizado o agente complexante Vermelho de Bromopirrogallol (BPR) em meio de tampão Bórax (pH 9,0) e tiopentato de sódio (TPS) em meio de tampão fosfato. O método desenvolvido permitiu a determinação dos analitos de interesse de maneira rápida, simples e com um custo instrumental relativamente baixo. Visto que os valores de I_p aumentaram linearmente, com a concentração de Mg^{2+} e Ca^{2+} em todo o intervalo investigado, obteve-se um limite de detecção (LD) utilizando BPR igual a $9,0 \times 10^{-6} \text{mol L}^{-1}$ e $4,8 \times 10^{-9} \text{mol L}^{-1}$ para Mg^{2+} com SWV e DPV respectivamente e de $3,5 \times 10^{-6} \text{mol L}^{-1}$ e $3,9 \times 10^{-8} \text{mol L}^{-1}$ para Ca^{2+} com SWV e DPV. Utilizando-se tiopentato de sódio foi possível apenas a determinação indireta de Mg^{2+} através da formação do complexo Mg^{2+} - TPS, com um LD de $2,9 \times 10^{-7} \text{mol L}^{-1}$ para SWV e $3,9 \times 10^{-7} \text{mol L}^{-1}$ para DPV.

2.5 Tratamento de amostras

Em amostras complexas, como é o caso do biodiesel, as espécies metálicas a serem determinadas podem estar ligadas à matriz orgânica. Por isso, antes de se realizar a determinação de Ca^{2+} , uma etapa de pré-tratamento da amostra envolvendo a liberação da espécie se faz necessária. Um dos métodos mais eficientes empregados para a liberação de metais ligados à matriz orgânica envolve a decomposição da amostra por um determinado tempo com irradiação ultravioleta (digestão UV) (DEL-FABRO, 2007).

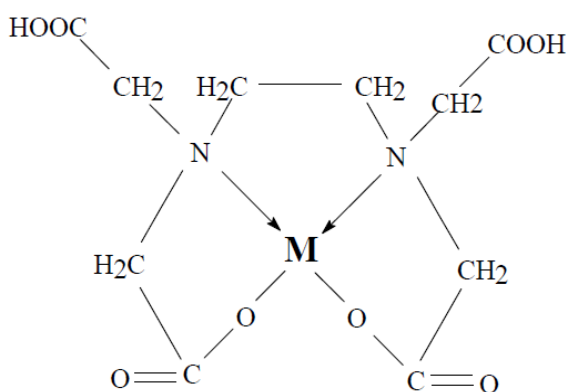
Comparativamente a outros métodos de decomposição de amostras, a irradiação UV consiste em um método extremamente eficiente e que reduz ao mínimo, a possibilidade de contaminação da amostra, devido ao baixo consumo de reagentes. Dependendo da potência da fonte de radiação UV empregada no processo, o uso de agentes oxidantes convencionais e de meios agressivos contendo misturas ácidas pode ser completamente suprimido (DEL-FABRO, 2007).

Muitas técnicas analíticas necessitam de um pré-tratamento da amostra. A digestão ácida de óleos tem sido usada para eliminar a matéria orgânica da amostra e solubilizar o analito que pode estar presente sob a forma de partículas metálicas, e, além disso, converter as espécies presentes, como as organometálicas, em íons metálicos. Este tipo de digestão requer o uso de ácidos fortes concentrados e, em muitos casos, estes métodos são longos, tediosos e envolvem muitas etapas (VIEIRA *et al.*, 2009). A emulsificação da amostra é uma alternativa interessante, mas problemas com a instabilidade da emulsão e sua calibração, podem surgir (SILVA *et al.*, 2010; JESUS *et al.*, 2010; LOBO *et al.*, 2009). A diluição com um solvente orgânico pode ser rápida (SANTOS *et al.*, 2007) porém, aumenta o limite de detecção, não permitindo a determinação de concentrações muito baixas.

2.6 EDTA

A determinação de cálcio utilizando o EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético) como agente complexante, apresenta notável importância em determinações analíticas. Sua forma iônica, representada por Y^{4-} é bastante estável e forma complexos com diversos metais (HARRIS, 2001). O EDTA é um dos agentes complexantes mais importantes, devido às inúmeras utilidades que apresenta, tanto na química analítica, como na indústria e em outros ramos da atividade humana. O quelato formado pela união do íon EDTA com um cátion metálico bivalente (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} etc.) apresentaria a seguinte estrutura esquematizada.

Figura 2: Representação esquemática do quelato formado de EDTA e um cátion bivalente (M).



Fonte: LAVORENTI, A.; 2012

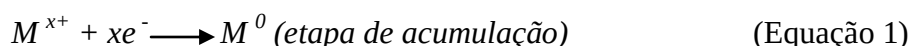
2.7 Técnicas de análise

A comunidade científica mundial tem proposto diversos métodos para a determinação de metais em amostras de biodiesel como: Espectrometria de absorção atômica (AAS) (LOBO *et al.*, 2009; GHISI *et al.*, 2011) e a Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP MS) (CHAVES, 2008; AMAIS *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2006; MURILLO *et al.*, 1999) e essas têm sido as mais comumente utilizadas. Porém, essas técnicas possuem como desvantagem o alto custo de equipamentos e manutenção, quando comparadas com as técnicas voltamétricas, que utilizam instrumentação simples e de custo relativamente baixo. Além disso, uma das principais vantagens das técnicas eletroquímicas é o fato das mesmas não necessitarem, muitas vezes, de pré-tratamento na

maioria das matrizes analisadas (OLIVEIRA *et al.*, 2002; FREITAS *et al.*, 2009), ao contrário das técnicas espectrométricas.

2.7.1 Voltametria de Redissolução Anódica (ASV)

A técnica voltametria de redissolução anódica (VRA) é constituída essencialmente de duas etapas. A primeira etapa ou etapa de deposição (pré-concentração) consiste na acumulação do analito sobre o eletrodo, pela aplicação de uma redução do potencial de um intervalo pré-estabelecido do eletrodo de trabalho (Equação 1).



Por outro lado, na segunda etapa ou etapa de redissolução (*stripping*), tem-se a aplicação do potencial de varredura de oxidação, sendo obtida uma corrente anódica resultante da dependência linear com a concentração dos metais (Equação 2), obtendo a dissolução do depósito (SKOOG *et al.*, 2005).



Apesar da importância dos métodos eletroanalíticos para determinação quantitativa de metais, principalmente utilizando técnicas de redissolução anódica, existe ainda um número relativamente pequeno de trabalhos sobre quantificação de metais em combustíveis (TRINDADE, 2009; GONÇALVES, 2008), principalmente com amostras de biocombustíveis (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

2.7.2 Voltametria de Onda Quadrada (SW)

Dentre os métodos eletroanalíticos, a Voltametria, nos seus diversos modos, é uma técnica eletroquímica onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir do registro de curvas corrente-potencial, feitas durante a eletrólise dessa espécie em uma célula eletroquímica constituída de três eletrodos, sendo um deles um microeletrodo (eletrodo de trabalho), um eletrodo de referência e um eletrodo auxiliar (ALEIXO, 2003). Assim, um potencial elétrico é aplicado entre os dois eletrodos (trabalho e

de referência) em forma de varredura, isto é, variando-o a uma velocidade constante em função do tempo. O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente. A curva corrente em função do potencial obtida é chamada de voltamograma. O terceiro eletrodo é chamado de eletrodo auxiliar, podendo ser de platina, ouro, carbono vítreo, dentre outros. Ele é introduzido na célula voltamétrica para assegurar o sistema potenciostático (ALEIXO, 2003).

Uma das principais limitações da Polarografia/Voltametria clássica em relação à sensibilidade é a chamada corrente capacitiva, que é uma das principais componentes da corrente de fundo, que constitui a corrente residual mostrada nos voltamogramas. Essa corrente surge devido a fenômenos relacionados à dupla camada elétrica. Quando um potencial é aplicado a um microeletrodo ele adquire uma carga tipo condensador, devido ao carregamento e descarregamento da dupla camada elétrica. Como em voltametria usa-se varredura de potencial, a cada etapa de potencial aplicado o eletrodo apresentará esse carregamento e descarregamento da dupla camada, desenvolvendo uma corrente, que, por esta razão, é chamada de corrente capacitiva ou de condensador. A outra componente da corrente de fundo ou residual é uma corrente do tipo faradaica, que ocorre devido a impurezas presentes no eletrólito de suporte, em outros reagentes utilizados e ao oxigênio dissolvido. Essa corrente pode ser reduzida ou mesmo eliminada usando-se reagentes mais puros e removendo-se o oxigênio pela passagem de um gás inerte (ALEIXO, 2003).

Neste contexto, a principal componente da corrente de fundo que limita a sensibilidade é a corrente capacitiva. Então a pesquisa científica direcionou-se na busca de procurar reduzir essa corrente para que a sensibilidade da técnica pudesse ser melhorada (ALEIXO, 2003).

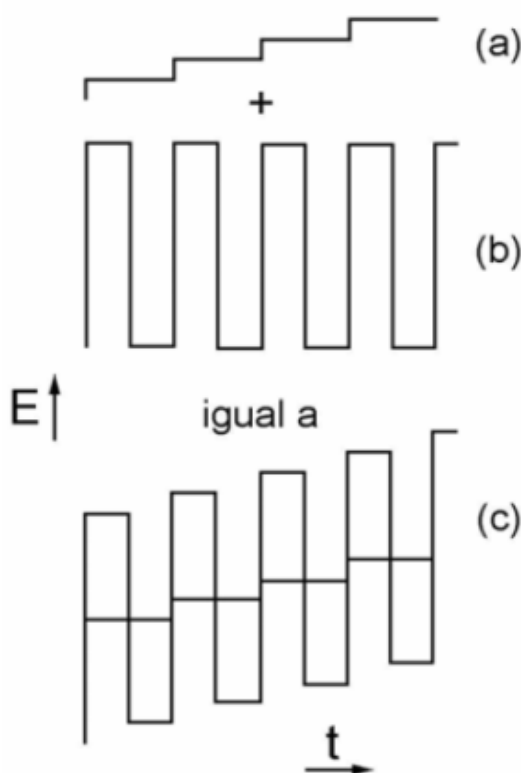
No conjunto de técnicas voltamétricas, a voltametria de onda quadrada (SWV) de varredura rápida tem sido incorporada em diversos instrumentos comerciais. Ainda que a voltametria de onda quadrada tenha surgido em 1957, devido aos estudos de Baker, a utilização da técnica era limitada pela tecnologia eletrônica. Com os progressos da tecnologia analógica e digital, ela passou a ser incorporada nos polarógrafos a partir dos anos 80, principalmente, na sua forma de varredura rápida (ALEIXO, 2003). É uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis. Os limites de detecção podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Além disso, a análise dos parâmetros característicos desta técnica também possibilita a avaliação cinética e mecanística do processo eletródico em estudo (SOUZA *et al.*, 2003).

Esta técnica pode ser usada para realizarem-se experimentos de um modo bem mais rápido do que se usando a técnica de pulso diferencial, com sensibilidade semelhante ou

superior, pois nela também ocorrem compensações da corrente capacitiva. Um experimento típico que requer cerca de três minutos para ser feito pela voltametria de pulso diferencial pode ser feito em segundos pela voltametria de onda quadrada (ALEIXO, 2003).

A programação de potencial usada na voltametria de onda quadrada pode ser vista na Figura 3. Uma onda quadrada simétrica (Figura 3b) é superposta sobre uma rampa de potencial em forma de degraus (Figura 3a) de tal forma que o pulso direto da onda quadrada coincida com o início do degrau da rampa (Figura 3c). O pulso reverso da onda quadrada por sua vez coincide com a metade da etapa da rampa em degraus. Os parâmetros tempo e potencial aplicado são mostrados na Figura 4, onde τ é o tempo de um ciclo de onda quadrada e também de um ciclo da rampa em degraus. A frequência da onda quadrada em Hz é $1/\tau$. E_{sw} é a amplitude do pulso de onda quadrada em mV, onde $2 \times E_{sw}$ é a amplitude pico a pico (amplitude do pico direto ao reverso) (ALEIXO, 2003).

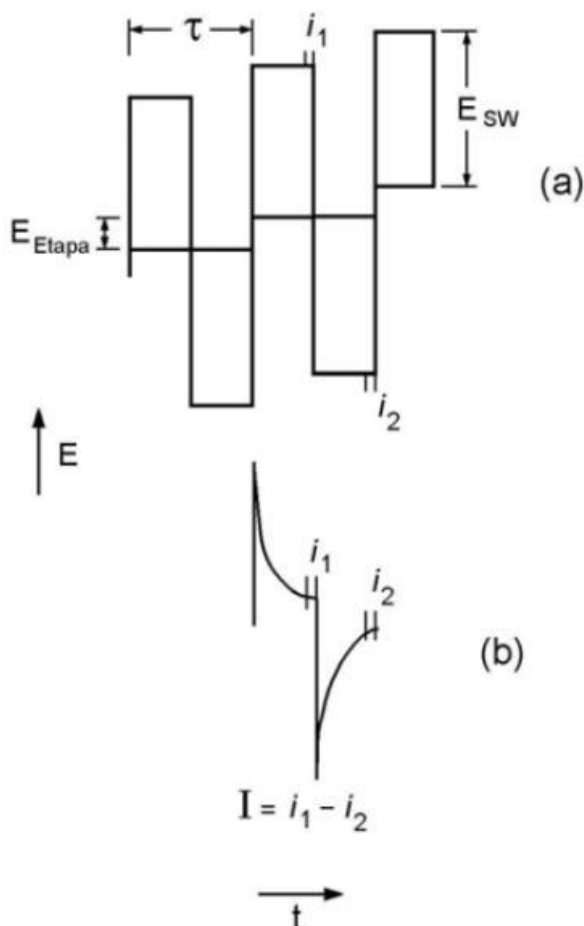
Figura 3: Aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada (ALEIXO, 2003).



Fonte: ALEIXO, Luiz Manoel. **Voltametria: Conceitos e Técnicas.** Chemkeys. Universidade estadual de Campinas, Instituto de Química, CP 6154, 13084 – 862, 2003. Campinas, São Paulo- Brasil.

Figura 4: Parâmetros da voltametria de onda quadrada, na qual: τ = tempo de um ciclo de onda quadrada; $1/\tau$ = frequência da onda quadrada em Hz; E_{sw} = amplitude de pulso da onda

quadrada em mV; E_{etapa} = potencial em mV da etapa de rampa de potencial em degraus e $2E_{\text{sw}}$ é a amplitude de pico a pico da onda quadrada em mV (ALEIXO, 2003).



Fonte: ALEIXO, Luiz Manoel. **Voltametria: Conceitos e Técnicas.** Chemkeys. Universidade estadual de Campinas, Instituto de Química, CP 6154, 13084 – 862, 2003. Campinas, São Paulo- Brasil.

A medida de corrente (I) na voltametria de onda quadrada é feita amostrando-se a mesma duas vezes durante cada ciclo da onda quadrada, uma vez no final do pulso direto e a outra, no final do pulso reverso. A técnica discrimina a corrente capacitiva em razão de sua diminuição mais rápida do que a corrente faradaica, fazendo-se a amostragem da corrente perto do final da duração do pulso, como no caso da técnica de pulso reverso (ALEIXO, 2003).

3 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento, otimização e aplicação de um método analítico simples para a determinação de Ca^{2+} em amostras de biodiesel por Voltametria de redissolução no modo onda quadrada.

3.1 Objetivos específicos

- Fazer uma avaliação preliminar e testar possíveis eletrodos, materiais e eletrólitos para o desenvolvimento do método para quantificar o analito de interesse;
- Desenvolver uma metodologia analítica para a determinação de Ca^{2+} em amostras de biodiesel por voltametria de redissolução;
- Avaliar e otimizar possíveis procedimentos de pré-tratamento das amostras, visando o acesso às espécies para as análises eletroquímicas;
- Otimizar os procedimentos experimentais e avaliar metodologia eletroquímica, do ponto de vista analítico, para a determinação destes elementos nas matrizes em estudo;
- Validar parcialmente a metodologia através do teste de recuperação e/ou baseados nas normas vigentes, especialmente, a Res. ANP 14/2012, relevantes para o estudo metodológico proposto;
- Aplicar a metodologia proposta em amostras de biodiesel obtidas de diferentes fontes.

4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

4.1 Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um analisador voltamétrico potenciostato modelo CV-50W, Bioanalytical Systems (Estados Unidos, USA), acoplado a um núcleo de registro dos dados. Durante o desenvolvimento do método utilizou-se um eletrodo de trabalho de carbono vítreo, um eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) e um fio de platina como eletrodo auxiliar. A técnica utilizada para a determinação foi a Voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada – SWASV. A decomposição das amostras foi feita por radiação microondas, em sistema fechado, e via úmida utilizando o equipamento Multiwave 3000 (Anton Paar), modelo XQ804, equipado com um rotor de 8 frascos de quartzo.

4.2 Materiais e reagentes

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico. A água utilizada foi destilada e posteriormente deionizada a uma resistividade de 18,2 MΩ cm⁻¹, em sistema Nanopure Master System 1000, Gehaka (São Paulo, Brasil). A solução estoque de Ca²⁺ (1 x 10⁻⁴ mol L⁻¹) foi preparada a partir da diluição do padrão de 1000 mg L⁻¹, Merck. A solução tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH 9,4) foi preparada pela adição de 0,054 g NH₄Cl (Reagen) e 154 µL de NH₄OH (Merck) avolumado para 100 mL com água deionizada, esta foi utilizada como eletrólito por ser eletroinativo na faixa de potencial na qual se desejou trabalhar e por possuir alta condutividade iônica garantindo assim baixa resistência elétrica para a célula eletroquímica. Para o ajuste do pH foi utilizado uma solução aquosa de NaOH (Merck) 1 mol L⁻¹. A solução aquosa de 1 x 10⁻² mol L⁻¹ de EDTA (SYNTH) foi preparada dissolvendo-se 0,186 g do reagente. O ácido nítrico ultrapuro (Merck) e o peróxido de hidrogênio (Isifar) foram utilizados para a abertura da amostra, uma vez que esses reagentes não apresentam impurezas do analito em estudo na sua composição.

4.3 Limpeza dos materiais

Os materiais utilizados nos experimentos (vidrarias, frascos de polietileno, ponteiros, etc.) foram previamente lavados com água de torneira e com uma solução de Extran® diluído a 10% v/v, removendo assim os resíduos orgânicos destes materiais. Posteriormente, os mesmos materiais foram lavados com água destilada e então deixados em contato, por no mínimo 24 h, em uma solução de HNO₃ 10% (v/v) e em seguida, foram lavados com água deionizada.

4.4 Estudo Exploratório dos materiais avaliados para determinação de Ca²⁺

A Tabela 1 apresenta os materiais utilizados para a avaliação do melhor meio para o estudo do Ca²⁺, utilizando como substrato vários tipos de eletrodos.

Tabela 1: Estudo para a escolha dos materiais para a análise de Ca²⁺.

Substrato	Eletrólito suporte mol L ⁻¹	Ligantes	Referência
Somente Carbono vítreo (GCE) e BiFE com <i>in situ</i> e <i>ex situ</i> (GCE)	Tampão amônio 0,01	EDTA, BAPTA, VAS, SVRS,	NOBRE, 2010; WU <i>et al.</i> ,2010; SOARES, 2008.
	Tampão BR 0,01	EDTA, BAPTA, VAS, SVRS,	WU <i>et al.</i> ,2010; SOARES, 2008.
Eletrodo de ouro com BiFE <i>in situ</i> e <i>ex situ</i> (GCE)	Tampão amônio 0,01	EDTA, BAPTA, VAS, SVRS,	O próprio autor, 2012
	Tampão BR 0,01	EDTA, BAPTA, VAS, SVRS,	O próprio autor, 2012
Nanotubo de Carbono (INK, Pasta de grafite + nanotubo e somente Pasta de nanotubo)	Tampão amônio 0,01	EDTA, BAPTA, VAS, SVRS,	O próprio autor, 2012
	Tampão BR 0,01	EDTA, BAPTA, VAS, SVRS,	O próprio autor, 2012

Fonte: O próprio autor

Com base na Tabela 1, foram realizados testes para avaliar a melhor solução de eletrodeposição, com o objetivo de favorecer a formação do complexo entre o agente complexante e o analito de interesse.

Para esta avaliação, foi utilizada a técnica Voltametria Cíclica (VC) para observar o processo de redução e oxidação do complexo formado sobre os diferentes substratos testados com a utilização dos seguintes parâmetros: tempo de equilíbrio de 90 s; amplitude de 100 mV, frequência de 30 Hz e o intervalo de potencial de -1000 mV a 600 mV, avaliando as soluções de eletrodeposição e os ligantes (Tabela 1).

4.5 Avaliação dos procedimentos de preparo de amostras para determinação de Ca^{2+} em Biodiesel.

A Tabela 2 apresenta alguns procedimentos de preparo de amostras testados com o objetivo de avaliar a metodologia mais eficiente, rápida e com menor risco de causar contaminação da amostra para a viabilização da determinação de Ca^{2+} em biodiesel.

Tabela 2: Estudo para a escolha do método de preparo da amostra para a análise de Ca^{2+} .

Método	Reagentes	Referência
Digestão em forno microondas	HNO_3 e H_2O_2	GHISI <i>et al.</i> , 2011
Extração por ponto nuvem	Triton X-100, Triton X 114, etanol, propanol	SUSSULINI e ARRUDA, 2006
Microemulsão	Etanol, Triton X-100, fase aquosa (tampão amônio + EDTA)	O próprio autor, 2012
Diluição com solvente orgânico	Metanol, etanol e propanol	GUIMARÃES, 2011

Fonte: O próprio autor

4.6 Preparo das amostras de Biodiesel

As determinações via SWASV foram realizadas após a decomposição ácida das amostras de biodiesel em sistema fechado em forno microondas. Foram utilizadas duas amostras de biodiesel de sebo e soja provenientes do programa interlaboratorial da ANP cedidas pelo laboratório LAPQAP da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Para o tratamento das amostras foi realizado a digestão via úmida por radiação de microondas em sistema fechado. As amostras foram preparadas diretamente em tubos de quartzo de 15 mL, pela adição de 300 mg de amostra de biodiesel, 4 mL de ácido nítrico ultrapuro (HNO_3), 2 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e 1 mL de água deionizada. Logo após, os frascos foram devidamente fechados e levados ao aquecimento de acordo com a programação otimizada. Ao final, as amostras foram armazenadas sobre refrigeração e em tubos Falcon de 15 mL.

O programa de aquecimento do forno microondas, otimizado para a digestão das amostras de biodiesel é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3: Programa utilizado para a digestão das amostras biodiesel no forno micro-ondas.

Etapa	Potência (W)	Rampa (W min^{-1})	Tempo (min)
1	300	10	10
2	450	5	5
3	0		20

Fonte: O próprio autor

4.7 Validação da metodologia proposta

Um processo analítico pode ser dividido em desenvolvimento de método, sua validação e fase de aplicação. O objetivo de uma análise é gerar informações confiáveis, exatas e interpretáveis sobre a amostra e garantir que o método analítico preencha estes requisitos (RIBANI *et al.*, 2004).

A validação da metodologia analítica desenvolvida para determinar Ca^{2+} em amostras de biodiesel, por SWV, utilizando tratamento com digestão via úmida por radiação microondas em sistema fechado, foi mediada com base nos seguintes parâmetros estatísticos:

linearidade, sensibilidade, precisão, repetitividade, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão. Os critérios de validação estudados são apresentados a seguir.

4.7.1 Linearidade

É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um determinado intervalo. É recomendado que a linearidade seja avaliada pela determinação de, no mínimo, cinco concentrações diferentes. A relação matemática entre o sinal e a concentração, ou massa da espécie de interesse é chamada de curva de calibração e é um gráfico que mostra a resposta de um método analítico como uma função de uma quantidade conhecida do constituinte a ser medida (RIBANI *et al.*, 2004).

A linearidade foi verificada pelo coeficiente de correlação linear, R, resultante da linha de regressão de cinco concentrações diferentes para Ca^{2+} . As concentrações utilizadas para a adição padrão foram: $8,0 \times 10^{-7}$; $1,6 \times 10^{-6}$; $2,4 \times 10^{-6}$; $3,2 \times 10^{-6}$ e $4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do analito.

4.7.2 Sensibilidade

A sensibilidade de um método indica sua capacidade de discriminar, com uma fidelidade estabelecida e concentrações próximas de um analito. Essa grandeza pode ser determinada por intermédio da inclinação do gráfico da curva de calibração. No caso de uma reta, quanto maior o ângulo de inclinação da reta, mais sensível será o método (LEITE, 1996).

4.7.3 Precisão

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas (RIBANI *et al.*, 2004). A precisão pode ser expressa através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV) em termos percentuais, de acordo com a Equação 3 (HARRIS, 2001).

$$RSD = \frac{s}{\bar{X}} * 100$$

(Equação 3)

Onde s = desvio padrão absoluto;

$\bar{X}$ = média das determinações.

Normalmente, métodos que quantificam compostos em macro quantidades requerem um RSD de 1 a 2%. Em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos RSD de até 25%, dependendo da complexidade da amostra (MENDHAM *et al.*, 2000). A precisão das medidas foi avaliada pelo teste da repetitividade das leituras.

4.7.3.1 Repetitividade

A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição, chamadas condições de repetitividade (FRAZÃO, 2010). Neste trabalho o estudo de repetitividade foi realizado pela leitura em triplicata de três replicatas de cada amostra de biodiesel.

4.7.3.2 Reprodutibilidade

Mudança de operador; laboratório; equipamentos, etc, determinam a reprodutibilidade de um método. A reprodutibilidade é o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, efetuada sob condições variadas (MARTINIANO, 2009). Neste trabalho não foi realizado o estudo de reprodutibilidade.

4.7.4 Limite de detecção

O limite de detecção (LD) corresponde à menor quantidade de um analito detectada. Na prática, é determinado como a menor concentração do analito a qual pode ser diferenciada do ruído do sistema, com segurança (SKOOG *et al.*, 2002).

Para a determinação do limite de detecção utilizou-se o desvio padrão da média aritmética das concentrações obtidas de dez leituras consecutivas do branco e a relação mostrada na Equação 4.

$$LD = \frac{3 * s}{b}$$

(Equação 4)

Onde s representa o desvio padrão de dez medidas do branco e b a inclinação da curva de calibração.

4.7.5 Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e com confiabilidade determinada (MILLER & MILLER, 2000).

Para a determinação do limite de quantificação utilizou-se também o desvio padrão da média aritmética das concentrações obtidas de dez leituras consecutivas do branco e a relação mostrada na Equação 5.

$$LQ = \frac{10 * s}{b}$$

(Equação 5)

Onde s representa o desvio padrão de dez medidas do branco e b a inclinação da curva de calibração.

4.7.6 Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. Os processos utilizados para avaliar a exatidão de um método são: uso de materiais de referência, comparação de métodos, utilização de ensaios de recuperação e o método de adição de padrão. Todos estes procedimentos devem ser acompanhados de testes estatísticos para garantir a exatidão (RIBANI *et al.*, 2004).

A exatidão pode ser calculada como porcentagem de recuperação de uma quantidade conhecida do analito adicionado à amostra, ou como a diferença porcentual entre as médias e o valor verdadeiro aceito (LEITE, 1996). A relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica experimental correspondente determina a exatidão expressa pelos ensaios de recuperação, conforme a Equação 6 (MARTINIANO, 2009).

$$R (\%) = \frac{\text{média do valor obtido}}{\text{média do valor adicionado}} \times 100$$

(Equação 6)

A exatidão do método foi avaliada através de comparação com os resultados obtidos através de testes de recuperação para duas amostras de biodiesel, enriquecendo as amostras com concentrações diferentes de Ca^{2+} . No estudo de recuperação, concentrações conhecidas do metal foram adicionadas nas amostras de biodiesel, cuja concentração original já era conhecida.

4.7.7 Procedimento de Análise

Para a determinação de Ca^{2+} em biodiesel, a análise foi feita utilizando-se uma célula eletroquímica contendo 8 mL de tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,4) com adição de $400 \mu\text{L}$ de EDTA $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, como ligante, e utilizando-se eletrodo de carbono vítreo previamente polido com óxido de alumínio ($1 \mu\text{m}$ de granulometria) e eletrodos de referência e auxiliar. Foram feitas sucessivas varreduras anódicas para a estabilização do sinal do ligante (EDTA), pois este apresenta sinal no mesmo potencial que o complexo formado entre Ca^{2+} -EDTA. Após a estabilização, adicionou-se $2,0 \text{ mL}$ do biodiesel digerido e realizou-se a leitura da amostra, em seguida foram feitas adições padrão de Ca^{2+} a partir da solução estoque de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

A Tabela 4 apresenta os parâmetros eletroquímicos, otimizados, para a determinação de Ca^{2+} , por voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada.

Tabela 4: Condições eletroquímicas para a determinação de Ca^{2+} , por voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada.

PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÕES
Tempo de Deposição	120 s
Tempo de Equilíbrio	15 s
Potencial Inicial	-1000 mV
Potencial Final	+600 mV
Potencial de Deposição	-1000 mV
Frequência	30 Hz
Amplitude de Pulso	100 mV
Passo Potencial	15 mV
Direção de Varredura	Anódica
Modo de Varredura	SW

Fonte: O próprio autor

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estudos Preliminares para escolha da metodologia de tratamento das amostras de biodiesel

O biodiesel é uma matriz bastante complexa, pois em sua composição estão presentes uma série de compostos orgânicos e inorgânicos provenientes do processo de síntese para obtenção do próprio biodiesel, dentre eles, ácidos graxos insaturados, catalisadores que não foram totalmente recuperados, resíduos de ácidos utilizados para neutralização do pH e possíveis resíduos de catalisadores, glicerol como subproduto da reação de transesterificação, além de alguns contaminantes inorgânicos e outros compostos que podem ser inseridos no biodiesel durante a etapa de síntese e purificação do mesmo. Diante dessas questões a análise direta desse tipo de amostra é considerada bastante crítica, pois vários fatores podem influenciar na análise, principalmente em se tratando da quantificação a níveis de traço para metais pesados e metais alcalinos terrosos.

Diante dessa problemática e para o desenvolvimento da metodologia analítica realizou-se primeiramente um estudo preliminar para avaliar os possíveis tipos de preparo de amostra que viabiliza-se a determinação de Ca^{2+} nas amostras de biodiesel sem causar grandes problemas de interferência principalmente de matéria orgânica e ruídos durante as análises. Os tipos de tratamento aos quais as amostras de biodiesel foram submetidas são bastante consolidados na literatura para diversos tipos de matrizes. Após um breve levantamento bibliográfico testou-se os seguintes preparos de amostras: diluição com solvente orgânico, extração por ponto nuvem, microemulsão e digestão em forno microondas.

Como parâmetros de avaliação desse estudo foram observados a limpidez das soluções e/ou misturas; a solubilização e/ou decomposição das amostras, a relação sinal/ruído durante as análises, a influência na sensibilidade do método, além da melhor resposta voltamétrica.

Os testes realizados na tentativa de solubilizar o biodiesel em solvente orgânico foram os primeiros a serem realizados, dentre os solventes orgânicos testados utilizou-se metanol e etanol. O estudo buscou encontrar uma proporção adequada que fosse capaz de solubilizar uma quantidade de biodiesel em meio hidro-alcóolico e que também proporcionasse um adequado sinal analítico através da resposta voltamétrica obtida. As proporções testadas em meio metanólico e etanólico foram realizadas a partir de um estudo desenvolvido por (GUIMARÃES, 2011) e as condições testadas foram: 80 % de metanol + 20 % de tampão

amônio + 50 µL de biodiesel; 90 % de metanol + 10 % de tampão amônio + 50 µL de biodiesel; 80 % de etanol + 20 % de tampão amônio + 50 µL de biodiesel e 90 % de etanol + 10 % de tampão amônio + 50 µL de biodiesel.

Os resultados dos testes realizados na tentativa de solubilizar o biodiesel para a determinação de Ca^{2+} não foram satisfatórios, pois só foi possível solubilizar uma quantidade pouco suficiente de biodiesel, isso quando a proporção de metanol e/ou etanol era a fase predominante do meio, o que pode ter tornado o meio altamente resistivo e impedido uma interação melhor entre o ligante (EDTA) e o analito de interesse. Além disso, outros problemas turvação do meio foram identificados o que pode ser proveniente de precipitação de sais de cloretos no meio.

A extração por ponto nuvem foi avaliada de acordo com (DA SILVA, 2008), nesse estudo realizou-se vários testes na tentativa de solubilizar uma quantidade suficiente de a amostra (biodiesel) que fosse representativa e permitisse detectar e quantificar o analito de interesse. O tratamento da amostra por ponto nuvem foi mais um tipo de preparo da amostra adotado neste trabalho como metodologia alternativa, porém os resultados obtidos não foram satisfatórios e adequados ao tipo de técnica no qual o trabalho propõe como método alternativo. Pois, problemas de turbidez e ruído foram os principais fatores que inviabilizaram a utilização desse tipo de tratamento para as amostras de biodiesel.

Os testes realizados com microemulsão foram feitos baseados em gráficos de diagramas de fases, no qual várias microemulsões de diferentes combinações foram testadas e avaliadas, estas tiveram em sua composição Biodiesel (óleo) / Etanol e Triton X-100 / Tampão Amônio e EDTA (água). Os testes voltamétricos realizados não apresentaram respostas significativas, pois observou-se problemas de sinal / ruído mediante a resposta eletroquímica, além de problemas com a estabilidade de microemulsão a medida que as adições padrão eram feitas, apresentando turbidez e precipitação de possíveis cloretos e do ligante, já que este não é totalmente solúvel em álcool e uma pequena alteração na composição da microemulsão já provocava uma desestabilização da mesma. Logo, o presente trabalho não utilizou o preparo de microemulsão como tratamento para as amostras de biodiesel.

Devido à complexidade da matriz do biodiesel e seu alto conteúdo orgânico, a digestão desse tipo de amostra é muitas vezes dificultada. Com isso, para possibilitar a eliminação completa da matéria orgânica das amostras de biodiesel foi utilizada a digestão da amostra por via úmida, em forno microondas, onde ocorre o aquecimento da amostra na presença de uma mistura de HNO_3 com H_2O_2 . O poder oxidante de um ácido aumenta pela utilização de um

agente oxidante auxiliar, como no caso do H_2O_2 . Ademais, quando adicionado ao HNO_3 auxilia a remoção de vapores de óxidos nítricos e acelera a digestão das amostras orgânicas pelo aumento da temperatura.

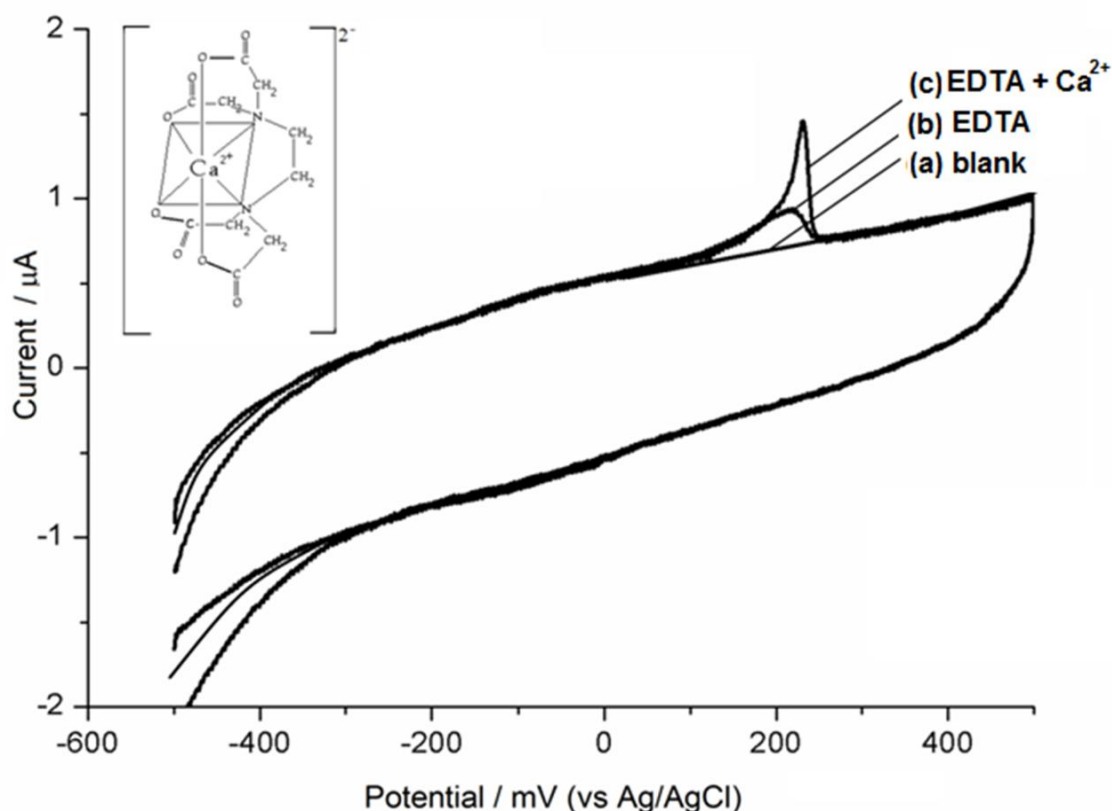
Neste tipo de tratamento de amostra complexas geralmente ocorre à oxidação completa das amostras e os elementos a serem determinados permanecem na solução ácida, na sua forma inorgânica simples, sendo ideal para a determinação. Com a presença de HNO_3 os metais são convertidos em nitratos solúveis, permitindo determinações quantitativas. A decomposição em microondas é útil para a determinação de baixas concentrações de metais em vários tipos de amostras.

Porém, algumas vezes, podem ocorrer perdas de amostra e dos analitos devido à volatilização e vazamentos provocados pela alta pressão resultante da decomposição da matéria orgânica ou também resultando, em muitas vezes, na incompleta decomposição da amostra. Assim, a fim de evitar esses problemas, foi aplicado um programa de digestão em duas etapas e de maneira lenta e controlada, inicialmente utilizando potências baixas seguida da etapa de resfriamento, garantindo assim a completa decomposição das amostras e evitando perdas dos analitos, bem como danos ao equipamento. Assim as amostras foram completamente digeridas, resultando em uma solução de aspecto límpido e homogêneo.

5.1 Comportamento Voltamétrico do complexo Ca^{2+} -EDTA

Um estudo voltamétrico preliminar foi realizado para verificar qualitativamente a interação eletroanalítica entre o EDTA e o Ca^{2+} , que é uma clássica reação analítica, utilizada com frequência em titulações complexométricas. Como é bastante conhecido, os complexos de EDTA são compostos de alta estabilidade, entretanto, a seletividade do EDTA depende das condições da solução, principalmente, do pH do meio.

Figura 5: Voltametria cíclica: avaliação qualitativa da determinação de Ca^{2+} -EDTA em tampão amônio sobre o eletrodo de carbono vítreo. Condições experimentais: eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ pH = 9,4; 4×10^{-3} mol L⁻¹ de EDTA; V= 100 mV s⁻¹; E_i=-1000 mV; E_f=1000 mV.



Fonte: O próprio autor

Uma varredura cíclica entre -1000 mV (potencial inicial= E_i) e 1000 mV (potencial final = E_f) mostra uma resposta redox irreversível para o EDTA, onde se observa a presença de um pico de oxidação em aproximadamente 200 mV vs Ag/AgCl (Fig. 5). Devido à irreversibilidade do processo, a reação não apresentou qualquer resposta no sentido catódico quando as medidas voltamétricas foram realizadas em uma ampla faixa de potencial, sendo o EDTA adicionado à solução de tampão amônio em pH 9,4. Ao contrário do ligante, o complexo formado Ca-EDTA apresentou resposta redox para os dois sentidos do processo, tanto na região anódica, quanto na catódica, porém o sinal obtido na região catódica não foi mais investigado por que os voltamogramas apresentaram deslocamento de potencial e sinais de corrente de pico muito discretos para as adições sucessivas de Ca^{2+} se comparado à resposta no sentido anódico. O EDTA foi adicionado diretamente em solução principalmente, devido a sua alta solubilidade em meio aquoso e por este complexar-se facilmente com o

analito em estudo. Por tratar-se de uma reação rápida, e dependendo do pH, o EDTA pode ioniza-se em meio aquoso produzindo quatro espécies aniônicas (H_3Y^- ; H_2Y^{2-} ; HY^{3-} ; Y^{4-}) (LAVORENTI, 2002).

A adição de uma concentração conhecida de Ca^{2+} indica, claramente, a formação de um complexo na mesma região de potencial do ligante EDTA, cuja reatividade é comprovada pelo crescimento acentuado da corrente em relação ao sinal original do EDTA, na ausência do analito. Nota-se ainda que novas adições de Ca^{2+} mostram um crescimento progressivo e proporcional da corrente anódica. Estes resultados indicaram, claramente, a viabilidade de um possível procedimento analítico para determinação de Ca^{2+} .

Para estudar sobre a viabilidade analítica do método, uma das principais preocupações é relacionada ao tipo de pré-tratamento adequado da amostra, dentro do propósito do estudo. Segundo as normas oficiais (ASTM, EN, ABNT), cálcio e magnésio são determinados na forma combinada, cujo valor limite total é de 5 mg kg^{-1} em biodiesel (LOBO *et al.*, 2009). Se considerarmos apenas o cálcio e, por outro lado, que a densidade mínima do biodiesel é de $0,8 \text{ g mL}^{-1}$. Segundo as normas oficiais mencionadas, chega-se facilmente a um valor aproximado da concentração molar de Ca^{2+} em biodiesel que é aproximadamente igual a $1,06 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Esse nível de concentração é considerado relativamente alto, do ponto de vista de uma possível contaminação de brancos, fator este, determinante na escolha do pré-tratamento de amostras de biodiesel. Isso quer dizer que uma digestão da amostra não proporciona erro significativo por parte dos reagentes, uma vez que a concentração de Ca^{2+} nestes reagentes é bem menor que a concentração molar de Ca^{2+} esperada para o analito (valor acima mencionado) na amostra.

A partir desta avaliação, decidiu-se que as amostras de biodiesel seriam submetidas à pré-tratamento em meio ácido, antes da determinação voltamétrica, cujo procedimento otimizado para a digestão das amostras de biodiesel está descrito na parte experimental.

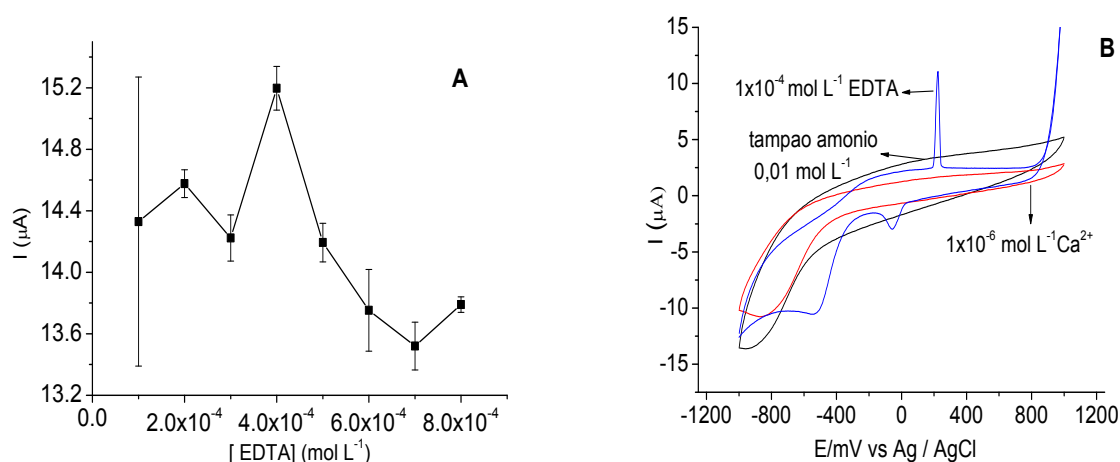
Foi necessário, ainda, um estudo de vários parâmetros de solução, conduzido nas condições previamente analisadas, com o objetivo de se obter as melhores condições da solução, considerando-se, principalmente, a posição do sinal analítico (mesmo potencial de ligante e analito) e a concentração do analito na matriz biodiesel. Esse estudo é apresentado a seguir.

5.2 Estudo da Concentração de EDTA

A otimização de todos os parâmetros experimentais foi realizada no mesmo eletrólito suporte onde, posteriormente, o método foi aplicado em amostras reais digeridas. Esse estudo foi realizado no modo univariado, variando-se o parâmetro de interesse e, mantendo-se todos os demais parâmetros constantes.

O estudo da concentração de EDTA Fig.6A utilizado na célula de análise foi feito através de adições sucessivas de uma solução de $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ do ligante para encontrar a concentração que proporcionasse a formação do complexo Ca^{2+} -EDTA e também apresentasse maior sensibilidade, além de uma resposta linear na faixa de concentração estudada.

Figura 6: Estudo da adição de EDTA para a determinação de Ca^{2+} , utilizando eletrodo de carbono vítreo e SWV. Condições experimentais: eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 9,4; $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Ca^{2+} + $V_{\text{edta}} = 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700$ e $800 \mu\text{L}$ de EDTA $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$; Amp = 100 mV ; Freq = 30 mV ; $\Delta E_{\text{escada}} = 15 \text{ mV}$.



Fonte: O próprio autor

Nesse estudo Fig. 6B, primeiramente realizou-se uma varredura de potencial apenas do tampão amônio e observou-se que este eletrólito não apresentou qualquer sinal de corrente, na faixa de potencial estudada. Em seguida adicionou-se uma quantidade de $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Ca^{2+} à célula e, novamente, nenhum sinal de processo redox foi observado. Entretanto, quando se adicionou uma alíquota de EDTA igual a $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ observou-se, claramente,

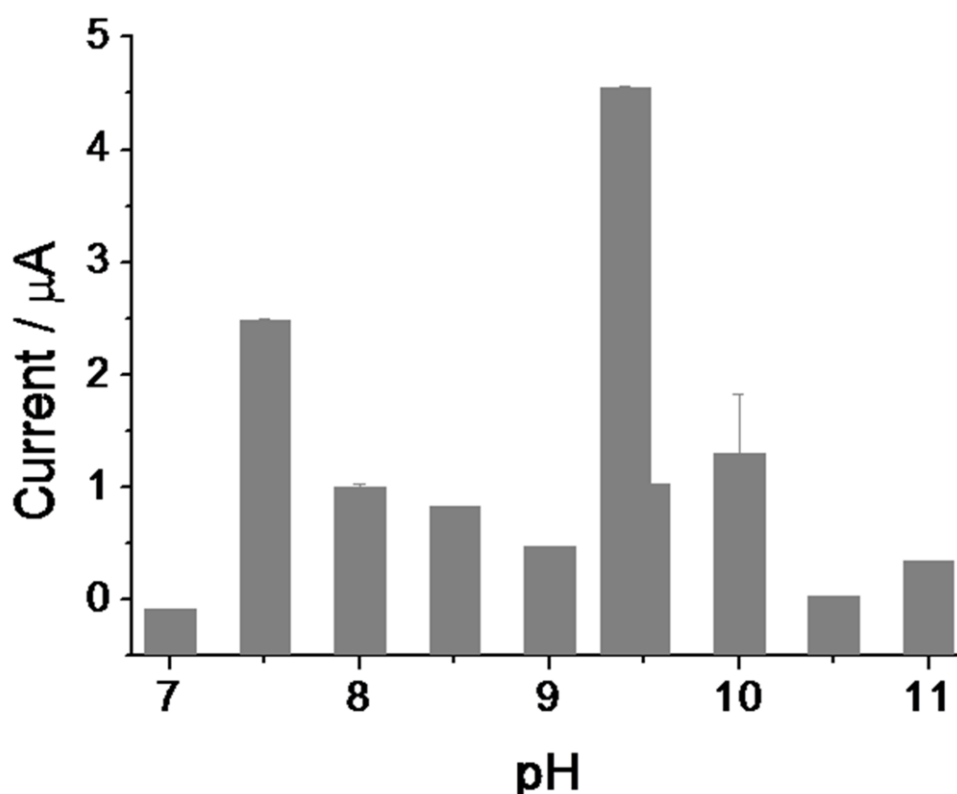
a existência de um processo redox, atribuído, conforme já discutido na Fig.5 ao processo redox do complexo Ca^{2+} -EDTA.

A partir daí, um aumento da concentração de EDTA mostra um efeito sobre a corrente anódica, sendo que, observou-se um ponto de maior sensibilidade (maior corrente) referente à formação do complexo Ca^{2+} -EDTA e que corresponde à concentração de ligante igual a $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Esse valor foi considerado ideal e, portanto, foi usado em todos os experimentos subsequentes.

5.3 Efeito do pH

O efeito do pH sobre a corrente é apresentado na Fig.7. Classicamente, é bastante conhecido a influência do pH na formação do complexo Ca^{2+} -EDTA. O presente estudo foi feito em diferentes valores de pH, entre 7 e 11.

Figura 7: Estudo do pH da solução para a determinação de Ca^{2+} , utilizando SWV. Condições experimentais: eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,4; 9,5; 10,0; 10,5 e 11,0 + $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA + $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Ca^{2+} ; $E_{\text{dep}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$; Amp = 100 mV; Freq = 30 mV; $\Delta E_{\text{escada}} = 15 \text{ mV}$.



Fonte: O próprio autor

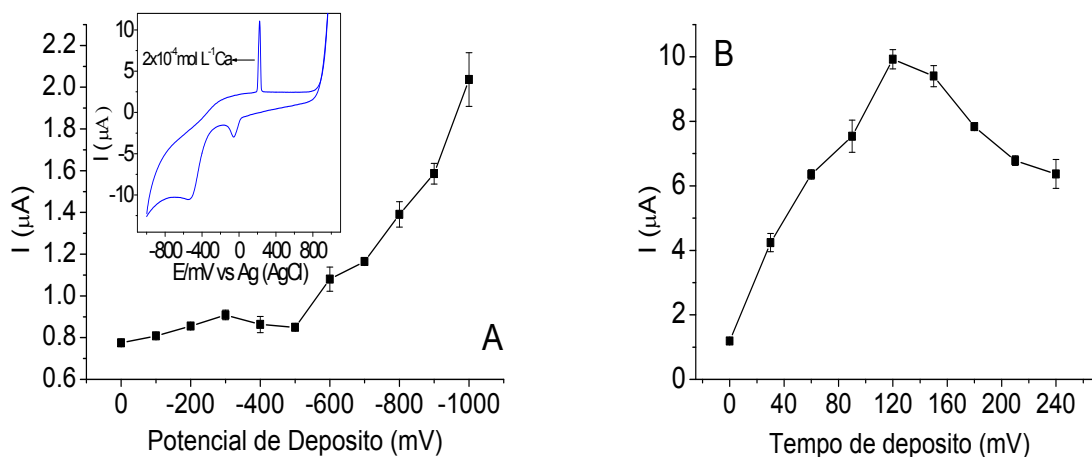
De acordo com resultados obtidos (Fig.7), observou-se que o valor de pH 9,4 apresentou maior intensidade de corrente de pico. Estes resultados confirmam que o pH influencia bastante na formação do complexo Ca^{2+} -EDTA. Assim o pH igual a 9,4, região alcalina, é aquele que sofreu menor influência dos íons hidrogênio no meio reacional. Como é sabido, há uma competição entre a formação do complexo (em meio alcalino) e a formação do ácido fraco do EDTA (em meio ácido).

5.4 Estudo do Potencial e Tempo de acúmulo

O estudo do potencial de acúmulo sobre as correntes de pico foi investigado no intervalo de 0 a -1000 mV (Fig. 8A), utilizando-se tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, em pH=9,4, com EDTA $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e solução estoque de Ca^{2+} $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O estudo revelou que o maior sinal de corrente de pico observado foi em potencial de acúmulo igual a -1000 mV.

Em estudos de potenciais de acúmulo para metais, geralmente o comportamento eletroquímico é caracterizado por um aumento de corrente seguido por um decaimento da mesma à medida que o potencial de depósito é variado. Mas, para esse estudo em especial, esse tipo de comportamento não foi observado (Fig. 8A), observa-se um aumento crescente da corrente de pico a medida que o potencial de depósito torna-se mais negativo, contudo não houve necessidade de avaliar potenciais de acúmulo mais negativos até obter-se um decaimento progressivo da corrente de pico, pois como o analito avaliado apresenta sinal de corrente em torno de 200 mV, a faixa estudada de potencial já garante uma boa resposta para avaliar o melhor potencial para a determinação do analito. Então o valor de -1000 mV foi o escolhido como o valor ideal de potencial de acúmulo para determinar Ca^{2+} , este valor foi adotado, subsequentemente, em todos os demais experimentos.

Figura 8: **A** Estudo do potencial de acúmulo e **B** Estudo do tempo de pré-concentração para a determinação de Ca^{2+} , utilizando SWV. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,4) + $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA + $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Ca^{2+} ; **A** $E_{\text{dep}} = 0; -100; -200; -300; -400; -500; -600; -700; -800; -900$ e -1000 mV ; **B** $t_{\text{pré}} = 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210$ e 240 s ; Amp = 100 mV ; Freq = 30 Hz ; $\Delta E_{\text{escada}} = 15 \text{ mV}$.



Fonte: O próprio autor

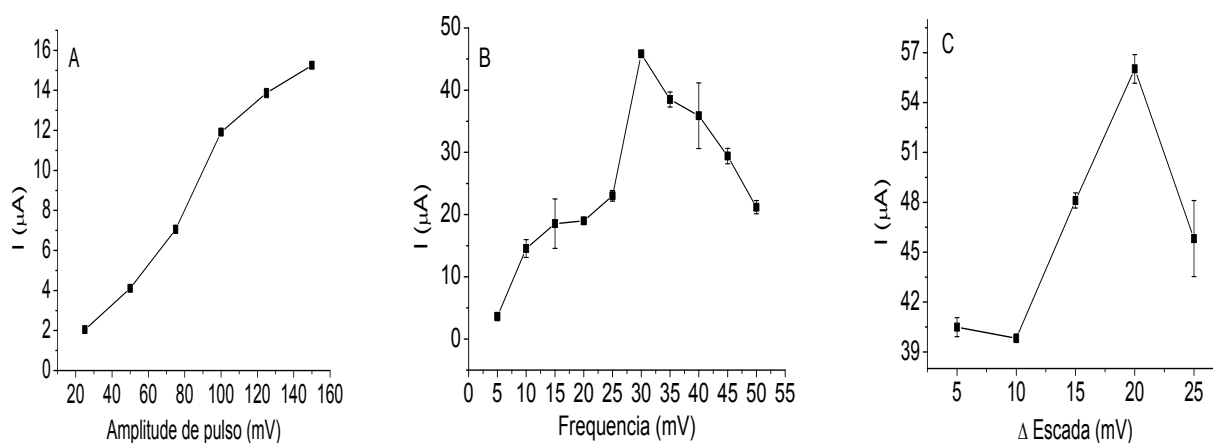
O estudo do tempo de deposição sobre a corrente de pico (Figura 8B) foi realizado na solução eletrolítica, contendo tampão amônio (pH 9,4), EDTA e Ca^{2+} . O estudo foi realizado no intervalo de 0 a 240 segundos, utilizando-se um potencial de deposição igual a -1000 mV . Os resultados obtidos mostram, como esperado, que primeiro a corrente cresce até um limite de 120 s, em seguida, observou-se um decaimento da corrente. O melhor sinal de corrente de pico obtido (120 s) foi escolhido como sendo ideal, nas condições estudadas. Sabe-se, contudo que, normalmente, em medidas eletroquímicas atribui-se o decaimento da corrente à saturação da superfície do eletrodo. Entretanto, como os complexos de EDTA não são comumente conhecidos em termos de propriedades adsorptivas, acredita-se que outro tipo de competição seja responsável pelo decaimento da corrente. De fato, quando o processo é adsorptivo, há uma limitação em termos de faixa linear da concentração do analito, havendo necessidade de se usar um tempo de deposição menor que o valor que apresenta maior sensibilidade. No presente caso, nenhuma limitação da faixa de concentração foi observada com o uso do valor de 120s, sendo este valor usado nos experimentos subsequentes.

5.5 Estudo da amplitude de pulso, frequência e delta de escada

A otimização dos parâmetros amplitude de pulso e frequência é muito importante, pois para a maioria dos processos eletródicos a corrente de pico é diretamente proporcional ao seu valor (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

O efeito da amplitude de pulso sobre a corrente (Figura 9A) foi avaliado, com o objetivo de se obter, principalmente, as melhores condições de resolução e sensibilidade. Foram avaliados os valores de amplitude de 25 a 150 mV e observou-se uma dependência desta sobre a corrente. Quanto maiores são os valores de amplitude de pulso observa-se um aumento da corrente de pico, resultando em um acréscimo na sensibilidade da medida eletroquímica (SOUZA, 2004). Paralelamente, observou-se também, como esperado, um estreitamento na largura dos voltamogramas, que significa um aumento na resolução dos voltamogramas. Na Figura 6, observa-se que a amplitude de 100 mV foi a que apresentou melhor resultado de sensibilidade e resolução de pico, sendo esta, escolhida e usada em todos os demais experimentos.

Figura 9: **A** Estudo da amplitude de pulso; **B** Estudo da frequência e **C** Estudo do incremento de varredura para a determinação de Ca^{2+} , utilizando SWV; Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,4) + $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA + $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Ca^{2+} ; **A** Amp = 25, 50, 75, 100, 125 e 150 mV; **B** Freq = 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 Hz; **C** $\Delta E_{\text{escada}} = 5, 10, 15, 20$ e 25 mV ; $E_{\text{dep}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$.



Fonte: O próprio autor

Na voltametria de onda quadrada o estudo da frequência é considerado importante porque este parâmetro influencia diretamente na ampliação do pulso de onda quadrada. No

presente trabalho a frequência foi estudada em um intervalo de 5 a 50 Hz (Figura 9B). Observou-se que uma frequência de 30 Hz foi a que apresentou maior sensibilidade das medidas, proporcionando uma maior corrente de pico, com boa resolução dos voltamogramas. Acima dessa frequência houve um decaimento da corrente e decréscimo nítido na resolução dos voltamogramas.

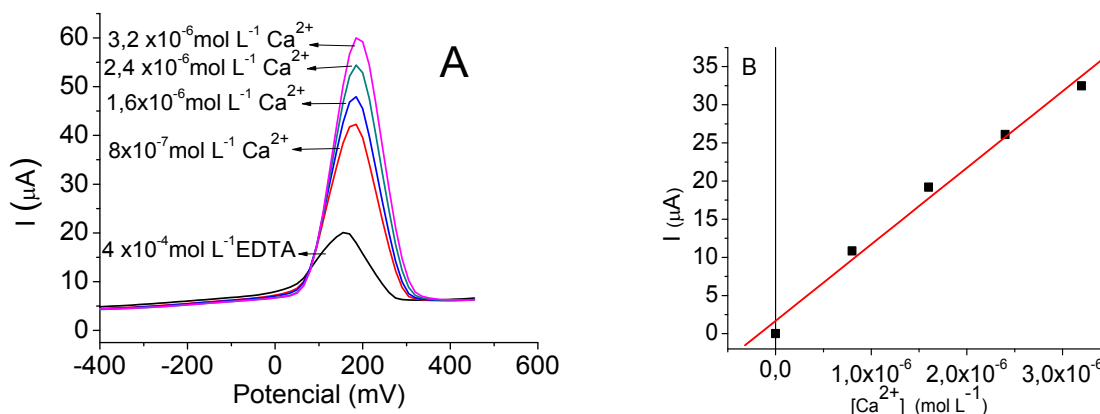
O delta de escada foi avaliado em intervalos de 5 a 25 mV e de acordo com os resultados (Fig.9C), houve um aumento da corrente de pico, sendo esta proporcional ao aumento do passo potencial. O valor escolhido como sendo ideal foi o de 15 mV, por apresentar um alto valor de corrente associado a uma boa resolução do voltamograma.

5.6 Viabilidade para determinação de Ca^{2+}

A Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada foi empregada para análise quantitativa do analito. Segundo SOUZA et al., 2004 trata-se de uma técnica muito sensível principalmente pela possibilidade de obter correntes de pico bem definidas utilizando altas velocidades.

Inicialmente, após a obtenção das melhores condições experimentais em termos dos parâmetros otimizados, realizou-se uma medida voltamétrica em uma solução do branco contendo apenas o eletrólito suporte (10 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,4) + EDTA $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). Esse estudo foi feito para conferir a viabilidade do procedimento para determinar Ca^{2+} . Na (Figura 10A) é apresentado o voltamograma obtido com o eletrodo de carbono vítreo nas condições otimizadas já descritas. Esse voltamograma apresenta um máximo de corrente de pico em aproximadamente 200 mV, onde foram feitas adições sucessivas de Ca^{2+} . Estas adições produziram as concentrações do complexo de cálcio na célula correspondentes a $8,0 \times 10^{-7}$; $1,6 \times 10^{-6}$; $2,4 \times 10^{-6}$ e $3,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 10: **A** Resposta Voltamétrica do método desenvolvido para a determinação de Ca^{2+} , em condições otimizadas (Tabela 4). Outras condições: tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pH 9,4; $[\text{Ca}^{2+}] = 8 \times 10^{-7}$ a $3,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. $E_{\text{dep}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$; $\text{Amp} = 100 \text{ mV}$; $\text{Freq} = 30 \text{ mV}$; $\Delta E_{\text{escada}} = 15 \text{ mV}$; **B** Curva analítica para Ca^{2+} .



Fonte: O próprio autor

As adições sucessivas de alíquotas da solução estoque de cálcio produziram um aumento na corrente de pico, em aproximadamente 200 mV, inicialmente, observada para o EDTA. Fica evidente desta figura, que há uma dependência da corrente de pico com relação à concentração de Ca^{2+} , confirmado pela curva analítica apresentada na Figura 10B.

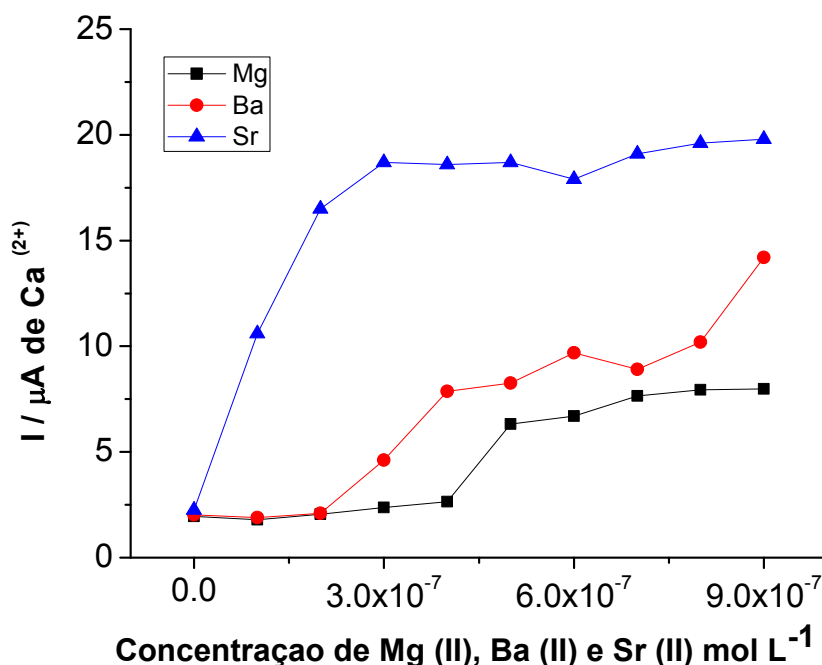
A curva analítica da Figura 10B, resultante da adição padrão do analito, mostrou uma boa correlação linear entre a corrente de pico e a concentração do analito, confirmado pelo coeficiente de correlação de 0,993. A partir dos valores obtidos de coeficientes linear ($A = 1,678 \times 10^{-6}$) e angular ($B = 10,029$) na curva analítica, encontrou-se a concentração de Ca^{2+} no branco através da média de 3 replicatas e o valor encontrado foi de $1,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

5.7 Estudo de Interferência

Para a avaliação da possível interferência de outros cátions, realizou-se o estudo da influência de Mg^{2+} , Ba^{2+} e Sr^{2+} na análise de Ca^{2+} em tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 9,4. O estudo foi feito através da medida da corrente de pico inicial do analito em relação às correntes obtidas após as adições dos íons interferentes (adição de sucessivas alíquotas de $10 \mu\text{L}$ de cada íon metálico interferente na concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). A concentração final de cada interferente na célula de medida era de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Esse estudo foi realizado

separadamente para cada íon metálico. Os resultados desse estudo são apresentados na Figura 11.

Figura 11: Estudo de interferentes na determinação de Ca^{2+} . $E_{\text{dep}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$; $\text{Amp} = 100 \text{ mV}$; $\text{Freq} = 30 \text{ mV}$; $\Delta E_{\text{escada}} = 15 \text{ mV}$. Adições de 1×10^{-7} ; 2×10^{-7} ; 3×10^{-7} ; 4×10^{-7} ; 5×10^{-7} ; 6×10^{-7} ; 7×10^{-7} ; 8×10^{-7} e $9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de Mg^{2+} , Ba^{2+} e Sr^{2+} respectivamente.



Fonte: O próprio autor

Observa-se que Ba^{2+} e Mg^{2+} não apresentaram qualquer efeito sobre a corrente de pico do analito, até os valores de concentração de 2×10^{-7} e $4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Posteriormente, à medida que a concentração desses interferentes aumentava na célula, observou-se um aumento significativo da corrente do analito, devido a interferência do Mg^{2+} de até 224,10 %, e de até 308,42 % devido a interferência do Ba^{2+} , isto corresponde, em termos de concentração dos interferentes Mg^{2+} e Ba^{2+} , valores de concentração, de 10 vezes menor do que a concentração do analito Ca^{2+} . Já para o Sr^{2+} , verificou-se que dos três íons metálicos estudados, este foi o que mais interferiu na corrente de pico do Ca^{2+} , chegando a causar uma interferência de até 345,69 % sobre o valor da corrente. Este valor foi considerando muito significativo e corresponde a uma concentração de interferente de 10

vezes menor do que a do analito. E o resultado indicou, portanto, inviabilidade na determinação simultânea desses dois metais.

Nesse estudo, o Mg^{2+} é considerado o principal íon estudado como interferente na determinação do Ca^{2+} , principalmente, por ser um dos elementos mais abundantes na natureza, por um lado e, por outro lado, à presença desses metais em biodiesel, como sendo determinados oficialmente e, conjuntamente, além de que em algumas sínteses de biodiesel é utilizado MgO para melhorar o processo de secagem (retirada de água) do biocombustível. A Tabela 5 mostra uma visão geral do estudo de interferência realizado.

Os íons Ba^{2+} e Sr^{2+} foram estudados como interferentes por estar-se utilizando zeólitas básicas, principalmente zeólitas de Ba/USY e Sr/USY como catalisadores heterogêneos para a produção de biodiesel por transesterificação, pois seu uso pode eliminar alguns dos custos de processos adicionais associados a catalisadores homogêneos (e.g., corrosão, neutralização, decomposição do catalisador, etc.). As zeólitas se destacam devido à grande quantidade de aplicações que apresentam na indústria química, como catalisadores e adsorventes. Elas apresentam propriedades singulares, tais como, alta área superficial, propriedades de adsorção, propriedades de troca iônica, centros ativos dentro do sistema de canais e cavidades, e diferentes tipos de seletividade (LUNA e SCHUCHARDT, 2001). A alta área superficial desses materiais e suas propriedades de troca iônica permitem que sua rede cristalina seja usada para gerar centros básicos ativos na estrutura zeolítica (e.g., troca iônica com sais de metais alcalinos, etc.) (BARTHOMEUF, 2003) ou como suporte para espécies básicas (e.g., hidróxidos, cátions ou óxidos básicos, etc.) (GHESTI, 2012).

Tabela 5: Influência de alguns cátions nas correntes de pico de Ca^{2+} nas condições otimizadas.

* Ip_0 (μA) de Ca^{2+}	Interferentes	Concentração na célula de Ca^{2+} (mol L^{-1})	** Ip (μA) de Ca^{2+}	*** ΔIp (%) de Ca^{2+}
1,95	Mg^{2+}	1×10^{-7}	1,79	-8,20
		2×10^{-7}	2,05	5,13
		3×10^{-7}	2,37	21,54
		4×10^{-7}	2,65	35,90
		5×10^{-7}	6,32	224,10
2,02	Ba^{2+}	1×10^{-7}	1,89	-6,44
		2×10^{-7}	2,09	3,47
		3×10^{-7}	4,61	128,22
		4×10^{-7}	7,87	289,60
		5×10^{-7}	8,25	308,42
6,26	Sr^{2+}	1×10^{-7}	12,5	99,68
		2×10^{-7}	20,6	229,07
		3×10^{-7}	25,2	302,56
		4×10^{-7}	26,5	323,32
		5×10^{-7}	27,9	345,69

*Corrente de pico inicial do Ca^{2+} sem adição dos íons metálicos; **Corrente de pico do Ca^{2+} após a adição dos íons metálicos; ***Diferença percentual entre a corrente inicial do Ca^{2+} e após a adição dos íons metálicos.

Fonte: O próprio autor

De acordo com a (Tabela 5) o método sofre interferências de alguns íons metálicos, onde o íon estrôncio apresentou maior grau de interferência, enquanto o íon magnésio só influenciou de forma significativa ao adicionar $5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ na célula.

5.8 Aplicação Analítica

5.8.1 Aplicação do Procedimento Proposto na Determinação de Ca^{2+} em amostras reais de Água.

A Tabela 6 apresenta os parâmetros avaliados, estatisticamente, com base nos experimentos realizados para determinação de Ca^{2+} em amostras de água mineral e potável por voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada. Realizou primeiramente este estudo em amostras de água por tratar-se de amostras simples e por conter em maiores quantidades o analito em estudo, já que estas não necessitam de pré-tratamento, possibilitando a análise direta do analito pela técnica.

Os resultados (Tabela 6) mostram que o método desenvolvido pode ser aplicado em amostras de água sem que esta tenha passado por pré-tratamento e de acordo com os baixos valores de LD de $2,7 \times 10^{-9}$ e $5,4 \times 10^{-9}$ e LQ de $9,9 \times 10^{-9}$ e $1,8 \times 10^{-8}$ para as amostras de água mineral e torneira respectivamente, confirmam a sensibilidade do método desenvolvido.

Tabela 6: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Ca^{2+} em amostras de água por SWASV.

Parâmetros	Água Mineral [Ca^{2+}] (mol L^{-1})	Água da Potável [Ca^{2+}] (mol L^{-1})
$\bar{X}$ média	$7,3 \times 10^{-7}$	$3,0 \times 10^{-7}$
CV (%)	0,27	0,66
LD	$2,7 \times 10^{-9}$	$5,4 \times 10^{-9}$
LQ	$9,9 \times 10^{-9}$	$1,8 \times 10^{-8}$
Coefficiente de correlação	0,990	0,995
μ (95%)	$7,3 \times 10^{-7} \pm 5,0 \times 10^{-9}$	$3,0 \times 10^{-7} \pm 5,0 \times 10^{-9}$
Sensibilidade ($\mu\text{A/mol L}^{-1}$)	2,03	1,12

Fonte: O próprio autor

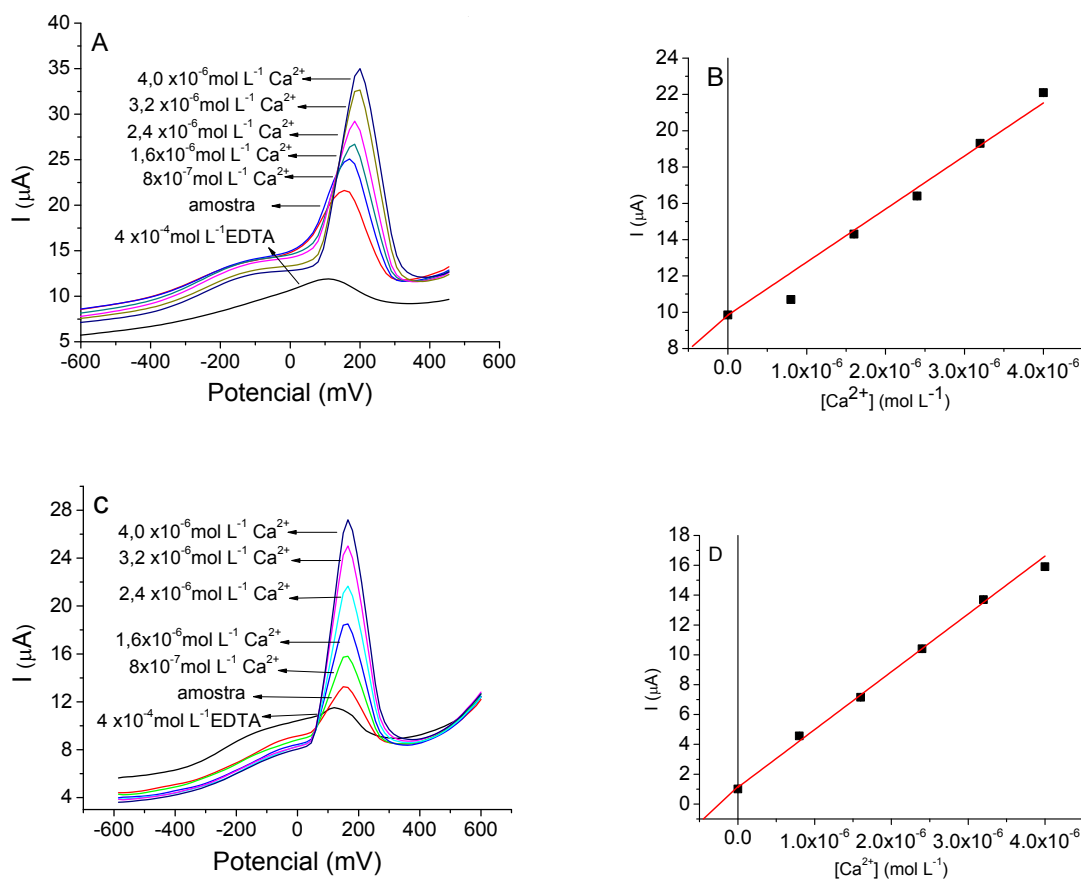
A precisão foi avaliada a partir do coeficiente de variação (CV) e os valores obtidos foram de 0,27 % e 0,66 para Ca^{2+} . Os baixos valores de CV confirmam a precisão do método. Por outro lado, os valores de Ca^{2+} nas amostras foram calculados a partir dos valores obtidos de coeficiente linear (a) e coeficiente angular (b) na curva analítica. O resultado obtido como média de 3 replicatas foi de $7,3 \times 10^{-7}$ e $3,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para as amostras de água mineral e água potável respectivamente.

5.8.2 Aplicação do Procedimento Proposto na Determinação de Ca^{2+} em amostras reais de biodiesel, após Digestão Ácida.

As Figuras 12 A e C apresentam os voltamogramas referentes à determinação de Ca^{2+} em amostras digeridas de Biodiesel de soja e sebo (02/2009) e (01/2010), em meio de tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,4) e EDTA $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, pela técnica ASV no modo SW. Os voltamogramas foram obtidos pela adição sucessiva de alíquotas de solução padrão de Ca^{2+} , no nível de concentração de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Conforme mostra nas Figuras 12 A e C, a resposta voltamétrica apresentou picos com boa resolução, próximos de 200 mV, característicos do íon Ca^{2+} , os quais apresentaram excelente sensibilidade.

A curva analítica obtida pelo método de adição padrão nas Figuras 12 B e D, mostram uma boa relação linear entre a concentração de Ca^{2+} e a corrente de pico. Essa relação é representada pela regressão linear obtendo-se um coeficiente de correlação de 0,992 e 0,998 para as duas curvas respectivamente, o que comprova a boa resposta eletroanalítica do método. A concentração média de Ca^{2+} encontrada foi de $2,8 \times 10^{-6} \pm 5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,4 \times 10^{-7} \pm 5,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente, a um intervalo de confiança de 95% para $n=3$ replicatas, calculada pela razão entre o coeficiente linear e angular da reta e subtraindo do valor da concentração do branco. Tais concentrações encontradas para Ca^{2+} demonstram que o processo de purificação do biodiesel ainda não é totalmente eficaz, apesar das concentrações encontradas estarem dentro da norma estabelecida.

Figura 12: A e C Resposta voltamétrica para Ca^{2+} , utilizando SWASV em amostras de Biodiesel Digeridas sobre o eletrodo de carbono vítreo. Condições Experimentais: 8,0 mL tampão amônio (pH 9,4) + $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA + 2 mL de amostra. $E_{\text{dep}} = -1000 \text{ mV}$; $t_{\text{pré}} = 120 \text{ s}$; Amp = 100 mV; Freq = 30 mV; $\Delta E_{\text{escada}} = 15 \text{ mV}$. **B e D** Curva analítica para Ca^{2+} . Dados extraídos da Figura A e C respectivamente.



Fonte: O próprio autor

5.9 Parâmetros de Mérito

A metodologia proposta foi validada pelas seguintes ferramentas estatísticas: repetitividade, precisão (coeficiente de variação), exatidão, sensibilidade (LD, LQ e coeficiente angular) e linearidade. Para a validação estatística, o procedimento foi aplicado em amostras de biodiesel digeridas ($n=3$), considerando-se um nível de confiança de 95%.

A Tabela 7 mostra um resumo dos resultados obtidos referentes à avaliação estatística do procedimento proposto.

Tabela 7: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Ca^{2+} em amostra de biodiesel pela SWASV.

Parâmetros	Amostra 02/2009 [Ca^{2+}] (mol L^{-1})	Amostra 01/2010 [Ca^{2+}] (mol L^{-1})
$\bar{X}_{\text{média}}$	$2,8 \times 10^{-6}$	$3,4 \times 10^{-7}$
SD	2×10^{-8}	3×10^{-9}
CV (%)	0,70	0,59
LD	$1,9 \times 10^{-8}$	$1,6 \times 10^{-9}$
LQ	$6,3 \times 10^{-8}$	$5,3 \times 10^{-9}$
Coefficiente de correlação	0,992	0,998
μ (95%)	$2,8 \times 10^{-6} \pm 5,0 \times 10^{-8}$	$3,4 \times 10^{-7} \pm 5,0 \times 10^{-9}$
Sensibilidade ($\mu\text{A/mol L}^{-1}$)	3,19	3,76

Fonte: O próprio autor

A precisão foi calculada como o coeficiente de variância, e os valores encontrados (0,70 e 0,59 %) para as amostras de biodiesel indicam uma boa precisão. O limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), são definidos como $3s_D/b$ e $10s_D/b$, respectivamente, em que s_D representa o desvio padrão de dez medidas do branco, calculados considerando-se o desvio padrão e o coeficiente angular da curva analítica. Os valores encontrados de LD ($1,9 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,6 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$), e de LQ ($6,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,3 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$) mostram, respectivamente, boa sensibilidade da técnica para estas amostras.

A concentração de Ca^{2+} em amostras reais de biodiesel digeridas foi determinada, considerando-se através da equação da reta, a partir das curvas analíticas obtidas pelo método de adição padrão (" $I_p = 9,05 \times 10^{-6} + 3,19 x$ " e " $I_p = 1,28 \times 10^{-6} + 3,75 x$ "), respectivamente. Os resultados obtidos em replicata, ($n=3$) apresentaram concentrações médias de Ca^{2+} , de $2,8 \times 10^{-6} \pm 5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e de $3,4 \times 10^{-7} \pm 5,0 \times 10^{-9}$, respectivamente.

5.9.1 Verificação da exatidão através do Teste de Recuperação

A fim de garantir uma boa verificação da exatidão do método proposto, realizaram-se testes de recuperação em duas amostras de biodiesel e uma amostra de água mineral analisadas. Os testes de recuperação foram realizados através da adição do analito em um nível diferente de concentração. Após a adição de quantidade conhecida de Ca^{2+} obteve-se uma recuperação de 102,9 e 102,4% respectivamente. Os resultados que são mostrados na Tabela 8 comprovam que o método proposto é exato e adequado para análise de Ca^{2+} em amostras de biodiesel e água mineral pela técnica de SWASV.

Tabela 8: Concentrações obtidas para Ca^{2+} (mol L^{-1}) nas amostras de água mineral e potável sem pré-tratamento e nas amostras de biodiesel digeridas após a adição de mol L^{-1} do analito.

Amostras	Valor Adicionado (mol L^{-1})	Valor Encontrado (mol L^{-1})	Recuperação (%)
Água Mineral	$6,1 \times 10^{-6}$	$5,3 \times 10^{-6}$	88 %
Água Potável	$1,6 \times 10^{-6}$	$1,3 \times 10^{-6}$	81 %
Biodiesel (02/2009)	$6,4 \times 10^{-6}$	$6,6 \times 10^{-6}$	102,9 %
Biodiesel (01/2010)	$2,4 \times 10^{-6}$	$2,5 \times 10^{-6}$	102,4%

Fonte: O próprio autor

Os resultados obtidos a partir da Equação 6, que são mostrados na Tabela 8, confirmam a exatidão do método proposto para o analito, considerando que as recuperações ficaram na faixa de 81 - 102,9% para Ca^{2+} para todas as amostras analisadas de água e biodiesel.

6 CONCLUSÃO

O método proposto neste trabalho, para a determinação de Ca^{2+} em biodiesel, após digestão ácida das amostras, mostrou alta sensibilidade e bons resultados de precisão (CV de 0,70 e 0,59%) para as duas amostras de biodiesel (ano de produção: 2009 e 2010), às quais o procedimento foi aplicado. O uso do complexante EDTA mostrou-se adequado para a determinação de Ca^{2+} em amostras de biodiesel digeridas, pela técnica ASV no modo SW. O método apresentou baixos limites de detecção ($1,9 \times 10^{-8}$ e $1,6 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$), conferindo, assim boa sensibilidade. O estudo de interferência realizado mostrou que os íons Mg^{2+} , Ba^{2+} e Sr^{2+} interferem no sinal analítico de Ca^{2+} até 224,10; 308,42 e 345,69%, respectivamente, isto, quando a concentração do analito é aproximadamente 10 vezes maior que a dos interferentes. O estudo sobre a exatidão do procedimento apresentou, respectivamente, bons valores de recuperação para as duas amostras de biodiesel (102,9 e 102,4%). Os resultados obtidos mostraram que a metodologia usada é adequada para análise de Ca^{2+} em biodiesel pela técnica ASV, no modo SW, pois a concentração deste cátion no biodiesel, segundo a norma oficial vigente, é de cerca de $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, sendo que o método proposto é muito mais sensível, cuja faixa linear de concentração é na faixa de $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Devido às características dos resultados obtidos, o procedimento pode ser aplicado para a determinação de Ca^{2+} em meio aquoso e outras matrizes.

ETAPAS FUTURAS

- ✓ Validar o procedimento através do método oficial segundo a norma da RANP 14/2012;
- ✓ Desenvolver um procedimento que viabilize a determinação simultânea de Ca e Mg.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, A. K. Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Progress in Energy and Combustion Science* **33** (3): 233–271, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP)- Resolução nº. 7, de 19.3.2008 (DOU 20.3.2008). Regulamento Técnico nº 01/ 2008. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2008a.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP)- Biodiesel: introdução. 2011. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=40787&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1296084306559>>. Acesso em 26 julho. 2011b.

ALEIXO, Luiz Manoel. **Voltametria: Conceitos e Técnicas**. Chemkeys. Universidade estadual de Campinas, Instituto de Química, CP 6154, 13084 – 862, 2003. Campinas, São Paulo- Brasil.

AMAI, R. S.; GARCIA, E. E.; MONTEIRO, M. R.; NOBREGA, J. A. Determination of Ca, Mg, and Zn in biodiesel microemulsions by FAAS using discrete nebulization. *Fuel* **93**(1): 167-171, 2012.

AMAI, R. S.; GARCIA, E. E.; MONTEIRO, M. R.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOBREGA, J. A. Direct analysis of biodiesel microemulsions using an inductively coupled plasma mass spectrometry. *Microchemical Journal* **96**: 146-150, 2010.

ANSARI, R.; KAZI, T. G.; JAMALI, M. K.; ARAIN, M. B.; WAGAN, M. D.; JALBANI, N.; AFRIDI, H. I.; SHAH, A. Q. Variation in accumulation of heavy metals in different varieties of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique. *Food Chemistry* **115**: 318–323, 2009.

AUCÉLIO, R. Q.; CURTIUS, A. J. Comparative study of electrothermal atomic absorption spectrometric methods for the determination of silver in used lubricating oils. *Analyst* **125**: 1673-1679, 2000.

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

AUCÉLIO, R. Q.; DOYLE, A.; PI ZZOMO, B. S.; TRISTÃO, M. L. B. ; CAMPOS, R. C. Electrothermal atomic absorption spectrometric method for the determination of vanadium in diesel and asphaltene prepared as detergentless microemulsions. *Microchemical Journal* **78**: 21-26, 2004.

BARTHOMEUF, D. *Framework induced basicity in zeolites, Microporous Mesoporous Mater.* 66, 1-14, 2003.

BENJUMEA, P.; AGUDELO, J.; AGUDELO, A. Basic properties of palm oil biodiesel–diesel blends. *Fuel* **87**: 2069-2075, 2008.

BOOTH, M. D.; FLEET, B.; WIN, S.; WEST, T. S. Investigation of some continuous voltammetric sensors for the determination of calcium in the presence of magnesium. *Analytica Chimica Acta* **48** (2): 329-337, 1969.

BRASIL. Comissão Executiva Interministerial. Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel – O Programa. 2004–. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br>>. Acesso em: 05 maio. 2011.

CALAND, L. B.; SILVEIRA, E. V. C.; TUBINO, M. Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium cations in biodiesel by ion chromatography. *Analytica Chimica Acta* **718**: 116– 120, 2012.

CARDOSO, C. E.; PACHECO, W. F.; SARUBI, R.; FARIAS, P. A.; AUCÉLIO, R. Q. Voltammetric Determination of Copper and Lead in Gasoline Using Sample Preparation as Microemulsions. *Analytical Sciences* **23** (9): 1065-1069, 2007.

CARDOSO, W. S.; FONSECA, T. C. O.; MARQUES, A. L. B.; MARQUES, E. P. New Pb²⁺ Carbon Paste Electrode based on Organically Modified Silicate and its Square Wave Anodic Stripping Voltammetric Response for Pretreated Gasoline Samples. *Journal Brazilian Chemical Society* **21**: 1733-1738, 2010.

CASTILHO, M. de S.; STRADIOTTO, N. R. Determination of potassium ions in biodiesel using a nickel (II) hexacyanoferrate-modified electrode. *Talanta (Oxford)* **74**: 1630-1634, 2008.

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* **10**: 1211-1216, 2008b.

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* **19** (5): 856-861, 2008a.

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* **96**: 71-76, 2010.

CHESNEY, A.; BRYCE, M. R.; BATSANOV, A. S.; HOWARD, J. A. K.; GOLDENBERG, L. M. Selective electrochemical magnesium and calcium sensors based on non-macrocyclic nitrogen-containing ferrocene ligands. *Chemical Communications* (6): 677-678, 1998.

DA SILVA, S. G.; *Desenvolvimento de procedimentos limpos para extração de íons metálicos em ponto nuvem*. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2008.

DEL-FABRO, L. D.; *Determinação de alumínio e ferro em fluidos pós-hemodiálise empregando voltametria e decomposição de amostras com radiação ultravioleta*. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2007.

DEMIRBAS, Ayhan. *Biodiesel: a realistic fuel alternative for diesel engines*. London: Springer-Verlag, 2008.

DITTERT, I. M.; SILVA, J. S. A.; ARAUJO, R. G. O.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; BECKER-ROSS, H. Direct and simultaneous determination of Cr and Fe in crude oil using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* **64**: 537–543, 2009.

FARGHALY, O. A. A novel method for determination of magnesium in urine and water samples with mercury film-plated carbon paste electrode. *Talanta* **63**: 497–501, 2004.

FELIZARDO, P.; CORREIA, M. J. N.; RAPOSO, I.; MENDES, J. F.; BERKEMEIER, R.; BORDADO, J. M. Production of biodiesel from waste frying oils. *Waste Management* **26**: 487 – 494, 2006.

FRAZÃO, Érica Vanessa Pereira. *Determinação simultânea de metais em biodiesel (B100), por voltametria de redissolução anódica usando eletrodo de filme de mercúrio em meio alcoólico*. São Luís, 2010. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Maranhão.

FREITAS, L.; SOUZA, D. L. T.; RUFINO, M. P.; BALLOTTIN, D. P. M., STRADIOTTO, N. R. *Desenvolvimento de sensor eletroanalítico para determinação de Cu^{2+} em álcool combustível utilizando eletrodo compósito a base de poliuretana-grafite*. Instituto de Química. UNESP – Araraquara, 2009.

FRENA, M.; CAMPESTRINI, I. BRAGA, O. C.; SPINELLI, A. In situ bismuth-film electrode for square-wave anodic stripping voltammetric determination of tin in biodiesel. *Electrochimica Acta* **56**: 4678-4684, 2011.

GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. *Fuel Processing Technology* **86**: 1097–1107, 2005.

GHESTI, G. F.; DE MACEDO, J. L.; DIAS E SÍLVIA, J. A.; DIAS, C. L. Produção de biodiesel via transesterificação etílica com zeólitas básicas. *Quim. Nova*, **35** (1): 119-123, 2012.

GHISI, M.; CHAVES, E. S.; QUADROS, D. P. C.; MARQUES, E. P.; CURTIUS, A. J.; MARQUES, A. L. B. Simple method for the determination of Cu and Fe by electrothermal atomic absorption spectrometry in biodiesel treated with tetramethylammonium hydroxide. *Microchemical Journal* **98**: 62-65, 2011.

GONÇALVES, V. R. A. *Determinação simultânea de metais em álcool combustível utilizando Voltametria de Redissolução Anódica em meio ácido*. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2008.

GUIMARÃES, M. B. *Determinação de Cádmio e Chumbo em Biodiesel por Voltametria de Pulso Diferencial e de Redissolução Anódica usando Eletrodo de Filme de Bismuto em Meio Etanólico*. Dissertação (Mestrado em Química Analítica)- Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

HARRIS, Daniel C. *Análise química quantitativa*. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos, 2001.

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

JESUS, A.; ZMOZINSKI, A. V.; BARBARÁ, J. A.; VALE, M. G. R.; SILVA, M. M. Determination of calcium and magnesium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry using microemulsions as sample preparation. *Energy Fuels* **24** (3): 2109-2112, 2010.

KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Processing Technology* **86**: 1059-1070, 2005.

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

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Química Nova* **32** (6): 1596-1608, 2009.

LAMERS, P.; McCORMICK, K.; HILBERT, J. A. The emerging liquid biofuel market in Argentina: Implications for domestic demand and international trade. *Energy Policy* **36**: 1479–1490, 2008.

LAVORENTI, A. Professor Associado do Depto. De Ciências Exatas, ESALQ/USP, Caixa Postal 9, 13418-900 – Piracicaba – SP. E-mail: alavoren@carpa.ciagri.usp.br – Publicação Destinada ao Ensino de Ciências – Química – 28/3/2002. Acesso em: 20 set. 2011.

LEITE, F. *Validação em análise química*. Campinas: Átomo, 1996.

LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; OLIVEIRA, A. P.; ROMÃO, L. P. C.; FRACETO, L. F.; DIAS, N. L. F.; ROSA, A. H. Development of a method to determine Ni and Cd in biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Fuel* **90**: 142-146, 2011.

LUNA, F. J.; SCHUCHARDT, U. Modificação de Zeólitas para uso em catálise. *Quim. Nova* **24**: 885-892, 2001.

LYRA, H.; CARNEIRO, M. T. W. D.; BRANDÃO, G. P.; PESSOA, H. M.; CASTRO, E. V. Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) using microemulsion as sample preparation. *Microchemical Journal* **96**: 80–185, 2010.

MARECEK, V., SAMEC, Z. Determination of Calcium, Barium and Strontium ions by differential pulse stripping voltammetry at a hanging electrolyte drop electrode. *Analytica Chimica Acta* **151**: 265-269, 1983.

MARQUES, A. L. B. ; MARQUES, E. P. ; LACERDA, C. A.; CAVALCANTE, G. H. R. ; TRINDADE, J. M.; MARTINIANO, L. C.; GONÇALVES, V. R. A. Controle De Qualidade E Métodos Analíticos Para Derivados De Petróleo E Biocombustíveis. *Eletroanálises de Metais em Combustíveis. Plural - Instituto Geia*, 138-150, 2012.

MARTINIANO, L. C.; ALMEIDA, J. M. S.; CAVALCANTE, G. H.R., MARQUES, E. P.; FONSECA, T. C.O.; PAIM, L. L.; SOUZA, A. G., STRADIOTTO N.R.; AUCÉLIO, R. Q.; MARQUES, A. L.B. Simple, Direct and Simultaneous Stripping Voltammetric Determination of Lead and Copper in Gasoline Using an In Situ Mercury Film Electrode. *Current Analytical Chemistry* **9**: 00-00, 2013b.

MARTINIANO, L. C; GONÇALVES, V. R. A; YOTSUMOTO NETO, S ; MARQUES, E. P; FONSECA, T. C. O. da; GOUVEIA, A. S; STRADIOTTO, N. R. ; AUCELIO, R. Q. ; CAVALCANTE, G. H. R. ; PAIM, L. L; MARQUES, A. L. B. ; Direct simultaneous determination of Pb(II) and Cu(II) in biodiesel by anodic stripping voltammetry at a mercury-film electrode using microemulsions. *Fuel (Guildford)* **103**: 1164-1167, 2013a.

MELLO, F. O. T.; PAULILLOS, L. F.; VIAN, C. E. de F. O Biodiesel no Brasil: panorama, perspectivas e desafios. *Informações Econômicas*, SP **37** (1): 2007.

MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. *Análise química quantitativa*. VOGEL. 6 ed., Londres: LTC, 2000.

MIGUEL, E. M; DA CUNHA, A. L. M. C.; PACHECO, W. F.; FARIAS, P. A. M.; AUCÉLIO, R. Q. Bismuth Film Stripping Voltammetry for the Determination of Lead in Kerosene: A Metrological Study. *Electroanalysis* **22** (13): 1505–1510, 2010.

MILLER & MILLER. *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*. 4. ed., Prentice Hall, 2000.

MURILLO, M.; BENZO, Z.; MARCANO E.; GOMEZ, C.; GARABOTO, A.; MARIN, C. Determination for copper, iron and nickel in edible oils using emulsified solutions by ICP-AES. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **14**: 815-820, 1999.

NOBRE, E. M. C. S. *Procedimento Voltamétrico Otimizado para Determinação de Ni^{2+} em amostras pré-tratadas de Biodiesel, usando eletrodo modificado com Filme de Mercúrio*. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

NOGUEIRA, T; DO LAGO, C. L. Determination of Ca, K, Mg, Na, sulfate, phosphate, formate, acetate, propionate, and glycerol in biodiesel by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. *Microchemical Journal* **99**: 267–272, 2011.

OLIVEIRA, A. P.; GOMES NETO J. A.; MORAES M.; LIMA E. C. Simultaneous determination of Al, As, Cu, Fe, Mn and Ni in fuel ethanol by GFAAS. *Atomic Spectroscopy* **23**: 39-43, 2002.

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

OLIVEIRA, M. F.; SACZK, A. A.; OKUMURA, L. L.; FERNANDES, A. P.; MORAES, M.; 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. *Analytical and Bioanalytical. Chemistry* **380**: 135-140, 2004.

PETERSON, C. L.; HUSTRULID, T. Carbon cycle for rapeseed oil biodiesel fuels. *Biomass and Bioenergy* **14**: 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* **16**: 1313-1330, 2005.

POUSA, G. P. A. G.; SANTOS A. L. F.; SUAREZ P. A. Z. History and policy of biodiesel in Brazil. *Energy Policy* **35**: 5393-5398, 2007.

RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, Á. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource Technology* **100**: 261–268, 2009.

RAPOSO, J. D. *Determinação simultânea de sódio, potássio e cálcio em biodiesel por Espectrometria de Emissão Atômica com Chama utilizando emulsão como preparo das amostras*. Belo Horizonte, Dissertação (mestrado em química) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova* **27** (5): 771-780, 2004.

SAINT' PIERRE, T. D. S.; MARANHÃO, T. A.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. The development of a method for the determination of trace elements in fuel alcohol by electrothermal vaporization–inductively coupled plasma mass spectrometry using external calibration. *Spectrochimica Acta Part B* **60**: 605– 613, 2005.

SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B., CHAVES, E. S., VECHIATTO, W. W. D., SCHOEMBERGER, A. C., FRESCURA, V. L. A., CURTIUS, A. J. Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **22** (10): 1300-1303, 2007.

SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; SHARMA, M.; MALHOTRA, R. K. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel. *Energy* **34**: 1271–1275, 2009.

SHAMSIPUR, M.; KHAYATIAN, G.; KAZEMI, S. Y.; NIKNAM, K.; SHARGHI, H. The synthesis of 1,4-Diaza-2,3;8,9-dibenzo-7,10-dioxacyclododecane-5,12-dione and its use in calcium-selective carbon paste electrodes. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **40** (4): 303-307, 2001.

SILVA, J. S. A.; CHAVES, E. S.; SANTOS, E. J.; PIERRE, T. D. S; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Calibration techniques and modifiers for the determination of Cd, Pb and Tl in biodiesel as microemulsion by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **21**: 620-626, 2010.

SILVEIRA, E. L. C.; CALAND, L. B.; TUBINO, M.; Molecular absorption **90**: 1-4, 2011.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Princípios de análise instrumental*. 5 ed., Porto Alegre: Bookman, 2002.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Fundamentos de Química Analítica*, 8 ed, Editora Thomson, 2005.

SNAPE, J. B.; NAKAJIMA, M. Processing of agricultural fats and oils using membrane technology. *Journal of Food Engineering* **30**: 1-41, 1996.

SOARES, L. B. S. *Avaliação da utilização de diferentes ligantes para a determinação de alumínio por voltametria adsorbtiva de redissolução catódica em amostras de plantas medicinais*. Dissertação (Mestrado em Química) – Fundação Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

SOUSA, J. K. C.; DANTAS, A. N. S.; MARQUES, A. L. B.; LOPES, G. S. Experimental design applied to the development of a copper direct determination method in gasoline samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Fuel Processing Technology* **89** (11): 1180-1185, 2008.

SOUZA, D. De; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. *Química Nova* **27** (5): 790-797, 2004.

SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de Onda Quadrada. Primeira Parte: Aspectos Teóricos. *Química Nova* **26** (1): 81-89, 2003.

SOUZA, R. M.; MELIANDE, A. L. S.; SILVEIRA, C. L. P.; AUCÉLIO, R. Q. Determination of Mo, Zn, Cd, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr and Co in crude oil using inductively coupled plasma optical emission spectrometry and sample introduction as detergentless microemulsions. *Microchem. J.* **82**: 82, 137-141, 2006.

SUSSULINI, A.; ARRUDA, M. A. Z. Determinação de cromo (VI) por espectrometria de absorção atômica com chama após a extração e pré concentração no ponto nuvem. *Ecletica Química* **31** (1): 73-80, 2006.

TORREZANI, L.; SACZK, A. A.; DE OLIVEIRA, M. F.; STRADIOTTO, N. R.; OKUMURA, L. L. Voltammetric Determination of Phosphate in Brazilian Biodiesel Using Two Different Electrodes. *Electroanalysis* **23**: 2456-2461, 2011.

TRINDADE, J. M. *Otimização de um procedimento eletroanalítico usando planejamento experimental para determinação de metais em gasolina comum*. 101 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

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

TRINDADE, J.M.; MARTINIANO, L.C.; GONÇALVES, V.R.; SOUZA, A.G.; MARQUES, A.L.B.; BAUGIS, G.L.; FONSECA, R.C.O.; SONG, C. ZHANG, J.; MARQUES, E.P. Anodic stripping voltammetry coupled with design of experiments for simultaneous determination of Zn^{+2} , Cu^{+2} , Pb^{+2} , and Cd^{+2} in gasoline. *Fuel* **91**: 26–32, 2012.

VIEIRA, M. A.; OLIVEIRA, L. C. C.; GONÇALVES, R. A.; SOUZA, V.; CAMPOS, R. C. Determination of As in vegetable oil and biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Energy Fuels* **23**: 5942–5946, 2009.

WANG, J.; FARIAS, P. A. M., MAHMOUD, J. S. Trace measurements of Calcium, Magnesium, Strontium and Barium, based on stripping voltammetry with adsorptiveaccumulation. *Journal Eletroanalytical. Chemistry* **195**: 165-173, 1985.

WANG, Y.; HUANG, K.; LI, C.; MI, H.; LUO, J.; TSAI, P. Emissions of fuel metals content from a diesel vehicle engine. *Atmospheric Environment* **37**: 4637–4643, 2003.

WOODS, G. D.; FRYER, F. I. Direct elemental analysis of biodiesel by inductively coupled plasma-mass spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **389**: 753-761, 2007.

WU, Xian - Li; ZHOU, Hong-Bi; WANG, Shu-Jie; Ye, Bao-Xian. Determination of Magnesium and Calcium in Biological Samples by Potentiometric Stripping Analysis. *Journal of the Chinese Chemical Society* **57**: 647-652, 2010.

ZEZZA, T. R. C. *Desenvolvimento de eletrodos modificados para determinação de cálcio e magnésio em biodiesel*. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo, SP, 2011.

ZEZZA, T. R. C.; CASTILHO, M. de S.; STRADIOTTO, N. R. Determination of phosphorus in biodiesel using 1:12 phosphomolybdic modified electrode by cyclic voltammetry. *Fuel (Guildford)* **95**: 15-18, 2012.

ZHANG, X.; WANG, S.; JIA, L.; XU, Z.; ZENG, Y. An electrochemical sensor for determination of calcium dobesilate based on PoPD/MWNTs composite film modified glassy carbon electrode. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* **70** (6): 1203-1209, 2008.

ZHENG, J.; ZHANG, Y.; YANG, P. An ionic liquid-type carbon paste electrode for electrochemical investigation and determination of calcium dobesilate. *Talanta* **73** (5): 920-925, 2007.

ZHOU, X. C.; WANG, L. R.; ZENG, Y.; LU, G. H.; ZHEN, P. Determination of magnesium in foods by single-sweep polarography. *Journal of AOAC International* **89** (3): 782-785, 2006.

ZMOZINSKI, A. V.; JESUS, A.; VALE, M. G. R.; SILVA, M. M. Determination of calcium, magnesium and zinc in lubricating oils by flame atomic absorption spectrometry using a three-component solution. *Talanta* **83**: 637-643, 2010.