

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Química



Tese de Doutorado

**Desenvolvimento de Métodos de Geração de Vapor
acoplados à Espectrometria de Absorção Atômica para
determinação da concentração de Hg em amostras de
biodiesel e coproduto glicerina**

Meibel Teixeira Lisboa

Pelotas, junho de 2016.

Meibel Teixeira Lisboa

**Desenvolvimento de Métodos de Geração de Vapor
acoplados à Espectrometria de Absorção Atômica para
determinação da concentração de Hg em amostras de
biodiesel e coproduto glicerina**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química
da Universidade Federal de Pelotas,
como requisito à obtenção do título de
Doutor em Química (Área de
concentração: Química Analítica).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mariana Antunes Vieira
Co-orientador: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Pelotas, junho de 2016.

Meibel Teixeira Lisboa

Desenvolvimento de Métodos de Geração de Vapor acoplados à Espectrometria de Absorção Atômica para determinação da concentração de Hg em amostras de biodiesel e coproduto glicerina

Tese aprovada como requisito para obtenção do grau de Doutor em Química, pelo Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa:/..../.....

Banca examinadora:

.....
Prof. Dra. Mariana Antunes Vieira (Orientadora)

.....
Prof. Dra. Márcia Messias da Silva (UFRGS)

.....
Prof. Dra. Tatiana Dillenburg Saint´Pierre (PUC-Rio)

.....
Prof. Dra. Daniela Bianchini (UFPel)

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu marido Thiago que sempre me apoiou e me deu forças para seguir em frente, aos meus pais por todo apoio e cuidados com o neto no tempo em que estive finalizando a tese, e ao meu pequeno guerreiro Guilherme que nasceu prematuramente, fazendo com que a minha defesa fosse adiada devido a minha gestação de alto risco e aos cuidados especiais que tivemos que ter com ele no hospital e depois em casa. Embora esse afastamento tenha sido longo, a chegada desse anjo nas nossas vidas só me fez ter mais forças para seguir em frente e conseguir finalizar meu trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por iluminar meu caminho nos momentos mais difíceis da minha vida, sem ele nada seria possível.

Ao meu marido Thiago, que sempre me apoiou para que continuasse estudando, e ajudou a cuidar do nosso filhote para que eu conseguisse terminar minha tese, pela paciência nos dias mais difíceis e palavras de incentivo para que eu conseguisse seguir em frente, tu e o Gui são tudo pra mim! Obrigada por tudo amor!

À minha orientadora Mariana Antunes Vieira, pela orientação, ensinamentos transmitidos ao longo desses anos, pela confiança em mim e no meu trabalho, pelo apoio nos momentos difíceis que passei, por ter me dado o prazer de ser sua primeira aluna de mestrado e doutorado e pela amizade. Muito obrigada por tudo!!

Ao meu co-orientador Anderson Schwingel Ribeiro, por ter me recebido no seu laboratório, por ter me co-orientado, pela confiança em mim depositada no tempo em que fiquei responsável pelo laboratório, pelos ensinamentos e apoio nos momentos em que mais precisei, muito obrigada por tudo!!

Ao meu colega Eliézer, por compartilhar comigo seu conhecimento, por fazer um revezamento comigo no equipamento nos intervalos do almoço e sempre me ajudar quando precisei, obrigada!

As minhas colegas de doutorado e amigas para vida toda (Camila e Eliete) pela amizade, companheirismo, risadas e momentos de descontração e pelas caronas para o campus. Vocês moram no meu coração! Obrigada por tudo!

Aos meus colegas de laboratório e amigos de todas as horas, Aline, Leila, Manú, Ane e Marcelo, pela amizade, momentos de descontração, saídas para um lanchinho e os nossos cafés na casa da Leila, vou sentir muita falta de tudo isso.

As minhas colegas de doutorado e amigas dos tempos da FURG Lara Montenegro e Katiúcia Mesquita, pela amizade, pelas dúvidas de Inorgânica e Orgânica que foram esclarecidas, pelos momentos de descontração, espero que a nossa amizade dure para vida toda, que os nossos caminhos sempre se

encontrem como foi na faculdade, mestrado e doutorado, ainda mais agora com os nossos pequenos babando pela Elisa.

À CAPES e FAPERGS pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.

À L'OREAL BRASIL pelo suporte financeiro para execução do projeto da Glicerina concedido pelo prêmio "Mulheres na ciência 2011".

Às indústrias BS BIOS (Passo Fundo) e Bianchini SA(Canoas) pelo fornecimento das amostras de biodiesel e glicerina.

Ao Programa de Pós Graduação em Química (PPGQ) da Universidade Federal de Pelotas, onde pude fazer o Mestrado e Doutorado.

Aos funcionários Djanira, Zé, Miro e Paulinho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

Título: Desenvolvimento de Métodos de Geração de Vapor acoplados à Espectrometria de Absorção Atômica para determinação da concentração de Hg em amostras de biodiesel e coproduto glicerina

Autora: Meibel Teixeira Lisboa

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mariana Antunes Vieira

Co-orientador: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Este trabalho apresenta estudos envolvendo métodos de geração de vapor para a quantificação de Hg em amostras de biodiesel e coproduto glicerina. No Capítulo 1, foi avaliada a concentração de Hg em amostras de biodiesel, utilizando a geração fotoquímica de vapor acoplada a técnica de espectrometria de absorção atômica com vapor frio (PVG-CV AAS). Para o desenvolvimento do método, foram otimizados os principais parâmetros para avaliar as melhores condições para geração de espécies voláteis de Hg. Para isto, as amostras de biodiesel foram preparadas em ácido fórmico 20% (v/v) e etanol 76% (v/v). A curva de calibração se mostrou linear na faixa de 2,5 a 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os limites de detecção e quantificação foram 0,05 e 0,17 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, e os desvios padrão relativos ficaram menores que 1,2%. Devido à falta de material de referência certificado de biodiesel com valores para Hg, a exatidão do método foi avaliada através de testes de recuperação e os valores obtidos ficaram entre 81 e 112%. Não foram encontradas concentrações de Hg nas amostras de biodiesel, considerando o limite de detecção. No Capítulo 2, foram aplicados três métodos de geração de vapor (geração fotoquímica de vapor, geração química de vapor com NaBH_4 e SnCl_2) de modo a avaliar a eficiência de redução do Hg em amostras de glicerina de grau farmacêutico e glicerina bruta oriunda do processo de produção do biodiesel. Para cada método, as condições ideais para a geração do vapor de Hg foram otimizadas. Para o método proposto de redução fotoquímica foi necessário apenas um simples diluição das amostras de glicerina de grau farmacêutico com ácido fórmico e água, e para as amostras de glicerina bruta, foi necessária uma solubilização com ácido fórmico, etanol e água.

Através de uma comparação das inclinações das curvas de calibração obtidas, a eficiência de geração do sistema foi determinada como sendo de 108% daquela obtida pelo sistema de redução química com NaBH_4 e de 67% para o SnCl_2 . Os limites de detecção para os métodos PVG-CV AAS, CV AAS com NaBH_4 e CV AAS com SnCl_2 foram 0,12; 0,11 e 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Devido a inexistência de material de referência certificado para glicerina, a exatidão dos métodos foi avaliada através de testes de recuperação e os valores de recuperação variaram entre 84,4 a 106,6%. Não foram encontradas concentrações de Hg nas amostras de glicerina, também considerando o limite de detecção. Quando os métodos foram comparados, a PVG-CV AAS apresentou sensibilidade adequada para a quantificação de Hg nas amostras de biodiesel e glicerina, com limites de detecção comparáveis aos métodos convencionais para a determinação de Hg por geração de vapor. Além disso, proporcionou uma abordagem direta para a geração de espécies voláteis de Hg, sem a necessidade de utilizar reagentes instáveis como NaBH_4 e SnCl_2 para a redução e contribuindo com a química verde.

Palavras-Chave: Biodiesel, Glicerina, Mercúrio, Geração de vapor, Espectrometria de Absorção Atômica.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Tese de Doutorado em Química

Pelotas, Junho de 2016

ABSTRACT

Title: Development of Vapor Generation Methods coupled to Atomic Absorption Spectrometry for determination of Hg concentration in biodiesel and byproduct glycerin samples.

Author: Meibel Teixeira Lisboa

Academic advisor: Mariana Antunes Vieira

Academic co-advisor: Anderson Schwingel Ribeiro

This work presents studies involving vapor generation methods for the quantification of Hg in biodiesel and byproduct glycerin. In Chapter 1, the concentration of Hg in biodiesel samples was evaluated using the photochemical vapor generation coupled to cold vapor atomic absorption spectrometry technique (PVG CV-AAS). For the development of the method, the main parameters were optimized to assess the best conditions for generation of volatile species of Hg. For this, the biodiesel samples were prepared in formic acid 20% (v/v) and ethanol 76% (v/v). The calibration curve was linear in the range from 2.5 to 10.0 $\mu\text{g L}^{-1}$. The limits of detection and quantification were 0.05 and 0.17 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively and the relative standard deviations were less than 1.2%. Due to lack of a certified reference material of biodiesel with values for Hg, the accuracy of the method was assessed by recoveries tests and the values obtained ranged between 81 to 112%. There were no concentrations of Hg in biodiesel samples, considering the limit of detection. In Chapter 2, were applied three steam generation methods (photochemical generation of steam, chemical vapor generation with NaBH_4 and SnCl_2) in order to evaluate the mercury removal efficiency in pharmaceutical grade glycerin samples and crude glycerin derived from the process biodiesel production. For each method, the ideal conditions for the Hg vapor generation were optimized. For the proposed method photochemical reduction was required only a simple dilution of pharmaceutical grade glycerin samples with formic acid and water, and the samples crude glycerine, solubilization with formic acid, ethanol and water. By a comparison of the slopes

of the calibration curves obtained, the generation efficiency of the system was determined to be 108% of that obtained by chemical reduction system with NaBH_4 and 67% for the SnCl_2 . The limits of detection for the methods PVG-CV AAS, CV AAS with NaBH_4 , and CV AAS with SnCl_2 , were 0.12, 0.11, and 0.04 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. Due no adequate biodiesel certified reference material was not available with value for Hg, the accuracy was evaluated by recoveries tests and the values ranged between 84.4 to 106.6%. There was no Hg content in glycerin samples, considering the limit of detection. When methods were compared, the PVG-CV AAS presented adequate sensitivity for the quantification of Hg in biodiesel and glycerin samples, with limits of detection comparable to conventional methods for the determination of Hg by vapor generation. Also, provided a direct approach to the generation of volatile species of Hg without needing to use unstable reagents as NaBH_4 and SnCl_2 for the reduction and contributing with the green chemistry.

Keywords: Biodiesel, Glycerin, Mercury, Vapor generation, Atomic Absorption Spectrometry.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Doctoral Thesis in Chemistry
Pelotas, June 2016

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Esquemas de sistema de fluxo contínuo (A) e injeção em fluxo (B) para geração química de vapor.....7
- Figura 2:** Sistema de geração de vapor em batelada.....8
- Figura 3:** Reação de transesterificação de triglicerídeos para produção de biodiesel15
- Figura 4:** Processo de produção do biodiesel e coproduto glicerina.....16
- Figura 5:** Principais setores industriais de utilização da glicerina de grau farmacêutico.....18
- Figura 6:** Lâmpada ultravioleta de baixa pressão de vapor de mercúrio construída com tubos de quartzo envolvendo a lâmpada, com volume interno de 26 mL (Reator fotoquímico).....26
- Figura 7:** Esquema do sistema de geração fotoquímica de vapor acoplado ao espectrômetro de absorção atômica.....26
- Figura 8:** Esquema representativo do sistema de fluxo contínuo comercial utilizado para a geração química de vapor com redutores convencionais.....27
- Figura 9:** Efeito da concentração de HCOOH no sinal de absorvância de Hg após PVG-CV AAS em (-■-) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} + 1,0 g de biodiesel e (-●-) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} . Tempo de irradiação: 3,7 minutos; Vazão do gás carreador: $95,4 \text{ mL min}^{-1}$32
- Figura 10:** Efeito da massa da amostra no sinal de absorvância de Hg após PVG-CV AAS em (-■-) amostra com adição de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} em 20% (v/v) de HCOOH e 76% (v/v) de $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. Tempo de irradiação: 3,7 minutos;

Vazão do gás carreador: 95,4 mL min⁻¹34

Figura 11: Efeito da vazão do gás carreador no sinal de absorvância de Hg após PVG-CV AAS (-■-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ + 2,0 g de biodiesel e (-●-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺. Soluções preparadas em 20% (v/v) de HCOOH e 76% (v/v) de CH₃CH₂OH; Tempo de irradiação: 3,7 minutos.....35

Figura 12: Efeito do tempo de irradiação da solução no sinal de absorvância de Hg por PVG-CV AAS em (-■-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ + 2,0 g de biodiesel e (-●-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺. Soluções preparadas em 20% (v/v) de HCOOH e 76% (v/v) de CH₃CH₂OH; Vazão do gás carreador: 62,6 mL min⁻¹38

Figura 13: Efeito da concentração do HCOOH no sinal de absorvância de Hg por PVG-CV AAS. (—■—) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ com 10 g de glicerina (-●-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺. Tempo de irradiação: 3,7 minutos. Vazão de gás carreador: 95,4 mL min⁻¹.....44

Figura 14: Efeito da massa da amostra no sinal de absorvância de Hg por PVG-CV AAS. Concentração de HCOOH: 10% (v/v) Tempo de irradiação: 3,7 minutos. Vazão de gás carreador: 95,4 mL min⁻¹.....45

Figura 15: Efeito do tempo de irradiação da solução no sinal de absorvância de Hg por PVG-CV AAS. (—■—) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ e (-●-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ com 5 g de glicerina. Concentração de HCOOH: 10% (v/v). Vazão de gás carreador: 95,4 mL min⁻¹.....46

Figura 16: Efeito da vazão do gás carreador na resposta analítica para determinação de Hg por PVG-CV AAS. (—■—) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ e (-●-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ com 5 g de glicerina. Concentração de HCOOH: 10% (v/v). Tempo de exposição: 3,7 minutos.....47

Figura 17: Efeito da concentração de SnCl₂ e NaBH₄ em função da resposta

analítica para Hg por CV AAS. (—■—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} e (—●—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com 5 g de glicerina. Concentração de HCl: 1,5% (v/v); vazão do gás carreador (mL min^{-1}): 51,7 para SnCl_2 e 74,4 para NaBH_4 e vazão da amostra de $7,0 \text{ mL min}^{-1}$48

Figura 18: Efeito da concentração do HCl em função da resposta analítica para Hg por CV AAS. (—■—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} e (—●—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com 5 g de glicerina. Vazão do gás carreador (mL min^{-1}): 51,7 para SnCl_2 e 74,4 para NaBH_4 e vazão da amostra de $7,0 \text{ mL min}^{-1}$50

Figura 19: Efeito da vazão da amostra em função da resposta analítica para Hg por CV AAS. (—■—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} e (—●—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com 5 g de glicerina. Vazão do gás carreador (mL min^{-1}): 51,7 para SnCl_2 e 74,4 para NaBH_451

Figura 20: Efeito da vazão do gás carreador na resposta analítica do Hg por CV AAS. (—■—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} e (—●—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com 5 g de glicerina.....52

Figura 21: Efeito da concentração de álcool etílico na resposta analítica do Hg por PVG-CV AAS. Massa de amostra: 5 g em 10 % (v/v) de HCOOH e adição de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+}57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Variação do fluxo de gás em função do fluxômetro para o sistema PVG-CV AAS.....	35
Tabela 2: Tempo de irradiação das soluções em função da velocidade da bomba peristáltica para o sistema PVG-CV AAS.....	37
Tabela 3: Parâmetros de mérito para as curvas de calibração obtidas em meio alcoólico e na presença da matriz.....	39
Tabela 4: Parâmetros de mérito para as curvas de calibração das diferentes espécies de Hg.....	40
Tabela 5: Resultados para os testes de recuperação no biodiesel pela adição de misturas das diferentes espécies de Hg e calibração com padrão de Hg ²⁺ utilizando o sistema PVG-CV AAS (n = 3).....	41
Tabela 6: Parâmetros de mérito para as curvas de calibração obtidas com diferentes métodos de geração de vapor por AAS.....	53
Tabela 7: Inclinações das curvas de calibração para as diferentes espécies de Hg em meio de HCOOH 10% (v/v).....	55
Tabela 8: Resultados analíticos para os testes de recuperação de Hg ²⁺ em amostra de glicerina 1 utilizando diferentes métodos de geração de vapor (n = 3).....	56
Tabela 9: Resultados analíticos para os testes de recuperação de diferentes espécies de Hg em amostras de glicerina bruta por PVG-CV AAS (n = 3).....	58

Tabela 10: Comparação dos limites de detecção para determinação de Hg por diferentes métodos de geração de vapor.....60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>).
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
CF	Fluxo Contínuo, do inglês <i>Continuous Flow</i>
CV AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio (do inglês <i>Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry</i>)
CVG AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Geração Química de Vapor (do inglês <i>Chemical Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>)
F AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
FI	Injeção em Fluxo, do inglês <i>Flow Injection</i>
FI-CV AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Vapor Frio e Injeção em Fluxo (do inglês <i>Injection Flow Cold Vapor Generation</i>)
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (do inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
GLS	Separador gás/líquido (do inglês <i>gas liquid separator</i>)
HG	Geração de hidretos (do inglês <i>Hydride Generation</i>)
HCL	Lâmpada de cátodo oco (do inglês <i>Hollow Cathode Lamp</i>)
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
ICP-MS	Espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
LD	Limite de detecção (do inglês <i>Limit of Detection</i>)
LQ	Limite de quantificação (do inglês <i>Limit of Quantification</i>)
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PP	Polipropileno
PVG AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Geração Fotoquímica

	de Vapor (do inglês <i>Photochemical Vapor Generation with Atomic Absorption Spectrometry</i>)
QTA	Atomizador de tubo de quartzo (do inglês <i>quartz tube atomizer</i>)
R	Coeficiente de correlação linear
RSD	Desvio padrão relativo (do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>)
SD	Desvio padrão (do inglês <i>Standard Deviation</i>)
TMAH	Hidróxido de Tetrametilamônio (do inglês <i>Tetramethylammonium Hydroxide</i>)
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

RESUMO	IX
ABSTRACT	X
LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE TABELAS	XV
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XVII
1.0 INTRODUÇÃO.....	1
2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Geração de Vapor acoplada à Espectrometria de Absorção Atômica	3
2.1.1 Geração química de vapor.....	5
2.1.2 Geração fotoquímica de Vapor.....	9
2.2 Biodiesel.....	13
2.3 Glicerina: Coproduto do Biodiesel.....	17
2.4. Mercúrio em Biocombustíveis e combustíveis.....	20
3.0 OBJETIVOS	23
4.0 MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1 Instrumentação.....	25
4.2 Reagentes.....	27
4.3 Amostras.....	28
4.4 Tratamento das amostras.....	28
4.4.1 Amostras de Biodiesel.....	28
4.4.2 Amostras de Glicerina.....	29

4.4.2.1 Redução Fotoquímica.....	29
4.4.2.2 Redução com SnCl ₂	29
4.4.2.3 Redução com NaBH ₄	25
4.5 Procedimentos Analíticos.....	30
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
Capítulo 1: Emprego da geração fotoquímica de vapor para determinação da concentração de Hg em amostras de Biodiesel.....	31
5.1 Geração fotoquímica de vapor.....	31
5.1.1 Efeito da concentração de ácido fórmico.....	32
5.1.2 Efeito da massa da amostra.....	33
5.1.3 Efeito da vazão do gás carreador.....	34
5.1.4 Efeito do tempo de irradiação da amostra.....	37
5.1.5 Parâmetros de mérito.....	39
Capítulo 2: Comparação entre métodos de geração de vapor acoplados à Espectrometria de Absorção Atômica para determinação de Hg em amostras de glicerina.....	43
5.2 Geração fotoquímica de vapor.....	43
5.2.1 Efeito da concentração de ácido fórmico.....	43
5.2.2 Efeito da massa da amostra.....	44
5.2.3 Efeito do tempo de irradiação da amostra.....	45
5.2.4 Efeito da vazão do gás carreador.....	46
5.3 Geração química de vapor.....	48
5.3.1 Efeito das concentrações dos agentes redutores SnCl ₂ e NaBH ₄	48

5.3.2 Efeito da concentração de HCl.....	49
5.3.3 Efeito da vazão da solução.....	51
5.3.4 Efeito da vazão do gás carreador.....	52
5.3.5 Parâmetros de Mérito.....	53
6.0 CONCLUSÕES.....	60
7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1.0 INTRODUÇÃO

A alta demanda de energia no mundo industrializado e no setor doméstico, bem como os problemas de poluição causados devido ao vasto uso dos combustíveis de origem fóssil, têm resultado em uma crescente necessidade no desenvolvimento de fontes de energias renováveis de menor impacto ambiental que os meios tradicionais já existentes. Por conta disso, o uso de óleos de origem vegetal ou animal tem sido bastante empregado para produção de biodiesel (Knothe et al., 2006).

O biodiesel apresenta vantagens sobre o diesel de petróleo por ser obtido a partir de fontes renováveis de energia, e vários estudos têm mostrado a melhora na qualidade das emissões durante o processo de combustão. Sua produção consiste basicamente na reação de transesterificação dos triglicerídeos de óleos e gorduras com álcoois de cadeia curta, tendo como coproduto a glicerina. Neste processo, estão presentes diversos compostos inorgânicos, principalmente resíduos de catalisadores utilizados na produção do biodiesel, bem como no processo de transporte, armazenamento e processamento (Knothe et al., 2006).

No Brasil, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) estabelece os limites máximos de concentração para alguns elementos no Biodiesel comercializado em todo território nacional. No que se refere à presença de metais tóxicos, como Hg, Pb, As, Si, entre outros, no biodiesel, as especificações não contemplam os métodos para suas determinações nem os níveis máximos permitidos para estes elementos, que podem estar presentes na composição final do biodiesel (Vieira et al. 2009).

Do ponto de vista ambiental, o Hg é um elemento altamente tóxico mesmo em baixas concentrações, devido ao seu poder acumulativo no meio ambiente e sua toxicidade depende da forma química em que ele se encontra. (Aranda et al., 2012). Segundo Almeida et al. (2012), a rota provável para a contaminação por Hg no biodiesel e conseqüentemente no seu coproduto glicerina pode ocorrer por diversos modos, como a incorporação do metal durante o crescimento da planta, uso intensivo de fertilizantes que contém Hg em sua composição, contaminação do solo por esgotos e até mesmo no processo de armazenamento deste biocombustível. Neste contexto, o presente

trabalho contempla o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis para avaliar a quantidade de Hg em amostras de biodiesel e de glicerina.

Dentre as técnicas de análise utilizadas para a determinação de Hg em diferentes amostras, a mais popular é a Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio (CV AAS), onde as espécies de Hg são normalmente mineralizadas a Hg^{2+} por meio de um ataque ácido e, em seguida, reduzidas para a sua forma elementar (Hg^0) por meio de uma reação com agentes redutores como o SnCl_2 ou o NaBH_4 (Welz et al., 2009). A fim de reduzir ou eliminar a utilização de agentes redutores e contribuir com a química verde, a técnica de Geração Fotoquímica de Vapor acoplada à Espectrometria de Absorção Atômica (PVG-CV AAS) vem sendo utilizada com êxito para determinação de Hg e outros elementos em diferentes tipos de amostras (Leopold et al., 2010; Bendicho et al., 2012; Wu et al., 2010).

A geração fotoquímica de vapor (PVG) baseia-se na exposição da amostra em presença de ácidos orgânicos de baixa massa molecular a radiação ultravioleta, resultando na formação de produtos intermediários. Nesse sistema, a amostra é misturada com um fluxo de gás inerte e introduzida em um separador gás/líquido, onde as espécies voláteis resultantes são direcionadas até a cela de absorção para posterior detecção. Desta forma, neste trabalho foram realizados estudos para a determinação de Hg em amostras de biodiesel e glicerina, utilizando as diferentes técnicas de geração de vapor (Geração química e fotoquímica) acopladas à Espectrometria de Absorção Atômica, de modo a avaliar a potencialidade destas para análises em amostras de biocombustíveis.

2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Geração de Vapor acoplada à Espectrometria de Absorção Atômica

A Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) é uma técnica amplamente utilizada para determinação de elementos em diversas amostras (biológicas, ambientais, alimentos, combustíveis, etc.). Atualmente, existem várias alternativas instrumentais para a espectrometria atômica e o sucesso destas depende, frequentemente, do procedimento de introdução da amostra no instrumento. Normalmente, este processo baseia-se na formação de um aerossol líquido, por meio de nebulizadores pneumáticos. Entretanto, menos de 10% da solução que é introduzida é transformada em aerossol útil, sendo sua maior parte descartada. Além disso, dificuldades com esses nebulizadores surgem quando são usadas soluções muito viscosas. Outro ponto importante que merece atenção é o fato de que, quando se deseja realizar a determinação de alguns elementos traço como As, Pb, Hg, entre outros, estes sistemas de introdução de amostra não apresentam um bom desempenho analítico (Welz et al., 2009; Amorim et al., 2008).

A geração química de vapor (CVG) é uma técnica amplamente utilizada em Química Analítica, pois proporciona um aumento na eficiência de transporte e facilita a introdução de amostras para a determinação de elementos traço por espectrometria atômica. Neste contexto, surgiu a técnica de geração de hidretos (HG) que contornou as limitações apresentadas pela técnica de absorção atômica principalmente para elementos como As, Bi, Pb, Sb, Sn, Se, entre outros, e também ficou conhecida como geração química de vapor (CVG) (Takase et al., 2002).

Dois trabalhos podem ser considerados como marcos na geração química de vapor: no primeiro, Hatch e Ott (1968) inauguraram a técnica hoje conhecida como “geração de vapor frio”, embora se deva citar os trabalhos anteriores de Poluektov et al. 1963; 1964).

Os átomos para todos os elementos metálicos, com exceção do Hg, não podem existir no estado livre, fundamental, à temperatura ambiente, um aquecimento deve ser aplicado para quebrar as ligações dos átomos combinados. Entretanto, átomos livres de Hg podem existir à temperatura

ambiente e, portanto, este elemento pode ser medido por absorção atômica sem aquecimento da cela de absorção.

Na técnica de espectrometria de absorção atômica com vapor frio (CVAAS), o mercúrio é quimicamente reduzido para o estado atômico livre através da reação da amostra com um forte agente redutor, como o SnCl_2 ou o NaBH_4 , em um sistema de reação fechado. O mercúrio livre volátil é então retirado do frasco de reação por uma corrente de gás (ar, N_2 ou Ar). Os átomos de mercúrio são carregados pelo fluxo de gás através do tubo conectado a uma cela de absorção, a qual está localizada no caminho óptico do espectrômetro de absorção atômica, ou seja, o vapor formado pela reação já é o próprio vapor atômico.

O segundo marco na geração de vapor deu-se dez anos depois, em 1969, quando Holak (1969) estudou a possibilidade de se introduzir a amostra no atomizador na forma de vapor. Para isso, o As foi reduzido a arsina (AsH_3) pela adição, à amostra ácida, de Zn metálico, e esta foi transportada para a chama de um aparelho de absorção atômica. O ganho em sensibilidade observado resulta da maior eficiência de transporte do analito, em comparação com a nebulização pneumática, uma vez que toda a arsina formada pode, em princípio, alcançar o atomizador, carregada por um fluxo de argônio ou nitrogênio e também pelo próprio gás hidrogênio gerado na reação. Entretanto, a atomização do As usando chama convencional apresenta dificuldades, devido à forte absorção da chama em comprimentos de onda abaixo de 200 nm, onde encontram-se as linhas mais sensíveis do As. Três anos depois, Chu et al. (1972) relataram um procedimento alternativo, onde a arsina produzida era carregada pelo argônio não mais para a chama, mas para uma célula de absorção formada por um tubo T, de quartzo, eletricamente aquecido, colocado ao longo do caminho óptico do equipamento de absorção atômica. Assim, a absorção de parte da radiação da fonte primária pela chama era evitada, aumentando a intensidade da radiação que alcançava o detector, contribuindo, junto com o maior tempo de residência do vapor na célula de absorção, para uma melhoria considerável no limite de detecção. Uma vez que a espécie volátil formada é uma molécula, esta deve ser ainda atomizada na célula de absorção e, daí a importância de seu aquecimento. Entretanto, a adição de metais, como Zn, Al ou Mg, a soluções ácidas levava à formação de apenas

poucos hidretos voláteis (basicamente, AsH_3 e SeH_2), restringindo a aplicação da técnica, ao mesmo tempo em que problemas de reprodutibilidade e de altos brancos eram relatados.

2.1.1. Geração química de vapor

A geração química de vapor baseia-se na formação de espécies voláteis de alguns elementos químicos (As, Se, Sn, Ge, Te, Sb, Cd, Hg, entre outros) por meio da reação de uma amostra acidificada na presença de um forte agente redutor. O sistema de geração de hidretos pode ser classificado em 4 etapas: 1) a geração dos hidretos; 2) coleta dos hidretos; 3) sua transferência até o atomizador; 4) a decomposição e atomização do hidreto para posterior detecção do elemento de interesse (Welz et al., 2009; Smichowski, et al., 2000; Sturgeon et al., 2005).

Dentre as vantagens da técnica de geração química de vapor, pode-se citar:

- (i) O aumento da eficiência de transporte para o instrumento de medida, podendo chegar a 100% e com um vapor homogêneo;
- (ii) O analito é separado da matriz previamente, o que reduz significativamente possíveis interferências durante a leitura instrumental;
- (iii) O aumento da seletividade e a obtenção de melhores limites de detecção, satisfazendo os interesses para determinação de elementos traço em estudos ambientais;
- (iv) A automação dos sistemas pode ser realizada;
- (v) Dependendo do sistema utilizado, a pré-concentração do analito pode ser obtida;
- (vi) Possibilidade de estudo de especiação com acoplamento de diferentes técnicas de detecção, como ICP-MS, ICP OES e GF AAS.

Por outro lado, entre suas limitações podem-se incluir a suscetibilidade a interferências por concomitantes existentes na solução de leitura que possam impedir a reação de geração de vapor ou sua purga eficiente da solução; a cinética de geração de vapor pode ser afetada por fatores físicos associados à solução (densidade, viscosidade entre outros), de tal modo que, em alguns

casos, pode ser necessário um dispositivo de coleta antes da introdução das espécies voláteis na fonte ou no atomizador, para compensar essas influências; o pH e as concentrações dos reagentes podem ser críticos para alguns elementos bem como os estados de oxidação do analito (Welz et al., 2009; Smichowski, et al., 2000; Sturgeon et al., 2005).

O NaBH_4 é o agente redutor mais utilizado na técnica de geração de hidretos e sua concentração deve ser investigada, uma vez que essa pode variar dependendo do elemento químico a ser determinado, do equipamento e/ou tipo de sistema utilizado para a geração. Além disso, a solução deve ser preparada em meio alcalino (KOH ou NaOH) a fim de garantir estabilidade, o que reflete em uma maior eficiência e reprodutibilidade (Takase et al., 2002).

A determinação de metais pela técnica de CVG se dá geralmente por meio de sistemas de fluxo contínuo (CF) ou por injeção em fluxo (FI). Como característica comum, destaca-se que para ambos os sistemas, o reagente redutor e a amostra encontram-se em um ponto de confluência e passam por uma bobina de reação. Posteriormente, a fase gasosa formada, que contém o analito, é então separada da fase líquida através de um componente denominado separador gás/líquido (GLS). Outra característica interessante é que ambos os sistemas podem ser facilmente automatizados (Welz et al., 1999). A Figura 1 mostra os dois sistemas mencionados.

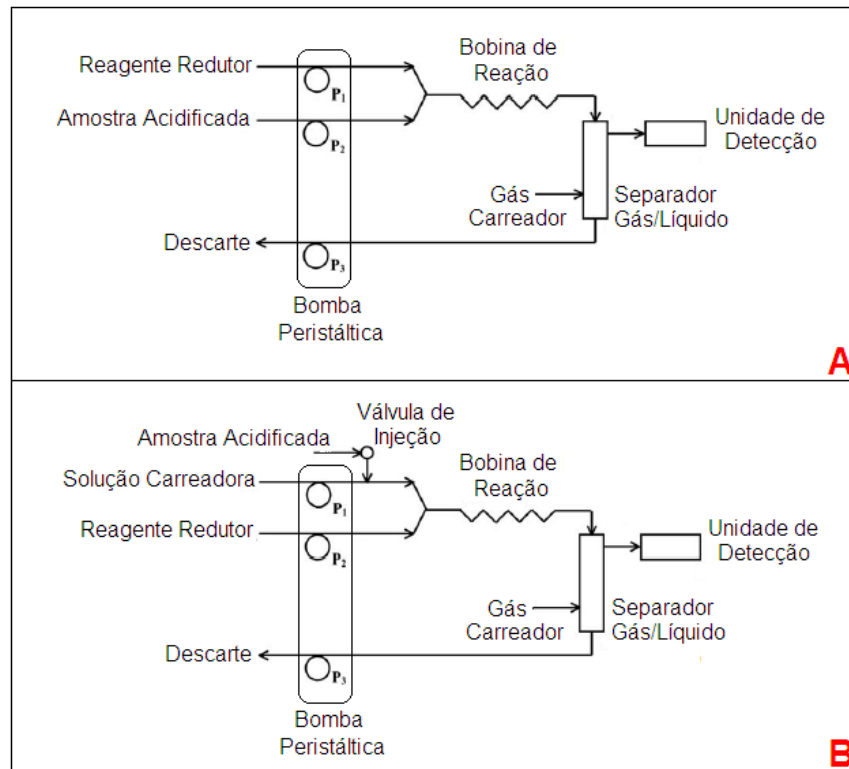


Figura 1– Esquemas de sistema de fluxo contínuo (A) e injeção em fluxo (B) para geração química de vapor. Adaptado de Pohl et al.; 2004.

Conforme pode ser visualizado na Figura 1, a diferença entre os sistemas é basicamente a quantidade de amostra que participa da reação de geração de vapor, pois no CF a amostra é aspirada continuamente juntamente com os demais reagentes, obtendo um sinal analítico também de forma contínua. Já no FI, um pequeno volume de amostra é injetado em um canal onde uma solução carreadora é aspirada, gerando assim um sinal analítico de forma transiente, podendo ser avaliado por integração da área ou em altura. Além disso, o sistema FI apresenta algumas vantagens em relação ao CF, tais como maior frequência analítica, reprodutibilidade e simplicidade de operação (Řužička, et al., 1975).

Outro tipo de sistema que também pode ser utilizado para o processo de geração de vapor é em batelada, o qual é operado pelo princípio de que os vapores contendo o analito são gerados em um frasco de reação, sendo diretamente conduzido à cela de quartzo. Esse frasco de reação tem a função do separador gás/líquido, diferenciando-se assim dos demais sistemas em fluxo citados anteriormente, como pode ser observado na Figura 2.

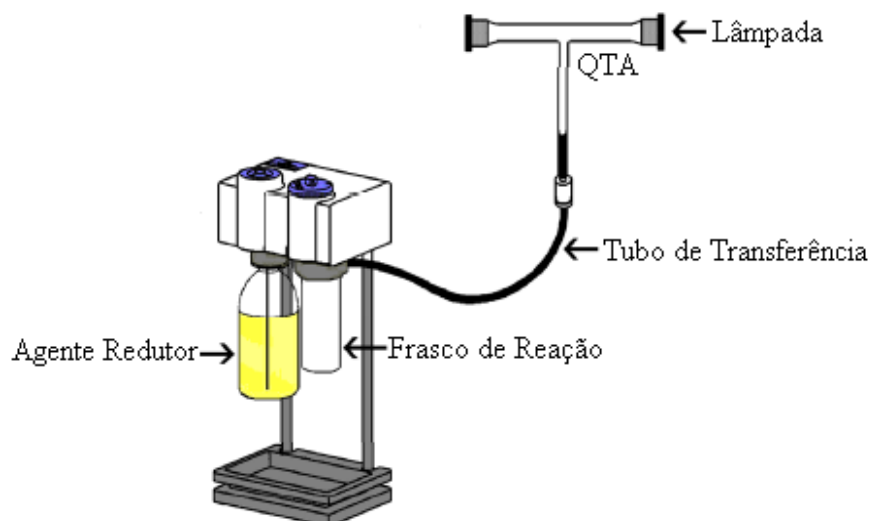


Figura 2 – Sistema de geração de vapor em batelada. Adaptado de Ribeiro et al.; 2004.

O Hg é o único metal que possui uma elevada pressão de vapor (0,0016 mbar à 20 °C) e átomos livres de Hg podem existir no estado gasoso à temperatura ambiente. Esta propriedade faz com que este elemento seja determinado por uma técnica conhecida como Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio (CV AAS), descrita inicialmente por Poluektov et al. (1963) e mais tarde popularizada por Hatch e Ott (1968), como mencionado anteriormente. Dentre os reagentes redutores empregados para a redução do Hg^{2+} para Hg^0 , o mais utilizado é o SnCl_2 , seguido do NaBH_4 .

Na CV AAS, o Hg é quimicamente reduzido para o estado atômico livre através da reação da amostra com um agente redutor, em um sistema de reação fechado. O mercúrio livre volátil é então retirado do frasco de reação por um fluxo de ar ou argônio. Os átomos de mercúrio são carregados pelo fluxo de gás através do tubo conectado a uma cela de absorção, colocada exatamente no caminho óptico do espectrômetro de absorção atômica onde ocorre a absorção da radiação (Matusiewicz et al. 2012).

A literatura apresenta vários trabalhos científicos que utilizam a técnica de vapor frio para a determinação de Hg em uma variedade de amostras (Morita et al., 1998; Wilhelm et al.; 2000; Sanchez-Rodas et al., 2010; Gao et al. 2012; Ferreira et al., 2015).

Para a determinação de Hg, é necessária extrema atenção principalmente na etapa de amostragem e preparo das amostras, pois uma vez mal conduzidas essas etapas, pode haver uma grande probabilidade de erro nas análises por perdas do analito por volatilização e/ou adsorção (Suzuki et al. 2004).

A literatura apresenta sistemas alternativos para a geração química de vapor que visam substituir ou reduzir o uso de agentes redutores e ampliar o número de elementos químicos capazes de gerar espécies voláteis. Entre estas pode-se citar a geração de haletos, a geração fotoquímica de vapor, a geração química de vapor promovida por ultrassom e a geração de vapor promovida por radiação de micro-ondas e luz ultravioleta (Sturgeon et al. 2002; Guo et al., 2004; Gil et al., 2006; Ribeiro et al., 2007; Capote et al., 2007; Wu et al., 2012). Estas alternativas são aplicadas com o intuito de minimizar algumas desvantagens encontradas na geração química de vapor convencional e até mesmo ampliar o número de elementos a serem determinados.

2.1.2. Geração fotoquímica de Vapor

A geração fotoquímica de vapor (PVG ou photo-VG) ou ainda fotorredução é uma técnica simples e uma alternativa interessante para a CVG convencional. Tem demonstrado excelente sensibilidade para a geração de espécies voláteis de elementos como As, Hg, Se entre outros, e também de alguns metais como Ag, Fe e Cu que comumente não geram espécies voláteis através da geração química de vapor.

As características da radiação ultravioleta (UV) em decompor compostos orgânicos em espécies voláteis e as suas propriedades de catalisar reações, levaram alguns pesquisadores a pensar na hipótese de se utilizar esta radiação como uma alternativa para se gerar vapor de espécies metálicas (Golimowski et al., 1996).

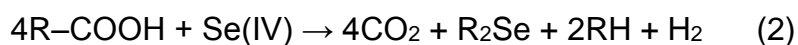
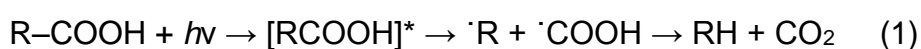
A geração fotoquímica de vapor é uma técnica que visa à transformação de espécies químicas em compostos voláteis, a partir da exposição da amostra à radiação UV. Para isso, as amostras normalmente devem estar na presença de ácidos orgânicos com baixa massa molecular (geralmente ácido fórmico,

acético, propiônico ou malônico). A ação da radiação UV sobre compostos orgânicos e inorgânicos resulta na formação de radicais (como $\cdot\text{OH}$, $\text{O}\cdot$, $\text{CO}\cdot$ e pequenos radicais orgânicos, entre outros), que possuem a capacidade de reduzir o analito a seu estado elementar ou propiciar a formação de espécies voláteis do mesmo (Golimowski et al., 1996; Cavicchioli et al. 2003).

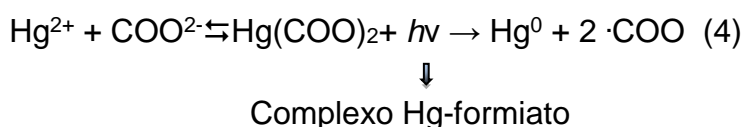
Guo e colaboradores (2003a) foram os primeiros pesquisadores a reportar o uso analítico da geração fotoquímica de vapor usando a radiação UV para a fotorredução de Se^{4+} . Usando uma lâmpada de Hg com baixa pressão como um reator fotoquímico, o Se^{4+} em meio de ácido fórmico foi convertido pela radiação UV em espécies voláteis de Se, como SeH_2 , as quais foram rapidamente transportadas para o atomizador de quartzo e detectadas por AAS ou cromatografia gasosa. Os mesmos autores também investigaram a redução fotoquímica para outros elementos, em que as espécies voláteis foram fotogeradas na presença de ácido fórmico, acético, propiônico ou malônico quando submetidas à radiação UV (Guo et al., 2003b; Guo et al., 2004b; Guo et al., 2005; Mcsheehy, 2005).

Recentemente, vários autores vêm apresentando discussões sobre o suposto mecanismo envolvido na redução fotoquímica de espécies. Especula-se que espécies voláteis dos metais sejam geradas a partir de combinações desses metais com os radicais formados pela radiação incidente em ácidos orgânicos de baixa massa molar (Sturgeon et al., 2010, 2012).

Em estudos realizados por Guo e colaboradores (2003b; 2009b) foi sugerido que a clivagem dos ácidos orgânicos de baixa massa molar utilizados na geração fotoquímica em meio de hidrogênio, radicais metil, butil e carbonil reduzia os íons dos analitos para a produção de produtos voláteis hydrogenados, alquilados ou carbonilados. No caso específico de redução fotoquímica de Se em meio de ácido acético, por exemplo, o produto da reação é o dimetilselênio, segundo a proposta de Guo e colaboradores (2003b) e conforme pode ser verificado nas equações 1, 2 e 3:



Sturgeon et al. (2010) relata que a radiação UV emitida por fontes de descarga de baixa pressão que emitem predominante linhas de ressonâncias em 254 nm é responsável pelos processos fotoquímicos de redução, mas ainda existe uma questão: se é só isso que favorece a redução ou se também ocorre um processo térmico. No caso de Hg, é sugerido um mecanismo baseado na transferência intra-molecular de radicais alquil entre o Hg^{2+} complexado com o ácido orgânico de baixo massa molecular, ocorrendo de acordo com a equação abaixo:



Além de permitir a determinação dos elementos para os quais a geração química de vapor é tradicionalmente utilizada, a PVG permite realizar também a determinação de alguns metais de transição e de não metais: Ni, Fe, Se (Zheng et al., 2010), Co (Deng et al., 2010), Cd (Nóbrega et al., 2011), I (Grinberg et al., 2009) e Hg (Vieira et al. 2007; Dos Santos et al., 2010).

Dentre os elementos citados, o mercúrio é bastante estudado com a geração fotoquímica de vapor em vários tipos de amostras, devido a facilidade que o mesmo possui de formar espécies voláteis e alcançar limites de detecção na ordem de ppb. Sendo assim, vários artigos que relatam a geração fotoquímica de vapor de Hg e seus mecanismos são encontrados na literatura (He et al., 2007).

Zheng e colaboradores (2005) avaliaram a redução fotoquímica na presença de ácido fórmico para a especiação de Hg em águas usando a espectrometria de fluorescência atômica (AFS). Os autores relataram que, ao irradiarem as soluções de amostras contendo ácido fórmico, Hg^{2+} e CH_3Hg^+ foram reduzidos a Hg^0 , permitindo dessa forma a quantificação de Hg total. Por outro lado, eles observaram que somente Hg^{2+} é reduzido a Hg^0 usando a luz visível.

Vieira e colaboradores (2007) desenvolveram métodos para a determinação de Hg total e metilmercúrio em amostras biológicas com redução fotoquímica pela exposição à radiação UV e detecção por CV-AAS. Duas abordagens foram investigadas. Na primeira, as amostras foram solubilizadas

em meio de HCOOH 10% (v/v) ou em TMAH 2,5% (m/v). Em seguida, foi determinado o teor de Hg total, após o mesmo ser reduzido pela exposição da solução à irradiação ultravioleta. Na segunda, para a determinação de metilmercúrio, as amostras foram solubilizadas com TMAH 0,125% (m/v), diluídas com CH₃COOH 10% (v/v) e o pH ajustado para 0,3 com HCl. Para cada caso, foram investigadas as condições ideais para a geração fotoquímica de vapor e a análise de especiação de mercúrio foi conduzida com boa eficiência. O método não requereu um preparo de amostras complexo, eliminou a necessidade de uso de agentes redutores e forneceu limites de detecção que são comparáveis com os métodos convencionais para a determinação de mercúrio por CVG. Sendo assim, os autores obtiveram um limite de detecção de 6 ng g⁻¹ para Hg total quando foi utilizado HCOOH e de 8 ng g⁻¹ para CH₃Hg⁺ utilizando o TMAH.

Madden e Fitzgerald (2009) desenvolveram um estudo comparativo para determinação de Hg pela investigação da geração de vapor com fotólise ultravioleta usando aprisionamento dos vapores gerados em forno de grafite por Espectrometria de Absorção Atômica. Nesta metodologia, foi avaliada a melhor condição de geração e redução para a quantificação de Hg²⁺, onde foram otimizadas as condições ideais de forma independente, com uma concentração de 3 mol L⁻¹ de CH₃COOH, tempo de 10 minutos de exposição das amostras à radiação UV devido ao uso de uma *pen light*, um fluxo de gás carreador de 1 mL min⁻¹, temperatura de pirólise de 650°C durante 5 segundos com um volume de 5 µL da solução do modificador químico (Pd). Sendo assim, os autores obtiveram um limite de detecção de 0,12 µg L⁻¹ para a determinação de Hg²⁺ pela respectiva técnica analítica.

Silva e colaboradores (2012) desenvolveram um procedimento baseado na exposição das amostras de álcool combustível à radiação UV na presença de ácidos orgânicos de baixa massa molecular para a determinação de Hg total (inorgânico e espécies organometálicas) por PVG-CV AAS. As amostras foram preparadas usando ácido fórmico ou acético. Para o ácido fórmico, uma alíquota de 25 mL de etanol foi adicionada em um frasco, seguido da adição de 1,3 mL de HCOOH e o volume final foi completado a 50 mL com água desionizada, obtendo-se uma concentração final de 50,0% (v/v) de etanol e 2,5% (v/v) de HCOOH. Quando o ácido acético foi utilizado, as amostras foram

preparadas de um modo idêntico ao descrito acima, usando ácido acético (2,5 mL) em vez de HCOOH, resultando numa concentração de ácido acético de 5,0%. Os resultados para as recuperações das espécies ficaram numa faixa de 91 a 107%. Os limites de detecção ficaram em um intervalo de 0,05 até 0,09 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Um estudo interessante foi relatado por Aranda et al. (2009) que desenvolveram um procedimento para a determinação de mercúrio total e inorgânico em amostras de biodiesel por geração de vapor frio acoplada à Espectrometria de fluorescência atômica e introdução por fluxo contínuo (FI-CV-AFS). As amostras foram introduzidas diretamente como emulsões de óleo em água por injeção em fluxo no instrumento de fluorescência atômica. Depois de irradiadas com uma fonte UV, o mercúrio orgânico foi decomposto e os vapores de mercúrio foram gerados usando uma solução ácida de SnCl_2 em um sistema de fluxo contínuo e, em seguida, conduzidos para a cela de absorção para posterior determinação. Essa estratégia reduziu a manipulação da amostra, evitando a contaminação e perda de analito. O limite de detecção foi de $0,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ para as emulsões).

2.2 Biodiesel

Os derivados do petróleo, como a gasolina e o diesel, são as maiores fontes de emissão dos gases responsáveis pelo aumento do efeito estufa. Além disso, a extração indiscriminada e o alto consumo de combustíveis fósseis têm ocasionado uma redução significativa nas fontes disponíveis destes combustíveis. Com isso, vários biocombustíveis estão sendo produzidos a partir de fontes renováveis de energia, entre estes podemos citar a biomassa, o biogás, o álcool, os óleos vegetais e o biodiesel. A introdução do biodiesel como biocombustível tem sido alvo de interesse nacional e internacional há alguns anos e várias pesquisas e estudos estão sendo desenvolvidos de modo a aperfeiçoar os seus processos de obtenção e caracterização, bem como a realização do controle de qualidade (Ramadhas et al., 2004; Agarwal, 2007).

A Lei nº 11.097, publicada em 13 de janeiro de 2005, introduziu o biodiesel na matriz energética brasileira, e a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (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). Em 2008, ocorreu a primeira adição obrigatória de 2% de biodiesel no diesel de petróleo (B2), aumentando o percentual para 5% em 2010. Em julho de 2014, o percentual de mistura de biodiesel ao óleo diesel passou para 6% (B6) e, a partir de 1º de novembro do mesmo ano, passou para 7% (B7). Espera-se chegar a 10% (B10) até o ano de 2020, no entanto, esta previsão ainda está em discussão pelos órgãos regulamentadores. Essa contínua elevação do percentual de adição de biodiesel ao diesel demonstra o sucesso do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel e da experiência acumulada pelo Brasil na produção e no uso em larga escala de biocombustíveis (ANP (a)). Por outro lado, é necessário aumentar a produção de biodiesel e isso, conseqüentemente, causa um aumento na produção da glicerina, como será discutido posteriormente.

Além da diminuição da dependência do diesel importado, o biodiesel traz outros efeitos indiretos de sua produção e uso, como o incremento a economias locais e regionais, tanto na etapa agrícola como na indústria de bens e serviços. Outro benefício para a sociedade, resultante da ampliação do uso do biodiesel, é o efeito positivo sobre o meio ambiente, acarretando a diminuição das principais emissões veiculares em comparação ao diesel derivado do petróleo, proporcionado pela redução das emissões de poluentes e a reutilização do CO₂ no ciclo de produção da matéria prima, bem como a sua biodegradabilidade (ANP (b); Vyas et al., 2010).

O biodiesel é considerado uma fonte de energia limpa, menos poluente e pode ser utilizado puro ou misturado com o diesel derivado do petróleo (Knothe et al., 2006; Keera, et al. 2011). É considerado um combustível biodegradável que pode ser produzido a partir de óleos vegetais ou gordura animal, não tóxico e que tem como característica a baixa emissão de poluentes quando comparado com os combustíveis fósseis e deve atender às especificações estabelecidas pela Resolução da ANP de nº07 de 2008 (ANP, 2008).

Do ponto de vista químico, o biodiesel é uma mistura de alquilésteres de cadeia linear, obtido principalmente a partir da transesterificação dos triglicerídeos de óleos vegetais ou gorduras animais com álcoois de cadeia curta (Figura 3). Além do biodiesel, a reação tem como principal coproduto, a

glicerina (Knothe et al., 2006; Hanna et al., 1999; Pinto et al., 2005; Felizardo et al., 2006). A cada três moléculas de ésteres formados ocorre também a formação de uma molécula de glicerina. Neste ponto, torna-se preocupante pensar que, diante do aumento da produção e utilização dos biocombustíveis, cresce também a produção da glicerina no mundo, o que produz um novo problema relacionado à disposição e utilização deste coproduto (Mota et al., 2009; Mota et al. 2011).

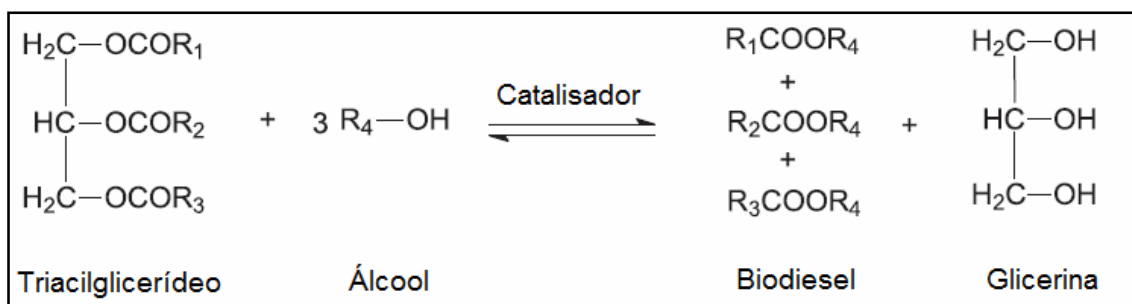


Figura 3 – Reação de transesterificação de triglicerídeos para produção de biodiesel [Lôbo et al., 2009].

Dentre os álcoois empregados na reação de transesterificação, os mais utilizados são o metanol e o etanol. O metanol é o mais aplicado em escala comercial por ser mais reativo, o que implica em menor temperatura e tempo de reação. O etanol é consideravelmente menos tóxico, é renovável e produz biodiesel com maior número de cetano e lubricidade. A grande desvantagem do etanol está no fato deste promover uma maior dispersão da glicerina no biodiesel, o que dificulta a sua separação. Para se obter maiores rendimentos na reação, costuma-se utilizar um excesso de álcool e remoção da glicerina através de lavagens com água (Knothe et al., 2006; Modi et al. 2006).

Como catalisadores, normalmente se utilizam os do tipo ácidos, básicos ou enzimáticos (Narasimharao et al., 2007; Fjerbaek et al., 2009). Os mais comuns são os básicos, hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH), embora menos ativos, são os mais empregados por apresentarem menor custo e promoverem rendimentos de reação satisfatórios. No entanto, várias pesquisas têm sido realizadas no desenvolvimento de catalisadores heterogêneos, buscando vantagens como a possibilidade de reutilização do

catalisador e a simplificação do processo de purificação do biodiesel, pois estes catalisadores são facilmente removidos por um simples processo de filtração, reduzindo assim a geração de efluentes (Knothe et al., 2006; Xie et al., 2006).

Após a reação, a glicerina é separada por decantação ou centrifugação. A separação do biodiesel ocorre primeiramente por meio de uma lavagem com água, seguida de acidificação e remoção do álcool residual (Knothe et al., 2006; Gerpen et al., 2005). Na Figura 4, são apresentadas as etapas do processo de produção de biodiesel, desde a escolha da matéria prima até a separação do coproduto glicerina.

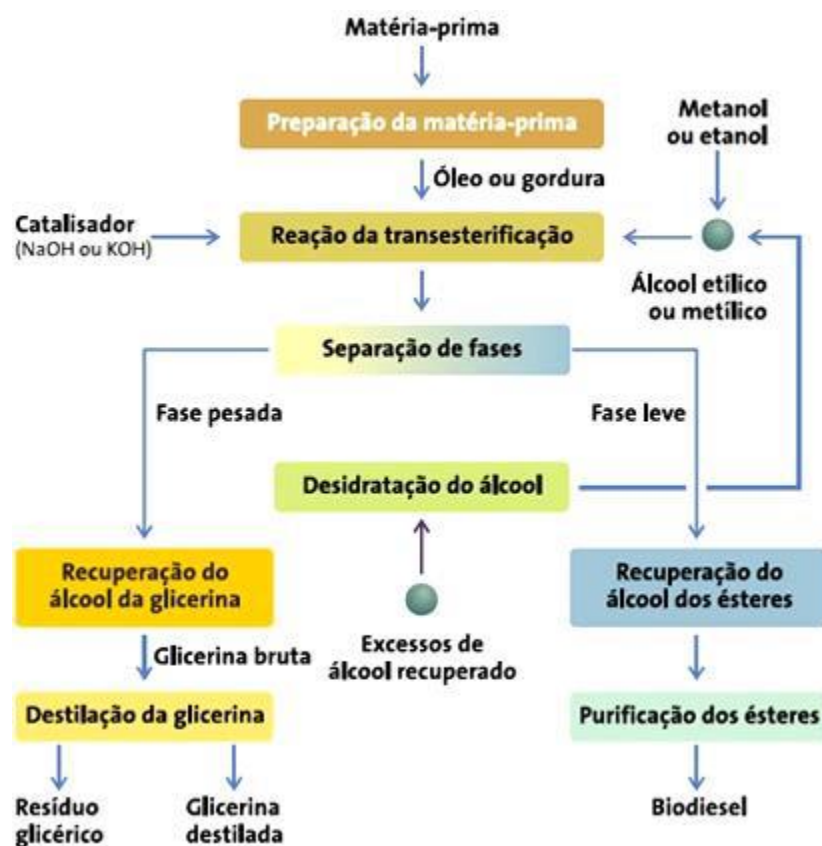


Figura 4 - Processo de produção do biodiesel e coproduto glicerina.

2.3 Glicerina: Coproduto do Biodiesel

No processo de produção do biodiesel são gerados resíduos e coprodutos que devem ser aproveitados, de forma que toda a cadeia de produção do biodiesel seja sustentável e economicamente viável.

Para cada 90 m³ de biodiesel produzidos por transesterificação são gerados, aproximadamente, 10 m³ de glicerina. Assim, as projeções mostravam uma produção de cerca de 100 mil toneladas de glicerina por ano com a entrada do B3 em 2008 e cerca de 250 mil toneladas a cada ano, a partir de 2013, com a introdução do B5 e posteriormente do B7. Estes valores são muito superiores ao consumo e produção nacional, estimados em cerca de 30 mil toneladas anuais. Este cenário indica que a viabilização comercial do biodiesel passa pelo consumo deste volume extra de glicerina, buscando aplicações de larga escala e agregando valor à cadeia produtiva (Mota et al., 2009).

Os principais resíduos sólidos gerados durante o processo são a torta ou farelo provenientes do processo de prensagem dos grãos para a extração do óleo vegetal, e a glicerina ou glicerol, produzida no processo de fabricação do biodiesel por transesterificação. Diversas formas de aproveitamento desses resíduos têm sido utilizadas para diminuir o impacto ambiental que eles poderiam causar caso fossem descartados diretamente no meio ambiente, além de agregar valor econômico à cadeia de produção do biodiesel. A chamada glicerina loira ou glicerina bruta é normalmente utilizada para designar a glicerina oriunda dos processos de produção do biodiesel, onde a fase glicerínica sofreu um tratamento ácido para neutralização do catalisador e remoção de ácidos graxos eventualmente formados no processo. Em geral, esta glicerina contém cerca de 80% de glicerol, além de água, metanol e sais dissolvidos, como mencionado anteriormente (Mota et al., 2009; Mota et al., 2011; Rivaldi et al., 2009).

O termo glicerol aplica-se somente ao composto químico puro chamado de 1,2,3-propanotriol, enquanto que o termo glicerina aplica-se aos produtos comerciais purificados, normalmente, contendo pelo menos 95% de glicerol. Várias designações de glicerina estão disponíveis comercialmente e diferem um pouco em seu conteúdo de glicerol e em outras características, tais como cor, odor e impurezas (Rivaldi et al., 2009).

A utilização da glicerina na maioria dos setores industriais é condicionada ao grau de pureza, que deve ser usualmente acima de 95%, sendo conhecida como glicerina purificada ou de grau farmacêutico. Grande parte da glicerina, tanto no Brasil quanto no exterior, é vendida para as indústrias que a utilizam como matéria prima para fabricar solventes, adoçantes, conservantes alimentícios, entre outras aplicações (Biodieselbr, 2008; Biodieselbr, 2010).

Dentre as características físico-químicas do glicerol, destacam-se as propriedades de ser um líquido oleoso, incolor, viscoso e de sabor doce, solúvel em água e álcool em todas as proporções e pouco solúvel em éter, acetato de etila e dioxano, e insolúvel em hidrocarbonetos. Devido à combinação de propriedades físico-químicas como não toxicidade, ausência de cor e odor, o glicerol é uma substância com grande variedade de aplicações, conforme demonstrado na Figura 5 (Arruda et al. 2007).

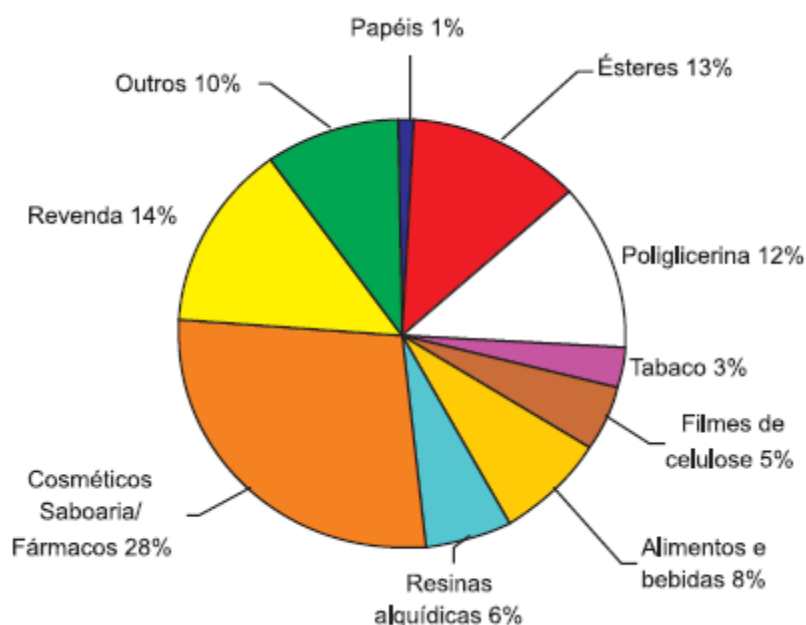


Figura 5 – Principais setores industriais de utilização da glicerina de grau farmacêutico (Mota et al., 2009).

No entanto, a utilização da glicerina nesses setores é condicionada ao alto grau de pureza. Além disso, a glicerina oriunda do processo de produção do biodiesel é cotada com valores cerca de três vezes menor que a glicerina bidestilada e em média 500 vezes inferior à glicerina farmacêutica, as quais

apresentam maior grau de pureza (Mota et al., 2009).

No caso da glicerina bruta resultante do processo de produção do biodiesel são necessários processos de purificação mais complexos para torná-la utilizável em setores como a indústrias de alimentos e de cosméticos e hoje o reaproveitamento da glicerina como coproduto do biodiesel é de fundamental importância. No entanto, os tratamentos de purificação apresentam custo elevado e são inviáveis para pequenos e médios produtores nacionais. Essa etapa da destilação da glicerina é o grande gargalo de inúmeros processos, e seria uma excelente contribuição para indústria nacional se órgãos de fomento financiassem plantas piloto de destilação de glicerina e processos de transformação a ela associados (Dasari et al. 2005).

Devido ao alto custo no processo de purificação, vários grupos de pesquisa têm utilizado a glicerina bruta como suplemento energético de ração animal, devido ao seu alto valor energético, podendo contribuir favoravelmente em dietas para animais. Por seu sabor adocicado é aceita naturalmente e é facilmente miscível com outros elementos da ração (farelos, grãos moídos, etc.) (Lammer et al., 2008).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no ano de 2010 foi autorizado o uso da glicerina bruta oriunda do processo de produção do biodiesel como insumo na alimentação animal como ingrediente de rações, e estabeleceu que as mesmas devem conter no máximo 150 ppm de metanol, 13% de umidade e no mínimo 80% de glicerol.

No que se refere à presença de metais na glicerina bruta, os mesmos podem ser provenientes de contaminações durante o processo de produção do biodiesel. Os metais alcalinos (Na e K) geralmente são provenientes do uso de catalisadores básicos. Já a concentração de elementos como os alcalino-terrosos (Ca e Mg) pode ser influenciada por uma série de fatores, que vão desde as características do solo onde foi cultivada a matéria prima, do processo de extração e purificação do óleo, do método de produção, até as condições de armazenamento (Mahajan et al., 2007; Clasen et al., 2015). Além dos contaminantes que a glicerina bruta pode arrastar durante o processo de produção e separação do biodiesel, outros contaminantes também podem ser incorporados no transporte, armazenamento e processamento da mesma.

2.4 Mercúrio em bicompostíveis e combustíveis

O Hg é considerado um poluente global, porque Hg⁰ é a forma predominante de Hg atmosférico. Ele pode ser transportado e depositado em locais distantes da sua fonte. As várias espécies de Hg diferem em suas propriedades bio-físico-químicas, tal como toxicidade, solubilidade e taxa de bioacumulação pelos organismos.

Dentre as diferentes formas químicas do Hg, esse metal pode ser encontrado em diferentes estados de oxidação: o Hg elementar (Hg⁰), o qual se encontra principalmente na forma de gás, sendo a espécie mais amplamente encontrada na atmosfera, o íon mercurioso (Hg₂²⁺), que é pouco estável em sistemas naturais e o íon mercúrico (Hg²⁺) que é a forma dominante em águas naturais. Na forma orgânica, o íon mercúrico apresenta-se ligado a um radical orgânico, sendo o metilmercúrio (CH₃Hg⁺) e o dimetilmercúrio ((CH₃)₂Hg) os mais comuns, ou ainda com ligantes orgânicos naturais. Ao ser convertido em CH₃Hg⁺, pode ser acumulada na cadeia alimentar, o que representa um risco para a saúde humana (Morel et al., 1998; Micaroni et al., 2000; Lacerda et al., 2007).

Segundo Wong e colaboradores (2007), há vários estudos sendo desenvolvidos sugerindo que os automóveis são possíveis fontes de emissão de Hg atmosférico. Devido a isso, as atividades antrópicas são de grande importância na mobilização do Hg e seus compostos, e dentre eles a queima de combustíveis e biocombustíveis é de especial preocupação, pois pode causar a liberação desse elemento para a atmosfera.

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) na Resolução ANP nº 45 de 2014, estabelece os limites máximos de concentração para alguns elementos no biodiesel comercializado em todo território nacional (ANP (d)). Dentre os metais, estabelece limites de concentração máximo permitidos para Na+K e Ca+Mg.

No entanto, as especificações para o biodiesel não contemplam a determinação e os níveis máximos permitidos para elementos como o Hg, As e Si por exemplo. No biodiesel e na glicerina bruta, dependendo do processo de catálise ou de purificação empregado durante o processo de produção, pode

ocorrer a contaminação com o Hg.

Embora a ANP não estabeleça limites máximos de concentração para o Hg, buscando um aprimoramento do controle de qualidade do biodiesel e da glicerina sob o ponto de vista da quantidade de contaminantes inorgânicos (elementos tóxicos e não tóxicos) é importante o desenvolvimento de métodos com adequada sensibilidade para a sua quantificação, pois o mesmo pode aparecer em níveis traço.

Na literatura, são encontrados alguns trabalhos que relatam a determinação de Hg em amostras de combustíveis e de biocombustíveis. Com relação às amostras de glicerina, até o presente momento não foram encontrados relatos da determinação de Hg nesta matriz. Em amostras de gasolina, vários autores realizaram a determinação de Hg, usando diferentes estratégias analíticas. Brandão et al., (2005) usaram a técnica de CV AAS com o redutor NaBH_4 para analisar as amostras de gasolina preparadas em meio de propanol e de ácido nítrico. Torres et al., (2010) fizeram uso de uma etapa de pré-concentração com coluna de Au e os vapores de Hg gerados através da redução com o NaBH_4 foram introduzidos no forno de grafite (CV-GF AAS), aumentando desta forma a sensibilidade da técnica. De Jesus et al. (2014) usaram a geração fotoquímica de vapor acoplada ao forno de grafite (PVG-GF AAS) para a determinação de Hg em amostras de gasolina diluídas com propanol. Os mesmos autores realizaram a determinação de Hg em amostras de nafta e petróleo usando também a técnica de PVG-CV AAS (De Jesus et al., 2013).

Em amostras de biodiesel, foram encontrados alguns trabalhos, conforme relatado por Sánchez et al., 2015. Aranda et al., (2012) propuseram um método usando emulsão como forma de preparo das amostras para a determinação de Hg e de Cd em amostras de biodiesel pela técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS). Mercúrio total e Hg inorgânico foram determinados em amostras de biodiesel emulsionados pela técnica de FI-CV-AFS por Aranda et al. (2009). Um estudo interessante foi relatado por Vicentino et al., (2015) onde os autores realizaram a determinação de Hg em amostras de óleo e de biodiesel após a extração induzida por quebra de emulsão.

Por fim, para a determinação de Hg em amostras de etanol, foram encontrados apenas 2 artigos. No primeiro, Almeida e colaboradores (2012) propuseram um método simples para a determinação direta de Hg inorgânico em amostras de etanol combustível diluídos em água por CV-AAS utilizando NaBH_4 e HCl para redução de mercúrio. E no segundo, Silva et al. (2012) usaram a geração fotoquímica de vapor acoplada a CV AAS para determinar Hg total em amostras de etanol combustível.

3.0 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo geral o desenvolvimento de métodos de geração de vapor para a determinação da quantidade de Hg em amostras de biodiesel e glicerina, oriundas do processo de produção do biodiesel e em glicerina de grau farmacêutico.

Para as amostras de biodiesel, foi utilizado apenas a geração fotoquímica de vapor acoplada à Espectrometria de Absorção Atômica (PVG-CV AAS). Para as amostras de glicerina, foi realizado um estudo comparativo da geração fotoquímica de vapor com os métodos convencionais de geração química de vapor, usando os agentes redutores NaBH_4 e SnCl_2 . Em todos os estudos, os três métodos foram acoplados à Espectrometria de Absorção Atômica.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar o melhor meio de tratamento da amostra de biodiesel e de glicerina (tipo de ácido utilizado e sua concentração) para introdução no sistema de geração de vapor;
- Otimizar alguns parâmetros da geração fotoquímica de vapor, como a concentração do ácido, massa da amostra, efeito do tempo de irradiação e vazão do gás carreador, de modo a obter o melhor sinal analítico;
- Otimizar alguns parâmetros da geração química de vapor, como a concentração do agente redutor, concentração do ácido e vazão do gás carreador;
- Investigar a possibilidade de se usar apenas padrões aquosos de mercúrio inorgânico para calibração;
- Avaliar a exatidão dos métodos por meio de testes de recuperação e recuperação;
- Aplicar o método otimizado da geração fotoquímica de vapor (PVG-AAS) para as amostras de biodiesel e glicerina;
- Aplicar os métodos convencionais da geração química de vapor usando os agentes redutores NaBH_4 e SnCl_2 nas amostras de glicerina, a

fim de comparar a sensibilidade da PVG-CV AAS com os métodos já existentes.

4.0 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

Todas as medidas foram realizadas utilizando um espectrômetro de absorção atômica modelo AA-6300 (Shimadzu, Japão), equipado com uma lâmpada de cátodo oco de Hg (Hamamatsu photonics K.K, Japão) e um corretor de fundo com lâmpada de arco de deutério. O espectrômetro foi operado sob as seguintes condições: comprimento de onda de 253,7 nm, fenda espectral de 0,7 nm e corrente da lâmpada de 4,0 mA. Como atomizador, foi utilizado um tubo T de quartzo (QTA) com comprimento de 14,7 cm e um diâmetro de 2,4 mm foi montado no compartimento da chama do espectrômetro, posicionado no caminho óptico e mantido a temperatura ambiente. Argônio com uma pureza de 99,996% (Linde, Barueri, SP) foi usado como gás carreador durante todas as medidas. As amostras foram pesadas utilizando uma balança analítica Ohaus Adventurer modelo AR 2140 (Pine Brook, NJ, EUA) com uma resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g.

Para avaliação do sinal analítico, as medidas foram feitas em absorvância integrada em modo contínuo. O reator fotoquímico foi construído no laboratório usando uma lâmpada ultravioleta (UV) de baixa pressão de vapor de Hg (254 nm, 15W, Cole Parmer, EUA) e o caminho pelo qual as soluções passaram para serem irradiadas foi construído usando tubos de quartzo envolvendo a lâmpada, com um volume interno resultante de aproximadamente 26,0 mL, formando assim uma bobina de reação. A Figura 6 mostra o reator fotoquímico utilizado no trabalho. Ressaltamos que o sistema é todo envolto com papel alumínio e são utilizados óculos de proteção para evitar exposição à radiação pelo operador quando a lâmpada está em uso.

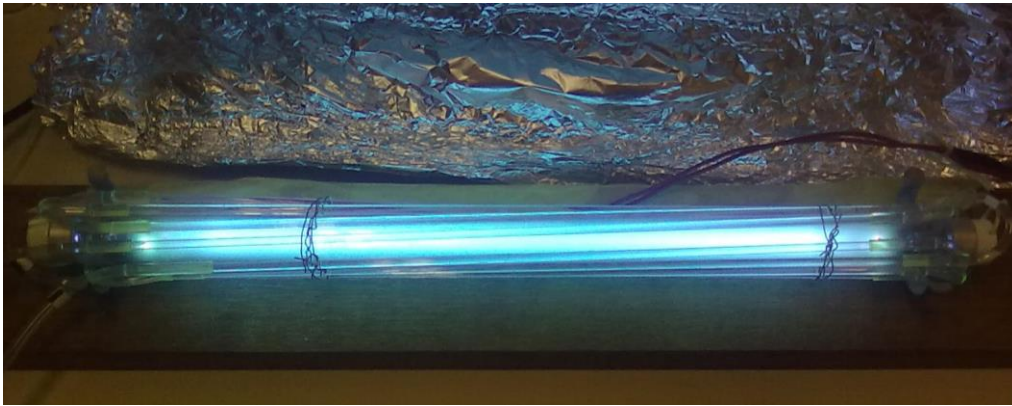


Figura 6 – Lâmpada ultravioleta de baixa pressão de vapor de mercúrio construída com tubos de quartzo envolvendo a lâmpada, com volume interno de 26 mL (Reator fotoquímico).

As soluções foram transportadas para o reator fotoquímico através de uma bomba peristáltica Ismatec modelo CP-78017-35 (Cole Parmer, Vernon Hills, EUA) com uma vazão constante do fluxo de ar de $7,0 \text{ mL min}^{-1}$ equivalente a 70 rpm. A vazão do fluxo de gás argônio foi controlada através de um fluxômetro modelo 03217-10 de 150 mm (Cole Parmer, EUA), o qual foi ajustado em $74,4 \text{ mL min}^{-1}$ de Ar, sendo utilizado para introdução ao separador gás/líquido a fim de efetuar o transporte das espécies voláteis resultantes diretamente para o QTA. A Figura 7 ilustra o esquema do sistema de geração fotoquímica de vapor acoplado ao espectrômetro de absorção atômica que foi utilizado no trabalho.

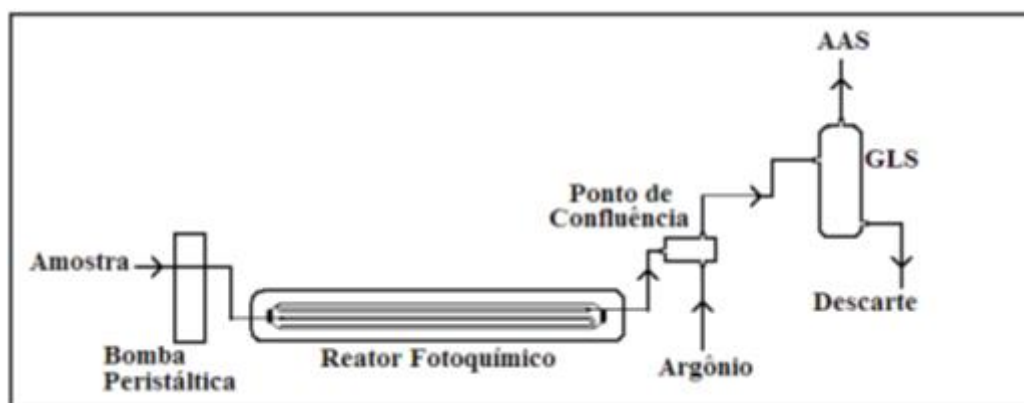


Figura 7 – Esquema do sistema de geração fotoquímica de vapor acoplado ao espectrômetro de absorção atômica.

Para os métodos de geração química de vapor com redutores convencionais (NaBH_4 e SnCl_2), foi utilizado um sistema de fluxo contínuo comercial (bomba peristáltica Shimadzu, modelo HVG-1 Hydride Vapor Generator (Japão)), conforme demonstrado na Figura 8.

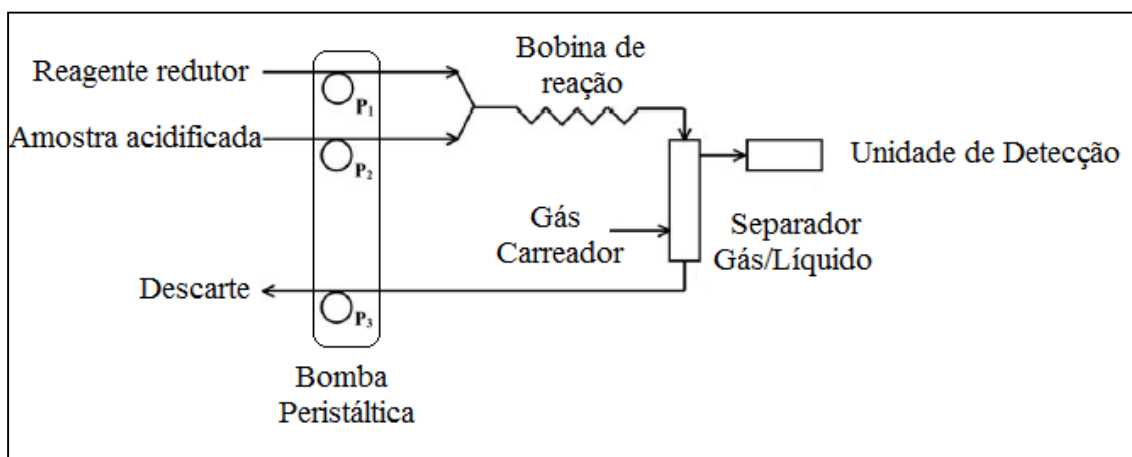


Figura 8 – Esquema representativo do sistema de fluxo contínuo comercial utilizado para a geração química de vapor com redutores convencionais.

4.2 Reagentes

Os reagentes utilizados em todos os experimentos foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas utilizando água desionizada. Uma solução estoque de 1000 mg L^{-1} de Hg^{2+} foi preparada pela diluição adequada de uma ampola Titrisol (Merck, Darmstadt, Alemanha) em HNO_3 0,5% (v/v). Soluções de espécies orgânicas de Hg foram obtidas de forma similar, onde 1000 mg L^{-1} de CH_3Hg^+ e 400 mg L^{-1} de $\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg}^+$ foram preparadas pela dissolução do sal de cloreto de metilmercúrio (Fluka Analytical, Steinheim, Alemanha) e cloreto de etilmercúrio (Analytical Supelco, Bellefonte, USA), respectivamente.

Também foram utilizados reagentes como $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ 99,5% (v/v) (Synth) que foi bidestilado em um sistema de destilação convencional (de vidro) e HCOOH 85,0% (v/v) (Synth) bidestilado abaixo do seu ponto de ebulição em um destilador de quartzo MA-075 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil).

Para os métodos de redução química convencional foi utilizado HCl 36,5% (v/v) (Synth) bidestilado e foram preparadas soluções de SnCl_2 0,5% (m/v) (Vetec), NaBH_4 0,1% (m/v) (Fluka) e NaOH 0,5% (m/v) (Vetec) a partir da pesagem dos respectivos reagentes.

Para a descontaminação, todos os frascos volumétricos de polipropileno (PP) e os materiais de vidro utilizados foram lavados primeiramente com detergente líquido e água da torneira, seguidos da imersão em uma solução 10% (v/v) de HNO_3 por pelo menos 48 h, sendo posteriormente lavados com água desionizada e deixados secar em temperatura ambiente.

4.3 Amostras

As amostras de biodiesel de soja utilizadas foram gentilmente fornecidas por plantas de produção de biodiesel do estado do Rio Grande do Sul. As mesmas foram chamadas de Biodiesel 1, Biodiesel 2 e Biodiesel 3, de modo a diferenciar a indústria de origem.

Com relação as glicerinas, foram utilizadas amostras comerciais com diferentes graus de pureza (Glicerina 1 - Synth P.A 99,5%) e (Glicerina 2 - Merck P.A 85,0%) e amostras de glicerina bruta que também foram cedidas por plantas de biodiesel do Rio Grande do Sul, chamadas de Glicerina 3 e Glicerina 4.

4.4 Tratamento das amostras

4.4.1 Amostras de Biodiesel

Para as análises, as amostras foram preparadas da seguinte maneira: aproximadamente 2,0 g de amostra foram pesadas diretamente em tubos de polipropileno (PP) de 50 mL, onde foram adicionados 11,8 mL de HCOOH 85% (v/v) e o volume final foi completado com $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, resultando em uma concentração final de 20% (v/v) de HCOOH , 76,0% (v/v) de $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, e 4% (m/v) de amostra.

4.4.2. Amostras de Glicerina

Para as análises, as amostras de glicerina foram preparadas de acordo com os três métodos de geração de vapor avaliados, sendo que para o sistema de NaBH_4 e SnCl_2 foi utilizado somente a glicerina de grau farmacêutico para fins de comparação de parâmetros de mérito, conforme descrito abaixo.

4.4.2.1 Redução Fotoquímica

Aproximadamente 5,0 g da amostra de glicerina bruta foram pesados em tubo de PP, onde se adicionaram 5,9 mL de HCOOH 85% (v/v) e 5 mL de etanol. O volume final foi completado com água desionizada até 50 mL, resultando em uma concentração final de 10% (v/v) de HCOOH e 10% (v/v) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ e 10% (m/v) de amostra. No caso da glicerina de grau farmacêutico, somente foi adicionando o HCOOH .

Para a calibração, as soluções foram preparadas usando o HCOOH 10% (v/v). Somente foi utilizado 10% (v/v) de $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ quando foi aplicado o teste de adição e recuperação para amostras de glicerina bruta, como será discutido posteriormente.

4.4.2.2. Redução com SnCl_2

Aproximadamente 5,0 g da amostra de glicerina foram pesados em tubo de PP, adicionaram-se 750 μL de HCl e o volume foi completado a 50 mL com água desionizada, resultando em uma concentração final de 1,5% (v/v) de HCl . Para a redução, a concentração de SnCl_2 otimizada foi de 0,5% (m/v).

Para a calibração, as soluções padrão foram preparadas em meio de 1,5% (v/v) de HCl .

4.4.2.3 Redução com NaBH_4

Neste procedimento foram pesados 5,0 g da amostra de glicerina em tubo de PP, ao qual foram adicionados 250 μL de HCl e o volume final foi completado a 50 mL com água desionizada, resultando em uma concentração

final de 0,5% (v/v) de HCl. Para a redução, a concentração de NaBH₄ otimizada foi de 0,1% (m/v) em meio de NaOH 0,5% (m/v).

4.5 Procedimentos Analíticos

Todas as condições operacionais para cada sistema investigado (geração fotoquímica e geração química de vapor) foram otimizadas antes das calibrações e determinações do Hg nas amostras de biodiesel e de glicerina, levando em consideração a obtenção do maior sinal analítico para a redução das espécies.

Para o sistema de redução fotoquímica, os seguintes parâmetros foram otimizados: efeito da concentração do ácido fórmico (HCOOH) no preparo das soluções das amostras, tempo de exposição das amostras à radiação UV, vazão do gás de arraste (argônio) e a massa da amostra utilizada.

Para o sistema de redução química aplicado apenas para as amostras de glicerina, os parâmetros otimizados foram: concentração dos agentes redutores SnCl₂ e NaBH₄ e concentração de HCl (carreador). As demais condições foram as sugeridas pelo fabricante do sistema comercial de injeção em fluxo.

5.0 Resultados e Discussão

A próxima seção será dividida em capítulos. No Capítulo 1, serão apresentados os resultados obtidos para os estudos envolvendo as amostras de biodiesel e no Capítulo 2, todos os resultados referentes as amostras de glicerina.

Capítulo 1: Emprego da geração fotoquímica de vapor para determinação da concentração de Hg em amostras de Biodiesel

5.1 Geração fotoquímica de vapor

De modo a avaliar a potencialidade da técnica de PVG-CV AAS para a quantificação da concentração de Hg em amostras de biodiesel, alguns parâmetros essenciais para obtenção de uma maior eficiência do sistema foram investigados. Todos os estudos foram conduzidos utilizando soluções padrão de Hg inorgânico e o sistema com o reator fotoquímico mostrado na Figura 5 (parte experimental).

5.1.1 Efeito da concentração de ácido fórmico

Ácidos orgânicos de baixa massa molecular são comumente utilizados em estudos que envolvem a geração fotoquímica de vapor através da exposição à radiação UV, devido a elevada eficiência que estes possuem em produzir radicais reativos que se combinam com alguns elementos, como Hg, As, Se, entre outros, formando espécies voláteis. Dentre estes ácidos, o ácido fórmico (HCOOH) tem se apresentado como um excelente precursor para a geração de espécies voláteis, principalmente de Hg, como relatado em estudos anteriores em diferentes tipos de amostras (Scriver et al., 2005). Sendo assim, o efeito da concentração de HCOOH no sinal de absorvância do Hg foi avaliado em uma faixa de concentração de 5,0 a 30,0% (v/v). Para isso, soluções padrão contendo $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} na presença de 1,0 g de amostra de biodiesel foram utilizadas com o objetivo de escolher a melhor condição de concentração de HCOOH e as amostras foram avolumadas a 50 mL com álcool etílico. A Figura 9 apresenta os resultados obtidos para este estudo.

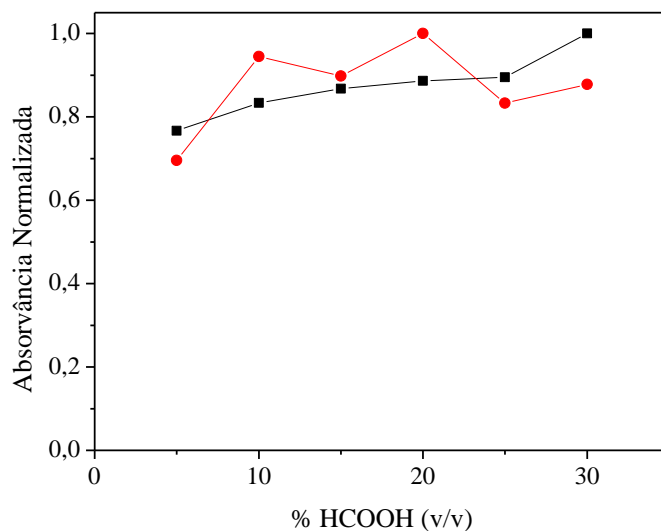


Figura 9 - Efeito da concentração de HCOOH no sinal de absorvância de Hg após PVG-CV AAS em (-■-) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} + 1,0 g de biodiesel e (-●-) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} . Tempo de irradiação: 3,7 minutos; Vazão do gás carreador: $95,4 \text{ mL min}^{-1}$.

De acordo com os resultados mostrados na Figura 9, foi observado um aumento no sinal de absorvância de Hg na solução contendo a amostra. Para o padrão aquoso, o sinal foi maior para a concentração de 20% (v/v) de HCOOH e após esta, houve uma queda. Desta forma, ficou evidente que em meio da amostra, há um aumento significativo da concentração de radicais formados após a exposição à radiação UV, aumentando desta forma, a sensibilidade. Assim, foi fixada a concentração de 20% (v/v) de HCOOH para os estudos seguintes.

5.1.2 Efeito da massa da amostra

Para a análise de amostras reais de biodiesel, onde normalmente não são esperadas concentrações elevadas de Hg, quanto maior for a massa utilizada, melhor serão os resultados, pois não haverá a necessidade de se realizar grandes diluições, favorecendo ainda a obtenção de melhores limites de detecção.

Para isso, massas de amostra de biodiesel no intervalo de 0,25 a 2,0 g foram pesadas diretamente em frascos de polipropileno seguidos da adição de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} e 11,8 mL de HCOOH, que corresponde a uma concentração final de 20% (v/v) e avolumadas a 50 mL com $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. Em todas as condições avaliadas houve uma completa solubilização da amostra. A Figura 10 apresenta os resultados para este estudo.

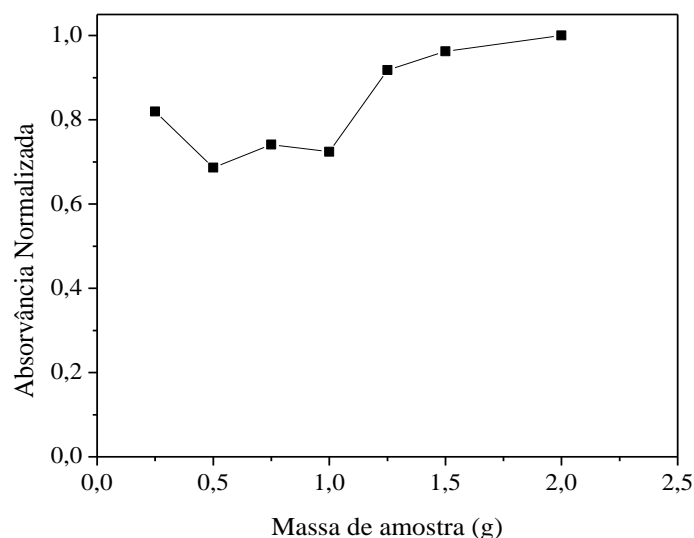


Figura 10 - Efeito da massa da amostra de biodiesel no sinal de absorvância de Hg após PVG-CV AAS em (-■-) amostra com adição de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} em 20% (v/v) de HCOOH e 76% (v/v) de $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. Tempo de irradiação: 3,7 minutos; Vazão do gás carreador: $95,4 \text{ mL min}^{-1}$.

De acordo com o gráfico, foi observado que os sinais analíticos para Hg foram melhores para massas de amostras acima de 1,25 g, e o sinal mais intenso foi observado em 2,0 g de amostra, sendo esta a massa de amostra adotada para os estudos seguintes. Não foram testadas massas maiores de amostra devido a pouca quantidade de amostra disponível.

5.1.3 Efeito da vazão do gás carreador

Escolher a melhor vazão do gás carreador é importante durante o processo de geração fotoquímica de vapor, uma vez que este tem a função de transportar as espécies voláteis geradas até a cela de absorção. Para este estudo, um fluxômetro foi utilizado de modo a controlar a vazão do gás argônio para separação de fases no separador gás/líquido (GLS). A variação do fluxômetro em milímetros (mm) é equivalente a vazão do gás (mL min^{-1}) conforme os valores demonstrados na Tabela 1, definida pelo próprio fabricante.

Tabela 1 – Variação do fluxo de gás em função do fluxômetro para o sistema PVG-CV AAS.

Fluxômetro (mm)	Vazão do gás (mL min ⁻¹)
30	43,1
40	51,7
50	62,6
60	74,4
70	83,7
80	95,4
90	111
100	126

O sinal de absorvância das soluções padrão contendo 5,0 µg L⁻¹ de Hg²⁺ com e sem a presença de biodiesel foi avaliado em um intervalo de vazão de 62,6 a 126 mL min⁻¹. A Figura 11 apresenta os resultados obtidos.

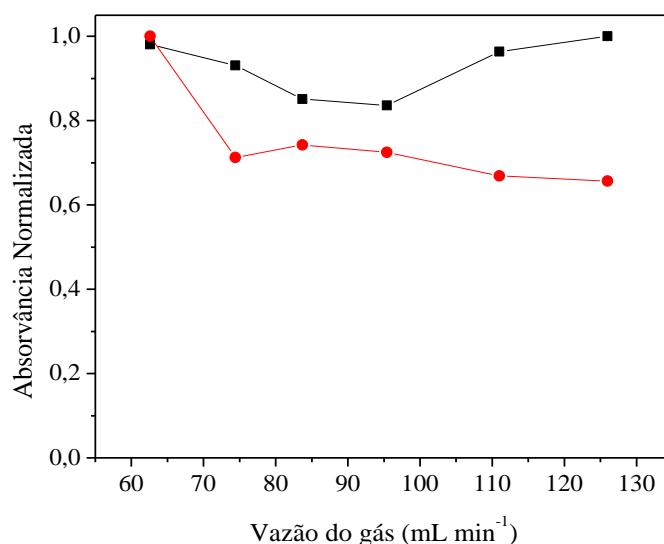


Figura 11 - Efeito da vazão do gás carreador no sinal de absorvância de Hg após PVG-CV AAS (-■-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ + 2,0 g de biodiesel e (-●-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺. Soluções preparadas em 20% (v/v) de HCOOH e 76% (v/v) de CH₃CH₂OH; Tempo de irradiação: 3,7 minutos.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se um maior sinal nos dois meios avaliados quando a menor vazão do gás foi utilizada ($62,6 \text{ mL min}^{-1}$). À medida que a vazão do gás aumenta, o sinal de absorvância tende a diminuir em função do efeito de diluição da nuvem atômica que chega até a cela de absorção. Sendo assim, a vazão de $62,6 \text{ mL min}^{-1}$ foi escolhida como a condição adequada para a obtenção de um bom sinal analítico de Hg nos dois meios investigados, sem prejudicar a sensibilidade das medidas e também a frequência analítica, que foi em torno de 6 amostras por hora. Ressalta-se que as amostras de biodiesel não receberam nenhum tratamento prévio, mas sim uma simples diluição. Desta forma, a baixa frequência analítica é compensada pela simplicidade do método com um número bastante reduzido de etapas. Além disso, o Hg é extremamente volátil e quando se faz necessário a mineralização da amostra, a etapa de preparo geralmente é onerosa e pode se tornar um grande desafio, quando não conduzido em equipamentos apropriados e por profissionais altamente treinados podendo inviabilizar as análises.

5.1.4 Efeito do tempo de irradiação da amostra

O tempo de exposição das amostras à radiação UV no caminho do reator fotoquímico é considerado um parâmetro fundamental a ser otimizado na PVG-CV AAS, já que a quantidade de radiação UV recebida irá determinar a extensão da formação dos radicais produzidos, que está diretamente relacionada à eficiência de redução do Hg^{2+} . Sendo assim, o efeito do tempo de irradiação foi avaliado por exposição de soluções padrão preparadas em meio de HCOOH e $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ contendo $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com e sem a presença da amostra biodiesel à radiação UV, no intervalo de 2,7 a 8,7 minutos. O tempo de irradiação foi calculado conforme as variações de velocidade de rotação da bomba peristáltica (mudança da vazão das soluções), conforme dados da Tabela 2, levando em consideração o comprimento do tubo de quartzo envolto no reator fotoquímico, cujo volume interno é de 26 mL.

Tabela 2 – Tempo de irradiação das soluções em função da velocidade da bomba peristáltica para o sistema PVG-CV AAS.

Velocidade de rotação da bomba peristáltica (rpm)	Vazão da solução (mL min⁻¹)	Tempo de irradiação (min)
30	3,0	8,7
40	4,0	6,5
50	5,0	5,2
60	6,0	4,3
70	7,0	3,7
80	8,0	3,2
90	9,0	2,9
99	9,6	2,7

A Figura 12 mostra o estudo realizado para avaliar a influência do tempo de irradiação da amostra no sinal de absorvância do Hg, onde foi variada a velocidade de rotação da bomba peristáltica, na faixa de 30 a 90 rpm, o que corresponde a um tempo de irradiação de 8,7 a 2,9 min e a uma vazão de amostra de 3,0 a 9,0 mL min⁻¹, respectivamente.

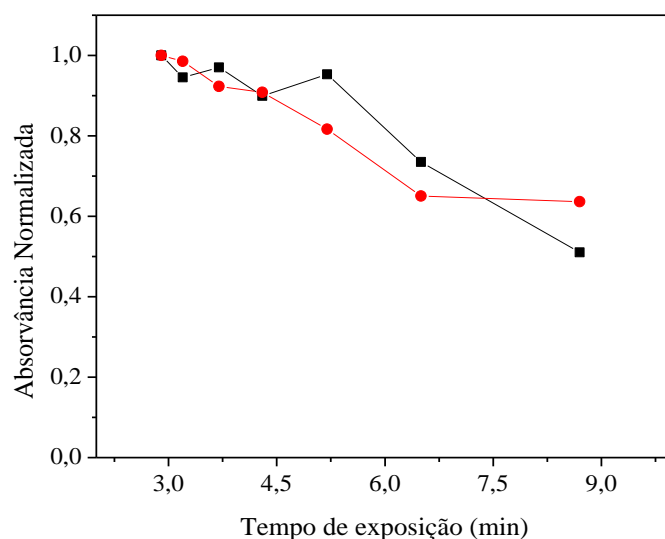


Figura 12 - Efeito do tempo de irradiação da solução no sinal de absorvância de Hg por PVG-CV AAS em (-■-) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} + 2,0 g de biodiesel e (-●) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} . Soluções preparadas em 20% (v/v) de HCOOH e 76% (v/v) de $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$; Vazão do gás carreador: $62,6 \text{ mL min}^{-1}$.

Os resultados obtidos para o efeito do tempo de irradiação no sinal de absorvância de Hg mostraram que um tempo de 2,9 min seria o ideal, o qual representa uma vazão de amostra de $9,0 \text{ mL min}^{-1}$ e uma velocidade de rotação de 90 rpm. No entanto, também foi observado que, quando se utiliza altas velocidades de rotação da bomba peristáltica, os tubos acabam sendo danificados e comprometem a eficiência do sistema. Por conta disso, para que não houvesse perda de sensibilidade em nenhum dos dois meios avaliados, foi adotado um tempo de irradiação de 3,7 min, que corresponde a uma vazão de $7,0 \text{ mL min}^{-1}$ e uma velocidade de rotação da bomba de 70 rpm. Este estudo demonstra que com o aumento da velocidade da bomba peristáltica, embora diminua o tempo de irradiação, resulta em um maior processamento da amostra no sistema fotoquímico em um menor tempo, fornecendo uma nuvem atômica mais concentrada, refletindo no aumento do sinal e conseqüentemente, na maior sensibilidade do sistema PVG-CV AAS para a redução de Hg. Este fato mostra que o reator fotoquímico utilizado apresenta uma eficiência elevada para geração dos radicais.

5.1.5 Parâmetros de mérito

Após estabelecidas as melhores condições de trabalho do sistema de geração fotoquímica de vapor para a determinação de Hg em biodiesel, foram construídas duas curvas de calibração de modo a avaliar a capacidade das mesmas em fornecer resultados exatos na determinação de Hg. A primeira curva foi obtida com padrões de Hg²⁺ em meio de 20% (v/v) de HCOOH e 76% (v/v) de CH₃CH₂OH (meio alcoólico) e a segunda curva foi obtida nas mesmas condições, mas com a presença da matriz (biodiesel). A faixa linear de calibração utilizada foi de 2,5 a 10,0 µg L⁻¹ de Hg²⁺. Os parâmetros de mérito obtidos são apresentados na Tabela 3. Os limites de detecção e quantificação foram calculados sendo 3 ou 10 vezes o desvio padrão do branco analítico dividido pela inclinação da curva de calibração.

Tabela 3 - Parâmetros de mérito para as curvas de calibração obtidas com e sem a presença da matriz.

	Inclinação (L µg⁻¹)	R	LD*	LQ*
Sem biodiesel	0,0125	0,9980	0,05	0,17
Com biodiesel	0,0095	0,9993	0,06	0,21

*LD e LQ instrumentais.

Os resultados demonstraram uma boa linearidade das curvas, com coeficientes de correlação linear (R) maiores que 0,99 e os valores das inclinações das curvas demonstraram que a curva em meio alcoólico apresentou uma maior sensibilidade quando comparada a curva na presença da amostra, com uma diferença de 24% entre os valores obtidos.

Com o objetivo de avaliar o sistema PVG-CV AAS frente à calibração com diferentes espécies de Hg, foram construídas curvas de calibração com padrões de Hg²⁺, CH₃Hg⁺ e C₂H₅Hg⁺, em uma faixa linear de 2,5 a 10,0 µg L⁻¹ em meio de 20% (v/v) de HCOOH e avolumadas com álcool etílico. Os valores de inclinação e coeficientes de correlação linear obtidos são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros das curvas de calibração das diferentes espécies de Hg.

	Inclinação (L µg⁻¹)	R
Hg²⁺	0,0120	0,9975
CH₃Hg⁺	0,0138	0,9990
C₂H₅Hg⁺	0,0128	0,9922

De acordo com os dados da Tabela 4, fica evidente através dos valores obtidos das inclinações, a eficiência do sistema PVG-CV AAS em promover a geração de vapor de Hg⁰, tanto para as espécies organometálicas quanto para a forma inorgânica. Os valores de inclinação também demonstram que não houve uma grande diferença nos valores de inclinação encontrados (15% para CH₃Hg⁺ e 6,7% para C₂H₅Hg⁺ quando comparado com o valor da inclinação do Hg²⁺), o que reafirma a possibilidade de calibração apenas com padrões de Hg inorgânico, que são mais baratos e estáveis do que os padrões organometálicos.

Foram feitas adições nas amostras de biodiesel em três níveis de concentração usando uma mistura contendo as três diferentes espécies de Hg nas concentrações totais de 3,0; 6,0 e 9,0 µg L⁻¹, assegurando assim a capacidade do método desenvolvido para a determinação de Hg total, independente da espécie que possa estar presente ou não nas amostras de biodiesel. A Tabela 5 mostra os valores de concentração obtidos após as medidas em triplicata.

Tabela 5 - Resultados para os testes de recuperação no biodiesel pela adição de misturas das diferentes espécies de Hg e calibração com padrão de Hg²⁺ utilizando o sistema PVG-CV AAS (n = 3).

Valor adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	Recuperação (%)
Biodiesel 1			
S/ adição	<LD		
3,0	3,3588 \pm 0,0002	0,46	111,9
6,0	4,8423 \pm 0,0006	0,85	80,7
9,0	7,3485 \pm 0,0007	0,65	81,6
Biodiesel 2			
S/ adição	<LD		
3,0	2,7733 \pm 0,0005	1,19	92,4
6,0	4,9204 \pm 0,0003	0,44	82,0
9,0	7,6530 \pm 0,0004	0,38	85,0
Biodiesel 3			
S/adiação	<LD		
3,0	3,0543 \pm 0,0005	1,10	101,8
6,0	5,5450 \pm 0,0007	0,84	92,4
9,0	8,4650 \pm 0,0005	0,41	94,0

Os valores de recuperação encontrados ficaram em torno de 80,7 a 111,9% indicando a boa exatidão do método. A precisão foi confirmada a partir dos valores de desvio padrão relativo (RSD) que foram menores que 1,2%.

Durante as análises não foi detectada nenhuma quantidade de Hg significativa nas três amostras de biodiesel de soja investigadas, pois os valores obtidos ficaram abaixo do limite de detecção instrumental, de acordo com os dados da Tabela 5. Isto indica mais uma vez que este biocombustível é mais seguro que o diesel de petróleo e a gasolina que é amplamente utilizada hoje nos automóveis frente a este contaminante, pois como foi verificado nos trabalhos de Brandão et al., 2005; Torres et al. 2010; De Jesus et al. 2014, amostras de gasolina de diferentes postos e regiões no Brasil apresentaram níveis de Hg mensuráveis na faixa de 0,11 a 0,87 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Glicerina

Capítulo 2: Comparação entre métodos de geração de vapor acoplados à Espectrometria de Absorção Atômica para determinação de Hg em amostras de glicerina

Para a determinação de Hg nas amostras de glicerina (bruta e de grau farmacêutico), foram avaliados três métodos de geração de vapor: a geração fotoquímica de vapor na presença da radiação UV e a geração química de vapor com os agentes redutores NaBH_4 e SnCl_2 . Desta forma, para cada método, foram realizadas todas as otimizações das condições experimentais, como será apresentado a seguir.

5.2 Geração fotoquímica de vapor

5.2.1 Efeito da concentração de ácido fórmico

Como relatado no Capítulo 1 para as amostras de biodiesel, optou-se em utilizar o HCOOH como precursor para geração das espécies voláteis de Hg nas amostras de glicerina e também pelo fato de que as amostras de glicerina bruta foram solúveis neste meio, como será discutido posteriormente. Assim, o efeito da concentração do HCOOH no sinal de absorvância do Hg^0 obtido na geração fotoquímica de soluções padrão contendo $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} em presença de 10 g de glicerina de grau farmacêutico foi avaliado em uma faixa de concentração de 5 a 50% (v/v), com o objetivo de escolher a melhor condição de concentração de HCOOH . Os resultados obtidos são apresentados na Figura 13.

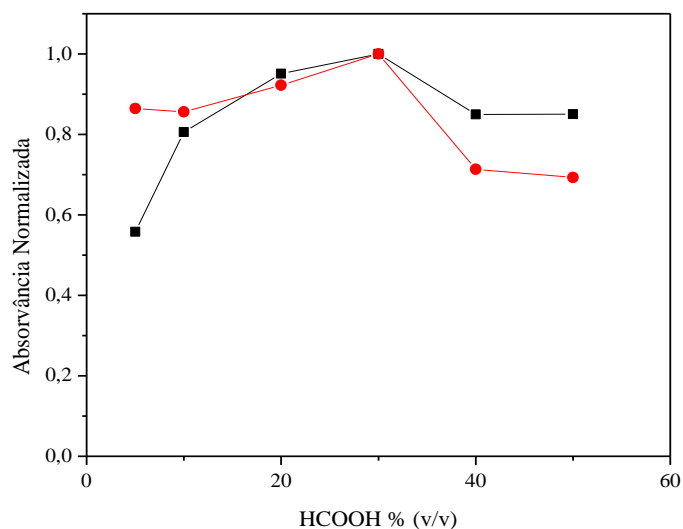


Figura 13 - Efeito da concentração do HCOOH no sinal de absorvância de Hg por PVG-CV AAS. (—■—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com 10 g de glicerina (—●—) padrão aquoso de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} . Tempo de irradiação: 3,7 minutos. Vazão de gás carreador: $95,4 \text{ mL min}^{-1}$.

De acordo com os resultados da Figura 13, verifica-se um aumento significativo do sinal de absorvância de Hg até a concentração de 30% (v/v) de HCOOH. Acima dessa concentração, observa-se um decréscimo no sinal para os dois meios avaliados.

A fim de se utilizar um volume mínimo de HCOOH, a concentração de 10% (v/v) foi escolhida, uma vez que esta concentração mostrou um bom sinal de absorvância de Hg, em comparação com o que foi obtido em 30% (v/v) HCOOH.

5.2.2 Efeito da massa de amostra

Para este estudo, massas de amostra de glicerina de grau farmacêutico no intervalo de 5,0 a 25,0 g foram pesadas em frascos de PP seguidos da adição de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} e 5,9 mL de HCOOH que correspondente a uma concentração final de 10,0% (v/v). Em todas as condições, houve a completa solubilização da amostra. A Figura 14 apresenta os resultados deste estudo.

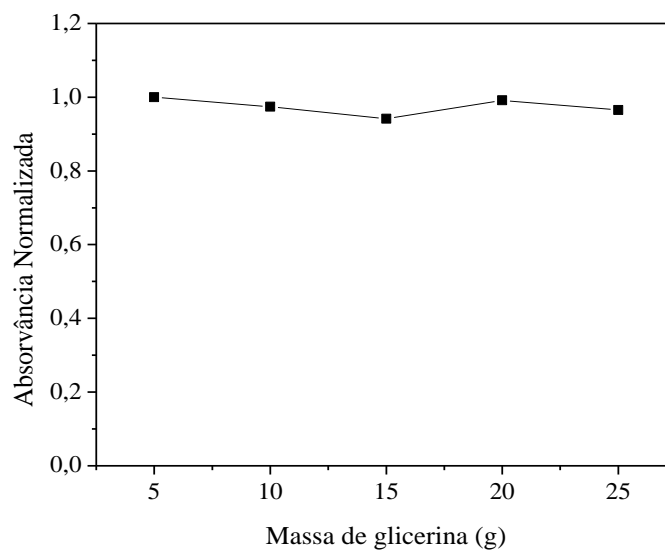


Figura 14 - Efeito da massa da amostra no sinal de absorvância de Hg por PVG-CV AAS. Concentração de HCOOH: 10% (v/v). Tempo de irradiação: 3,7 minutos. Vazão de gás carreador: 95,4 mL min⁻¹.

De acordo com a Figura 14, foi observado que os sinais analíticos para Hg foram semelhantes no intervalo de massa investigado. Por conta disso, a massa de 5,0 g foi escolhida para o preparo das soluções de amostras. Como mencionado no Capítulo 1 para as amostras de biodiesel, quanto maior for a massa utilizada, melhores serão os resultados obtidos. No entanto, quando se utilizam massas maiores que 5 g para amostras de glicerina bruta, ocorre uma dificuldade maior no processo de solubilização, devido à elevada viscosidade das mesmas e também à presença de materiais em suspensão.

5.2.3 Efeito do tempo de irradiação da amostra

Neste estudo, o efeito do tempo de irradiação na resposta do sinal analítico para soluções padrão contendo 5,0 µg L⁻¹ de Hg²⁺ com e sem a presença de glicerina, através da mudança da vazão das soluções no reator fotoquímico foi investigado, variando a velocidade de rotação da bomba peristáltica, em uma faixa de 30 a 99 rpm, o que corresponde a um tempo de residência de 8,7 a 2,7 min (3,0 a 9,6 mL min⁻¹). O tempo de irradiação foi calculado conforme as variações de velocidade de rotação da bomba

peristáltica utilizada para introdução das amostras no reator fotoquímico conforme dados da Tabela 2. A Figura 15 apresenta os resultados obtidos.

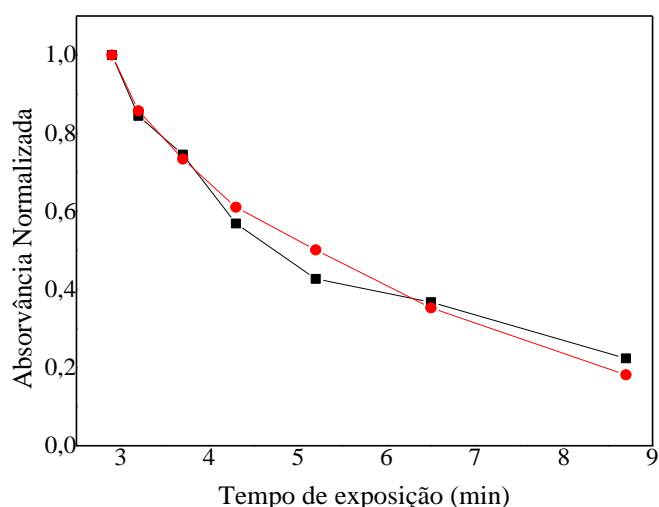


Figura 15 - Efeito do tempo de irradiação da solução no sinal de absorvância de Hg por PVG-CV AAS. (—■—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} e (—●—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com 5 g de glicerina. Concentração de HCOOH : 10% (v/v). Vazão de gás carreador: $95,4 \text{ mL min}^{-1}$.

Os resultados obtidos para o efeito do tempo de irradiação das soluções no sinal de absorvância de Hg mostraram que um tempo de irradiação de 3,7 min foi o ideal, o qual representa uma vazão de amostra de $7,0 \text{ mL min}^{-1}$ e uma velocidade de rotação de 70 rpm, sendo esta selecionada para os experimentos posteriores. Vazões maiores não foram escolhidas, pois acabam danificando o sistema ao longo do tempo.

5.2.4 Efeito da vazão do gás carreador

Neste estudo, os sinais de absorvância de soluções padrão contendo $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com e sem a presença de glicerina foram avaliados em um intervalo de vazão de 43,1 a $95,4 \text{ mL min}^{-1}$. A Figura 16 apresenta os resultados obtidos.

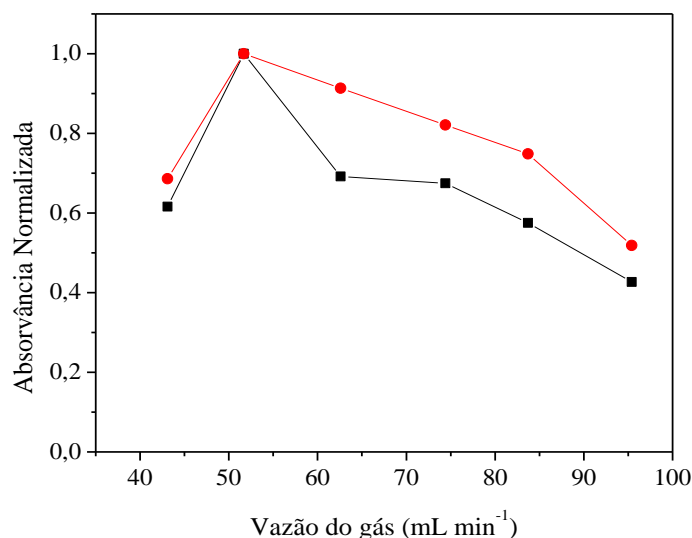


Figura 16 - Efeito da vazão do gás carreador na resposta analítica para determinação de Hg por PVG-CV AAS. (—■—) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ e (—●—) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ com 5 g de glicerina. Concentração de HCOOH: 10% (v/v). Tempo de exposição: 3,7 minutos.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se um maior sinal quando a vazão do gás carreador utilizada foi de 52 mL min⁻¹. No entanto, nesse ponto foi registrado efeito de memória devido a um maior tempo para o sinal voltar à linha base, o que veio prejudicar a frequência analítica. À medida que a vazão do gás é aumentada, o sinal de absorvância tende a diminuir em função do efeito de diluição da nuvem atômica que chega até a cela de absorção, pois quanto maior a quantidade de gás Ar, mais diluído estará o analito e conseqüentemente, um menor sinal é registrado. Sendo assim, a vazão de 74,4 mL min⁻¹ foi escolhida como a condição adequada para a obtenção de um bom sinal analítico sem prejudicar a frequência analítica, que foi em torno de 6 amostras por hora, de forma similar para as amostras de biodiesel (Capítulo 1).

5.3 Geração química de vapor

5.3.1 Efeito das concentrações dos agentes redutores SnCl_2 e NaBH_4

Os reagentes NaBH_4 e SnCl_2 são amplamente empregados para a geração química de vapor como agentes redutores. O NaBH_4 é capaz de formar hidretos de alguns elementos como As, Bi, Se, Sn, etc. e reduzir espécies de Hg com a formação do Hg atômico enquanto que o SnCl_2 é amplamente utilizado para a redução do Hg. Desta forma, neste trabalho foi estudado o efeito das diferentes concentrações destes reagentes para a redução do Hg^{2+} . Para estes estudos, os sinais de absorvância de soluções padrão contendo $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com e sem a presença de glicerina, em meio de HCl 1,5% (v/v) foram avaliados, em um intervalo de concentração de 0,25 a 3,0% (m/v) e 0,1 a 0,75% (m/v) de SnCl_2 e NaBH_4 , respectivamente. A Figura 17 apresenta os resultados obtidos.

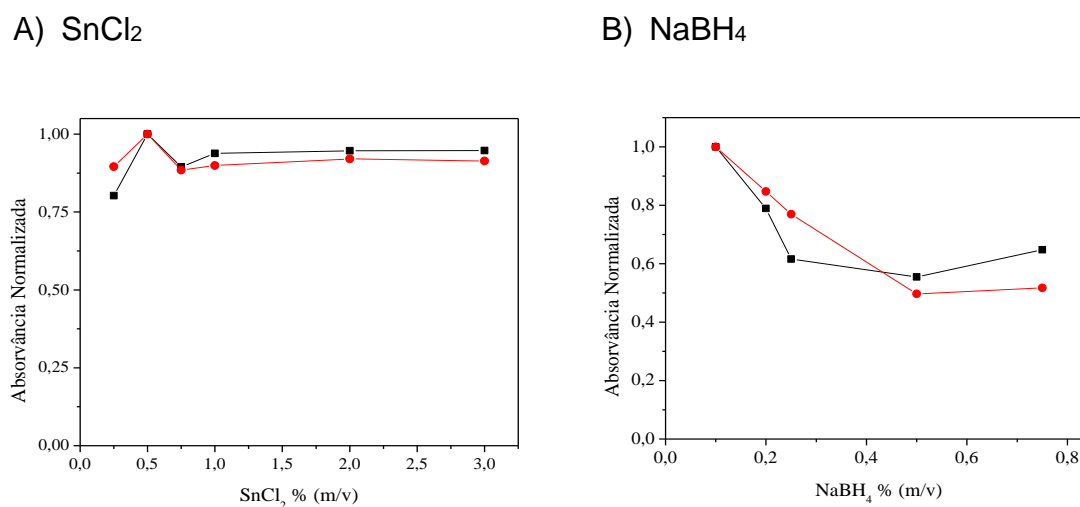


Figura 17 - Efeito da concentração de SnCl_2 e NaBH_4 em função da resposta analítica para Hg por CV AAS. (—■—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} e (—●—) padrão de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com 5 g de glicerina. Concentração de HCl: 1,5% (v/v); vazão do gás carreador (mL min^{-1}): 51,7 para SnCl_2 e 74,4 para NaBH_4 e vazão da amostra de $7,0 \text{ mL min}^{-1}$.

De acordo com os resultados obtidos, o SnCl_2 mostrou maior sensibilidade para a geração do vapor frio de Hg em comparação aos sinais de absorvância obtidos com o agente redutor NaBH_4 . Foi observado um maior

sinal analítico na concentração de 0,5% (m/v) de SnCl₂ em ambas soluções avaliadas e, à medida que essa concentração foi aumentada, houve uma diminuição do sinal analítico para uma concentração de 0,75% (m/v) do reagente redutor. A partir da concentração de 1,0% (m/v) de SnCl₂, o sinal apresentou um comportamento constante. Com isso, foi escolhida a concentração de 0,5% (m/v) de SnCl₂ para a realização dos estudos posteriores.

Para o NaBH₄, observou-se um sinal de absorvância acentuado na concentração de 0,1% (m/v) para ambos padrões e, à medida que a concentração do agente redutor aumentou, o sinal de absorvância diminuiu. A diminuição do sinal para concentrações mais elevadas do agente redutor pode estar relacionada com a diluição do vapor de Hg pelo excesso de gás hidrogênio produzido na reação. Sendo assim, a concentração de 0,1% (m/v) de NaBH₄ em meio de NaOH 0,5% (m/v), utilizado para estabilizar a solução, foi adotada como a condição adequada para os estudos subsequentes.

5.3.2 Efeito da concentração do HCl

O efeito da concentração de HCl, como solução carreadora foi avaliado em função do sinal analítico de absorvância do Hg, no intervalo de concentração de 0 a 4,0% (v/v), usando soluções padrão contendo 5,0 µg L⁻¹ de Hg²⁺ com e sem a presença de glicerina e fixando as condições para redução do Hg²⁺ previamente otimizadas: 0,5% (v/v) de SnCl₂ e 0,1% (v/v) de NaBH₄. A Figura 18 apresenta estes estudos.

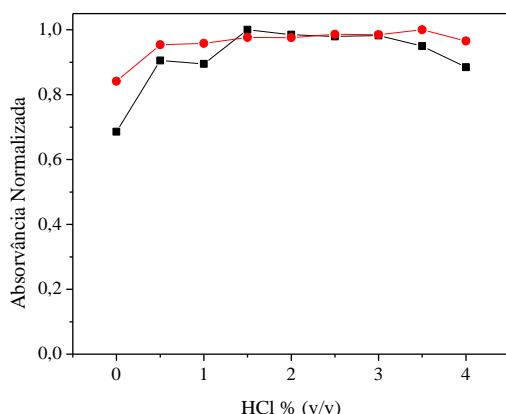
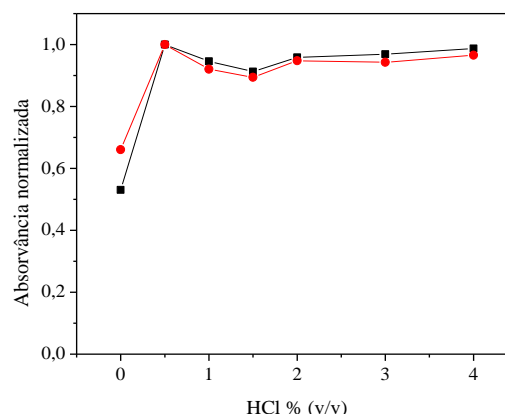
A) SnCl₂B) NaBH₄

Figura 18 - Efeito da concentração do HCl em função da resposta analítica para Hg por CV AAS. (—■—) padrão de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} e (—●—) padrão de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} com 5 g de glicerina. Vazão do gás carreador (mL min^{-1}): 51,7 para SnCl₂ e 74,4 para NaBH₄ e vazão da amostra de 7,0 mL min^{-1} .

De acordo com os resultados obtidos, quando o SnCl₂ foi utilizado como agente redutor, observou-se um maior sinal de absorvância do Hg na concentração de 1,5% (v/v) de HCl para as duas soluções empregadas. À medida que a concentração do HCl foi aumentada, para o padrão aquoso, o sinal estabilizou, enquanto que para o padrão na presença da matriz, houve uma diminuição do sinal a partir da concentração de 3,0% (v/v) de HCl. Desta forma, a concentração de 1,5% (v/v) de HCl foi escolhida como a condição adequada para a redução com o SnCl₂, o que permite a utilização de uma pequena quantidade de ácido com uma intensidade no sinal de absorvância semelhante para ambos meios estudados.

Na presença de NaBH₄ como agente redutor, observou-se um sinal de absorvância maior na concentração de 0,5% (v/v) de HCl e, à medida que a concentração foi aumentando, o sinal de absorvância diminuiu, permanecendo constante a partir da concentração de 2,0% (v/v) de HCl. Sendo assim, a concentração de 0,5% (v/v) de HCl para a redução com o NaBH₄ foi selecionada como a condição adequada para os estudos posteriores.

5.3.3 Efeito da vazão de solução

A escolha da melhor vazão das soluções no sistema de CV AAS foi realizada em função da velocidade de rotação da bomba peristáltica. Foram utilizados padrões de Hg em meio aquoso e também na presença de glicerina, a fim de avaliar a resposta analítica de ambas as soluções e verificar se existe diferença na taxa de vazão quando na presença da matriz da amostra. A velocidade de rotação da bomba peristáltica variou entre 30 a 90 rpm, que corresponde a uma vazão de amostra entre 3,0 e 9,0 mL min⁻¹, conforme mencionado anteriormente na Tabela 2. A Figura 19 apresenta os resultados obtidos, para ambos métodos de redução química empregados.

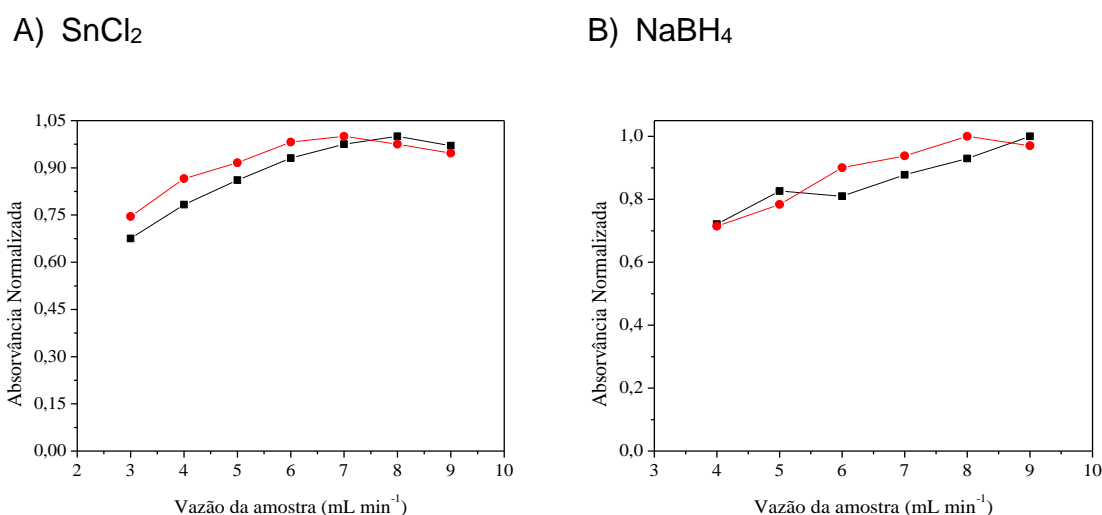


Figura 19 - Efeito da vazão da amostra em função da resposta analítica para Hg por CV AAS. (—■—) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ e (-●-) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ com 5 g de glicerina. Vazão do gás carreador: 51,7 mL min⁻¹ (SnCl₂) e 74,4 mL min⁻¹ (NaBH₄).

De acordo com os resultados obtidos na Figura 19A, para ambas soluções analisadas, observa-se um aumento do sinal até a vazão de 7 mL min⁻¹ e após esta, o sinal de absorvância tende a diminuir na presença da amostra. Na Figura 19B, com o aumento da vazão para 9 mL min⁻¹ ocorreu uma pequena diferença entre o sinal da solução aquosa e na presença da matriz da

amostra, fazendo com que eles ficassem mais próximos, sendo então condição a escolhida para os estudos posteriores.

5.3.4 Efeito da vazão do gás carreador

Outro parâmetro de extrema importância é a vazão do gás carreador, uma vez que este transporta o vapor frio gerado de Hg até a cela de absorção. Neste trabalho o gás Ar foi utilizado como gás carreador. Desta forma, a otimização da vazão foi realizada com o auxílio de um fluxômetro, para cada sistema de redução, empregando o sistema de fluxo contínuo. Para o sistema usando SnCl₂ como redutor, a faixa de vazão do gás carreador foi de 43,1 a 95,4 mL min⁻¹, enquanto que para o sistema usando o NaBH₄, a faixa de vazão avaliada foi de 62,6 a 126,0 mL min⁻¹. A Figura 20 apresenta os resultados obtidos deste estudo.

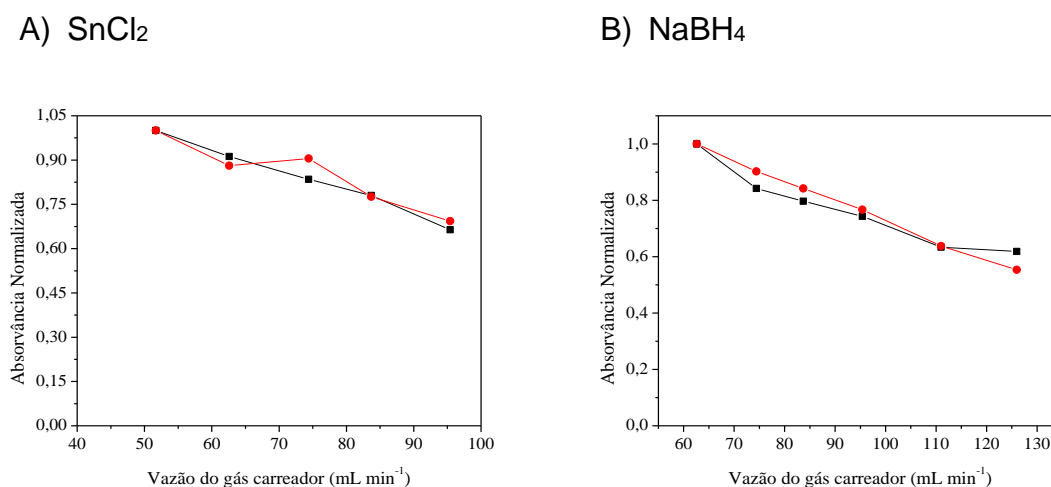


Figura 20 - Efeito da vazão do gás carreador na resposta analítica do Hg por CV AAS. (—■—) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ e (—●—) padrão de 5 µg L⁻¹ de Hg²⁺ com 5 g de glicerina.

De acordo com os resultados obtidos pela Figura 20A, para ambas soluções de Hg, a vazão de 51,7 mL min⁻¹ forneceu maior sinal. Com o aumento da vazão, foi observada uma diminuição do sinal de absorvância, provavelmente devido à diluição da nuvem atômica, pois quanto maior a vazão, uma quantidade maior de gás entra no sistema e mais diluído ficará o meio.

Comportamento similar foi observado na Figura 20B, sendo que a vazão de 62,6 mL min⁻¹ forneceu melhor sinal e esta foi escolhida para os demais experimentos.

5.3.5 Parâmetros de Mérito

Após otimizadas, as condições de maior sensibilidade para os três sistemas de geração de vapor avaliados, os parâmetros de mérito para determinação de Hg em amostras de glicerina, foram obtidos e são apresentados na Tabela 6. Para o sistema de geração fotoquímica de vapor (PVG-CV AAS), curvas de calibração foram construídas com e sem a presença de glicerina de grau farmacêutico, com padrões de calibração contendo Hg²⁺ em meio de 10% (v/v) de HCOOH em uma faixa linear de 2,5 a 10,0 µg L⁻¹. Para o sistema de geração química de vapor (CV AAS), empregando os agentes redutores SnCl₂ e NaBH₄, as curvas de calibração foram construídas de maneira similar, com padrões de Hg²⁺ em meio de 1,5% (v/v) e 0,5% (v/v) de HCl, respectivamente. A faixa linear foi de 2,5 a 10,0 µg L⁻¹.

Tabela 6 - Parâmetros de mérito para as curvas de calibração obtidas com diferentes métodos de geração de vapor por AAS.

	Inclinação (L µg⁻¹)	R	LD (µg L⁻¹)	LQ (µg L⁻¹)
PVG-CV AAS				
Sem glicerina	0,0183	0,9945	0,12	0,42
Com glicerina	0,0189	0,9999	0,05	0,19
CV AAS com SnCl₂				
Sem glicerina	0,0305	0,9991	0,04	0,12
Com glicerina	0,0313	0,9995	0,04	0,15
CV AAS com NaBH₄				
Sem glicerina	0,0237	0,9998	0,11	0,36
Com glicerina	0,0287	0,9950	0,13	0,43

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6, de um modo geral foi possível obter boas linearidades nas faixas de concentração avaliadas, tendo em vista que nas condições utilizadas, todos os coeficientes de correlação linear (R) foram maiores que 0,99. O sistema de redução com SnCl₂ foi o mais sensível, e bons valores de inclinação foram obtidos com o sistema de redução fotoquímica e com o NaBH₄. Para o método empregando o NaBH₄, pode-se observar que houve uma diferença entre os valores de inclinação com e sem a presença da matriz.

De modo a avaliar a eficiência de geração do sistema de redução fotoquímica, ou seja, a eficiência de formação de espécies voláteis que foram separadas no separador gás-líquido e transportadas para o sistema de detecção, fez-se uma estimativa comparando a resposta analítica obtida usando os sistemas convencionais de redução química com os redutores SnCl₂ ou NaBH₄. Através de uma comparação das inclinações das curvas de calibração obtidas pelos três sistemas, a eficiência de geração do sistema de redução fotoquímica foi determinada como sendo de 67% para o SnCl₂ e de 91,9% para a obtida pelo sistema de redução química com NaBH₄, o que demonstra que a geração fotoquímica de vapor apresenta excelente sensibilidade e é eficiente para a redução das espécies de Hg.

Os limites de detecção foram calculados a partir de três vezes o desvio padrão de dez medições consecutivas do branco analítico (n=10), dividido pelo valor da inclinação da curva de calibração. O limite de quantificação que expressa a menor massa ou concentração que pode ser quantificada com uma dada certeza estatística, foi calculado a partir de 10 vezes o desvio padrão dividido pelo valor da inclinação da curva de calibração. Os valores de LD e LQ encontrados ficaram ao nível de µg g⁻¹ e próximos, demonstrando que ambos os métodos de geração de vapor podem ser aplicados com confiança para determinação de Hg em amostras de glicerina.

Com o objetivo de avaliar o comportamento do sistema PVG-CV AAS frente a diferentes espécies de Hg (Hg²⁺, CH₃Hg⁺ e CH₃CH₂Hg⁺), foram construídas curvas de calibração para cada espécie de Hg e observado a resposta analítica. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Inclinações das curvas de calibração para as diferentes espécies de Hg em meio de HCOOH 10% (v/v).

	Inclinação (L μg^{-1})	R
Hg²⁺	0,0189	0,9973
CH₃Hg⁺	0,0136	0,9960
C₂H₅Hg⁺	0,0147	0,9975

De acordo com os valores de inclinação obtidos para as curvas de calibração com as diferentes espécies de Hg, ficou evidente a eficiência do sistema PVG-CV AAS para promover a geração fotoquímica de vapor de Hg⁰ utilizando a radiação UV, tanto a partir da espécie inorgânica quanto das espécies orgânicas de Hg em meio de HCOOH. Este fato está de acordo com os resultados obtidos anteriormente por Silva e colaboradores (2012) para os dois ácidos testados. Desta forma, a curva de calibração pode ser construída apenas com o padrão de Hg inorgânico, o que propicia a utilização de um padrão menos tóxico quando comparado com as outras espécies organometálicas.

Usando as condições otimizadas, a exatidão dos métodos de geração de vapor foi avaliada através de testes de recuperação, devido a inexistência de materiais de referência certificado para glicerina. As adições de Hg²⁺ foram realizadas em quatro níveis de concentração (2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de glicerina de grau farmacêutico (glicerina 1), que foram então submetidas aos três métodos de geração de vapor avaliados. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Resultados analíticos para os testes de recuperação de Hg²⁺ em amostras de glicerina 1 utilizando diferentes métodos de geração de vapor (n = 3).

Adições (µg L⁻¹)	Concentração, X±SD* (µg L⁻¹)	RSD (%)	Recuperação (%)
2,5			
PVG-CV AAS	2,41 ± 0,04	1,65	96,4
SnCl ₂	2,38 ± 0,01	0,42	95,2
NaBH ₄	2,33 ± 0,01	0,43	93,2
5,0			
PVG-CV AAS	5,14 ± 0,04	0,78	102,9
SnCl ₂	5,08 ± 0,01	0,19	101,6
NaBH ₄	4,86 ± 0,06	1,23	97,2
7,5			
PVG-CV AAS	7,47 ± 0,11	1,47	99,6
SnCl ₂	7,61 ± 0,01	0,13	101,5
NaBH ₄	7,45 ± 0,02	0,27	99,4
10,0			
PVG-CV AAS	9,02 ± 0,04	0,44	90,2
SnCl ₂	9,81 ± 0,01	0,10	98,1
NaBH ₄	9,93 ± 0,04	0,40	99,3

*Média da concentração ± desvio padrão, n = 3.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se verificar que as recuperações ficaram na faixa de 90,2 a 102,9% com valores de desvio padrão relativo menores que 1,7%, indicando uma boa exatidão e precisão dos métodos de geração de vapor empregados.

Duas amostras de glicerina de grau farmacêutico e duas amostras de glicerina bruta oriundas do processo de produção de biodiesel foram analisadas a fim de se determinar a concentração de Hg, usando os três métodos de geração de vapor. No caso dos métodos de geração química de vapor, as amostras foram preparadas em meio de HCl, enquanto para o método de geração fotoquímica de vapor, as amostras foram preparadas em meio de HCOOH, conforme descrito na seção experimental.

Quando as amostras de glicerina bruta foram analisadas por PVG-CV AAS, não foi possível obter a redução das espécies de Hg apenas na presença de HCOOH. Isso pode ter ocorrido devido à presença de algum concomitante dessa amostra, como por exemplo, o metanol, que pode ter dificultado a geração das espécies voláteis.

Assim, com base nos resultados obtidos por Silva et al., 2012 que analisaram amostras de álcool combustível, em presença de HCOOH, avaliou-se o efeito da adição de álcool etílico nas amostras de glicerina bruta, juntamente com o HCOOH, a fim de aumentar a capacidade de geração de radicais e promover mais facilmente a redução do Hg^{2+} . A Figura 21 apresenta os resultados obtidos referentes ao estudo da melhor concentração de álcool etílico a ser utilizada no preparo das amostras de glicerina bruta, em uma faixa de concentração de 0 a 50,0% (v/v) de álcool etílico em presença de 10% (v/v) de HCOOH.

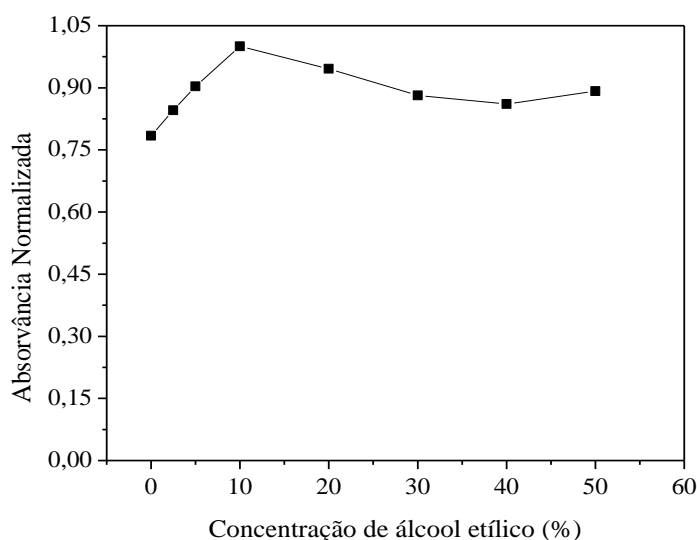


Figura 21 - Efeito da concentração de álcool etílico na resposta analítica do Hg por PVG-CV AAS. Massa de amostra: 5 g em 10% (v/v) de HCOOH e adição de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg^{2+} .

De acordo com os resultados obtidos, foi observado um aumento do sinal analítico até a concentração de 10% (v/v) de álcool etílico e, após esta concentração, houve uma diminuição do sinal. Sendo assim, ficou evidente que a adição de 10% (v/v) de álcool etílico nas amostras de glicerina bruta é necessária para auxiliar na formação dos radicais e promover a redução das

espécies de mercúrio. Assim, as amostras de glicerina bruta foram preparadas em meio de 10% (v/v) de HCOOH e 10% (v/v) de álcool etílico.

Os valores de concentração de Hg nas amostras de glicerina de grau farmacêutico ou glicerina oriunda do biodiesel, analisadas pelos três métodos de geração de vapor, ficaram abaixo do LD para cada método, indicando que não existe contaminação com Hg.

Como teve de ser adicionado um volume de álcool etílico na glicerina bruta para análise por PVG-CV AAS, foi realizado um novo teste de adição, mas agora contendo uma mistura das espécies de mercúrio que foram adicionadas nas amostras de glicerina bruta. Neste caso, a calibração foi realizada por meio de uma solução enriquecida com Hg^{2+} , CH_3Hg^+ , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}^+$ com concentrações iguais nas amostras. Por exemplo, para uma solução com uma concentração de $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg total foi adicionado $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie de Hg. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Resultados analíticos para os testes de recuperação de diferentes espécies de Hg em amostras de glicerina bruta por PVG-CV AAS (n = 3).

Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração medida $X \pm \text{SD}$ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	Recuperação (%)
Glicerina 3			
3,0	$2,53 \pm 0,01$	0,39	84,4
6,0	$6,39 \pm 0,01$	0,15	106,6
9,0	$9,39 \pm 0,01$	0,10	104,4
Glicerina 4			
3,0	$2,95 \pm 0,01$	0,34	98,5
6,0	$6,20 \pm 0,01$	0,16	103,4
9,0	$9,49 \pm 0,01$	0,10	105,5

De acordo com os resultados encontrados, as recuperações variaram entre 84,4 e 106,6% e os valores de desvio padrão relativo foram menores que 0,39%, apoiando a precisão e a exatidão do método. Estes resultados demonstram que o método proposto para a determinação de Hg total em

amostras de glicerina tratadas com ácido fórmico e álcool etílico é eficiente independente da forma das espécies de mercúrio presentes na amostra (organometálica ou inorgânica).

Como citado anteriormente, existem na literatura diversas técnicas analíticas consolidadas para determinação de Hg em diferentes tipos de amostras. Estas técnicas normalmente fazem uso da geração química de vapor convencional utilizando SnCl_2 e NaBH_4 como agentes redutores. No entanto, é nítido o interesse em aplicar estas técnicas para determinação elementar em amostras de biocombustíveis e combustíveis, devido à sensibilidade fornecida pelas mesmas e os bons valores de limite de detecção.

A geração fotoquímica de vapor acoplada à técnica de espectrometria atômica com vapor frio e que foi utilizada neste trabalho, apresentou resultados similares àqueles de outros trabalhos disponíveis na literatura, que realizaram a determinação de Hg em amostras de etanol combustível, glicerina e biodiesel, e melhores que aqueles obtidos para amostras de gasolina, conforme pode ser observado pelos dados apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Comparação dos limites de detecção para determinação de Hg em diversas amostras por diferentes métodos de geração de vapor

Amostra	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Técnica	Preparo da amostra	Referência
Etanol combustível	0,05	PVG-CV AAS	25 mL de etanol combustível + 1,3 mL de HCOOH ou 2,5 mL de H ₃ CCOOH	Silva et al. 2012
Biodiesel	0,03	FI-CV AAS com redutor SnCl ₂	1 mL de biodiesel + 3,0 mL de HNO ₃ + 1,5 mL Triton X-100	Aranda et al. 2009
Etanol combustível	0,05	CV AAS com redutor NaBH ₄	50% (v/v) etanol combustível + 50% (v/v) água deionizada	Almeida et al. 2012
*Glicerina	0,05	PVG-CV AAS	5 g de glicerina + 5,9 mL de HCOOH. Diluição com etanol.	Lisboa et al. 2015
Gasolina	0,1	PVG-CV AAS	66% de gasolina + 34% de propanol	De Jesus et al. 2014
Gasolina	0,08	CV-GF AAS com coluna de Au e NaBH ₄	25 mL de gasolina + 25 mL de etanol	Torres et al. 2010
Gasolina	0,10	CV AAS com redutor NaBH ₄	20 mL de gasolina + 15 mL de propanol + 1 mL de HNO ₃ 50%	Brandão et al. 2010
**Biodiesel	0,05	PVG-CV AAS	2 g de biodiesel + 11,8 mL de HCOOH	-

*Presente trabalho.

6.0 Conclusões

Embora as amostras de biodiesel e glicerina analisadas não tenham apresentado concentrações mensuráveis de Hg, todos os métodos desenvolvidos neste trabalho mostraram ser adequados para estas análises, com boa sensibilidade, apresentando bons limites de detecção e boa exatidão.

Embora os valores dos limites de detecção deste estudo sejam comparáveis com a maioria dos métodos descritos na literatura, os métodos propostos ainda se mostram atraentes por não empregar técnicas dispendiosas que utilizam reagentes redutores e por se tratar de uma determinação direta.

O ácido fórmico se mostrou um excelente precursor para a geração de espécies voláteis de Hg. O método de redução de Hg^{2+} com radiação UV em um reator fotoquímico é uma alternativa bem interessante no sentido de reduzir custos durante uma análise, pois usa uma quantidade pequena de reagentes, elimina a necessidade de se usar agentes redutores, que normalmente são instáveis, e fornece limites de detecção comparáveis aos obtidos pelos métodos convencionais usados para determinar o Hg por geração de vapor. Esta técnica não requer um tratamento extensivo da amostra, apenas uma simples diluição das mesmas com ácidos orgânicos de baixa massa molecular, sem a necessidade de usar outros equipamentos. A geração fotoquímica de vapor é uma técnica bastante promissora, além de ser uma ideia ambientalmente amigável e contribuir com alguns dos princípios da química verde.

Através de uma comparação das inclinações obtidas, a eficiência de geração do sistema de redução fotoquímica foi determinada como sendo de 108% da obtida pelo sistema de redução química com NaBH_4 e 67% para o SnCl_2 . Também, a eficiência de decomposição das espécies orgânicas (CH_3Hg^+ e $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}^+$) e a redução de Hg^{2+} a Hg^0 , permitiu que a calibração fosse realizada com padrões de Hg^{2+} para as duas amostras.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

Almeida, I.L.S.; Coelho, N.M.M. Direct Determination of Inorganic Mercury in Ethanol Fuel by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. **Energy & Fuels**, 26 (2012) 6003-6007.

Amorim, F.A.C.; Lobo, I.P.; Santos, V.L.C.S.; Ferreira, S.L.C. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multielementares. **Química Nova**, 31 (2008) 1784-1790.

ANP (a). Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Acesso em: 25 de maio de 2016. Disponível em: www.anp.gov.br/?id=470

ANP (b). Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Acesso em: 25 de maio de 2016. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/?pg=73292&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&1463528934213>

ANP (c). Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP Nº 7, DE 19.3.2008 - DOU 20.3.2008: Acesso em: 25 de maio de 2016. [http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2008/mar%C3%A7o/ranp%207%20-%202008.xml?f=templates\\$fn=documentframe.htm\\$3.0\\$g=\\$x=\\$nc=6637](http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2008/mar%C3%A7o/ranp%207%20-%202008.xml?f=templates$fn=documentframe.htm$3.0$g=$x=$nc=6637)

Aranda, P.R.; Gásquez, J.A.; Olsina, R.A.; Martinez, L.D.; Gil, R.A. Method development for Cd and Hg determination in biodiesel by electrothermal atomic absorption spectrometry with emulsion sample introduction. **Talanta**, 101 (2012) 353–356.

Aranda, P.R.; Pacheco, P.H.; Olsina, R.A.; Martinez, L.D.; Gil, R.A. Total and inorganic mercury determination in biodiesel by emulsion sample introduction and FI-CV-AFS after multivariate optimization. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, 24 (2009) 1441-1445.

Arruda, P.V.; Rodrigues, R.C.L.B.; Felipe, M.G.A. Glicerol: um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. **Revista Analytica**, 26 (2007) 56-62.

Bendicho, C.; Lavilla, I.; Pena-Pereira, F.; Romero, V. Green chemistry in analytical atomic spectrometry: a review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 27 (2012) 1831-1857.

Brandão, G.P.; Campos, R.C.; Luna, A.S. Determination of mercury in gasoline by cold vapor atomic absorption spectrometry with direct reduction in microemulsion media, **Spectrochimica Acta Part B**, 60 (2005) 625-631.

Capote, F.P.; Castro, M.D.L. Ultrasound in analytical chemistry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 387 (2007) 249-257.

Cavicchioli, A.; Gutz, I.G.R. O uso da radiação ultravioleta para o pré-tratamento de amostras em análise inorgânica. **Química Nova**, 26 (2003) 913-921.

Chu, R.C.; Barron, G.P.; Baumgarner, P.A. Arsenic determination at submicrogram levels by arsine evolution and flameless atomic absorption spectrophotometric technique. **Analytical Chemistry**, 44 (1972) 1476-1479

Clasen, C.D.; Lisboa, M.T.; Pinto, A.M.T.P.; Ribeiro, A.S.; Vieira, M.A. Avaliação de métodos de solubilização para determinação de metais em glicerina proveniente da produção de biodiesel por técnicas de espectrometria atômica. **Química Nova**, 38 (2015) 77-84.

Dasari, M.A.; Kiatsimkul, P. P.; Sutterlin, W.R.; Suppes, G.J. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. **Applied Catalysis A: General**, 281 (2005) 225-231.

De Jesus, A.; Sturgeon, R. E.; Liu, J.; Silva, M. M.; Determination of mercury in gasoline by photochemical vapor generation coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, 117 (2014) 100 -105.

De Jesus, A.; Zmozinski, A.V.; Vieira, M.A.; Ribeiro, A.S.; Da Silva, M.M. Determination of mercury in naphtha and petroleum condensate by photochemical vapor generation atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, 110 (2013) 227-232.

De Oliveira, L.C.C.; Vieira, M.A.; Ribeiro, A.S.; Lisboa, M.T.; Gonçalves, R.A.; De Campos, R.C. Determination of silicon in vegetable oil and biodiesel by High-Resolution Continuum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry using sample dilution with xylene. **Energy & Fuels**, 26 (2012) 7041-7044.

Deng, H.; Zheng, C.; Liu, L.; Wu, L.; Hou, X.; Lv, Y. Photochemical vapor generation of carbonyl for ultrasensitive atomic fluorescence spectrometric determination of cobalt. **Microchemical Journal**, 96 (2010) 277–282.

Felizardo, P.; Correia, M.J.N.; Raposo, I.; Mendes, J.F.; Berkemeier, R.; Bordado, J.M. Production of biodiesel from waste frying oils. **Wast Management**, 26 (2006) 487-494.

Ferreira, S.L.C.; Lemos, V.A.; Silva, L.O.B.; Queiroz, A.F.S.; Souza, A.S.; Da Silva, E.G.P.; Dos Santos, W.N.L.; Das Virgens, C.F. Analytical strategies of

sample preparation for the determination of mercury in food matrices — A review. **Microchemical Journal**, 121 (2015) 227-236.

Fjerbaek, L.; Christensen, K.V.; Norddahl, B. A Review of the Current State of Biodiesel Production Using Enzymatic Transesterification. **Biotechnology and Bioengineering**, 102 (2009) 1298-1315.

Gao, Y.; Shi, Z.; Long, Z.; Wu, P.; Zheng, C.; Hou, X. Determination and speciation of mercury in environmental and biological samples by analytical atomic spectrometry. **Microchemical Journal**, 103 (2012) 1–14.

Geris, R.; Santos, N.A.C.; Amaral, B.A.; Maia, I.S.; Castro, V.D.; Carvalho, J.R.M. Biodiesel de soja – Reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. **Química Nova**, 30 (2007) 1369-1373.

Gerpen, J.V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**, 86 (2005) 1097-1107.

Gil, S.; Lavilla, I.; Bendicho, C. Ultrasound-promoted cold vapor generation in the presence of formic acid for determination of mercury by atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, 78 (2006) 6260-6264.

Golimowski, J.; Golimowska, K. UV-photooxidation as pretreatment step in inorganic analysis of environmental samples. **Analytica Chimica Acta**, 325 (1996) 111-133.

Grinberg, P.; Sturgeon, R.E. Ultra-trace determination of iodine in sediments and biological material using UV photochemical generation-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 64 (2009) 235-241.

Guo, X.; Sturgeon, R.E.; Mester, Z.; Gardner, G.J. Photochemical alkylation of inorganic selenium in the presence of low molecular weight organic acids. **Environmental Science & Technology**, 37 (2003) 5645-5650. (b)

Guo, X.; Sturgeon, R.E.; Mester, Z.; Gardner, G. J. Photochemical alkylation of inorganic arsenic Part 1. Identification of volatile arsenic species. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 20 (2005) 702-708.

Guo, X.; Sturgeon, R.E.; Mester, Z.; Gardner, G.J. UV photosynthesis of nickel carbonyl. **Applied Organometallic Chemistry**, 18 (2004) 205-211(a)

Guo, X.; Sturgeon, R.E.; Mester, Z.; Gardner, G.J. UV vapor generation for determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, 75 (2003) 2092-2099 (b)

Guo, X.; Sturgeon, R.E.; Mester, Z.; Gardner, G.J. Vapor generation by UV irradiation for sample introductions with atomic spectrometry. **Analytical Chemistry**, 76 (2004) 2401-2405. (b)

Hatch, W. R.; W.L.; Ott, Determination of sub-microgram quantities of mercury by atomic absorption spectrophotometry. **Analytical Chemistry**, 40 (1968) 2085-2087.

He, Y.; Hou, X.; Zheng, C.; Sturgeon, R.E. Critical evaluation of the application of photochemical vapor generation in analytical atomic spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 388 (2007) 769–774.

Holak, W. Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. **Analytical Chemistry**, 41 (1969) 1712-1713.

Keera, S.T.; El Sabagh, S.M.; Taman, A.R. Transesterification of vegetable oil to biodiesel fuel using alkaline catalyst. **Fuel**, 90 (2011) 42-47.

Knothe, G.; Gerpen, J.V.; Krah, J.; Ramos, L.P. Manual de Biodiesel, São Paulo, 2006.

Lacerda, L.D.; Santos, A.F.; Marins, R.V. Emissões de mercúrio para a atmosfera pela queima de gás natural no Brasil. **Química Nova**, 30 (2007) 366-

369.

Lammers, P.J.; Kerr, B.J.; Honeyman, M.S.; Stalder, K.; Dozier, W.A.; Weber, T.E.; Kidd, M.T.; Bregendahl, K. Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. **Journal of Animal Science**, 87 (2008) 104-107.

Leopold, K.; Foulkes, M.; Worsfold, P. Methods for the determination and speciation of mercury in natural Waters-A review. **Analytica Chimica Acta**, 663 (2010) 127-138.

Lisboa, M. T.; Clasen, C. D.; Oreste, E. Q.; Ribeiro, A. S.; Vieira, M. A. Comparison between vapor generation methods coupled to atomic absorption spectrometry for determination of Hg in glycerin samples. **Energy & Fuels**, 29 (2015)1635-1640.

Lôbo, I.P.; Ferreira, S.L.C.; Cruz, R.S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, 32 (2009) 1596-1608.

Ma, F.; Hanna, M.A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, 70 (1999) 1-15.

Madden J.T.; Fitzgerald, N. Investigation of ultraviolet photolysis vapor generation with in-atomizer trapping graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of mercury. **Spectrochimica Acta Part B**, 64 (2009) 925–927.

Mahajan, S.; Konar, S.; Boocock, D. Variables Affecting the Production of Standard Biodiesel. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 84 (2007) 189-195.

Matusiewicz, H. Stanisiz, E. Evaluation of the catalyzed photo-cold vapour generation for determination of Mercury by AAS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 23 (2012) 247-257.

Mcsheehy, S.; Guo, X.; Sturgeon, R.E.; Mester, Z. Photochemical alkylation of inorganic arsenic Part 2. Identification of aqueous phase organoarsenic species using multidimensional liquid chromatography and electrospray mass spectrometry. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, 20 (2005) 709-716.

Micaroni, R.C.C.M.; Bueno, M.I.M.S.; Jardim, W.F. Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. **Química Nova**, 23 (2000) 487-495.

Modi, M.K.; Reddy, J.R.C.; Rao, B.V.S.K.; Prasad, R.B.N. Lipase-mediated transformation of vegetable oils into biodiesel using propan-2-ol as acyl acceptor. **Biotechnology Letters**, 28 (2006) 637-640.

Morel, F.M.M.; Kraepiel, A.M.L.; Amyot, M. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. **Annual review Ecology, Evolution and Systematics**, 29 (1998) 443-466.

Morita, M.; Yoshinaga, J.; Edmonds, J.S. The determination of mercury species in environmental and biological samples. **Pure and Applied Chemistry**, 70 (1998) 1585-1615.

Mota, C.J.A.; Pestana, C.F.M. Co-produtos da produção do biodiesel. **Revista Virtual de Química**, 3 (2011) 416-425.

Mota, C.J.A.; Silva, C.X.A.; Gonçalves, V.L.C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, 32 (2009) 639-648.

Narasimharao, K.; Lee, A.; Wilson, K. Catalysts in production of biodiesel: A review. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, 1 (2007) 19-30.

Nóbrega, J.A.; Sturgeon, R.E.; Grinberg, P.; Gardner, G.J.; Brophy, C.S.; Garcia, E.E. UV photochemical generation of volatile cadmium species. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, 26 (2011) 2519–2523.

Pinto, A.C.; Guarieiro, L.L.N.; Rezende, M.J.C.; Ribeiro, N.M.; Torres, E.A.; Lopes, W.A.; Pereira, P.A.P.; Andrade, J.B. Biodiesel: **An Overview Journal of the Brazilian Chemical Society**, 16 (2005) 1313-1330.

Pohl, P. Recent advances in chemical vapour generation via reaction with sodium tetrahydroborate. **Trends in Analytical Chemistry**, 23 (2004) 21-27.

Poluektov, N.S.; Vitkun, R.A.; Zelyukova, Y. A.; Zh. **Anal. Khim.** 1964, 19, 937.

Poluektov, N.S.; Vitkun, R.A.; Zh. **Anal. Khim.** 1963, 18, 33.

Ramadhas, A.S.; Jayaraj, S.; Muraleedharan, C. Use of vegetable oils as I.C. engine fuels – A review. **Renewable Energy**, 29 (2004) 727-742.

Revista Biodieselbr, n°16 (2010) pág. 18-40.

Revista Biodieselbr, n°3 (2008) pág. 16-20.

Ribeiro, A. S.; Vieira, M, A.; Curtius, A. J. Slurry Sampling for Hg Determination in Sediments, Sewage Sludge and Coal Samples by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 15 (2004) 825-831.

Ribeiro, A.S.; Vieira, M.A.; Willie, S.; Sturgeon, R.E. Ultrasound-assisted vapor generation of mercury. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, 388 (2007) 849–857.

Rivaldi, J.D.; Sarrouh, B.F.; Fiorilo, R.; Silva, S.S. Glicerol do biodiesel. **Biociência**, 37 (2009) 44-51.

Řužička, J.; Hansen, E. H. Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, 78 (1975) 145-157.

Sanchez-Rodas, D.; Corns, W.T.; Chen B.; Stockwell, P.B. Atomic Fluorescence Spectrometry: a suitable detection technique in speciation studies for arsenic, selenium, antimony and Mercury. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 25 (2010) 933–946.

Sánchez, R.; Sánchez, C.; Lienemann, C.P.; Todoli, J.L. Metal and metalloid determination in biodiesel and bioethanol. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30 (2015) 64-101.

Santos, E.J.; Herrmann, A.B.; Dos Santos, A.B.; Baika, L.M.; Sato, C.S.; Tormen, L.; Sturgeon, R.E.; Curtius, A.J. Determination of thimerosal in human and veterinarian vaccines by photochemical vapor generation coupled to ICP OES. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, 25 (2010) 1627-1632.

Scriver, C.; Kan, M.; Willie, S.; Soo, C.; Birnboim, H. Formic acid solubilization of marine biological tissues for multi-element determination by ETAAS and ICP-AES. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 381 (2005) 1460-1466.

Silva, C.S.; Oreste, E.Q.; Nunes, A.M.; Vieira, M.A.; Ribeiro, A.S. Determination of Mercury in ethanol biofuel by photochemical vapor generation. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, 27 (2012) 689-694.

Smichowski, P.; Farias, S. Advantages and analytical applications of chloride generation. A review on vapor generation methods in atomic spectrometry. **Microchemical Journal**, 67 (2000) 147-155.

Sturgeon, R.E.; Guo, X.; Mester, Z. Chemical vapor generation: are further advances yet possible? **Analytical Bioanalytical Chemistry**, 382 (2005) 881–883.

Sturgeon R.E.; Luong, V. Photo-and thermos-chemical vapor generation of mercury. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, 28 (2010) 1610-1619.

Sturgeon, R.E.; Grinberg, P. Some speculations on the mechanisms of photochemical vapor generation. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, 27 (2012) 222–231.

Suzuki, T.; Akagi, H.; Arimura, K.; Ando, T.; Sakamoto, M.; Satoh, H.; Naganuma, A.; Futatsuka, M.; Matsuyama, A. Mercury analysis manual. Ministry of the Environment, Japan, 2004, 105p.

Takase, I.; Pereira, H.B.; Luna, A.S.; Grinberg, P.; Campos, R.C. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, 25 (2002) 1132-1144.

Torres, D.P.; Dittert, I.M.; Höhn, H.; Frescura, V.L.A.; Curtius, A.J. Determination of mercury in gasoline diluted in ethanol by GF AAS after cold vapor generation, pre-concentration in gold column and trapping on graphite tube. **Microchemical Journal**, 96 (2010) 32-36.

Vicentino, P.D.; Brum, D.M.; Cassella, R.J. Development of a method for total Hg determination in oil samples by cold vapor atomic absorption spectrometry after its extraction induced by emulsion breaking. **Talanta**, 132 (2015) 733-738

Vieira, M.A.; De Oliveira, L.C.C.; Gonçalves, R.A.; Souza, V. R.; C. Campos. Determination of As in vegetable oil and biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Energy & Fuels**, 23 (2009) 5942-5946.

Vieira, M.A.; Ribeiro, A.S.; Curtius, A.J.; Sturgeon, R.E. Determination of total mercury and methylmercury in biological samples by photochemical vapor generation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 388 (2007) 837-847.

Vyas, A.P.; Verma, J.L.; Subrahmanyam, N.A review on FAME production processes. **Fuel**, 89 (2010) 1-9.

Welz, B. and Sperling, M. Atomic Absorption Spectrometry, VCH, Weinheim, 3rd edition, 1999.

Wilhelm, S.M.; Bloom, N. Mercury in petroleum. **Fuel Processing Technology**, 63 (2000) 1–27

Wong, J.H.; Park, J.Y.; Lee, T.G. Mercury emissions from automobiles using gasoline, diesel and LPG. **Atmospheric Environment**, 41 (2007) 7547-7552.

Wu, L.; Long, Z.; Liu, L.; Zhou, Q.; Lee, Y.; Zheng, C. Microwave-enhanced cold vapor generation for speciation analysis of mercury by atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, 94 (2012) 146-151.

Wu, P.; He, L.; Zheng, C.; Hou, X.; Sturgeon, R.E. Applications of chemical vapor generation in non-tetrahydroborate media to analytical atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 25 (2010) 1217-1246.

Xie, W.; Huang, X. Synthesis of biodiesel from soybean oil using heterogeneous KF/ZnO catalyst. **Catalysis Letters**, 107 (2006) 53-59.

Zheng, C.; Li, Y.; He, Y.; Ma, Q.; Hou, X. Photo-induced chemical vapor generation with formic acid for ultrasensitive atomic fluorescence spectrometric determination of mercury: potential application to mercury speciation in water. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 20 (2005) 746-750.

Zheng, C.; Yang, L.; Sturgeon, R.E.; Hou, X. UV photochemical vapor generation sample introduction for determination of Ni, Fe, and Se in biological tissue by isotope dilution ICP-MS. **Analytical Chemistry**, 82 (2010) 3899–3904.