

Ghislaine Marlyko de Souza Takashima

**MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EM
FASE REVERSA PARA A DETERMINAÇÃO DE COBRE,
CROMO E NÍQUEL EM BIODIESEL POR ESPECTROMETRIA
DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO
ELETROTÉRMICA**

Dissertação submetida ao Programa
de Pós Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
mestre em Química Analítica.
Orientador: Prof.a. Dra. Tatiane de
Andrade Maranhão

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Takashima, Ghislaine Marlyko de Souza
MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EM FASE
REVERSA PARA A DETERMINAÇÃO DE COBRE, CROMO E NÍQUEL EM
BIODIESEL POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM
ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA / Ghislaine
Marlyko de Souza Takashima ; orientador, Tatiane de
Andrade Maranhão , coorientador, Eduardo Sidinei
Chaves, 2017.
69 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e
Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química,
Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Química. 2. Biodiesel. 3. GF AAS. 4. Elementos
traços. 5. RP-DLLME. I. Maranhão , Tatiane de
Andrade. II. Chaves, Eduardo Sidinei. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Química. IV. Título.

**MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EM
FASE REVERSA PARA A DETERMINAÇÃO DE COBRE,
CROMO E NÍQUEL EM BIODIESEL POR ESPECTROMETRIA
DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO
ELETROTÉRMICA**

Esta Dissertação foi julgada e aprovada para obtenção do título de Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 28 de novembro de 2017.

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Tatiane de Andrade
Maranhão
Orientadora
UFSC

Prof.^o Dr.^o Luciano Vitali
Departamento de Química
UFSC

Prof.^o Dr.^o Eduardo Sidinei
Chaves
Coorientador
UTFPR

Prof.^a Dr.^a Belisa Alcantara
Marinho
Departamento de Eng Química
UFSC

Prof.^o Dr.^o Luiz Augusto dos
Santos Madureira
Departamento de Química
UFSC

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelas inúmeras vitórias alcançadas ao longo da minha vida.

A minha mãe Marly, meu padrasto Candido e ao meu falecido pai Paulo que sempre me motivaram a estudar e correr atrás dos meus sonhos.

A minha orientadora Tatiane de A. Maranhão, por toda a paciência, compreensão, auxílio e apoio durante esse período.

Ao meu co-orientador Eduardo S. Chaves que apesar da distância sempre se mostrou perto para incentivar, auxiliar e tirar qualquer dúvida.

A minha família que sempre estiveram me apoiando mesmo estando longe. Em especial a Mayara, Samandha, Yurika, Meyre, Wesley, Davi, Rodrigo, Maria Clara, Yasmin, Gabriela e Glauber.

Aos meus amigos do LEMA pelo suporte, companheirismo e amizade. Em especial a Thebny, Graziela, Patricia, Leticia, Leticia Z., Beatriz, Juliano, Jairo e Jesse.

As minhas amigas Natália e Thuany pela paciência e inúmeros conselhos, por sempre estarem ao meu lado me apoiando nos bons e maus momentos.

Agradeço também a todos amigos que conheci durante os 6 anos de UFSC, que colaboraram para meu crescimento e amadurecimento. Em especial a Jackeline, Aline, Renata, Paulo, Lúcio, Danilo, Lucilene, Mariele, Julia e Natalia Bueno.

Ao CNPq, Capes, Petrobrás e INCT pelo suporte financeiro.

RESUMO

O crescente interesse no estudo dos efeitos de elementos traços no meio ambiente tem alcançado diferentes setores da sociedade. A incidência e monitoramento de elementos traço é sempre motivo de atenção mesmo quando a legislação atual não contempla níveis reguladores para todos os poluentes. Este trabalho descreve o desenvolvimento de um método analítico para a determinação de cobre, cromo e níquel em amostras de biodiesel empregando a microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME) aliada a espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS). Foi efetuada inicialmente a otimização dos parâmetros relacionados a RP-DLLME e adotou-se uma única condição de compromisso para os três analitos. Dessa forma as microextrações foram realizadas usando ácido nítrico 5% v/v como solução extratora e 2-propanol como solvente dispersor na proporção 1:4 v/v da mistura, sendo uma alíquota de 500 μL injetada em uma massa de 3,5 g de amostra de biodiesel. Após a injeção, a amostra foi sonicada em banho de ultrassom por 10 minutos e posteriormente centrifugada por 5 minutos. A fase sedimentada foi separada e analisada por GF AAS. As temperaturas de pirólise e atomização para todos os analitos foram otimizadas em 600 °C e 2600 °C; e empregou-se tungstênio como modificador químico permanente. A curva de calibração por semelhança de matriz se fez necessário e o método aplicado em diferentes amostras de biodiesel se mostrou eficiente nas determinações, apresentando boa sensibilidade, precisão e exatidão, a faixa analítica de trabalho foi de 2,5 – 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e foram encontrados valores de limite de detecção (LOD) e

limite de quantificação (LOQ) de 0,8 pg g⁻¹ e 2,3 pg g⁻¹ para cobre, 2,0 pg g⁻¹ e 6,0 pg g⁻¹ para cromo e 1,0 pg g⁻¹ e 3,0 pg g⁻¹ para níquel.

Palavras-Chave: cobre, cromo, níquel, biodiesel, GF AAS, RP-DLLME

ABSTRACT

The growing interest in the study of the trace elements effects on the environment has reached different society sectors. The incidence and monitoring of trace elements is always a matter of attention even when the current legislation does not contemplate regulatory levels for all pollutants. This work describes the development of an analytical method for the determination of copper, chromium and nickel in biodiesel samples using reverse phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME) together with atomic absorption spectrometry with graphite furnace atomization (GF AAS). Initially, the optimization of RP-DLLME-related parameters was performed and a single compromise condition was adopted for all three analytes. Thus the microextractions were performed using 5% v / v nitric acid as the extractive solution and 2-propanol as the dispersing solvent in the ratio 1:4 v/v of the mixture, with a 500 μL aliquot being injected into a mass of 3.5 g of biodiesel sample. After injection, the sample was sonicated in an ultrasonic bath for 10 minutes and then centrifuged for 5 minutes. The sediment phase was separated and analyzed by GF AAS. The pyrolysis and atomization temperatures for all analytes were optimized at 600 °C and 2600 °C; and tungsten was used as a permanent chemical modifier. The calibration curve by matrix similarity was necessary and the method applied in different biodiesel samples was efficient in the determinations, presenting good sensitivity, precision and accuracy, the analytical working range was 2.5 - 20.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ and values of limit of detection (LOD) and Limit of quantitation (LOQ) were obtained of 0.8 pg g^{-1} and 2.3 pg g^{-1} for copper, 2.0 pg g^{-1} and 6.0 pg g^{-1} for chromium and 1.0 pg g^{-1} and 3.0 pg g^{-1} for nickel.

Keywords: copper, chromium, nickel, biodiesel, RP-DLLME

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Avaliação quanto ao melhor solvente dispersor para a RP-DLLME em amostras de biodiesel. Extração realizada com 500 μL da mistura extratora e dispersora na proporção 1:4 v/v, 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μL de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g^{-1} e 5 minutos de US e centrifugação.....	39
Figura 2. Otimização da concentração de ácido nítrico da solução extratora por RP-DLLME para Cu, Cr e Ni. Extração realizada com 500 μL da mistura extratora e dispersora na proporção 1:4 v/v, 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μL de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g^{-1} e 5 minutos de US e centrifugação.....	40
Figura 3. Otimização da proporção extratora, HNO_3 5%, e dispersora, 2-propanol, por RP-DLLME para Cu, Cr e Ni. Extração realizada com 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μL de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g^{-1} e 5 minutos de US e centrifugação. A) Volume de injeção de 500 μL e B) Volume de injeção de 1 mL.....	42
Figura 4. Avaliação e otimização do tempo de ultrassom e a influência do aquecimento a 50 $^\circ\text{C}$ na pré concentração para (a) Cr, (b) Cu e (c) Ni. Extração realizada com 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μL de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g^{-1} e 5 minutos de centrifugação.....	44
Figura 5. Avaliação e otimização do tempo de centrifugação da RP-DLLME para a pré concentração de Cu, Cr e Ni. Extração realizada com 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μL de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g^{-1}	45

Figura 6. Curvas de pirólise e atomização para Cu, Cr e Ni aplicando a RP-DLLME com os parâmetros otimizados da técnica. 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Programa de temperatura adotado para determinação de Cu, Cr e Ni empregando a RP-DLLME.....	35
Tabela 2. Parâmetros de mérito para as curvas de calibração por adição de analito utilizando a RP-DLLME.....	49
Tabela 3. Parâmetros de mérito para a curvas de calibração por semelhança de matriz utilizando a RP-DLMME.....	49
Tabela 4. Valores de t tabelado <i>versus</i> t calculado para Cu, Cr e Ni.....	50
Tabela 5. Avaliação da exatidão do método analítico proposto através de testes de adição e recuperação.....	50
Tabela 6. Resultados obtidos da quantificação de Cu, Cr e Ni em diferentes amostras de biodiesel.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DLLME - Microextração líquido-líquido dispersiva (*Dispersive liquid-liquid microextraction*)

RP-DLLME - Microextração líquido-líquido dispersiva de fase reversa (*Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction*)

US - Ultrassom (*Ultrasound*)

LLE - Extração líquido-líquido (*Liquid-liquid extraction*)

GF AAS - Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (*Graphite furnace atomic absorption spectrometry*)

FAAS - Espectrometria de absorção atômica em chama (*Flame atomic absorption spectrometry*)

MME - Ministério de minas e energia

RPM - Rotações por minuto (*Revolutions per minute*)

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência (*High performance liquid chromatography*)

LPME - Microextração em fase líquida (*Liquid-phase microextraction*)

LOQ - Limite de quantificação (*Limit of quantification*)

LOD - Limite de detecção (*Limit of detection*)

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

HR-CS AAS - Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (*High resolution continuum source atomic absorption spectrometry*)

HR- CS GF AAS - Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com forno de grafite (*High resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry*)

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	5
RESUMO	7
ABSTRACT.....	9
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	15
SUMÁRIO	17
1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1. Biodiesel.....	21
2.2. Metais traços.....	23
2.3. Espectrometria de absorção atômica	26
2.4. Pré-tratamento de amostras	28
3. OBJETIVOS	31
3.1. Objetivo geral	31
3.2. Objetivos específicos.....	31
4. METODOLOGIA	33
4.1. Instrumentação	33
4.2. Materiais e Reagentes.....	33
4.4. Procedimento Experimental	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1. Tipo de solvente dispensor.....	37

5.2.	Avaliação e otimização da concentração de ácido nítrico da solução da extratora: Solução aquosa de ácido nítrico	39
5.3.	Avaliação e otimização da proporção e volume de injeção da mistura extratora e dispersora	41
5.4.	Tempo de ultrassom e influência do aquecimento	42
5.5.	Avaliação e otimização do tempo de centrifugação	44
5.6.	Curvas de pirólise e atomização e otimização do programa de temperatura	46
5.7.	Determinação e verificação da exatidão do método.....	47
6.	CONCLUSÃO.....	53
7.	REFERÊNCIAS	55

1. INTRODUÇÃO

Uma das limitações associadas à determinação de metais em amostras de interesse ambiental está relacionada a complexidade da matriz, que normalmente requer elevados fatores de diluição, o que limita a detecção de vários elementos por diversas técnicas analíticas convencionais. Nesse contexto, entra o biodiesel, um combustível biodegradável com grande demanda mundial, que pode ser obtido por diferentes métodos de produção e sofre influência significativa pela a contaminação de metais, mesmo em baixas concentrações, que afeta diretamente na qualidade do produto final. Dessa forma, legislações mais rigorosas tem sido criadas a fim de controlar a qualidade do biodiesel.¹ Por apresentar uma matriz complexa, o preparo da amostra se torna uma das principais etapas do método analítico, e é de grande importância para a obtenção de baixos valores de LOD e de resultados precisos e exatos. Para minimizar este problema, diferentes métodos têm sido propostos a fim de otimizar e apresentar alternativas para monitorar a presença de contaminantes.

A DLLME é uma técnica de preparo de amostra que supera muitas das limitações dos procedimentos de extração convencionais. É uma técnica rápida e simples, e emprega altos valores de razão de fases; além de possuir baixo custo, possibilitar melhora significativa na sensibilidade e elevada eficiência para a remoção de interferentes da matriz. A técnica permite que a separação e pré-concentração do analito seja feita em uma única etapa, reduzindo riscos de perdas de analito e contaminação da amostra.^{2,3} Na DLLME convencional uma mistura do solvente dispersor e extrator é adicionada em uma amostra aquosa,

ocasionando a formação de uma dispersão que apresenta um estado turvo, consistindo de inúmeras microgotas da solução extratora em contato, favorecido pela presença do dispersor, com o meio que contém o analito, o que viabiliza a transferência do analito da amostra para a solução extratora. A pré-concentração de metais por DLLME é possível por meio da adição de um agente quelante em uma amostra aquosa e a extração do metal ocorre pela formação de complexos metálicos hidrofóbicos transferidos para uma fase orgânica.^{4,5}

Na RP-DLLME a amostra apresenta caráter apolar, portanto utiliza-se solventes extratores aquosos em vez do uso de solventes extratores orgânicos, normalmente utilizados na DLLME convencional. Um pequeno volume de água é disperso em um solvente orgânico de polaridade média que atua como solvente dispersor para facilitar a partição do analito da fase orgânica para a fase aquosa. Dessa forma a fase aquosa sedimentada, após a centrifugação, é extraída e a concentração dos analitos determinada.⁶

Este trabalho tem como objetivo principal o desenvolvimento e aplicação de um método analítico empregando a RP-DLLME para a determinação de cobre, cromo e níquel em biodiesel por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Biodiesel

A demanda mundial por combustíveis se intensifica a cada ano devido à crescente industrialização e modernização estimulada pelo desenvolvimento de máquinas que convertem a energia armazenada em uma variedade de recursos essenciais utilizados no dia-a-dia. A partir da crise mundial do petróleo na década de 1970, e a conscientização ambiental gerada pela poluição do meio ambiente devido a queima de combustíveis fósseis, fontes alternativas de combustíveis tem sido pesquisadas, como o caso do biodiesel.^{7,8}

Segundo o Ministério de Minas e Energia (MME) 2012, o biodiesel é um combustível biodegradável que pode ser obtido por diferentes processos tais como o craqueamento, esterificação ou pela transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais, sendo este último o método mais comumente utilizado. Devido à sua disponibilidade em grandes quantidades, entre as demais fontes de combustível renovável, o biodiesel é uma ótima alternativa para os motores a diesel, principalmente pela sua produção economicamente viável. Além disso, o Biodiesel é biodegradável, oxigenado, não tóxico, e pode ser obtido a partir de óleos provenientes de dezenas de espécies de vegetais, tais como mamona, palma, girassol, babaçu, amendoim, soja, dentre outras. As propriedades do biodiesel são, em sua maioria, determinadas pela matéria-prima utilizada na sua fabricação, uma vez que a composição de ácidos graxos são dependentes do óleo vegetal utilizado como matéria-prima.^{8,9}

Atualmente, o diesel comercializado no Brasil é uma mistura de diesel e biodiesel. O biodiesel substitui parcialmente o óleo diesel de petróleo em motores ciclodiesel automotivos e estacionários. Esta percentagem tem sido aumentada desde 2008, quando o valor obrigatório era de 2% v/v. Estima-se que em 2019, o teor de biodiesel será de 10% v/v. Em geral, o uso de misturas de diesel e biodiesel podem melhorar a qualidade do combustível e apresentam efeitos positivos sobre as emissões de gases de escapes.^{10, 11}

Um das desvantagens do biodiesel é a sua baixa estabilidade oxidativa devido ao grande percentual de sítios de reação ativos provenientes de ésteres insaturados em sua composição. Os efeitos da degradação oxidativa são de grande preocupação em termos de manutenção da qualidade do combustível, a garantia do fabricante não é estendida para as peças de automóveis que utilizam combustíveis com mais de 20% v/v de biodiesel. A oxidação altera diversas propriedades físico-químicas do biodiesel, resultando eventualmente em depósitos insolúveis na superfície das peças, favorecendo a obstrução do sistema de injeção de combustível. A elevação do potencial de corrosão das peças é resultado da acidez total e a ótima lubrificação apresentada pelo biodiesel. O mecanismo de degradação é um processo de reações radicalares de múltiplos estágios, onde produtos primários se decompõem e interagem quimicamente uns com os outros para formarem produtos de oxidação secundária.^{12,13}

Na presença de metais, mesmo em quantidades traços, ocorre a aceleração da oxidação do biodiesel e conseqüentemente a sua degradação. Os contaminantes metálicos podem ser derivados de diversas fontes, tais como os recipientes de armazenamento, transporte,

ou oriundos do próprio processo de produção do biodiesel. Outros fatores que também influenciam a oxidação é o teor de água, oxigênio, aquecimento e a exposição à radiação ultravioleta. Tais problemas resultam danos irreparáveis a bomba de injeção e ao motor.^{1,14,15} Desse modo, legislações foram criadas para assegurar a qualidade do biodiesel através de determinações de diversos parâmetros. No Brasil, as propriedades do biodiesel devem estar de acordo com as normas impostas pela Agência Nacional do Petróleo, gás natural e biocombustíveis (ANP) Resolução N ° 45, 2014. No Estados Unidos vigora a norma ASTM D6751-15^a; e na Europa, a norma BS EN 14214: 2012 + A1: 2014.¹¹

2.2. Metais traços

Nos últimos anos, a determinação de metais a níveis traços no ambiente tem sido alvo dos químicos analíticos. Em baixas concentrações, determinados metais são micronutrientes essenciais e têm uma variedade de funções bioquímicas em todos os organismos vivos. Entretanto, por ação antrópica pode elevar a concentração destes elementos no meio e assim tendo a possibilidade de bioacumular, o que gera efeitos negativos devido à toxicidade associada a estes. Por isso o enfoque de análises traços em amostras ambientais e de alimentos tem se tornado frequente.^{16,17,18}

Além do desgaste do motor e da bomba de injeção, a presença traços de metais no biodiesel pode contribuir para o aumento de emissões de gases na atmosfera. Embora as emissões sejam muito baixas, elas são prejudiciais para a saúde humana devido ao seu elevado potencial tóxico, pois quando inalados, aumentam o estresse oxidativo nas estruturas

celulares. As concentrações de metais nos gases de escapes também podem variar em virtude do tipo combustível.^{19,20}

O cromo é um metal duro, brilhante, frágil, geralmente é obtido através da cromita, FeCr_2O_4 , e possui o ponto de fusão de 1890 ± 10 °C. O metal se dissolve com certa facilidade em ácidos minerais não oxidantes, e seus principais estados de oxidação são +2, +3 e +6.²¹ O cromo hexavalente é a espécie mais tóxica, nociva para a pele, fígado, rim e órgãos respiratórios, podendo gerar diversas doenças, como dermatite e necrose tubular renal. Quando inalado pode ocasionar perfurações do septo nasal, bronquite, asma, câncer de pulmão e outras diversas doenças.^{22,23}

O níquel é um metal de coloração branca, possui condutividade térmica e elétrica elevada, ferromagnético e se funde a 1452 °C. É bastante utilizado na galvanoplastia devido à resistência ao ataque por água e ar. O metal é moderadamente eletropositivo e se dissolve facilmente em ácidos minerais diluídos.²⁴ O Ni em excesso é altamente tóxico devido ao seu potencial carcinogênico e mutabilidade do DNA, bioacumula-se principalmente na medula espinhal, cérebro e órgãos. O caso mais difundido do níquel na saúde humana é a dermatite endógena induzida pela ingestão de níquel.^{25,26}

O cobre é bastante disperso pela natureza, por isso pode ser encontrado em diversos minérios, como calcocita, calcopirita e bornita. Ele é um metal vermelho, macio, dúctil e miscível com ouro em todas as proporções. Em contato com ar, se oxida superficialmente formando uma película em volta e se dissolve facilmente em ácido nítrico e sulfúrico.^{21,27} Além de ser um elemento essencial para a vida humana, a sua deficiência pode gerar anemia, doenças isquêmicas do coração e desordens ósseas.

A ingestão excessiva pode provocar lesões nas células sanguíneas, náuseas, vômitos, insuficiência renal, inibição do sistema nervoso central e envenenamento no fígado.^{28,29}

Embora ainda não exista legislação específica no controle de Cu, Ni e Cr no biodiesel, é demonstrado que a presença elevada destes causam graves consequências, tanto na atmosfera quanto na saúde humana, além de danos aos motores e bombas de injeção. Como vivemos em uma época de desenvolvimento sustentável, aliada à grande demanda mundial de biodiesel, há uma necessidade de uma fiscalização mais rígida para assegurar a qualidade do biodiesel e minimizar os possíveis problemas gerados por este no futuro. A determinação destes metais em amostras como biodiesel requer o uso de técnicas analíticas sensíveis e seguras para a correta avaliação da problemática.

As técnicas de espectrometria atômica são amplamente empregadas na determinação de metais a níveis traço nas mais variadas matrizes por apresentar boa precisão e exatidão. A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado ICP OES e espectrometria de absorção atômica em chama F AAS são as técnicas comumente empregadas nas metodologias oficiais americana, brasileira e europeia, para a determinação de metais no biodiesel.^{8,11} A F AAS é amplamente empregada devido ao seu baixo custo e simplicidade, indicada principalmente para análises na ordem mg L^{-1} . Em contrapartida, o ICP OES permite a realização de análises multielementares com limites de detecção geralmente na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} , o equipamento utilizado é de alto desempenho porém com elevado custo operacional.^{30,31}

2.3. Espectrometria de absorção atômica

A técnica utiliza o fenômeno de absorção de radiação em comprimento de onda específico para cada elemento, para determinar a sua concentração em uma dada amostra. O que se mede diretamente não é a quantidade de luz absorvida, mas sim a quantidade que não é absorvida pelos átomos.^{32,33}

Em termos gerais, a instrumentação se resume em fonte de radiação, atomizador, monocromador e detector. A fonte de radiação consiste em uma lâmpada com emissão em fonte de linhas, que geralmente é uma lâmpada de cátodo oco do próprio elemento a qual se deseja analisar. O atomizador é o responsável em gerar átomos livres do analito, tornando-os apto a absorver a radiação proveniente da fonte de radiação.^{30,34}

A atomização pode ser eletrotérmica ou em chama, na espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS) átomos livres são produzidos por uma chama alimentada por uma mistura de um gás combustível e um gás oxidante. Na atomização eletrotérmica, o atomizador consiste em um tubo de grafite que é aquecido pela resistência à passagem de uma alta corrente elétrica.^{30,35}

A técnica de GF AAS utiliza pequenos volumes da amostra, na ordem de microlitros, e permite a aplicação de um programa de temperatura, que promove a máxima eliminação da matriz, diminuindo problemas de interferências. Etapas típicas de programas de temperaturas incluem secagem, pirólise, atomização e limpeza.^{31,36} A pirólise e atomização são as etapas fundamentais do programa de temperatura, e as temperaturas utilizadas dependem da matriz e do analito. Por isso, curvas

de pirolise e atomização são construídas para o estudo das condições térmicas da amostra. Uma pirolise eficiente consiste em uma alta temperatura, onde ocorra a máxima eliminação da matriz sem a perda do analito; e uma atomização eficiente consiste na menor temperatura necessária para produzir o maior sinal analítico.^{30,37}

Por fim, o monocromador seleciona o comprimento de onda específico do elemento, impedindo que outras linhas alcancem o detector; o detector transforma o sinal analítico em corrente elétrica, e amplifica-o para a geração do sinal transiente.³¹

Com a finalidade de aumentar o tempo de vida útil do forno de grafite, modificadores químicos podem ser utilizados. Existem dois tipos de modificadores, os que são adicionados em cada ciclo de injeção, os líquidos, e os permanentes, os que são depositados no tubo de grafite em uma etapa de pré-tratamento do forno. Eles influenciam nos processos químicos que ocorrem no atomizador, ajudando na remoção de concomitantes indesejáveis e também podendo aumentar a estabilidade térmica do analito.^{38,39} O tungstênio é um modificador químico permanente bastante utilizado, pois em contato com o forno gera uma película protetora de carbeto de tungstênio que impede o contato direto do forno com as soluções.⁴⁰

Apesar de ser uma técnica potencialmente sensível, a GF AAS pode incluir na etapa de preparo de amostra uma estratégia de pré-concentração de forma a possibilitar ganho em sensibilidade.

A miniaturização da extração líquido-líquido convencional gerou uma diversidade de técnicas de microextração em fase líquida (LPME), que empregam a extração e pré-concentração do analito, ao mesmo tempo que promove uma maior eliminação de concomitantes da amostra. A

LPME aliada a GFAAS, tem sido cada vez mais empregada na determinação de metais e metaloides, devido à ampla compatibilidade e vantagens apresentada, que incluem a harmonização com a maioria dos solventes utilizados, rapidez, elevada sensibilidade a um custo baixo em comparação a outras técnicas e a utilização de pequenos volumes para a realização da análise.⁴¹

2.4. Pré-tratamento de amostras

As técnicas de preparo de amostras sempre foram alvo de atenção em química analítica e o interesse em desenvolver novas metodologias é crescente tendo em vista à grande necessidade de determinações a níveis traços de metais em matrizes complexas, com resultados rápidos e confiáveis. A preparação da amostra é a etapa crucial de um processo analítico, pois influencia significativamente no tempo total da análise, na qualidade dos resultados e no custo da análise. Um procedimento ideal, deve pré-concentrar o analito, remover os possíveis interferentes e tornar a amostra compatível com o instrumento analítico desejado. Dessa forma, os estudos atuais estão voltados na melhoria desse procedimento, focando na sua miniaturização, simplificação, automação, economia e na redução de resíduos.^{42,43}

A extração líquido-líquido (LLE) é uma técnica clássica que ainda é bastante utilizada em técnicas de separação e na química analítica. Sua aplicação em técnicas de preparo de amostras tem diminuído principalmente devido ao consumo de tempo e a geração de grandes quantidades de resíduos, em sua maioria orgânicos e tóxicos.^{43,44} A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) é uma técnica de pré-

concentração e como o próprio nome sugere, a DLLME é uma derivação miniaturizada da LLE, que tem atraído grande atenção devido à sua ampla gama de aplicações para contaminantes orgânicos e inorgânicos em matrizes complexas.⁴⁵

Na DLLME, a mistura apropriada de solvente extrator e de solvente dispersor é injetada de forma manual e rápida em uma amostra aquosa com auxílio de uma seringa, formando uma solução turva, representando a mistura de ambas as fases, aquosa e orgânica, facilitada por um co-solvente que atua como dispersor, auxiliando a dispersão do solvente extrator orgânico na amostra aquosa, dessa forma aumentando a área de contato entre ambas as fases e elevando a eficiência da microextração. A solução turva é centrifugada e a fase orgânica é coletada e encaminhada para análise.^{46,47,48} A DLLME é uma técnica com crescente utilidade pois oferece bons fatores de recuperação, baixo custo, rapidez, simplicidade de operação e menor consumo de solventes. Os parâmetros mais importantes da técnica incluem a escolha do solvente extrator e dispersor, a proporção e o volume de injeção da mistura de solvente extrator e dispersor.^{42,49}

As limitações da DLLME estão relacionadas principalmente com os pré-requisitos do solvente extrator. O solvente extrator deve ter capacidade para extrair os analitos, ter baixa solubilidade em água, ser compatível com a instrumentação analítica utilizada, e a mistura solvente extrator e dispersor deve formar uma solução turva quando injetada na amostra. Os solventes clorados são comumente utilizados, pois são os que se encaixam melhor nessas características. Métodos alternativos foram propostos com o objetivo de tornar a técnica mais robusta e menos poluente.^{50,51}

A RP-DLLME é um método derivado da DLLME, onde há a inversão da polaridade do solvente extrator, ocasionando a substituição de solventes orgânicos clorados tóxicos, bastante usados na DLLME, por água. Em geral, nesta técnica, o solvente dispersante moderadamente polar é disperso em um pequeno volume de água ou solução tampão aquosa. A mistura é injetada em uma amostra orgânica com densidade menor que a água para a formação do ponto nuvem, fenômeno evidenciado pela turbidez observada na mistura, neste momento a extração dos analitos é favorecida. Posteriormente, a mistura pode ser submetida a ação do ultrassom, e encaminhada a centrifugação, obtendo uma fase sedimentada de interesse.^{4,6} O uso da RP-DLLME em amostras orgânicas tais como óleos vegetais e biodiesel, é viável por permitir as vantagens associadas a procedimentos de extração/pré-concentração minimizando efeitos de matriz. No entanto, a determinação de metais requer técnicas analítica sensíveis que associadas a RP-DLLME potencialize a metodologia analítica

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo do trabalho foi desenvolver e aplicar um método analítico empregando a microextração líquido-líquido dispersiva de fase reversa para a determinação de cobre, cromo e níquel em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a melhor proporção e o volume de injeção da mistura extratora e dispersora na pré-concentração de cobre, cromo e níquel;
- Otimizar a concentração de ácido nítrico da solução da extratora;
- Otimizar o tempo de ultrassom e centrifugação na RP-DLLME;
- Construir as curvas de pirólise e atomização para cada analito;
- Avaliar a técnica de calibração adequada para quantificação dos analitos;
- Verificar a exatidão do método analítico utilizando testes de adição recuperação e a precisão por meio do desvio padrão relativo.
- Aplicar as condições otimizadas para determinação de Cu, Cr e Ni em amostras de biodiesel provenientes de diversas fontes.

4. METODOLOGIA

4.1. Instrumentação

Todas as análises foram conduzidas em um espectrômetro de alta resolução com fonte contínua modelo ContrAA 700 da AnalytikJena (Jena, Germany), equipado com atomizador eletrotérmico com aquecimento transversal e amostrador automático para líquidos MPE 60/1 (AnalytikJena). Todas as medidas foram realizadas utilizando um forno de grafite recoberto com grafite pirolítico e sem plataforma. Os comprimentos de onda utilizados para os estudos foram 324,7540; 357,8687 e 232,0030 nm para Cu, Cr e Ni, respectivamente.

Para eliminação das possíveis impurezas presentes na água, foi utilizado um desionizador em Milli-Q com resistividade de $18,2 \text{ m}\Omega \text{ cm}^{-1}$ (Milipore, Massachusetts, Estados Unidos). Para garantir um elevado índice de pureza do ácido nítrico, utilizou-se um destilador de quartzo (Kürner Analystechnik, Rosenheim, Alemanha) para sua bi-destilação. Foi utilizada uma balança analítica, modelo AG 204 (Meter Toledo, Massachusetts, Estados Unidos) para a pesagem de amostras e reagentes.

Para a realização do procedimento da RP- DLLME, utilizou-se uma centrífuga Excelsa Baby II (Fanem, São Paulo, Brasil) e um banho ultrassônico T-50 (Thornton, São Paulo, Brasil).

4.2. Materiais e Reagentes

Soluções de Cu^{+2} , Cr^{+2} , e Ni^{+2} na concentração de 1 g L^{-1} SpecSol (Quimlab, São Paulo, Brasil) foram utilizadas como padrões estoque e

diluídas para construção das curvas de calibração aquosa. Ácido nítrico (Vetec, São Paulo, Brasil) foi bi-destilado e utilizado em todo o estudo para a preparação da solução extratora. Para a construção da curva de calibração por semelhança de matriz e adição de analito, foi utilizado padrão orgânico de Cu, Cr e Ni em óleo mineral (Newquímica, São Paulo, Brasil) na concentração de 900 ng g⁻¹.

Para a realização da RP-DLLME foram utilizados tubos de fundo cônico de 15 mL de polipropileno (PP) (Sarstedt, Nümbrecht, Alemanha), seringa modelo “gastight” de 1 mL (Hamilton, Nevada, Estados Unidos) para injeção da mistura extratora e dispersora; e uma microseringa de 50 µL (Hamilton, Nevada, Estados Unidos) foi utilizada para a coleta da fase aquosa após procedimento de extração. Como solvente extrator utilizou-se solução aquosa acidificada e como solvente dispersor foi utilizado 2-propanol grau HPLC (Zilquímica, São Paulo, Brasil). Para a descontaminações das seringa utilizou-se acetona grau HPLC (Zilquímica, São Paulo, Brasil).

O modificador químico permanente de tungstênio empregado nas análises foi preparado a partir do sal (NH₄)₂WO₄ (SPEX, Metuchen, USA). As amostras de biodiesel foram obtidas a partir do laboratório de espectrometria atômica e de massas (LEMA) aliada ao laboratório de resíduos (LARES) localizada no departamento de química da UFSC, no campus Trindade, em Florianópolis.

4.3. Programa de Temperatura

Na Tabela 1 encontra-se o programa de temperatura adotado para as determinações de Cu, Cr e Ni empregando a espectrometria de

absorção atômica com atomização em forno de grafite. O uso de modificador químico permanente se fez necessário para prolongar o tempo de vida útil do tubo nas otimizações do método e posteriormente nas determinações. Por isso utilizou-se o modificador químico permanente de tungstênio.

Tabela 1. Programa de temperatura adotado para determinação de Cu, Cr e Ni empregando a RP-DLLME

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Tempo (s)	Vazão de gás
Secagem	90	3	20	Máx.
Secagem	120	5	30	Máx.
Pirólise	600	300	10	Máx.
Adaptação do gás	600	0	5	STOP
Atomização	2600	1500	5 ^{Cu} ;7 ^{Nie Cr}	STOP
Limpeza	2700	500	4	Máx.

4.4. Procedimento Experimental

Para a realização da RP-DLLME, inicialmente foram adicionados 3,5g de biodiesel em um frasco de propileno PP de 15,0 mL. Com o uso da seringa “*gastight*”, 500 µL da mistura do agente extrator, HNO₃ 5% v/v, e dispersor, álcool isopropílico, previamente preparada na proporção 1:4 v/v, foi injetada rapidamente ao biodiesel para auxiliar a turbulência do sistema. A amostra foi encaminhada para o ultrassom (US) por 10 minutos seguidos por centrifugação a 3000 rpm

por 5 minutos. O excesso da fase orgânica foi descartado com auxílio de uma pipeta e a fase aquosa foi recolhida com uma micro seringa para a análise, sendo introduzidos 20 μL desta solução no forno de grafite, previamente recoberto com tungstênio.

Para a otimização dos parâmetros relacionado a técnica, a amostra de biodiesel foi previamente enriquecida com 5 μL do padrão orgânico de Cu, Cr e Ni a 900 n g^{-1} .

Para as determinações, utilizou-se a técnica de calibração por semelhança de matriz, onde cada ponto da curva foi submetido a RP-DLLME. O biodiesel utilizado para a construção da curva de calibração foi previamente tratado através de uma extração líquido-líquido com uma solução aquosa de HNO_3 10% para assim obtermos um biodiesel livre de metais. Para cada 50 mL de biodiesel utilizou 3 alíquotas de 25 mL de HNO_3 10% v/v para a limpeza. Em cada ponto da curva de calibração temos 3,5 g de biodiesel limpo sendo enriquecido com concentrações crescentes de 2,5 à 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr, Cu e Ni do padrão orgânico e então estes pontos da curva de calibração foram submetidos à RP-DLLME conforme descrito no início do procedimento experimental.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento de um método empregando a RP-DLMME, envolveu a otimização de diversos parâmetros experimentais com a finalidade de proporcionar a extração e pré-concentração de forma a favorecer as determinações de Cu, Cr e Ni em diversas amostras de biodiesel. Como a matriz do biodiesel é complexa, optou-se por utilizar a própria amostra de biodiesel enriquecida com padrão orgânico de Cu, Cr e Ni nas concentrações de 900 ng g^{-1} , para todas as otimizações.

Embora as avaliações das condições de extração forneçam informações acerca do comportamento individual de cada analito, optou-se por otimizar a microextração de forma simultânea para todos os analitos e assim adotar uma única condição de compromisso mais adequada para os três analitos.

5.1. Tipo de solvente dispersor

Os principais parâmetros a serem definidos para a otimização de um procedimento de extração por DLLME são o tipo de solvente extrator e dispersor. As propriedades físico químicas do solvente extrator e dispersor são essenciais para a sua escolha. O solvente extrator deve ser selecionado conforme a sua capacidade de extração dos analitos, e também pela sua solubilidade na fase que representa a amostra, para que não ocorra a solubilização do mesmo na amostra e dessa forma prejudique a separação. De forma ideal, o solvente extrator deve ser pouco miscível com a amostra, a interação entre ambas é auxiliada pela presença do

solvente dispersor que deve ter miscibilidade compatível com a fase extratora e também com a amostra.

O critério principal para escolha do solvente dispersor é a sua dispersão fina entre ambas as fases, resultando em uma maior área superficial entre o solvente extrator e a amostra, de forma que suceda a partição do analitos.⁵² Na RP-DLLME, deve-se levar em conta que nesse caso a amostra possui caráter apolar, logo, o solvente extrator deve possuir caráter polar e o solvente dispersor deve promover a dispersão fina das microgotas do extrator na fase orgânica da amostra. Nesse caso utilizou uma solução aquosa de HNO₃ 5% v/v como solvente extrator, uma vez que Cu, Cr e Ni tendem a solubilizarem em meio aquoso.

Neste estudo, 1-propanol, 2-propanol, etanol, e acetona foram avaliados quanto a sua capacidade de dispersão fina do solvente extrator na amostra orgânica como apresentado na Figura 1. Foi avaliado também a eficiência do uso do solvente dispersor na pré-concentração. Observa-se que a utilização de solvente dispersor auxiliou a pré-concentração do Cu e Ni, enquanto que não houve considerável melhora na extração do Cr quando consideramos o uso apenas da solução extratora sem a presença de solvente dispersor. Isso pode estar relacionado na forma em que o Cr se encontra no biodiesel, sugerindo que este é minimamente afetado pela presença do dispersor, ou seja, a quantidade de Cr extraído independe da presença de uma solução que favoreça a interação das fases.

Optou-se por utilizar 2-propanol como solvente dispersor em virtude da sua menor pressão de vapor, comparado a acetona e etanol. Não utilizou-se 1-propanol devido a disponibilidade do 2-propanol grau HPLC no laboratório de trabalho, o que favorece o controle dos brancos de extração.

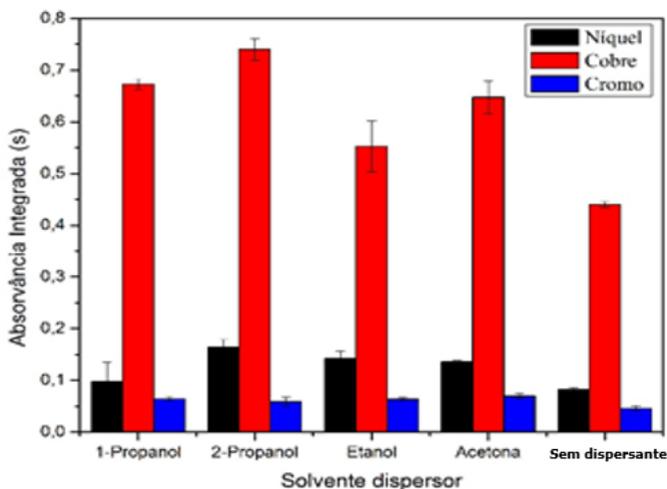


Figura 1. Avaliação quanto ao melhor solvente dispersor para a RP-DLLME em amostras de biodiesel. Extração realizada com 500 μL da mistura extratora e dispersora na proporção 1:4 v/v, 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μL de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g^{-1} e 5 minutos de US e centrifugação.

5.2. Avaliação e otimização da concentração de ácido nítrico da solução da extratora: Solução aquosa de ácido nítrico

Como agente extrator utilizou-se uma solução aquosa de HNO_3 , devido seu elevado poder oxidante e por ser um eletrólito forte, auxiliando na microextração de Cu, Cr e Ni. Foram avaliadas concentrações crescentes de HNO_3 , 0; 1; 2,5; 5; 10; e 15% v/v, concentrações maiores não foram utilizadas para evitar a degradação do forno de grafite. A partir da Figura 2, observa-se que a condição ótima de microextração foi de 5

% v/v de HNO_3 , concentrações maiores favoreceram a degradação do tubo, e conseqüentemente menores sinais. Para o Cu, concentrações menores que 5% ocasionou uma queda no sinal analítico, por isso adotou-se como condição de compromisso a concentração de solução HNO_3 5 % v/v para a microextração dos analitos.

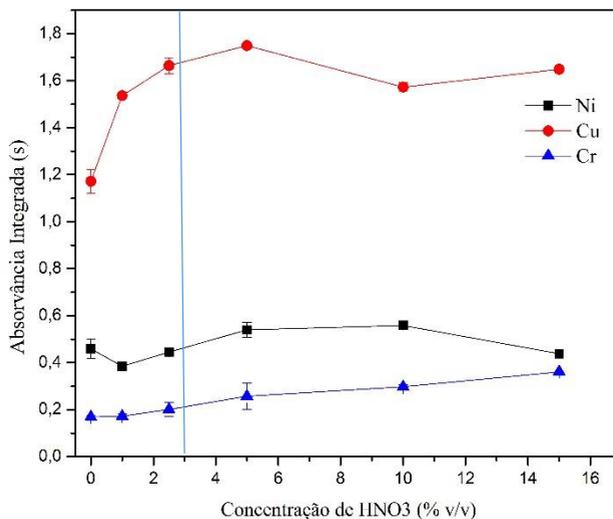


Figura 2. Otimização da concentração de ácido nítrico da solução extratora por RP-DLLME para Cu, Cr e Ni. Extração realizada com 500 μL da mistura extratora e dispersora na proporção 1:4 v/v, 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μL de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g^{-1} e 5 minutos de US e centrifugação.

5.3. Avaliação e otimização da proporção e volume de injeção da mistura extratora e dispersora

O fator de pré-concentração na DLLME é determinado pelo volume do solvente extrator, logo, aumentando o volume do solvente extrator obtém-se um maior volume de fase sedimentada, resultando em um menor fator de pré-concentração. Portanto, o volume de compromisso de solvente extrator deve garantir um alto fator de pré-concentração, além da obtenção de um volume de fase sedimentada suficiente para as análises necessárias. Variações no volume do solvente extrator ou dispersor isoladamente, ocasionam variações no volume da fase sedimentada, desse modo se faz necessário a modificação simultaneamente do volume do solvente extrator e dispersor.^{4,53,54} Nesse contexto, a mesma teoria deve ser aplicada a RP-DLLME.

Dessa forma, avaliou-se a proporção e o volume de injeção da mistura de solvente extrator e solvente dispersor como apresentado na Figura 3. Foram avaliadas as proporções de 1:4, 2:3 e 3:2 v/v, e volumes de injeção da mistura extratora e dispersora de 0,5 e 1,0 mL. De fato, é observado um maior sinal analítico para o menor volume de solução extratora. Por isso adotou-se como condição de compromisso a proporção de 1:4 v/v (100 µL de Sol ácida + 400 µL de solução dispersora) e o volume de 0,5 mL da mistura dispersora e extratora.

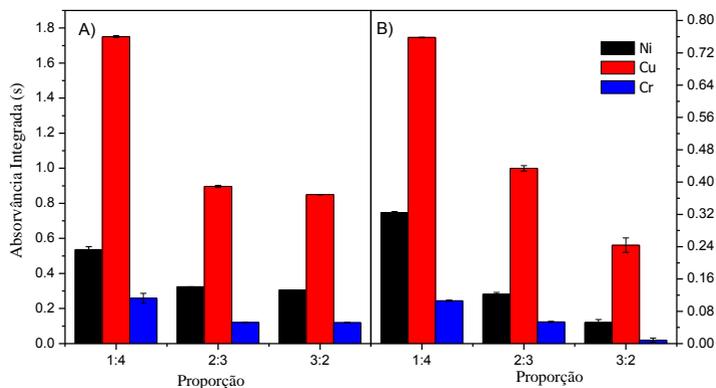


Figura 3. Otimização da proporção extratora, HNO_3 5%, e dispersora, 2-propanol, por RP-DLLME para Cu, Cr e Ni. Extração realizada com 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μL de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g^{-1} e 5 minutos de US e centrifugação. A) Volume de injeção de 500 μL e B) Volume de injeção de 1 mL.

5.4. Tempo de ultrassom e influência do aquecimento

A DLLME é conhecida devido às elevadas eficiências de extração apenas com o emprego do solvente dispersante, sem qualquer forma de ajuda externa para promover o aumento da área superficial das microgotas do solvente extrator na amostra.⁵⁵ Entretanto, é relatado na literatura que em alguns casos, o uso do US auxilia no aumento da área superficial das microgotas.^{56,57,58}

Desta forma avaliou-se o tempo de US e simultaneamente a influência do aquecimento na RP-DLLME, uma vez que viscosidade do biodiesel é diminuída com o aumento da temperatura, e desta forma um

possível aumento na interação entre ambas as fases possa ocorrer, influenciando na microextração. Foram avaliados os seguintes tempos de US, com aquecimento a 50 °C e sem aquecimento, 0; 2,5; 5; 10; e 15 minutos.

Pela Figura 4, observa-se que o emprego do US na RP-DLLME para amostras sem aquecimento, de fato favoreceu o aumento da área superficial das microgotas do solvente extrator na amostra de biodiesel, indicando uma condição ótima de 10 minutos, após esse tempo observa-se um equilíbrio e o sinal se mantém constante.

Para as amostras com aquecimento, constatou-se que para Cu e Ni, o aumento da temperatura provocou um aumento da interação entre ambas as fases, resultando em um sinal analítico maior, porém, com o decorrer do tempo o sinal analítico decaiu, uma possível causa é a evaporação do solvente dispersor, 2-propanol, consequentemente resultando na perda do analito. Para o Cr, observou-se que um tempo de US de 2,5 minutos com aquecimento resultou em uma melhor área superficial.

Como condição ótima de compromisso adotou-se o emprego do US de 10 minutos, sem aquecimento, para garantir que não haja perdas do analito durante o tempo de sonicação.

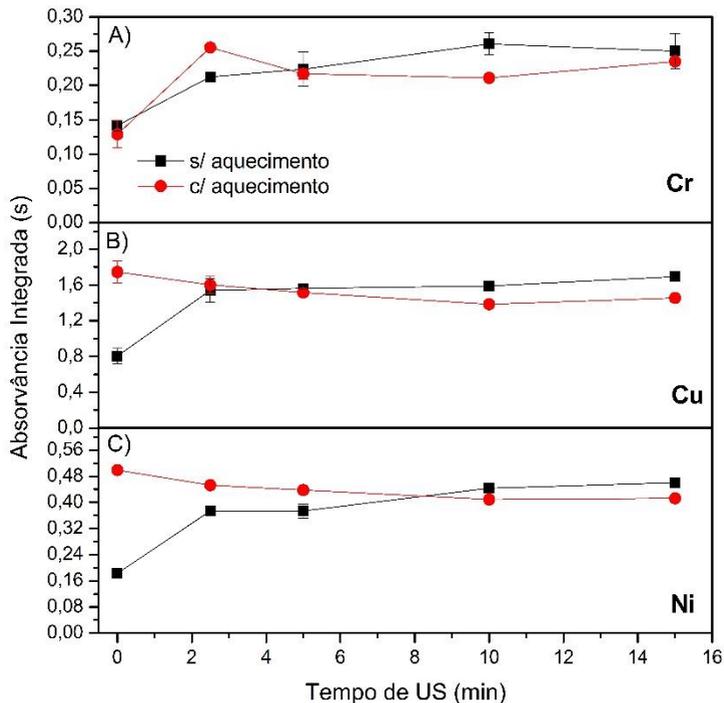


Figura 4. Avaliação e otimização do tempo de ultrassom e a influência do aquecimento a 50 °C na pré concentração para (a) Cr, (b) Cu e (c) Ni. Extração realizada com 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μ L de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g⁻¹ e 5 minutos de centrifugação.

5.5. Avaliação e otimização do tempo de centrifugação

Com a finalidade de promover as separações efetiva entre as fases polar e apolar, avaliou-se o tempo de centrifugação. A Figura 5

apresenta as otimizações do tempo de centrifugação para cada analito. Foram avaliadas tempos de centrifugação entre 0 e 15 minutos, a uma velocidade de 3000 rpm. Na Literatura geralmente são utilizados maiores velocidades de centrifugação^{6,59}; porém, devido à limitação instrumental optou-se por 3000 rpm.

Pela análise da Figura 5, conclui-se que o melhor tempo de centrifugação foi de 5 minutos, observando-se um pequeno decaimento no sinal analítico para tempo maiores. Uma possível explicação é a instabilidade da interface entre ambas as fases com o decorrer do tempo, o que favorece a coalescência das fases prejudicando a extração.

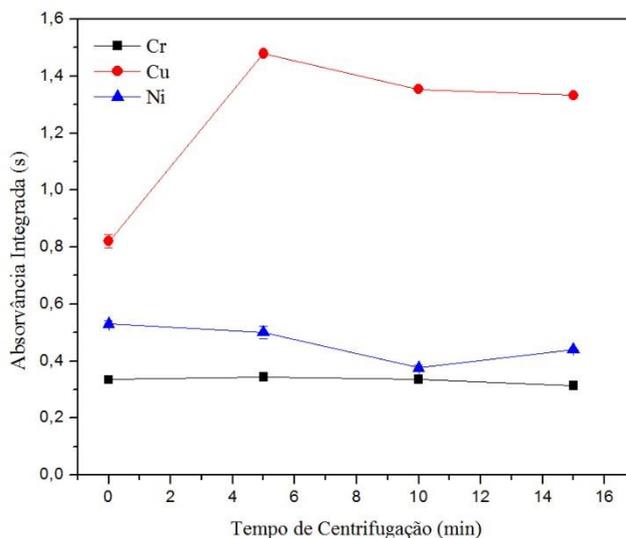


Figura 5. Avaliação e otimização do tempo de centrifugação da RP-DLLME para a pré concentração de Cu, Cr e Ni. Extração realizada com 3,5 g de biodiesel de soja enriquecido com 5 μL de padrão intermediário de Cr, Cu e Ni a 900 ng g^{-1} .

5.6. Curvas de pirólise e atomização e otimização do programa de temperatura

A construção de curvas de pirólise e atomização é necessária para a avaliação das condições térmicas para cada analito presente na amostra. A temperatura ideal de pirólise é a maior temperatura onde se obtém a máxima eliminação da matriz e possíveis interferentes presentes nela sem que ocorra perdas significativas do analito. Em contrapartida, a ótima temperatura de atomização é a menor temperatura onde se obtém o maior sinal analítico ou o melhor perfil de sinal transiente. Para a escolha da temperatura de pirólise e atomização deve-se sempre levar em conta a estabilidade térmica e sensibilidade do analito.³⁰

Devido ao caráter ácido da amostra o uso de modificador químico permanente se fez necessário para prolongar o tempo de vida útil do tubo nas otimizações do método e posteriormente nas determinações, por isso utilizou-se uma solução de 1 g L^{-1} de W. Desta, foram introduzidas dez injeções de $50 \mu\text{L}$ no tubo de grafite de modo a obter uma massa de $500 \mu\text{g}$ de recobrimento. Não foi testado o uso de tubo de grafite sem recobrimento por entender que o uso deste não seria viável frente as características das amostras e dos analitos, que como o Cr são refratários e o uso de modificador permanente minimiza a ocorrência de efeito de memória.

Foram construídas curvas de pirólise e atomização para cada analito, após as otimizações da RP-DLLME. Na Figura 6 são apresentadas as curvas de pirólise e atomização para cada analito. Observa-se que para os três analitos tem-se curvas de pirólise bastante

estáveis termicamente mesmo na ausência de outros modificadores químicos tais como os elementos do grupo da platina conhecidos por sua ação como modificadores químicos, sendo assim, optou-se por utilizar 600 °C de pirólise, já que a amostra neste caso trata-se da solução extratora ácida e não o biodiesel em si, não se faz necessário usar temperaturas mais elevadas apesar da considerável estabilidade térmica observada. Já a temperatura de atomização foi atribuída em 2600 °C para os três analitos; utilizou-se 2600 °C em vez de 2700 °C para minimizar a degradação do tubo de grafite devido a exposição as altas temperaturas.

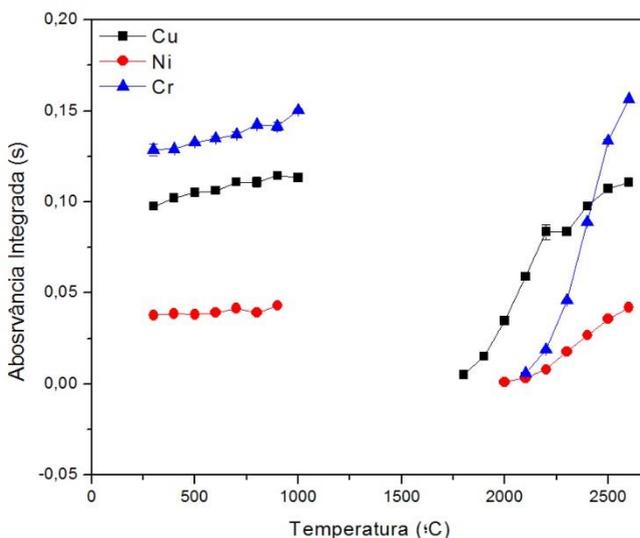


Figura 6. Curvas de pirólise e atomização para Cu, Cr e Ni aplicando a RP-DLLME com os parâmetros otimizados da técnica.

5.7. Determinação e verificação da exatidão do método.

Diferentes estratégias de calibração foram empregadas para avaliar a melhor curva de calibração para quantificação de Cu, Cr e Ni em biodiesel utilizando a RP-DLLME. Inicialmente, foram preparadas curvas de calibrações aquosas, porém, como a RP-DLLME é uma técnica de pré-concentração, o coeficiente angular apresentou uma grande diferença em relação às curvas de calibração por adição de analito e semelhança de matriz. Logo, a curva aquosa só foi realizada para fins qualitativos e para cálculo do fator de enriquecimento (FE) antes da realização das demais curvas.

Na Tabela 2 são apresentados os parâmetro de mérito referentes a curva de calibração por adição de analito, e na Tabela 3 são apresentados os parâmetros de méritos referentes a curva de calibração por semelhança de matriz, ambas as curvas foram construídas aplicando a RP-DLLME. Na Tabela 3 é apresentado também o valor do FE, obtido pela razão da sensibilidade da curva de calibração por semelhança de matriz com pré-concentração pela curva de calibração aquosa sem pré-concentração.⁶⁰ Os valores revelam que a RP-DLLME aplicada ao biodiesel se mostrou um eficiente método de pré-concentração. O FE para o Cr apresentou o menor valor, supõe-se que a forma em que ele se encontra no biodiesel apresente afinidade maior com a fase orgânica do que com a fase aquosa.

Pela avaliação dos parâmetros de méritos, ambas curvas apresentaram bons resultados e valores adequados de LOD e LOQ. O LOD foi obtido através do cálculo de três vezes o desvio padrão de dez leituras sucessiva do branco submetido a RP-DLLME dividido pela a inclinação da curva de calibração, e multiplicando o LOD por três obteve-se o LOQ. A análise estatística aplicada para comparação entre as inclinações de ambas às curvas de calibração revelou que não há diferença

significativa entre elas. Como foram realizadas estratégias de calibração com diferentes pontos, diferentes valores de t foram encontrados. Os valores de t tabelado *versus* t calculado encontram-se na Tabela 4. Observa-se que os valores de t_{calc} foram menores que o valor do t tabelado evidenciando que não há diferença significativa. Logo, para as quantificações, optou-se a utilização da curva de calibração por semelhança de matriz devido a sua simplicidade em relação a curva de calibração por adição de analito.

Tabela 2. Parâmetros de mérito para as curvas de calibração por adição de analito utilizando a RP-DLLME.

Metal	Equação da Reta	R	LOD (pg g⁻¹)	LOQ (pg g⁻¹)
Cobre	$y = 0,12301x + 0,23622$	0,9959	1,9	5,7
Cromo	$y = 0,04024x + 0,17565$	0,9975	1,2	3,6
Níquel	$y = 0,05296x + 0,17971$	0,9982	1,1	3,4

Tabela 3. Parâmetros de mérito para a curvas de calibração por semelhança de matriz utilizando a RP-DLMME.

Metal	Equação da Reta	R	LOD (pg g⁻¹)	LOQ (pg g⁻¹)	FE
Cobre	$y = 0,14122x + 0,02743$	0,9966	1,7	5,22	40
Cromo	$y = 0,04137x + 0,08605$	0,9943	2,0	6,1	14
Níquel	$y = 0,05663x + 0,07136$	0,9989	0,9	2,6	34

Tabela 4. Valores de t tabelado *versus* t calculado para Cu, Cr e Ni.

Metal	T_{calculado}	T_{Teórico}
Cobre	0,32	2,31
Cromo	0,04	2,20
Níquel	0,15	2,23

A verificação da exatidão do método proposto foi realizada através de testes de adição e recuperação para as quatro amostras de biodiesel previamente quantificadas e enriquecidas com padrão orgânico dos respectivos analitos para $5 \mu\text{g L}^{-1}$, os resultados são apresentados na Tabela 5. Nota-se que a recuperações expressam resultados condizentes, logo, o método se mostrou eficiente nas determinações de Cu, Cr e Ni em biodiesel.

Tabela 5. Avaliação da exatidão do método analítico proposto através de testes de adição e recuperação.

Amostra	Recuperação	Recuperaçã	Recuperação
	Cu	o Cr	Ni
Biodiesel de Nabo	101 – 111 %	96 – 107 %	85 – 93%
Biodiesel de Soja	107 – 109 %	108 – 110 %	93 – 96 %
Biodiesel de Fritura	95 – 106 %	90 – 94 %	94 – 101 %
Biodiesel “Sujo”	92 – 97 %	n.d.	97 – 106 %

Após as otimizações das condições experimentais da RP-DLLME e a escolha da técnica de calibração por semelhança de matriz como sendo adequado para um número grande de amostras, o método

proposto foi aplicado a quatro amostras de biodiesel, com a finalidade de quantificar Cu, Cr e Ni.

A faixa de concentração de trabalho foi de 2,5 a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os três analitos. Para auxílio no cálculo das concentrações de Cu, Cr e Ni no biodiesel, os parâmetros de mérito estão expressos na forma de massa/massa. Foram obtidos valores baixos de LOD e LOQ de 0,8 e 2,3 pg g^{-1} para cobre; 2,0 e 6,0 pg g^{-1} para cromo e 1,0 e 3,0 pg g^{-1} para níquel.

Comparando dados na literatura, os parâmetros de méritos obtidos por esse método se equiparam aos de métodos que utilizam o ICP OES para determinação de metais, mostrando que é possível conseguir a mesma sensibilidade com menor custo operacional e um instrumento mais simples frente ao ICP-OES, comumente utilizado nas metodologias, o que mostra o diferencial desse método.^{61,62,63}

A Tabela 6 apresenta as quantificações realizadas para Cu, Cr e Ni em quatro amostras de biodiesel. As concentrações de Cr para todas as amostras de biodiesel ficaram abaixo do limite de detecção. Os valores de concentrações obtidos para o biodiesel provenientes da soja e fritura são satisfatórios, e observa-se que a contaminação desses metais possivelmente está relacionado ao processo de produção de biodiesel.

Valores encontrados para o Biodiesel proveniente de nabo o forrageio, condiz com dados encontrados na literatura, onde análises efetuadas em sementes apresentaram baixas concentrações para Ni e Cu, enquanto que não detectaram Cr.⁶⁴

Tabela 6. Resultados obtidos da quantificação de Cu, Cr e Ni em diferentes amostras de biodiesel

Amostra	[Cu] (pg g⁻¹)	[Cr] (pg g⁻¹)	[Ni] (pg g⁻¹)
Biodiesel de Nabo	70,2 ± 1,7	< 6	7,2 ± 0,3
Biodiesel de Soja	1,9 ± 0,1	< 6	< 3
Biodiesel de Fritura	12,9 ± 1,1	< 6	< 3
Biodiesel contaminado	17,6 ± 0,3	11,4 ± 0,6	8,0 ± 0,4

6. CONCLUSÃO

O estudo das condições térmicas para cada analito presente na amostra demonstrou que temperaturas de pirólise de 600 °C e de atomização de 2600 °C, foram suficientes para gerar um bom sinal analítico dos analitos e o uso de modificador químico permanente de W contribuiu para a vida útil do forno de grafite.

Em relação aos parâmetros da RP-DLLME, o 2-propanol se mostrou um bom solvente dispersor para a promoção da dispersão fina das microgotas do solvente extrator HNO₃ 5% v/v na amostra de biodiesel. O emprego de uma solução aquosa de HNO₃ como solução extratora, dispensou o uso de agentes complexantes, geralmente tóxicos, para a microextração e pré-concentração de Cu, Cr e Ni. A proporção 1:4 v/v e o volume de injeção de 0,5 mL da mistura extratora e dispersora garantiu bons fatores de pré-concentração, além de garantir um volume de fase sedimentada suficiente para as análises. O emprego do ultrassom sem aquecimento favoreceu o aumento da área superficial das microgotas durante a etapa de extração, e o tempo de sonificação de 10 minutos foi o suficiente para promover a máxima partição dos analitos da fase orgânica para a fase aquosa. O tempo de centrifugação de 5 minutos a 3000 RPM garantiu a separação da fase aquosa da orgânica e propiciou o melhor sinal analítico para todos os analitos.

De modo geral, conclui-se que a microextração líquido-líquido dispersiva de fase reversa aliada a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, demonstrou ser um método analítico eficiente para a determinação e pré-concentração de Cu, Cr e Ni em

diferentes amostras de biodiesel, apresentando bons resultados de FE, sensibilidade, precisão e exatidão.

7. REFERÊNCIAS

1. VERMA, Puneet; SHARMA, M.p.; DWIVEDI, Gaurav. Investigation of Metals and Antioxidants on Stability Characteristics of Biodiesel. **Materials Today: Proceedings**, [s.l.], v. 2, n. 4-5, p.3196-3202, 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2015.07.114>.
2. MANDLATE, Jaime S. et al. Determination of cadmium and lead at sub-ppt level in soft drinks: An efficient combination between dispersive liquid-liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 221, p.907-912, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.075>.
3. ALEXOVIČ, Michal et al. Automation of dispersive liquid-liquid microextraction and related techniques. Approaches based on flow, batch, flow-batch and in-syringe modes. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 86, p.39-55, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2016.10.003>
4. MARTINS, Manoel Leonardo et al. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): Fundamentos e aplicações. **Sc**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.29-45, 2012. Editora Cubo Multimídia. DOI: 10.4322/sc.2012.004.

5. OCAÑA-GONZÁLEZ, Juan Antonio et al. New developments in microextraction techniques in bioanalysis. A review. **AnalyticaChimicaActa**, [s.l.], v. 905, p.8-23, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2015.10.041>
6. GARCÍA, Ignacio López; MARTÍNEZ, Yesica Vicente; CÓRDOBA, Manuel Hernández. Determination of cadmium and lead in edible oils by electrothermal atomic absorption spectrometry after reverse dispersive liquid–liquid microextraction. **Talanta**, [s.l.], v. 124, p.106-110, jun. 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.talanta.2014.02.011.
7. KNOTHE, Gerhard; RAZON, Luis F.. Biodiesel fuels. **Progress In Energy And Combustion Science**, [s.l.], v. 58, p.36-59, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2016.08.001>.
8. HASAN, M.m.; RAHMAN, M.m.. Performance and emission characteristics of biodiesel–diesel blend and environmental and economic impacts of biodiesel production: A review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [s.l.], v. 74, p.938-948, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.045>.
9. SUNDUS, F.; FAZAL, M.a.; MASJUKI, H.h.. Tribology with biodiesel: A study on enhancing biodiesel stability and its fuel properties. **Renewable And Sustainable Energy**

- Reviews**, [s.l.], v. 70, p.399-412, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.217>
10. Ministério de Minas e Energia (Comp.). **BIODIESEL**: Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. 2012. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/menu/biodiesel/pnpb.html>>. Acesso em: 15 mar. 2017.
 11. SHIMAMOTO, Gustavo G.; BIANCHESSI, Luis F.; TUBINO, Matthieu. Alternative method to quantify biodiesel and vegetable oil in diesel-biodiesel blends through ^1H NMR spectroscopy. **Talanta**, [s.l.], v. 168, p.121-125, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.027>.
 12. KUMAR, Niraj. Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention. **Fuel**, [s.l.], v. 190, p.328-350, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2016.11.001>.
 13. LANJEKAR, R.d.; DESHMUKH, D.. A review of the effect of the composition of biodiesel on NO_x emission, oxidative stability and cold flow properties. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [s.l.], v. 54, p.1401-1411, fev. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.034>.
 14. COMIN, Marina et al. Alternatives binary and ternary blends and its effects on stability of soybean biodiesel contaminated with

metals. **Fuel**, [s.l.], v. 191, p.275-282, mar. 2017. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2016.11.080>.

15. ANSARI, Rehana et al. Variation in accumulation of heavy metals in different varieties of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 115, n. 1, p.318-323, jul. 2009. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.051>.
16. ŁOZAK, Anna et al. Determination of selected trace elements in herbs and their infusions. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 289, n. 1-3, p.33-40, abr. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0048-9697\(01\)01015-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0048-9697(01)01015-4)
17. BAHAR, Soleiman; ZAKERIAN, Razieh. Determination of copper in human hair and tea samples after dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop (DLLME-SFO). **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [s.l.], v. 23, n. 6, p.1166-1173, jun. 2012. FapUNIFESP (SciELO).
<http://dx.doi.org/10.1590/s0103-50532012000600023>.
18. ZHONG, Wen-si; REN, Ting; ZHAO, Li-jiao. Determination of Pb (Lead), Cd (Cadmium), Cr (Chromium), Cu (Copper), and Ni (Nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal Of**

- Food And Drug Analysis**, [s.l.], v. 24, n. 1, p.46-55, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2015.04.010>.
19. SHUKLA, Pravesh Chandra et al. Trace metals and ions in particulates emitted by biodiesel fuelled engine. **Fuel**, [s.l.], v. 188, p.603-609, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2016.10.059>.
20. WANG, Ying; LIU, Hong; LEE, Chia-fonF.. Particulate matter emission characteristics of diesel engines with biodiesel or biodiesel blending: A review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [s.l.], v. 64, p.569-581, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.06.062>.
21. COTTON, F. Albert et al. **Advanced Inorganic Chemistry**. 6. ed. U.S.A: Wiley-interscience, 1999. 1376 p.
22. GAD, Shayne C.. Acute and chronic systemic chromium toxicity. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 86, n. 1-2, p.149-157, out. 1989. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697\(89\)90201-5](http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697(89)90201-5).
23. BORGES, Aline R. et al. Development of a method for the sequential determination of cadmium and chromium from the same sample aliquot of yerba mate using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 130, p.116-121,

jan. 2017. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2016.08.010>.

24. HOUSECROFT, Catherine E.; SHARPE, Alan G.. **Inorganic Chemistry**. 3. ed. England: Pearson Education Limited, 2008.
25. WERFEL, U et al. Elevated DNA single-strand breakage frequencies in lymphocytes of welders exposed to chromium and nickel. **Carcinogenesis**, [s.i.], v. 19, n. 3, p.413-418, mar. 1998.
26. BÜYÜKPAĐNAR, Çağdaş et al. Determination of nickel in water and soil samples at trace levels using photochemical vapor generation-batch type ultrasonication assisted gas liquid separator-atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, [s.i.], v. 132, p.167-171, maio 2017. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.01.024>.
27. ATKINS et al. **Inorganic Chemistry**. 5. ed. New York: Oxford University Press, 2010.
28. HASHEM, E.y.; SELEIM, M.m.; EL-ZOHRy, Ahmed M..Environmental method for spectrophotometric determination of copper(II). **Green Chemistry Letters And Reviews**, [s.i.], v. 4, n. 3, p.241-248, set. 2011. Informa UK Limited.
<http://dx.doi.org/10.1080/17518253.2010.546370>.

29. TEODORO, MarlaT.f. et al. Determination of copper total and speciation in food samples by flame atomic absorption spectrometry in association with solid-phase extraction with bamboo (*Bambusa vulgaris*) fiber loaded with bathocuproine. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 132, p.351-357, maio 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.01.033>.
30. Welz, B.; Sperling M. Atomic Absortion Spectrometry. 3ª Ed. Weinheim: WILEY-VHC, 1999.
31. SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R.. **Principles of Instrumental Analysis**. 6. ed. U.S.A: Thomson Brooks/cole, 2006. 1039 p.
32. BORGES, Daniel L. Gallindo et al. FUNDAMENTOS DA ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA. **Revista Analytica**, São Paulo, v. 18, p.58-67, set. 2008.
33. ZEINER, Michaela et al. Trace determination of skin-irritating metals in tea tree oil by GFAAS. **Microchemical Journal**, [s.l.], p.1401-1411, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.016>.
34. BEATY, Richard D.; KERBER, Jack D.. **Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption**

- Spectrophotometry**. 2. ed. Norwalk: The Perkin-elmer Corporation, 1993.
35. SKOOG et al. **Fundamentos De Quimica Analitic**. 2. ed. Brasil: Thomson Pioneira, 2015. Tradução da 9ª edição norte-americana.
36. POZZATTI, Marianna et al. Simultaneous determination of nickel and iron in vegetables of Solanaceae family using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 133, p.162-167, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.021>.
37. B. Welz, M. G. R. Vale, **Atomic absorption spectrometry and related techniques**, Ewing's Analytical Instrumentation Handbook, New York: Marcel Dekker, nov. 2004. 1064 p.
38. SLAVIN, Walter. Graphite furnace AAS*. In: HERBER, R.f.m.; STOEPPLER, M. (Ed.). **Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry**: Trace Element Analysis in Biological Specimens. Netherlands: Elsevier, 1994. p. 53-85.
39. ORTNER, H.m et al. Modifiers and coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry—mechanisms of action (A tutorial review). **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, [s.l.], v. 57, n. 12, p.1835-1853, dez.

2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0584-8547\(02\)00140-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0584-8547(02)00140-4).
40. OLIVEIRA, S; A OLIVEIRA,.; GOMES NETO, J. Tungsten permanent chemical modifier with co-injection of Pd(NO₃)₂+Mg(NO₃)₂ for direct determination of Pb in vinegar by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 105, n. 1, p.236-241, 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.003>.
41. LA CALLE, Inmaculada de et al. Liquid-phase microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry: A review. **Analytica Chimica Acta**, [s.l.], v. 936, p.12-39, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2016.06.046>.
42. AHMAD, W. et al. Recent advances in dispersive liquid-liquid microextraction for pesticide analysis. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 72, p.181-192, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.022>.
43. YAN, Hongyuan; WANG, Hui. Recent development and applications of dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal Of Chromatography A**, [s.l.], v. 1295, p.1-15, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2013.04.053>.

44. MARCH, J.g.; CERDÀ, V. A novel procedure for phase separation in dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of the aqueous phase. **Talanta**, [s.l.], v. 156-157, p.204-208, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.05.027>.
45. FAZELIRAD, Hamid; TAHER, Mohammad Ali. Ligandless, ion pair-based and ultrasound assisted emulsification solidified floating organic drop microextraction for simultaneous preconcentration of ultra-trace amounts of gold and thallium and determination by GFAAS. **Talanta**, [s.l.], v. 103, p.375-383, jan. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2012.10.082>.
46. REZAEI, Mohammad et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal Of Chromatography A**, [s.l.], v. 1116, n. 1-2, p.1-9, maio 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007>.
47. AL-SAIDI, H.m.; EMARA, Adela.a..The recent developments in dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. **Journal Of Saudi Chemical Society**, [s.l.], v. 18, n. 6, p.745-761, dez. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2011.11.005>.

48. MANSOUR, Fotouh R.; DANIELSON, Neil D.. Solidification of floating organic droplet in dispersive liquid-liquid microextraction as a green analytical tool. **Talanta**, [s.l.], p.375-383, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.084>.
49. REZAEI, Mohammad et al. Extraction and Separation of Molybdenum by Using Homogeneous Liquid-Liquid Microextraction via Flotation Assistance. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [s.l.], v. 26, n. 5, p.880-885, 2015. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150048>.
50. KOCÖROVÁ, Lívía et al. Recent advances in dispersive liquid-liquid microextraction using organic solvents lighter than water. A review. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 102, p.11-17, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2011.12.002>.
51. PRIMEL, Ednei Gilberto et al. An overview of advances in dispersive liquid-liquid microextraction for the extraction of pesticides and emerging contaminants from environmental samples. **Trends In Environmental Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 14, p.1-18, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.teac.2017.03.001>.

52. HABILA, M.a. et al. Combination of dispersive liquid–liquid microextraction and multivariate optimization for separation-enrichment of traces lead by flame atomic absorption spectrometry. **Journal Of Industrial And Engineering Chemistry**, [s.l.], v. 37, p.306-311, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2016.03.037>.
53. KRYLOV, A. V. et al. Microextractionpreconcentration of impurities with the dispersion of the extractant and capillary collection of the extract. **Journal Of Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 67, n. 3, p.207-213, 25 fev. 2012. Pleiades Publishing Ltd. <http://dx.doi.org/10.1134/s106193481201008x>.
54. LIN, Che-yi et al. Application of liquid–liquid–liquid microextraction and high-performance liquid-chromatography for the determination of sulfonamides in water. **AnalyticaChimica Acta**, [s.l.], v. 612, n. 1, p.37-43, mar. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.008>.
55. ÖZZEYBEK, Gözde et al. Sensitive determination of copper in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, [s.l.], v. 132, p.406-410, maio 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.02.031>.

56. CORTADA, Carol; VIDAL, Lorena; CANALS, Antonio. Determination of geosmin and 2-methylisoborneol in water and wine samples by ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, [s.l.], v. 1218, n. 1, p.17-22, jan. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2010.11.007>.
57. WANG, Yukun et al. A novel separation/preconcentration technique based on ultrasonic dispersion liquid-liquid microextraction for determination of trace cobalt by flame atomic absorption spectrometry. **Bulletin Of The Chemical Society Of Ethiopia**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.9-18, 10 jan. 2012. African Journals Online (AJOL). <http://dx.doi.org/10.4314/bcse.v26i1.2>.
58. CORTADA, Carol et al. Determination of cyclic and linear siloxanes in wastewater samples by ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, [s.l.], v. 120, p.191-197, mar. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.042>.
59. GODOY-CABALLERO, M.p.; ACEDO-VALENZUELA, M.i.; GALEANO-DÍAZ, T.. New reversed phase dispersive liquid–liquid microextraction method for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil by rapid resolution liquid

chromatography with ultraviolet–visible and mass spectrometry detection. **Journal Of Chromatography A**, [s.l.], v. 1313, p.291-301, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2013.06.020>.

60. ANTHEMIDIS,. Gallium trace on-line preconcentration/separation and determination using a polyurethane foam mini-column and flame atomic absorption spectrometry. Application in aluminum alloys, natural waters and urine. **Talanta**, [s.l.], v. 60, n. 5, p.929-936, 27 jul. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0039-9140\(03\)00156-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0039-9140(03)00156-5).
61. LEPRI, Fábio G. et al. Determination of Trace Elements in Vegetable Oils and Biodiesel by Atomic Spectrometric Techniques—A Review. **Applied Spectroscopy Reviews**, [s.l.], v. 46, n. 3, p.175-206, 25 mar. 2011. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/05704928.2010.529628>.
62. CHAVES, Eduardo S. et al. Determination of trace elements in biodiesel and vegetable oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following alcohol dilution. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, [s.l.], v. 66, n. 9-10, p.733-739, set. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2011.09.006>.
63. SÁNCHEZ, Raquel et al. Determination of trace elements in petroleum products by inductively coupled plasma techniques: A

critical review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, [s.l.], v. 88, p.104-126, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2013.06.005>.

64. SOUZA, Anderson Dias Vieira de et al. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-manso, nabo-forrageiro e crambe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 10, p.1328-1335, out. 2009.