



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

RENATA MEDEIROS LOBO MÜLLER

**TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS COM ELETRODO DE FILME DE BISMUTO
MODIFICADO COM EDTA E EBT PARA DETERMINAÇÃO DE Ca^{2+} e Mg^{2+} EM
BIODIESEL**

Belém
2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

RENATA MEDEIROS LOBO MÜLLER

**TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS COM ELETRODO DE FILME DE BISMUTO
MODIFICADO COM EDTA E EBT PARA DETERMINAÇÃO DE Ca^{2+} e Mg^{2+} EM
BIODIESEL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química para obtenção do grau de Doutora em Química (Área de concentração: Química Analítica)

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Celi Sarkis Müller
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Aldaléa L. B. Marques

Belém
2016

RENATA MEDEIROS LOBO MÜLLER

**TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS COM ELETRODO DE FILME DE BISMUTO
MODIFICADO COM EDTA E EBT PARA DETERMINAÇÃO DE Ca²⁺ e Mg²⁺ EM
BIODIESEL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química para obtenção do grau de Doutora em Química (Área de concentração: Química Analítica)

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Celi Sarkis Müller
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Aldaléa L. B. Marques

Data da aprovação:

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a. Regina Celi Sarkis Müller
Orientadora
PPGQ/UFGA

Prof. Dr. José Pio Iúdice de Souza
Membro
PPGQ/UFGA

Prof^a. Dr^a. Joana Luiza Pires Siqueira
Membro
FAQUIM/UNIFESSPA

Prof^a. Dr^a. Kelly das Graças Fernandes Dantas
Membro
PPGQ/UFGA

Prof^a. Dr^a. Marta Helena Tavares Pinheiro
Membro
PPGQ/UFGA

Dados Internacionais de Catalogação- na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central /UFPA

Müller, Renata Medeiros Lobo ,1982-

Técnicas voltamétricas com eletrodo de filme de bismuto modificado com EDTA e EBT para determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} em biodiesel / Renata Medeiros Lobo Müller. - 2016.

100f. : il. ; 29 cm

Orientador (a): Profa. Dra. Regina Celi Sarkis Müller.

Co-orientadora: Profa. Dra. Aldaléa L. B. Marques

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Exatas e Naturais - ICEN, Programa de Pós-Graduação em Química, Belém, 2016.

1. Eletroquímica - Métodos e processos. 2. Magnésio - Métodos e processos. 3. Cálcio - Métodos e processos. 4. Biodiesel. I. Título.

CDD – 22 ed. 541.377

***Aos meus queridos pais Ana
Lúcia e Agostinho, meu esposo André
pela força e incentivo aos estudos.***

AGRADECIMENTOS

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

A professora Dr^a. Regina Celi Sarkis Muller, “mãe acadêmica”, por acreditar na minha capacidade, pela orientação e compreensão recebida mesmo a distância.

Aos professores Dr^a. Aldaléa Lopes Brandes Marques e Dr. Edmar Pereira Marques por terem me aceito no laboratório e me darem a oportunidade de desenvolver este trabalho em seu laboratório;

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

Ao meu esposo André pela paciência e incentivo nas horas que pensava em desistir, e as minhas filhas Júlia e Luiza, pelo amor incondicional a cada dia;

À Joseany Almeida, amiga de todas as horas, nas alegres e nas mais difíceis também, por ter me ajudado na elaboração deste trabalho, agradeço pelo seu tempo disponível, dedicação, amizade e apoio. Sempre paciente e incentivadora, e que sempre esteve comigo em todos os momentos no laboratório;

Aos colegas que pertencem ou pertenceram ao LPQA e que colaboraram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho.

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

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

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

(Rudolf Diesel, 1911)

MEMORIAL

Trabalho apresentado em Congresso:

1. **ESTUDO VOLTAMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE MAGNÉSIO UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM FILME DE BISMUTO.** XXI Congresso da Sociedade Iberoamericana de Eletroquímica (SIBAE), Abril de 2014, La Serena – Chile.

PROJETOS DE PESQUISA OS QUAIS ESTA TESE É VINCULADA:

DADOS DOS PROJETOS:

(1) Título do Projeto: Estudos Eletroquímicos e de Adsorção com Argilas voltados para a Qualidade de Biodiesel - ELETROBIO.

Autorização ANP: Autorização Prévia ANP No. 111; Parecer Técnico - N^o 05/2012); D.O.U. N^o 51, 14/03/2012

Financiamento: PETROBRAS

Termo de Cooperação No 0050.0074883.12.9

D.O.U. 206, Seção 3, Pag. 53, 24/10/2012

Res. CONSEPE/UFMA N^o 936, 17/08/2012

Vigência: 2012-2015

(2) Título do Projeto: Novos Métodos Eletroquímicos voltados para a Qualidade de Biodiesel – BIOQUALI

Coordenadora: Aldaléa Lopes Brandes Marques

Financiamento: FAPEMA – Edital Universal N^o 01/2014 – FAPEMA (Solicitação UNIVERSAL – 00799/14

Processo: 130802/2014

Vigência: 2014-2016

RESUMO

Este estudo apresenta o desenvolvimento de métodos eletroquímicos alternativos para a determinação de Mg^{2+} e Ca^{2+} através da técnica voltametria adsortiva de redissolução (VAdR) com varredura anódica. O eletrodo de filme de bismuto modificado com o Negro de Eriocromo – T (EBT) foi usado para modificação do eletrodo na determinação de Mg^{2+} no modo diferencial de pulso (DPAdSV), enquanto o EDTA foi usado para a determinação de Ca^{2+} , no modo onda quadrada (SWAdSV). A determinação de Mg^{2+} foi realizada usando-se tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH= 4,5, como eletrólito suporte e EBT $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ como ligante. Foram feitas adições sucessivas de alíquotas da solução estoque de Mg^{2+} $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para que o íon fosse pré-concentrado na superfície do sensor, sob as seguintes condições voltamétricas otimizadas: potencial de deposição (E_{dep}) = -1,0 V; tempo de pré – concentração ($t_{\text{pré}}$) = 120 s; velocidade de varredura (v) = $0,050 \text{ V s}^{-1}$; amplitude de pulso (Amp) = 0,1 V. O complexo formado Mg^{2+} EBT apresentou um pico de corrente em aproximadamente - 0,6 V. A determinação de Ca^{2+} foi feita utilizando-se tampão amônio ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 9,4, como eletrólito suporte e EDTA $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ como ligante, nas seguintes condições otimizadas: potencial de deposição (E_{dep}) = -1,0 V; tempo de pré-concentração ($t_{\text{pré}}$) = 90 s; frequência (Freq.) = 15 Hz; amplitude = 0,075V e Step E) =0,004V. O complexo formado Ca^{2+} EDTA apresentou um pico de corrente em aproximadamente - 0,2 V. Os resultantes foram concordantes, estatisticamente, considerando o teste- t para um nível de confiança de 95%. Os níveis de CV foram menores de 11,0% (Mg^{2+} e Ca^{2+}), as recuperações ficaram na faixa de 95,0 – 108,0% (Mg^{2+}) e 97,8 – 105,0% (Ca^{2+}) e os valores de limites de detecção foram de $1,05 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Mg^{2+}) e de $2,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Ca^{2+}), e de quantificação $3,51 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Mg^{2+}) e $9,46 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Ca^{2+}) para as amostras analisadas, mostrando boa exatidão e sensibilidade do método proposto. Os valores obtidos para as amostras analisadas variaram de $1,47 \times 10^{-5} \pm 1,28 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Mg^{2+}) e $5,57 \times 10^{-6} \pm 3,77 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Ca^{2+}) nas amostras de biodiesel. A determinação de metais como Ca^{2+} e Mg^{2+} por técnicas eletroquímicas com eletrodos quimicamente modificados, tem como principais vantagens sua detectibilidade e a seletividade

Palavras-chave: Magnésio; Cálcio; EBT; EDTA; DPAdSV; SWAdSV; Carbono Vítreo; Ouro; Biodiesel.

ABSTRACT

This study presents the development of alternative electrochemical methods for the determination of Mg^{2+} and Ca^{2+} through voltammetry technique of adsorptive stripping voltammetry (VAdR) with anodic scan. Bismuth film electrode modified with eriochrome black-T (EBT) was used for modification of the electrode in the determination of Mg^{2+} in the pulse differential mode (DPAdSV), while EDTA has been used for determination of Ca^{2+} in wave mode square (SWAdSV). The determination of Mg^{2+} was performed using acetate buffer (0.1 mol L^{-1}) at $\text{pH} = 4.5$, EBT as supporting electrolyte and $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ as a binder. Successive additions of aliquots of the stock solution were made $Mg^{2+} 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ so that the ion was pre-concentrated on the sensor surface under the following conditions optimized voltammetric: deposition potential (EDEP) = -1.0 V ; Pre time - concentration (T_{pre}) = 120 s ; scan speed (v) = 0.050 V s^{-1} ; pulse amplitude (Amp) = 0.1 V . The complex formed Mg^{2+} EBT showed a peak current of about -0.6 V . The determination of Ca^{2+} was made using ammonium buffer (0.01 mol L^{-1}) at $\text{pH} 9.4$, as supporting electrolyte and EDTA $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ as a binder under the following optimum conditions: deposition potential (EDEP) = -1.0 V ; preconcentration time (T_{pre}) = 90 sec ; frequency (freq.) = 15 Hz ; width = $0,075\text{V}$ and Step E) = 0.004 V . The complex formed Ca^{2+} EDTA showed a peak current of approximately -0.2 V . The result was consistent statistically considering t -test for a 95% confidence level. The levels were lower CV of 11.0% (Mg^{2+} and Ca^{2+}), recoveries were in the range 95.0 to 108.0% (Mg^{2+}) and from 97.8 to 105.0% (Ca^{2+}) and the values of detection limits were $1.05 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Mg^{2+}) and $2.8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Ca^{2+}), and quantitation $3.51 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Mg^{2+}) and $9.46 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Ca^{2+}) for the samples analyzed, showing good accuracy and sensitivity of the proposed method. The values obtained for the samples ranged from $1.47 \times 10^{-5} \pm 1.28 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Mg^{2+}) and $5.57 \times 10^{-6} \pm 3.77 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Ca^{2+}) on samples of biodiesel. The determination of metals such as Ca^{2+} and Mg^{2+} by electrochemical techniques with chemically modified electrodes has as main advantages its detectability and the selectivity.

Keywords: Magnesium; Calcium; Eriochrome black-T (EBT); Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA); anodic adsorptive stripping voltammetry in Pulse Differential Mode (DPAdSV); Anodic Adsorptive stripping voltammetry in Square Wave Mode (SWAdSV); Vitreous Carbon; Gold; Biodiesel.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Reação de transesterificação metílica de triacilgliceróis (triglicerídeos), onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos.....28
- Figura 2:** Representação esquemática do ligante EBT.34
- Figura 3:** Representação esquemática do quelato formado de EDTA e o cálcio.....36
- Figura 4:** Sinais de excitação para voltametria de pulso diferencial.42
- Figura 5:** Aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.43
- Figura 6:** Parâmetros da voltametria de onda quadrada, na qual: τ = tempo de um ciclo de onda quadrada; $1/\tau$ = frequência da onda quadrada em Hz; E_{sw} = amplitude de pulso da onda quadrada em mV; E_{etapa} = potencial em mV da etapa de rampa de potencial em degraus e $2E_{sw}$ é a amplitude de pico a pico da onda quadrada em mV.44
- Figura 7:** Esquema representativo da célula eletroquímica.....46
- Figura 8:** Voltamograma característico do filme de bismuto (DPASV/Varredura Anódica). Condições experimentais: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5); $[\text{Bi}^{3+}]$ $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_i = -1,4\text{V}$; $E_f = 0,4 \text{ V}$; $E_d = -1,2 \text{ V}$; $t_d = 480\text{s}$; Amp = 100 mV ; $V = 40 \text{ mV s}^{-1}$56
- Figura 9:** Voltamogramas para a determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Catódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: eletrólito suporte: $10,0 \text{ mL}$ tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5); EBT $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Mg}^{2+}] = 1,0 \times 10^{-5}$, $2,0 \times 10^{-5}$, $3,0 \times 10^{-5}$ e $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_d = -1,2 \text{ V}$; $t_d = 160\text{s}$; Amp = $0,1 \text{ V}$; $V = 0,05 \text{ V s}^{-1}$57
- Figura 10:** Voltamograma para a determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: eletrólito suporte: $10,0 \text{ mL}$ tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5); EBT $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Mg}^{2+}]$: $2,0 \times 10^{-5}$, $3,0 \times 10^{-5}$, $4,0 \times 10^{-5}$, $5,0 \times 10^{-5}$, $6,0 \times 10^{-5}$ e $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_d = -1,2 \text{ V}$; $t_d = 160 \text{ s}$; Amp = $0,1 \text{ V}$; $V = 0,05 \text{ V s}^{-1}$58
- Figura 11:** Estudo da adição de EBT para a determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: $10,0 \text{ mL}$ tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5); EBT: $50;100;150;175; 200; 250$ e $300 \mu\text{L}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, Mg^{2+} $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_d = -1,2 \text{ V}$; $t_d = 160 \text{ s}$; Amp = $0,1 \text{ V}$; $V = 0,05 \text{ V s}^{-1}$60

- Figura 12:** Estudo do tempo de reação Mg^{2+} - EBT para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5); EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0$ V; $t_d = 120$ s; Amp = 0,1 V; V= 0,05 Vs⁻¹.61
- Figura 13:** Estudo do potencial de reação Mg^{2+} - EBT para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5); EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,4; -1,2; -1,0; -0,9; -0,7$ e $-0,5$ V; $t_d = 160$ s; Amp = 0,1 V; V= 0,05 V s⁻¹.62
- Figura 14:** Estudo do tempo de depósito para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ - (pH = 4,5); EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0$ V; $t_d = 0; 40; 80; 120; 160; 200$ e 240 s; Amp = 0,1 V; V= 0,05 Vs⁻¹.63
- Figura 15:** Estudo da amplitude de pulso para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5); EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0$ V; $t_d = 120$ s; Amp = 0,25; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125 e 0,150 V; V= 0,05 V s⁻¹.64
- Figura 16:** Estudo da velocidade de varredura para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5); EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0$ V; $t_d = 120$ s; Amp = 0,1 V; V= 0,005; 0,010; 0,015; 0,020; 0,025; 0,05 e 0,1 Vs⁻¹.65
- Figura 17:** Estudo do pH para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ - pH = 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0; EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0$ V; $t_d = 120$ s; Amp = 0,1 V; V=0,05 V s⁻¹.66
- Figura 18:** Resposta Voltamétrica para determinação de Mg^{2+} com GCE/BiFE *ex situ*. a - Voltamogramas (DPAdSV/Varredura Anódica) Condições experimentais: (a) eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5); (b) EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; (c- h) [Mg^{2+}]: 2,0 x 10⁻⁵, 3,0 x 10⁻⁵, 4,0 x 10⁻⁵, 5,0 x 10⁻⁵, 6,0 x 10⁻⁵ e 7,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0$ V; $t_d = 120$ s; Amp = 0,1 V; V= 0,05 V s⁻¹. b - Curva analítica para o Mg^{2+} , resultados obtidos a partir da Figura 18 a.67

Figura 19: Estudo de interferentes na determinação de Mg^{2+} . $E_d = -1,0V$; $t_d = 120$ s; $Amp = 0,1$ V; $V=0,05$ V s^{-1} . Adições de 1×10^{-4} ; 2×10^{-4} ; 3×10^{-4} ; 4×10^{-4} ; 5×10^{-4} ; 6×10^{-4} ; 7×10^{-4} ; 8×10^{-4} e 9×10^{-4} mol L^{-1} de Sr^{2+} , Ba^{2+} e Mg^{2+} respectivamente.....68

Figura 20: Resposta Voltamétrica para determinação de Mg^{2+} com GCE/BiFE *ex situ*. Voltamogramas (DPAdSV/Varredura Anódica) Condições experimentais: (a) eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L^{-1} - pH = 4,5; (b) EBT $2,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} ; (c) 2 mL de amostra; (d- i) $[Mg^{2+}]$: $2,0 \times 10^{-5}$, $3,0 \times 10^{-5}$, $4,0 \times 10^{-5}$, $5,0 \times 10^{-5}$, $6,0 \times 10^{-5}$ e $7,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} ; $E_d = -1,0$ V; $t_d = 120$ s; $Amp = 0,1$ V; $V = 0,05$ V s^{-1}70

Figura 21: Voltamograma para a determinação de Ca^{2+} com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio (pH = 9,4) ; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} ; $E_{dep} = -1,2$ V; $t_d = 120$ s; $Amp = 0,075$ V; Freq =15 Hz; Step E = 0,004 V.....72

Figura 22: Voltamograma para a determinação de Ca^{2+} com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio (pH = 9,4); EDTA $4,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} ; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} ; $E_{dep} = -1,2$ V; $t_d = 120$ s; $Amp = 0,075$ V; Freq =15 Hz; Step E = 0,004 V.....73

Figura 23: Voltamogramas para a determinação de Ca^{2+} com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio (pH 9,4) ; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} ; EDTA $4,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} ; $[Ca^{2+}] = 2,5 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$ e $7,5 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} ; $E_{dep} = -1,2$ V; $t_d = 120$ s; $Amp = 0,075$ V; Freq =15 Hz; Step E = 0,004 V.74

Figura 24: Estudo da adição do Bi^{3+} para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L^{-1} (pH 9,4); EDTA $4,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} ; Ca^{2+} $1,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} ; Bi^{3+} : 20 ; 40; 60 ; 80 e 100 μL $4,78 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} ; $E_{dep} = -1,2$ V; $t_d = 120$ s; $Amp = 0,075$ V; Freq =15 Hz; Step E = 0,004 V.....75

Figura 25: Estudo da adição de EDTA para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L^{-1} (pH = 9,4); Ca^{2+} $1,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} ; V_{EDTA} : 50;100;200; 300; 400; 500 e 600 μL $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} , Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} ; $E_{dep} = -1,2$ V; $t_d = 120$ s; $Amp = 0,075$ V; Freq =15 Hz; Step E = 0,004 V.....76

Figura 26: Estudo do tempo de reação entre Ca^{2+} - EDTA para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L^{-1} (pH = 9,4); EDTA $2,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} ; Ca^{2+} $1,0 \times 10^{-6}$

mol L⁻¹; Bi³⁺ 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; E_{dep} = -1,2 V; t_d = 120 s; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004.77

Figura 27: Estudo do potencial de deposição para a determinação de Ca²⁺ no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH = 9,4); EDTA 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca²⁺ 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi³⁺ 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; E_{dep} = 0; -0,1; -0,2; -0,3; -0,4; -0,5; -0,6; -0,7; -0,8; -0,9 e -1,0 V; t_d = 120 s; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.78

Figura 28: Estudo do tempo de pré-concentração para a determinação de Ca²⁺ no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV).. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH = 9,4); EDTA 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca²⁺ 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi³⁺ 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; t_d = 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 s; E_{dep} = -1,0 V; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.79

Figura 29: Estudo da amplitude de pulso para a determinação de Ca²⁺ no Au/BiFE (SWAdSV) *in situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH 9,4); EDTA 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca²⁺ 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi³⁺ 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Amp = 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125 e 0,15 V; E_{dep} = -1,0 V; t_d = 90 s; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.80

Figura 30: Estudo da frequência para a determinação de Ca²⁺ no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH 9,4); EDTA 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca²⁺ 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi³⁺ 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Freq = 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 Hz; E_{dep} = -1,0 V; t_d = 90 s; Amp = 0,075 V; Step E = 0,004 V.81

Figura 31: Estudo do passo potencial para a determinação de Ca²⁺ no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH 9,4); EDTA 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca²⁺ 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi³⁺ 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Step E = 0,002; 0,004; 0,006; 0,008 e 0,01 V; E_{dep} = -1,0 V; t_d = 90 s; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz.82

Figura 32: Estudo do pH para a determinação de Ca²⁺ no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹; pH = 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0; 9,4; 9,5; 10,0; 10,5 e 11,0; EDTA 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca²⁺ 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi³⁺ 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; E_{dep} = -1,0 V; t_d = 90 s; Amp = 0,075V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004V.82

Figura 33: Resposta Voltamétrica para determinação de Ca²⁺ com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV) a- Voltamogramas. Condições Experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL

tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,4) ; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (a) EDTA $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; (b-e) $[\text{Ca}^{2+}] = 2,5 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$; $7,5 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1,0 \text{ V}$; $t_d = 90 \text{ s}$; Amp = $0,075 \text{ V}$; Freq = 15 Hz ; Step E = $0,004 \text{ V}$. b- Curva analítica para Ca^{2+} . Dados extraídos da Figura 32a.83

Figura 34: Estudo de interferentes na determinação de Ca^{2+} . $E_{\text{dep}} = -1,0 \text{ V}$; $t_d = 90 \text{ s}$; Amp = $0,075 \text{ V}$; Freq = 15 Hz ; Step E = $0,004 \text{ V}$ Adições de 1×10^{-5} ; 2×10^{-5} ; 3×10^{-5} ; 4×10^{-5} ; 5×10^{-5} ; 6×10^{-5} ; 7×10^{-5} ; 8×10^{-5} e $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Sr^{2+} , Ba^{2+} e Mg^{2+} respectivamente.85

Figura 35: Resposta Voltamétrica para determinação de Ca^{2+} com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições Experimentais: Eletrólito suporte: $10,0 \text{ mL}$ tampão amônio - pH 9,4 ; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; EDTA $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; 2 mL amostra; $[\text{Ca}^{2+}] = 8,0 \times 10^{-7}$; $1,6 \times 10^{-6}$; $2,4 \times 10^{-6}$; $3,2 \times 10^{-6}$; $4,0 \times 10^{-6}$; $4,8 \times 10^{-6}$; $5,6 \times 10^{-6}$; $6,4 \times 10^{-6}$; $7,2 \times 10^{-6}$ e $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1,0 \text{ V}$; $t_d = 90 \text{ s}$; Amp = $0,075 \text{ V}$; Freq = 15 Hz ; Step E = $0,004 \text{ V}$86

Figura 36: Curva analítica para Ca^{2+} por SWAdSV . Dados extraídos da Figura 35.87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estudo de diferentes eletrodos a base de filmes metálicos para a análise de Ca^{2+}	38
Tabela 2: Comparação entre os métodos voltamétricos para determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} em diversas matrizes (Tabela adaptada de Almeida <i>et al.</i> , 2014).	39
Tabela 3: Parâmetros eletroquímicos para formação do filme de Bi^{3+}	49
Tabela 4: Estudo de diferentes eletrodos a base de filmes metálicos para a análise de Mg^{2+}	50
Tabela 5: Condições eletroquímicas obtidas para a determinação de Mg^{2+} por voltametria adsortiva de redissolução anódica no modo diferencial de pulso.	51
Tabela 6: Condições eletroquímicas obtidas para a determinação de Ca^{2+} por voltametria adsortiva de redissolução anódica no modo onda quadrada.	52
Tabela 7: Programa utilizado para a digestão da amostra de biodiesel no forno micro-ondas.....	53
Tabela 8: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Mg^{2+} por DPAdSV.....	70
Tabela 9: Concentrações obtidas para Mg^{2+} (mol L^{-1}) em biodiesel após a adição de mol L^{-1} do analito.....	71
Tabela 10: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Ca^{2+} por SWAdSV.....	88
Tabela 11: Concentrações obtidas para Ca^{2+} (mol L^{-1}) em biodiesel após a adição de mol L^{-1} do analito.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS

- AAS: Espectrometria de absorção atômica (Atomic absorption spectrometry)
- ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas
- AdSV: Voltametria Adsorptiva de Redissolução Anódica
- ANP: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- ASTM: American Society for Testing and Materials
- ASV: Voltametria de Redissolução Anódica
- BAPTA: 1,2-Bis (2-aminoprenoxy) ethane-N,N,N',*N'-tetraacetic acid
- BiFE: Eletrodo de filme de bismuto
- CSV: Voltametria de Redissolução Catódica
- CV: Coeficiente de variação
- DP: Pulso Diferencial
- DPAAdSV: Voltametria Adsorptiva de Redissolução Anódica no modo pulso diferencial
- EBT: Negro de Eriocromo - T
- EDTA: Ácido etilenodiaminotetraacético
- EGTA: Ácido etilenoglicoldiaminitetracético (Ethylene Glycol Tetraacetic Acid)
- EU: União Européia (Union European)
- ETAAS: Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (Electrothermal atomic absorption spectrometry)
- ETV-ICPMS: Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente com introdução de amostra por vaporização eletrotérmica (Electrothermal vaporization inductively plasma mass spectrometry)
- FAAS: Espectrometria de absorção atômica com chama (Flame atomic absorption spectrometry)
- FAES: Espectrometria de emissão atômica com chama (Flame atomic emission spectrometry)
- GFAAS: Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
- ICPOES: Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (Inductively coupled plasma optical emission spectrometry)
- ICPMS: Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (Inductively coupled plasma mass spectrometry)
- LD: Limite de detecção
- LPQA: Laboratório de Pesquisa em Química Analítica
- LPQAP: Laboratório de Pesquisa em Química Analítica e Petróleo
- LQ: Limite de quantificação

MFE: Eletrodo de filme de mercúrio

PNPB: Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel

SD: Desvio padrão

SVRS: Violeta de solocromo

SW: Onda quadrada (square-wave)

SWASV: Voltametria de Redissolução Anódica no modo onda quadrada

SWAdSV: Voltametria Adsorptiva de Redissolução Anódica no modo onda quadrada

TMAC: Cloreto de tetrametilamônio

TMAH: Hidróxido de tetrametilamônio

VAdR: Voltametria Adsorptiva de Redissolução

VAS: vermelho de alizarina S

VC: Voltametria cíclica

VR: Voltametria de redissolução

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 REVISÃO DA LITERATURA	26
2.1 Biodiesel	26
2.2 Biodiesel no Brasil e no mundo.....	27
2.3 Processo de Transesterificação	28
2.4 Metais em biodiesel	29
2.5. Eletrodo de Filme de Bismuto (BiFE)	32
2.6. Utilização do Negro de Eriocromo – T (EBT) como modificador de eletrodos	34
2.7. Utilização do Ácido etilenodiaminotetraacético – (EDTA) como modificador de eletrodos	35
2.8. Metodologias eletroanalíticas para cálcio e magnésio em Biodiesel.....	37
2.9 Técnicas de análise	40
2.9.1 Voltametria Adsorptiva de Redissolução Anódica (AdSV)	41
2.9.1.1 Voltametria de Pulso Diferencial (DP)	42
2.9.1.2 Voltametria de Onda Quadrada (SWV)	42
3 OBJETIVO GERAL.....	45
3.1 Objetivos específicos	45
4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS.....	46
4.1 Instrumentação	46
4.2 Reagentes e Preparo de Soluções	46
4.3 Limpeza dos materiais.....	47
4.4 Pré-tratamento da superfície dos eletrodos	47
4.4.1 Pré-tratamento da superfície do eletrodo de carbono vítreo	48
4.4.2 Pré-tratamento da superfície do eletrodo de ouro	48
4.4.3 Formação do filme de bismuto.....	48
4.4.3.1 <i>Ex situ</i>	48
4.4.3.2 <i>In situ</i>	49
4.5 Estudo Preliminar dos materiais de eletrodo para determinação de Mg²⁺	49

4.5.1 Procedimento de análise para o Mg^{2+}	50
4.6. Procedimento de análise para o Ca^{2+}	51
5. PREPARO DA AMOSTRA DE BIODIESEL	52
6. VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO	53
6.1 Linearidade	53
6.2 Precisão	54
6.3 Repetitividade.....	54
6.4 Limite de Detecção	54
6.5 Limite de Quantificação.....	55
6.6 Exatidão	55
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
7.1 Filme de Bismuto <i>ex situ</i>	56
7.2 Filme de Bismuto <i>in situ</i>	57
7.3 Eletrodo de filme de bismuto modificado com EBT para determinação de magnésio em biodiesel.....	57
7.3.1 Estudos preliminares do GCE/BiFE para magnésio	57
7.3.1.1. Estudo da concentração de EBT	59
7.3.2. Otimização dos parâmetros experimentais	61
7.3.2.1 Estudo do tempo de reação Mg-EBT.....	61
7.3.2.2 Estudo do potencial de deposição	61
7.3.2.3 Estudo do tempo de deposição	62
7.3.2.4 Estudo da amplitude de pulso	63
7.3.2.5 Estudo da velocidade de varredura	64
7.3.2.6 Estudo do pH.....	65
7.3.2.7 Determinação de Mg^{2+}	66
7.3.2.8 Estudo de Interferência.....	68
7.3.3 Aplicação Analítica.....	69
7.3.3.1 Aplicação do procedimento proposto na determinação de Mg^{2+} em amostra real de biodiesel após digestão ácida.....	69
7.4 Figuras de Mérito	70
7.4.1 Verificação da Exatidão através do estudo de recuperação	71

7.5 Eletrodo de filme de bismuto modificado com EDTA para determinação de cálcio em biodiesel	72
7.5.1 Estudos preliminares do eletrodo de ouro (Au)/BiFE para Cálcio	72
7.5.2. Otimização dos parâmetros experimentais	75
7.5.2.1. Estudo da concentração de Bi ³⁺	75
7.5.2.2 Estudo da concentração de EDTA	76
7.5.2.3 Estudo do tempo de reação Ca-EDTA	77
7.5.2.4 Estudo do potencial de deposição	78
7.5.2.5 Estudo do tempo de deposição	79
7.5.2.6 Estudo da amplitude de pulso	80
7.5.2.7 Estudo da frequência	81
7.5.2.8 Estudo do delta escada	81
7.5.2.9 Efeito do pH	82
7.5.2.10 Determinação de Ca ²⁺	83
7.5.2.11 Estudo de Interferência	84
7.5.3 Aplicação Analítica	86
7.5.3.1 Aplicação do Procedimento Proposto na Determinação de Ca ²⁺ em amostra real de biodiesel, após Digestão Ácida	86
7.6 Figuras de Mérito	87
7.6.1 Verificação da Exatidão através do estudo de recuperação	88
8 CONCLUSÃO	90
9 REFERÊNCIAS	91

1 INTRODUÇÃO

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

Entre os contaminantes no biodiesel estão os metais Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} , os quais, juntamente com o elemento P, compõem os elementos que são oficialmente testados em termos do padrão de qualidade do biodiesel. Na^+ e K^+ são oriundos de resíduos dos catalisadores, ao passo que Mg^{2+} e Ca^{2+} são introduzidos no biodiesel durante o processo de purificação, por lavagem com água dura ou ainda através de agentes de secagem como MgSO_4 e CaO . Estes cátions inorgânicos também podem estar presentes na matéria-prima e permanecem no produto final (CALAND *et al.*, 2012).

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

Os contaminantes Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ e K^+ são os únicos metais que têm concentrações máximas especificadas no padrão de qualidade do biodiesel. O principal método oficial utilizado na determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} é o EN 14538, o qual é vinculado à especificação do biodiesel, segundos as normas oficiais dos Estados Unidos (ASTM D6751), na Europa (EN 14214) e no Brasil (RANP 45/2014).

No Brasil, dois métodos oficiais são usados: ABNT NBR – 15553 (Produtos derivados de óleos e gorduras – Ésteres metílicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação dos teores de cálcio, magnésio, sódio, fósforo e potássio por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICPOES) e 15556 (Produtos derivados de óleos e gorduras – Ésteres Metílicos/etílicos de ácidos graxos – Determinação de sódio, potássio, magnésio e cálcio por espectrometria de absorção atômica). Essas técnicas necessitam de uma instrumentação complexa e de pessoas altamente especializadas para sua manipulação.

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

A espectrometria de absorção atômica (AAS) (LOBO *et al.*, 2009; GHISI *et al.*, 2011) como a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICPMS) (MURILLO *et al.*, 1999; SOUZA *et al.*, 2003; ; LYRA *et al.*, 2010; AMAIS *et al.*, 2012) têm sido utilizadas na determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} em amostras de biodiesel.

SANTOS *et al.*, (2007) desenvolveram um método para determinação de Ca^{2+} , P, Mg^{2+} , K^+ e Na^+ em biodiesel usando etanol como solvente, por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente.

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

Outros métodos têm sido propostos por outros pesquisadores, para a determinação de metais derivados de petróleo e em amostras de biodiesel (AUCÉLIO e CURTIUS, 2002; AUCÉLIO *et al.*, 2004; TRINDADE *et al.*, 2006; CASTILHO e STRADIOTTO, 2008; CARDOSO *et al.*, 2010; TORREZANI *et al.*, 2011; TRINDADE *et al.*, 2012; MARQUES *et al.*, 2012; ZEZZA *et al.*, 2012;

MARTINIANO *et al.*, 2013). Na literatura foram encontrados apenas dois estudos que tratam da determinação de Ca^{2+} (ALMEIDA *et al.*, 2014) e Mg^{2+} (ZEZZA *et al.*, 2013) em biodiesel usando métodos eletroquímicos para determinação de cálcio ou magnésio. Porém, a determinação foi feita separadamente para esses analitos e o processo de tratamento adotado para a matriz é trabalhoso. Os métodos eletroquímicos têm sido aplicados na determinação de cálcio ou magnésio em outras matrizes, principalmente, em água (BOOTH *et al.*, 1969; CHESNEY *et al.*, 1998; ZHOU *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2010).

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

Aliando-se ao fato de se ter encontrado apenas dois estudos na literatura, que utilizam métodos eletroanalíticos para a determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} em biodiesel, esse fator e a utilização de um tratamento de amostra bem mais simples motivaram o presente estudo. Entre tais fatores, destaca-se a importância de métodos alternativos na avaliação da qualidade do biodiesel e o uso de um procedimento robusto que se utilize agentes complexantes clássicos como EBT (Negro de Eriocromo T) e EDTA (Ácido etilenodiaminotetracético), além da utilização de um tratamento da amostra simples o que tornaria viável a possibilidade de aplicação em diversas outras matrizes. Esses fatores definiram o objetivo deste estudo, qual seja o de desenvolver um método eletroquímico alternativo para a determinação de cálcio e magnésio em Biodiesel, através da técnica voltametria adsortiva de redissolução nos seus diferentes modos, utilizando-se eletrodos modificados com filme de bismuto (BiFE), na presença de agentes complexantes como EBT e EDTA.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Biodiesel

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

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

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

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

Entretanto, o biodiesel apresenta algumas desvantagens:

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

b) Propriedades a baixa temperatura, como ponto de névoa e ponto de entupimento, pois em baixas temperaturas, o biodiesel tende a solidificar-se parcialmente ou a perder sua fluidez, implicando negativamente no funcionamento do filtro de combustível, bem como do sistema de alimentação do motor quando o mesmo é acionado sob baixas temperaturas. Quanto maior for o tamanho da cadeia e/ou o caráter saturado das moléculas do biodiesel, mais altos serão os valores destes parâmetros (LÔBO *et al.*, 2009);

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

2.2 Biodiesel no Brasil e no mundo

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

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

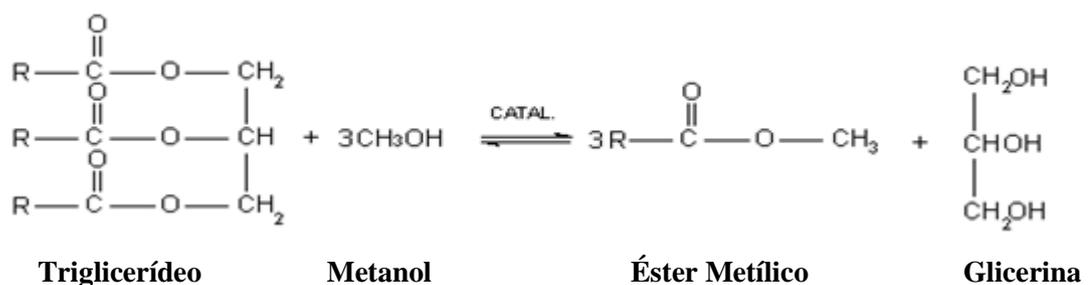
Sendo assim, em dezembro de 2004 foi instituído o Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel (PNPB) pelo Governo Federal, que objetiva a produção e uso do biodiesel, com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, via geração de emprego e renda. A ação mais importante deste programa foi à introdução de biocombustíveis derivados de óleos e gorduras na matriz energética brasileira por meio da Lei nº 11.097, datada de 13 de janeiro de 2005. Esta lei estabelece a obrigatoriedade da adição de um percentual mínimo de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor, em qualquer parte do território nacional.

Foi previsto o uso obrigatório de B2 até o começo de 2008, ou seja, após três anos de publicação da referida Lei (BRASIL, 2004; POUSA *et al.*, 2007).

Desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 6/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), publicada no Diário Oficial da União (DOU) em 26 de outubro de 2009, que aumentou de 4% para 5% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel (ANP, 2011b).

2.3 Processo de Transesterificação

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



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

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

2.4 Metais em biodiesel

Metais podem ser incorporados em combustíveis e também no biodiesel durante o processo de produção, por contato com equipamentos de refino ou destilação, estocagem e transporte, e alguns compostos metálicos podem ser adicionados para melhorar as características dos produtos. Com exceção dos aditivos específicos, utilizados para melhorar as características dos combustíveis, a presença de elementos metálicos é indesejável, mesmo em baixas concentrações (KNOTHE, 2005; WANG *et al.*, 2003).

O biodiesel pode conter contaminantes inorgânicos, incluindo metais, os quais podem ser provenientes da absorção de metais nas plantas oriundos do solo. A presença de metais em combustíveis pode dar origem a uma variedade de problemas, incluindo a redução do desempenho dos motores, envenenamento catalítico e até mesmo contaminação do meio ambiente. Sendo assim, a determinação de elementos metálicos e não metálicos é muito importante no controle de qualidade do biodiesel, envolvendo pré-tratamento adequado de amostras para minimizar perdas, contaminação, decomposição parcial de compostos orgânicos e entre outros (LOBO *et al.*, 2009).

No Brasil, as especificações do biodiesel são estabelecidas pela ANP, através da Resolução nº7 de 2008. A ANP assumiu a atribuição de regular e fiscalizar as atividades relativas à produção, controle de qualidade, distribuição, revenda e comercialização do biodiesel e da mistura óleo diesel biodiesel – BX.

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

Para outros elementos ainda não há limites de concentração no biodiesel. Entretanto, o monitoramento de Cu, Fe e de outros metais é também importante para garantir a qualidade do produto, uma vez que a presença de metais no biodiesel pode acelerar processos catalíticos levando à degradação do combustível (TAGLIABUE *et al.*, 2005; SARIN *et al.*, 2009).

Dessa forma, levando-se em consideração os danos previamente citados que tais metais causam no biodiesel, o desenvolvimento de metodologias de rotina para determinação de metais em amostras de biodiesel é de grande importância.

As técnicas espectrométricas têm sido amplamente utilizadas para a determinação de elementos traço em matrizes complexas como o biodiesel. Na literatura, existem vários estudos para determinação de metais em biodiesel através destas técnicas, tais como AAS (LYRA *et al.* (2010) Guishi *et al.*, 2011), FAES (CHAVES *et al.*, (2008a); OLIVEIRA *et al.*, 2009), UV - Vis (SIVEIRA *et al.*, 2011), GFAAS (LOBO *et al.*, 2011), ICP-MS (WOODS e FRYER, 2007), ICPOES (SANTOS *et al.* (2007)).

Na literatura existem vários métodos eletroquímicos para a determinação de elementos traço em biodiesel empregando diferentes técnicas analíticas, como por exemplo, potenciometria e voltametria que são considerados métodos simples, sensíveis e baratos quando comparados às técnicas espectrométricas. Dentre esses estudos podemos destacar CASTILHO e STRADIOTTO (2008) que propuseram um novo método para a determinação de íons potássio em biodiesel usando um eletrodo modificado de hexacianoferrato de Ni^{2+} por potenciometria. O eletrodo modificado exibiu uma resposta linear para íons potássio na faixa de concentração de $4,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} , com limite de detecção de $1,9 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} . O método desenvolvido foi comparado com fotometria de chama e a concentração de K encontrada no biodiesel mostrou que o método do eletrodo modificado apresentou resultados similares àqueles obtidos por fotometria de chama.

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

quadrada. O metal Cd^{2+} não foi detectado nas amostras estudadas. Testes de recuperação foram realizados para avaliar a exatidão do método proposto.

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

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

ALBUQUERQUE, 2013 desenvolveu um método envolvendo voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada, usando eletrodo de filme de bismuto preparado no modo *ex situ* para determinação de Cu^{2+} em biocombustíveis (etanol e biodiesel). Os experimentos realizados, pela adição sucessiva de alíquotas da solução padrão de Cu^{2+} proporcionaram uma resposta linear entre a corrente de pico e a concentração do íon metálico. Bons limites de detecção foram obtidos para a determinação do Cu^{2+} em etanol combustível, biodiesel de óleo de soja e de sebo ($4,90 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} ; $5,33 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} ; $1,79 \times 10^{-8}$ mol L^{-1}), respectivamente. A exatidão foi avaliada através do teste de recuperação. As recuperações obtidas foram de 85,6% a 97,05%. A precisão, expressa pelo coeficiente de variação (CV: entre 6% e 9%), foi considerada muito boa.

Como citado acima, dentre os vários métodos encontrados na literatura para determinação de metais, destacam-se os métodos eletroquímicos. Na área eletroquímica, os eletrodos quimicamente modificados possuem algumas vantagens,

contribuindo no desenvolvimento de inúmeras aplicações eletroanalíticas, dentre os quais se incluem os sensores eletroquímicos. As propriedades dos eletrodos modificados dependem da formação e das características do filme formado na superfície do eletrodo. As principais vantagens dos eletrodos quimicamente modificados são sua detectibilidade e seletividade.

2.5. Eletrodo de Filme de Bismuto (BiFE)

O eletrodo com filme de mercúrio foi enormemente utilizado ao longo dos anos, mas o aumento de riscos associados ao uso, manipulação e eliminação de mercúrio metálico ou sais de mercúrio tem levado a busca por outros filmes (ECOMONOU, 2005). Uma alternativa eficaz para tal é a utilização do eletrodo com filme de bismuto (BiFE). Este eletrodo foi introduzido por volta do ano 2000 como um substituto do eletrodo de filme de mercúrio (MFE) para a determinação de metais traços (WANG *et al.*, 2000a; 2000b) e de compostos orgânicos (HUTTON *et al.*, 2001). Os BiFEs, além de serem materiais ambientalmente amigáveis e com amplo intervalo de potencial negativo de trabalho, apresentam baixas correntes capacitivas, boa precisão, boa reprodutibilidade dos filmes formados, melhor sensibilidade e seletividade para diversos cátions metálicos. Outra característica dos BiFEs, de alta relevância, é não responderem ao oxigênio, podendo ser aplicados em determinações *in loco*, uma vez que não há a necessidade de se utilizar nitrogênio para a desoxigenação da solução (FILHO *et al.*, 2012).

O BiFE pode ser preparado pelo método *in situ* e *ex situ*. No processo *in situ* o Bi é adicionado à célula eletroquímica e formado como a primeira etapa do processo de determinação. Durante a formação do filme, em geral, o analito é pré-concentrado. A concentração de Bi a ser utilizada deve ser otimizada, pois existe uma relação entre esta e o sinal analítico dos analitos que serão determinados. No processo *ex situ*, o filme é formado separadamente em uma célula eletroquímica para depois ser usado em outra célula de trabalho contendo o analito (ECONOMOU, 2005).

Atualmente na literatura, vários trabalhos são desenvolvidos com o uso do BiFE para determinação de metais traço em diversas amostras. PIERINI *et al.* (2013) usaram BiFEs para determinar chumbo em própolis cru da Argentina. O filme de bismuto foi depositado *in situ* com um tempo de deposição de 120s a -1,40 V sob

agitação constante em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 contendo $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb^{2+} e $1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Bi^{3+} . Os voltamogramas foram obtidos por meio da voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada (SWASV), os quais mostravam dois picos bem definidos por volta de $-0,60 \text{ V}$ e $-0,12 \text{ V}$ para o chumbo e o bismuto, respectivamente. Após cada medida, os resquírios de chumbo e do filme de Bi^{3+} foram retirados após uma aplicação de potencial de $0,2 \text{ V}$ durante 30 s sob agitação. O coeficiente de correlação linear obtido foi de $0,9963$. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram de $0,6 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,84 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

FRENA *et al.* (2011) aplicaram o BiFE usando SWASV, a fim de determinar Sn^{4+} em amostras de biodiesel. A deposição simultânea *in situ* de estanho e bismuto a $-1,2 \text{ V}$ por 90 s foi realizado em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em (pH 4,5) contendo e $1,73 \text{ mmol L}^{-1}$ de ácido caféico, como agente complexante. A curva analítica apresentou um limite de detecção de $0,14 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($r^2 = 0,999$).

ZHANG *et al.* (2010), estudaram a determinação de selênio com BiFEs e aplicaram em amostras de multivitaminas e cabelo humano. O filme de bismuto foi formado através da eletrodeposição do mesmo no eletrodo de carbono vítreo pela aplicação de $-1,0 \text{ V}$ durante 5 min em tampão acetato contendo 100 mg L^{-1} de bismuto. Os voltamogramas foram obtidos por meio da voltametria de redissolução catódica no modo pulso diferencial com um tempo de pré-concentração do analito de 120 s . O coeficiente de correlação linear obtido foi de $0,998$ e apresentou uma taxa de recuperação de $96,1\%$ a $100,3\%$.

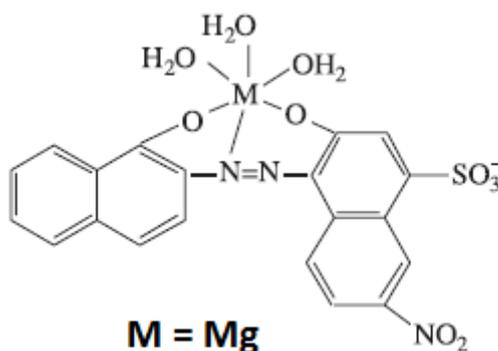
KREFT *et al.* (2012), estudaram a aplicação eletroanalítica e o comportamento eletroquímico do BiFE na determinação de Vitamina B_{12} em produtos farmacêuticos. O filme de bismuto foi formado *ex situ* em uma célula eletroquímica contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ e 1 mol L^{-1} de HCl , onde foi aplicado um potencial de deposição de $-0,3 \text{ V}$ durante 10 s . Para a realização dos voltamogramas, os pesquisadores utilizaram o Britton-Robinson como eletrólito suporte para o estudo eletroanalítico. Os voltamogramas foram obtidos por meio da SWASV com um potencial de pré-concentração de $-1,2 \text{ V}$ durante 30 s sob agitação. O sistema apresentou um coeficiente de correlação linear de $0,998$, com um limite de detecção de $33,1 \text{ nmol L}^{-1}$ e um limite de quantificação de 165 nmol L^{-1} .

SEGURA *et al.* (2011) investigaram a determinação de níquel em amostras de água com BiFE formado *ex situ* usando como complexante 1-nitroso-2-naftol. O filme de bismuto foi formado com o uso de um eletrodo de carbono vítreo como substrato,

o qual foi submetido a uma eletrodeposição de $-1,0$ V durante 120 s em uma célula eletrolítica contendo 100 mg L^{-1} de bismuto em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{pH} = 5,0$. Para a obtenção dos voltamogramas, os pesquisadores utilizaram o Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{pH} = 7,5$ como eletrólito suporte para o estudo eletroanalítico. Os voltamogramas foram obtidos por meio da voltametria de redissolução catódica no modo onda quadrada com um potencial de pré-concentração de $-0,30$ V durante 10 s. O sistema estudado apresentou um limite de detecção de $0,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

2.6. Utilização do Negro de Eriocromo – T (EBT) como modificador de eletrodos

O EBT é um azo-composto carcinogênico que apresenta propriedades quelantes (Figura 2). Portanto, o EBT têm sido amplamente utilizado para a determinação de cálcio, magnésio, manganês, zinco, zircônio, níquel, cobre, túlio e cobalto em determinações analíticas (ÇAKIR *et al.*, 2001, AL-HAJAAR *et al.*, 2008).



Fonte: ÇAKIR *et al.*, 2001

Figura 2: Representação esquemática do ligante EBT.

Downard *et al.* (1992), determinaram magnésio por sistema de injeção de fluxo através da formação do complexo magnésio-eriocromo negro T (EBT) em $\text{pH} = 11,5$. A medição amperométrica em $+0,175$ V foi feita em excesso de EBT em eletrodo de carbono vítreo. O intervalo linear para o magnésio foi de $0,027$ a $1,8 \text{ mg kg}^{-1}$.

WANG *et al.* (2014), estudaram um biossensor de DNA eletroquímico que consiste em um eletrodo de carbono vítreo modificado com um filme de negro de eriocromo T eletropolimerizado (pEBT).

XIAO *et al.* (2012), construíram um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de nanopartículas de ouro (AuNPs) e negro de eriocromo T eletropolimerizado (pEBT) para a determinação simultânea de L-Cisteína (L-Cys) e L-Tirosina (L-Tyr). O filme de PEBT aumentou as correntes de oxidação dos analitos quatro vezes quando comparado a GCE, e os AuNPs separaram os potenciais de oxidação de L-Cys e L-Tyr por 488 mV enquanto apenas o GCE não conseguiu resolvê-los.

Não foi encontrado na literatura nada que explique o processo de transferência de carga do magnésio com o EBT.

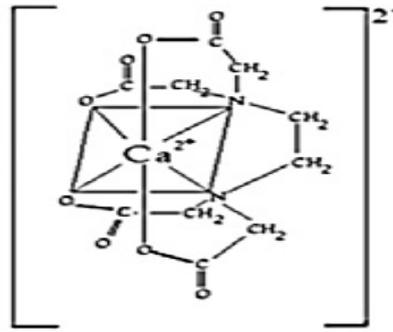
2.7. Utilização do Ácido etilenodiaminotetraacético – (EDTA) como modificador de eletrodos

A determinação de cálcio utilizando o EDTA como agente complexante, apresenta notável importância em determinações analíticas. Sua forma iônica, representada por Y^{4-} é bastante estável e forma complexos com diversos metais (HARRIS, 2001).

O EDTA é um dos agentes complexantes mais importantes, devido às inúmeras utilidades que apresenta, tanto na química analítica, como na indústria e em outros ramos da atividade humana.

BOOTH *et al.*, em 1969, propuseram um método polarográfico para a determinação de cálcio e magnésio, avaliando vários eletrodos, entre eles os eletrodos de gota pendente de Hg e o eletrodo gotejante de Hg. O método é baseado na onda anódica de ambos, EDTA e EGTA, referente as correntes anódicas do complexo Hg-EDTA, ou Hg-EGTA, em pH 9-10. A soma de Ca e Mg é determinada pelo decréscimo na altura da onda anódica do EDTA. Ca é, então, determinado separadamente pelo decréscimo da onda anódica do EGTA devido ao fato do complexo Ca-EGTA ser muito mais estável que o correspondente complexo de Mg. Um agente mascarante (tripolifosfato pentasódico) foi usado para evitar a distorção da onda anódica. O método foi avaliado em amostras sintéticas, e tanto a soma dos dois metais, como a determinação isolada de cálcio foi feita no nível de concentração $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

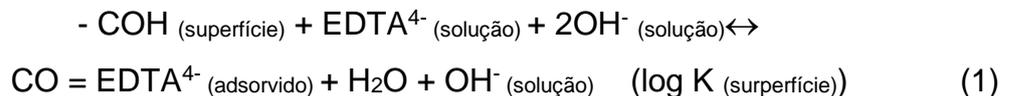
O quelato formado pela união do íon EDTA com um cátion metálico bivalente (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} etc.) apresentaria a seguinte estrutura esquematizada.



Fonte: ALMEIDA *et al.*, 2014

Figura 3: Representação esquemática do quelato formado de EDTA e o cálcio.

A descrição da interação entre o EDTA- Ca^{2+} , com a superfície do eletrodo (Eq.1), em meio alcalino pode ser apresentado nas reações abaixo.



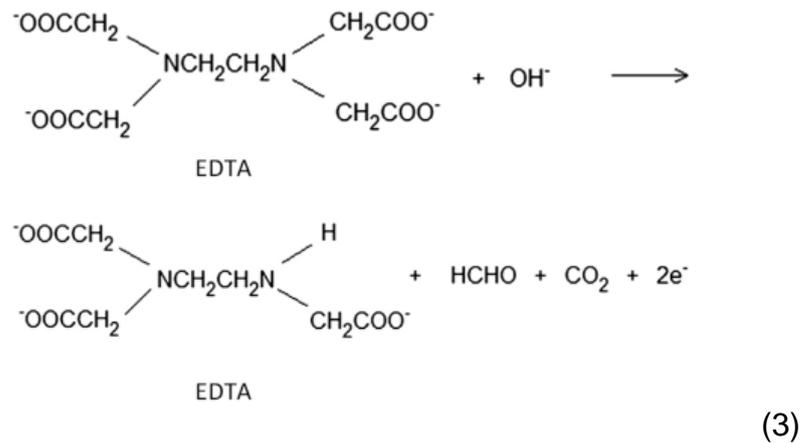
Onde – COH representa o local de superfície. K representa a constante dessa reação. A complexação do Ca^{2+} na superfície do eletrodo é apresentada abaixo. Adicionando uma alíquota de Ca^{2+} , a uma solução, onde existe um eletrodo com EDTA na sua superfície, um quelato estável de CaEDTA^{2-} ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2\text{Ca}$) é esperado para ser formado, de modo que a reação processa-se quantitativamente a partir da esquerda para a direita, como mostrado pela seguinte reação:



Nas condições utilizadas no presente trabalho um pico de corrente anódica foi observada em torno de - 200 mV (E1), o que foi atribuído ao processo de oxidação para o complexo “ $\text{CO} = \text{EDTACa}^{2-}$ ” acumulado no eletrodo. Para este complexo o processo redox é atribuído ao EDTA ligante devido a redox natureza do cálcio-metal que apresentam apenas um simples estado de oxidação (+2). E1 representa o potencial no qual ocorre a oxidação irreversível do complexo cujo mecanismo é discutido abaixo.

A oxidação anódica de EDTA foi estudada em meio alcalino, em um eletrodo de platina. O estudo indicou que os intermediários orgânicos (por exemplo, formaldeído) são formados durante a oxidação de EDTA. Etilenodiamina podem também ser formados, a fim de completar a oxidação de EDTA para o CO_2 . Neste estudo, os dois elétrons que participam na reação inicial de oxidação de EDTA foi

determinada por eletrólise numa solução de EDTA em condições de corrente constante, e medindo o teor de CO₂ na solução alcalina, utilizando análise de carbono inorgânico total (TIC). Com base na literatura de KNOTHE (2007, sugere-se um caminho para a reação de oxidação EDTA inicial relacionada com o processo redox observado no presente trabalho).



OH⁻ é o local onde o EDTA está ligado com o eletrodo de superfície, HCHO e CO₂ são produtos da reação de oxidação.

2.8. Metodologias eletroanalíticas para cálcio e magnésio em Biodiesel

Existem vários trabalhos na literatura que mostram a determinação eletroanalítica de metais em Biodiesel, mas, apenas dois trabalhos foram encontrados sobre a determinação eletroanalítica de Ca²⁺ e Mg²⁺ em Biodiesel. Neste item apresentam-se estes trabalhos, cujo principal objetivo é mostrar a contribuição do presente trabalho, em termos de procedimento alternativo para a determinação de Ca²⁺ e Mg²⁺ em Biodiesel, em comparação com os dois trabalhos existentes.

ZEZZA (2011) determinou Mg²⁺ e Ca²⁺ em biodiesel utilizando Redissolução Adsorviva com Voltametria de Onda Quadrada e Diferencial de Pulso em Eletrodo de Pasta de Grafite modificado com Filme de Mercúrio. As determinações de Mg²⁺ e Ca²⁺ foram baseadas na formação de complexos coloridos. Sendo utilizado o agente complexante Vermelho de Bromopirrolol (BPR) em meio de tampão Bórax (pH 9,0) e tiopentato de sódio (TPS) em meio de tampão fosfato. O método desenvolvido permitiu a determinação dos analitos de interesse de maneira rápida, simples e com um custo instrumental relativamente baixo. Visto que os valores de I_p aumentaram

linearmente, com a concentração de Mg^{2+} e Ca^{2+} . Em todo o intervalo investigado, obteve-se um limite de detecção (LD) utilizando BPR igual a $9,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $4,8 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ para Mg^{2+} com SWV e DPV respectivamente e de $3,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,9 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para Ca^{2+} com SWV e DPV. Utilizando-se tiopentato de sódio foi possível apenas a determinação indireta de Mg^{2+} através da formação do complexo Mg^{2+} -TPS, com um LD de $2,9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para SWV e $3,9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para DPV.

ALMEIDA *et al.*, (2013) determinou Ca^{2+} em biodiesel utilizando Voltametria de Redissolução no modo onda quadrada em eletrodo de carbono vítreo. Sendo utilizado o agente complexante EDTA em meio tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,4). O método desenvolvido permitiu a determinação de Ca^{2+} em biodiesel, após digestão ácida das amostras de biodiesel, o procedimento apresentou bons resultados de sensibilidade ($I_p = 9,05 \times 10^{-6} \mu\text{A} + 3,19 \mu\text{A mol}^{-1}\text{L} [\text{Ca}^{2+}]$) e de precisão (CV de 0,70 e 0,59%).

Na literatura são descritos métodos para determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} nos vários tipos de matrizes, utilizando diversas técnicas e eletrodos. Porém, não foram encontrados métodos utilizando eletrodo de carbono vítreo com filme de bismuto com o ligante EBT para a quantificação de magnésio e com eletrodo de ouro com o ligante EDTA para cálcio em biodiesel (Tabela 1) e na Tabela 2 mostra uma visão geral destes métodos.

Tabela 1: Estudo de diferentes eletrodos a base de filmes metálicos para a análise de Ca^{2+} .

Substrato	Eletrólito suporte mol L^{-1}	Ligantes	Referência
Carbono vítreo (GCE) <i>ex situ</i>	Tampão amônio 0,01	EDTA	ALMEIDA, 2013;
Somente Carbono vítreo (GCE) e BiFE com <i>in situ</i> e <i>ex situ</i>	Tampão amônio 0,01	EDTA, BAPTA, VAS, SVRS, SOMENTE EDTA	NOBRE, 2010; WU <i>et al.</i> ,2010; SOARES, 2008; ALMEIDA, 2013;
	Tampão BR 0,01	EDTA, BAPTA, VAS, SVRS,	WU <i>et al.</i> ,2010; SOARES, 2008. ALMEIDA, 2013;

EDTA : Ácido etilenodiaminotetraacético
 BAPTA:1,2-Bis (2-aminoprenoxy) ethane-N,N,N',*N'-tetraacetic acid
 VAS: vermelho de alizarina S
 SVRS: Violeta de solocromo

Tabela 2: Comparação entre os métodos voltamétricos para determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} em diversas matrizes (Tabela adaptada de Almeida *et al.*, 2014).

	Ca^{2+} / EDTA (GCE) [ALMEIDA, <i>et al.</i> , 2014]	Ca^{2+} / EDTA (GCE-MFE) [WU, <i>et al.</i> , 2010]	Ca^{2+} / EDTA (H.M.D.E) / (D.M.E) / (P. G.E) [BOOTH, <i>et al.</i> , 1969]	Ca^{2+} / BPR (CP-MFE) [ZEZZA, 2011]	Ca^{2+} / (T-CPE) e (IL-CPE) [ZHENG, <i>et al.</i> , 2007]	Ca^{2+} / SVRS (H.M.D.E) [WANG, <i>et al.</i> , 1985]	Ca^{2+} / (PoPD/ MWNTs) (GCE) [ZHANG, <i>et al.</i> , 2008]	Ca^{2+} / CPE [SHAMSIPUR, <i>et al.</i> , 2001]	Mg^{2+} /TPS (CPE-MFE) [ZEZZA, <i>et al.</i> , 2012]	Mg^{2+} /TMAC (GCE) [EL – MAALI, <i>et al.</i> , 2000]
Amostra	Biodiesel	Plasma / cabelo humano	amostra sintética	Biodiesel	Urina	----	Dobesilato de cálcio	Drogas	biodiesel	industriais
Técnica	CV / SWASV	AdSV	Polarografia	SWASV / DPSV	CV / DPV	AdSV	CV / SWASV	Potenciometria	SWAdSV / DPAdSV	OSWSV
Eletrólito suporte ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Tampão amônio 1×10^4	Tampão amônio	Tampão amônio	Tampão bórax $1,5 \times 10^4$	H_2SO_4 5×10^4	Tampão fosfato 5×10^4	H_2SO_4 1×10^5	Perclorato de Tetraetilamônio 1×10^5	Tampão fosfato 5×10^4	Nitrato de potássio 1×10^4
pH	9,4	9,54	9,3	9,0	1,3	9,5	1,0 – 6,5	5,5	10,7	5,0
VC %	0,70	4,7	----	----	1,3	----	1,8 – 4,6	----	----	----
Sensibilidade ($\mu\text{A} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$)	3,19	----	----	$8,2 \times 10^{-3} / 750$	$4,19 \times 10^6$	$5,48 \times 10^5$	----	----	----	----
LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$1,6 \times 10^{-3}$	0,1	----	3,5 / 0,039	0,4	$6,5 \times 10^{-4} / 1,1 \times 10^{-4}$	0,035	0,079	----	0,004
LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$5,3 \times 10^{-3}$	----	----	12 / 0,13	---	---	---	---	----	----

2.9 Técnicas de análise

A comunidade científica mundial tem proposto diversos métodos para a determinação de metais em amostras de biodiesel como: Espectrometria de absorção atômica (AAS) (LOBO *et al.*, 2009; GHISI *et al.*, 2011) e a Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP MS) (CHAVES, 2008; AMAIS *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2006; MURILLO *et al.*, 1999) e essas têm sido as mais comumente utilizadas. Porém, essas técnicas possuem como desvantagem o alto custo de equipamentos e manutenção, quando comparadas com as técnicas voltamétricas, que utilizam instrumentação simples e de custo relativamente baixo. Além disso, uma das principais vantagens das técnicas eletroquímicas é o fato das mesmas não necessitarem, muitas vezes, de pré-tratamento na maioria das matrizes analisadas (OLIVEIRA *et al.*, 2002; FREITAS *et al.*, 2009), ao contrário das técnicas espectrométricas.

As técnicas eletroanalíticas utilizam propriedades elétricas do analito como a corrente, carga e potencial, para determina-lo qualitativamente ou quantitativamente em uma solução. Estas técnicas se baseiam na utilização de um ou mais eletrodos; uma célula eletroquímica, na qual se adicionam o analito e um eletrólito de suporte, se necessário e um equipamento para gerar esta variação de potencial/corrente (PACHECO *et al.*, 2013).

A aplicação de corrente constante entre dois eletrodos, sendo um eletrodo de referência e outro de trabalho, é denominada cronopotenciometria. Essa aplicação de corrente fixa na solução, contendo analito de interesse, gera uma variação do potencial dessa solução, que é proporcional à concentração do analito presente na amostra (PACHECO *et al.*, 2013).

A voltametria é uma técnica eletroanalítica, que consiste na aplicação de um potencial sobre um eletrodo, chamado eletrodo de trabalho, tendo por base o potencial de outro eletrodo de maior área, chamado eletrodo de referência. Esse potencial é aplicado entre os eletrodos em forma de varredura, isto é, variando-o, a uma velocidade constante, em função do tempo. A diferença de potencial aplicada ocasiona reações de oxidação e de redução nas espécies químicas presentes na solução, resultando em correntes elétricas que carregam informações qualitativas e quantitativas. O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente. A curva corrente *versus* potencial obtida é chamada de voltamograma (DORNELLAS,

2014). O terceiro eletrodo é chamado de eletrodo auxiliar, podendo ser de platina, ouro, carbono vítreo, dentre outros. Ele é introduzido na célula voltamétrica para assegurar o sistema potenciostático (ALEIXO, 2003).

2.9.1 Voltametria Adsorptiva de Redissolução Anódica (AdSV)

Na voltametria de redissolução, o analito é depositado por redução, oxidação ou adsorção, na superfície ativa do eletrodo de trabalho. Isso, em decorrência da aplicação de diferença de potencial (potencial de deposição), geralmente a partir de uma solução sob agitação mecânica, com barra magnética ou eletrodo de trabalho girante. Após um determinado período, o processo eletrolítico e o transporte por convecção são interrompidos e o analito, que foi pré – concentrado é redissolvido na solução, pela aplicação de outro valor de diferença de potencial. Esse processo gera uma corrente faradaica, cuja amplitude, idealmente, tende a ser proporcional à quantidade de analito pré – concentrado (DORNELLAS, 2014)

Nos métodos de redissolução anódicos, o eletrodo de trabalho comporta-se como catodo durante a etapa de deposição e, como anodo, durante a etapa de redissolução, quando o analito é oxidado de volta à sua forma original. Já no método de redissolução catódico, o eletrodo de trabalho comporta-se como um catodo durante a etapa da redissolução do analito. A etapa de deposição equivale à pré-concentração eletroquímica do analito, proporcionando, aos métodos de redissolução, o alcance de limites de detecção muito mais baixos (PACHECO *et al.*, 2013).

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



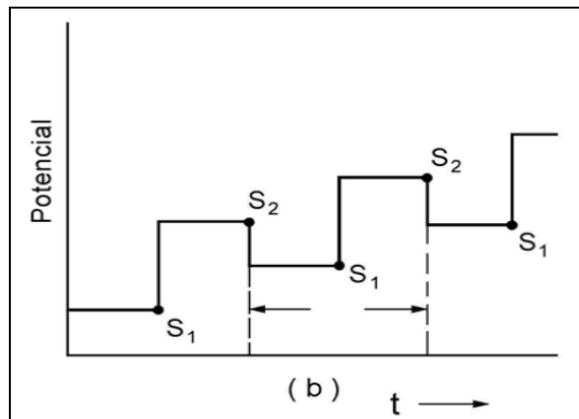
Por outro lado, na segunda etapa ou etapa de redissolução (*stripping*), tem-se a aplicação do potencial de varredura de oxidação, sendo obtida uma corrente anódica resultante da dependência linear com a concentração dos metais (Equação 2), obtendo a dissolução do depósito (SKOOG *et al.*, 2005).



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

2.9.1.1 Voltametria de Pulso Diferencial (DP)

Quando a Voltametria de Redissolução Anódica é combinada com o modo Pulso Diferencial, há uma melhoria instrumental considerável e a obtenção de limites de detecção mais baixos. Além disso, a instrumentação foi desenvolvida de tal modo que as medidas de corrente e aplicações de potencial e pulsos de potencial sejam realizadas em intervalos de tempo muito pequenos (PACHECO *et al.*, 2013).



Fonte: PACHECO, 2008.

Figura 4: Sinais de excitação para voltametria de pulso diferencial.

Nesta técnica, a corrente é medida duas vezes, uma antes da aplicação do pulso (S_1) e outra ao final do pulso (S_2). A primeira corrente é instrumentalmente subtraída da segunda, e as diferenças nos valores das correntes são colocadas em um gráfico *versus* o potencial aplicado, o voltamograma resultante consiste de picos de corrente de forma gaussiana, cuja área é diretamente proporcional à concentração do analito (PACHECO, 2008).

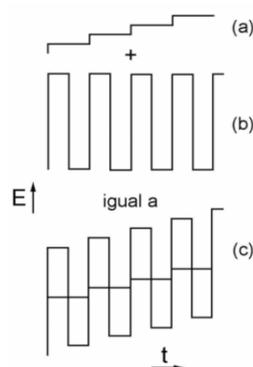
2.9.1.2 Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

No conjunto de técnicas voltamétricas, a voltametria de onda quadrada (SWV) de varredura rápida tem sido incorporada em diversos instrumentos comerciais. Ainda que a voltametria de onda quadrada tenha surgido em 1957, devido aos

estudos de Baker, a utilização da técnica era limitada pela tecnologia eletrônica. Com os progressos da tecnologia analógica e digital, ela passou a ser incorporada nos polarógrafos a partir dos anos 80, principalmente, na sua forma de varredura rápida (ALEIXO, 2003). É uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis. Os limites de detecção podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Além disso, a análise dos parâmetros característicos desta técnica também possibilita a avaliação cinética e mecanística do processo eletrodico em estudo (SOUZA *et al.*, 2003).

Esta técnica pode ser usada para se realizar experimentos de um modo bem mais rápido do que se usando a técnica de pulso diferencial, com sensibilidade semelhante ou superior, pois nela também ocorrem compensações da corrente capacitiva. Um experimento típico que requer cerca de três minutos para ser feito pela voltametria de pulso diferencial pode ser feito em segundos pela voltametria de onda quadrada (ALEIXO, 2003).

A programação de potencial usada na voltametria de onda quadrada pode ser vista na Figura 5. Uma onda quadrada simétrica (b) é superposta sobre uma rampa de potencial em forma de degraus (a) de tal forma que o pulso direto da onda quadrada coincida com o início do degrau da rampa (c). O pulso reverso da onda quadrada por sua vez coincide com a metade da etapa da rampa em degraus. Os parâmetros tempo e potencial aplicado são mostrados na Figura 5, onde τ é o tempo de um ciclo de onda quadrada e também de um ciclo da rampa em degraus. A frequência da onda quadrada em Hz é $1/\tau$. E_{sw} é a amplitude do pulso de onda quadrada em mV, onde $2 \times E_{sw}$ é a amplitude pico a pico (amplitude do pico direto ao reverso) (ALEIXO, 2003).



Fonte: ALEIXO, 2003.

Figura 5: Aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.

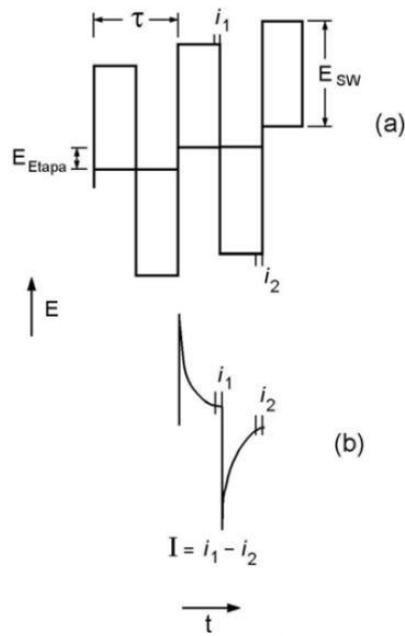


Figura 6: Parâmetros da voltametria de onda quadrada, na qual: τ = tempo de um ciclo de onda quadrada; $1/\tau$ = frequência da onda quadrada em Hz; E_{sw} = amplitude de pulso da onda quadrada em mV; E_{etapa} = potencial em mV da etapa de rampa de potencial em degraus e $2E_{sw}$ é a amplitude de pico a pico da onda quadrada em mV.

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

3 OBJETIVO GERAL

Este estudo tem como objetivo geral desenvolver, otimizar e aplicar métodos voltamétricos alternativos para determinação de Mg^{2+} e Ca^{2+} em biodiesel por Voltametria Adsorviva de Redissolução nos modos de pulso diferencial e onda quadrada utilizando eletrodo de bismuto com EBT e EDTA.

3.1 Objetivos específicos

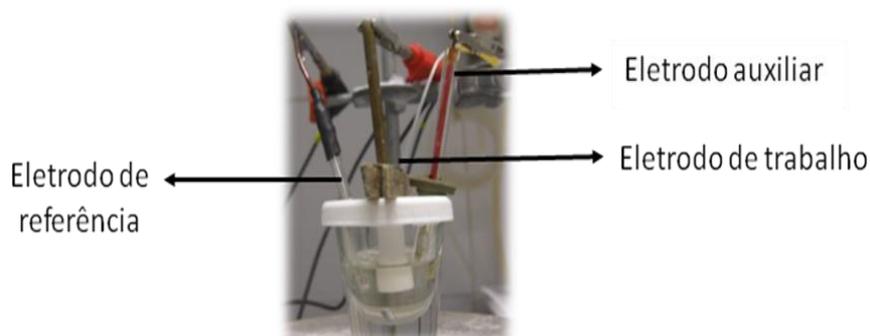
- Avaliar possíveis eletrodos suporte (Ex: eletrodos de carbono vítreo e de ouro), bem como modificadores químicos (Ex: filme de bismuto, EBT e EDTA) adequados a determinação voltamétrica de Mg^{2+} e Ca^{2+} ;
- Otimizar parâmetros de solução (Ex: eletrólito suporte, sistema tampão e pH da solução) e do equipamento (faixa de potencial, potencial de deposição, tempo de pré-concentração, amplitude de pulso, velocidade de varredura, frequência e delta escada) adequados para a determinação de Mg^{2+} e Ca^{2+} em biodiesel;
- Validar a metodologia através de testes de recuperação e/ou baseados nas normas vigentes, especialmente, a Res. ANP 45/2014, relevantes ao estudo metodológico proposto;
- Aplicar a metodologia e procedimento proposto em amostras de biodiesel.

4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

Todos os procedimentos experimentais deste estudo foram desenvolvidos nos laboratórios LPQA e LAPQAP (vinculados ao Núcleo de Estudos em Petróleo e Energia –NEPE) da Universidade Federal do Maranhão, que dispõe de toda a infraestrutura para a realização dos experimentos eletroanalíticos (LPQA) e de análise de combustíveis (LAPQAP).

4.1 Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um analisador voltamétrico potenciostato (Modelo PGSTAT 302, Metrohm, Holanda) acoplado a um núcleo de registro de dados. Durante o desenvolvimento do método foi utilizado um eletrodo de trabalho de carbono vítreo e um de ouro, um eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) e um fio de platina como eletrodo auxiliar. A técnica utilizada para a determinação foi a Voltametria de redissolução adsortiva anódica no modo pulso diferencial – DPAdSV e onda quadrada – SWAdSV.



Fonte: Próprio Autor

Figura 7: Esquema representativo da célula eletroquímica.

4.2 Reagentes e Preparo de Soluções

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico. A água utilizada foi destilada e posteriormente desionizada a uma resistividade de 18,2 M Ω cm⁻¹, em sistema Nanopure Master System 1000, Gehaka (São Paulo, Brasil). A solução padrão de bismuto 1000 mg/L foi utilizada para a pré-concentração do Bi³⁺ sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo. A solução estoque de Mg²⁺ (1,0 x 10⁻³ mol

L⁻¹) foi preparada a partir da diluição do padrão de 1000 mg L⁻¹ (Merck). A solução estoque de Ca²⁺ (1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹) foi preparada a partir da diluição do padrão de 1000 mg L⁻¹ (Merck). A solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5) foi preparada pela adição de 1,361 g NaC₂H₃O₂ (Grupo Química) e 568 µL de CH₃COOH (Merck) avolumado para 100 mL com água deionizada e a solução tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH = 9,4) foi preparada pela adição de 0,054 g NH₄Cl (Reagen) e 154 µL de NH₄OH (Merck) aferido para 100 mL com água deionizada. Estas soluções foram utilizadas como eletrólitos por serem eletroinativo na faixa de potencial na qual se desejou trabalhar e por possuir alta condutividade iônica garantindo assim baixa resistência elétrica para a célula eletroquímica. Para o ajuste do pH foi utilizado uma solução aquosa de HCl (Merck) 1,0 mol L⁻¹ e solução aquosa de NaOH (Merck) 1 mol L⁻¹. A solução aquosa de 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de EBT (Merck local, país) foi preparada dissolvendo-se 0,0046 g do reagente em água deionizada para um volume de 10 mL. A solução aquosa de 1,0 x 10⁻² mol L⁻¹ de EDTA (SYNTH) foi preparada dissolvendo-se 0,186 g do reagente em água desionizada para um volume de 10 mL.

4.3 Limpeza dos materiais

Os materiais utilizados nos experimentos como vidrarias, frascos de polietileno e ponteira foram previamente lavados com água de torneira e com uma solução de Extran® diluído a 10% v/v, removendo assim os resíduos orgânicos destes materiais. Posteriormente, os mesmos materiais foram lavados com água destilada e então deixados em contato por 24 h em uma solução de HNO₃ 10% (v/v) e em seguida, foram lavados com água desionizada.

4.4 Pré-tratamento da superfície dos eletrodos

Nesse estudo foram utilizados os seguintes eletrodos: eletrodo de carbono vítreo e eletrodo de ouro.

4.4.1 Pré-tratamento da superfície do eletrodo de carbono vítreo

O eletrodo de carbono vítreo foi submetido a um polimento manual em suspensão de alumina de 0,1 μm . Em seguida, sua superfície foi lavada com água desionizada e submetida ao banho de ultrassom durante 10 min para remoção de impurezas da superfície do eletrodo.

4.4.2 Pré-tratamento da superfície do eletrodo de ouro

O eletrodo de ouro foi submetido a um polimento manual em suspensão de alumina de 0,1 μm . Em seguida, sua superfície foi lavada com água desionizada e submetida ao banho de ultrassom durante 10 min para remoção de impurezas da superfície do eletrodo. Além disso, após o polimento o eletrodo de ouro foi ativado utilizando a voltametria cíclica (VC) através de 50 ciclos em uma faixa de potencial que variou de -0,5 V até 0,3 V.

4.4.3 Formação do filme de bismuto

4.4.3.1 *Ex situ*

A deposição eletroquímica do filme de bismuto na superfície do eletrodo de carbono vítreo foi realizada de acordo com (GUIMARÃES, 2011) no modo *ex-situ*. Primeiramente, com a adição de 10 mL do tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ pH=4,5 em uma célula e deixando-se deaerar por 10 min para que ocorra a remoção completa do oxigênio. Em seguida, 80 μL de solução padrão de Bi³⁺ 1000 mg L⁻¹ foi adicionado. A técnica utilizada para a formação do filme de Bi³⁺ foi a cronoamperometria, no qual se aplicou um potencial de deposição constante de -1,2 V ao sistema durante 8 min, utilizando uma agitação mecânica constante e sob deaeração. Após a formação do filme, o eletrodo modificado foi transferido para a célula de análise. A Tabela 3 apresenta os parâmetros eletroquímicos otimizados, para a formação do filme de Bi³⁺ sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo através da cronoamperometria.

Tabela 3: Parâmetros eletroquímicos para formação do filme de Bi^{3+} .

PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÕES
Tempo de deposição	480 s
Tempo de equilíbrio	15 s
Potencial de deposição	-1,2 V
Técnica	Cronoamperometria

4.4.3.2 *In situ*

A deposição eletroquímica do filme de bismuto na superfície do eletrodo de ouro foi realizada de acordo com o modo *in-situ*. Neste processo, o Bi foi adicionado à célula eletroquímica de análise já com o eletrólito adequado para a determinação do analito. O filme é formado juntamente com a etapa de pré-concentração para a detecção do analito. As respostas para o filme de bismuto e para o analito de interesse aparecem em potenciais diferentes, e estes não estão se sobrepondo ou interferindo, por isso não há problema algum em se trabalhar com o filme *in situ*, já que este apresenta sinal quase que constante a cada nova varredura, em contraste com o sinal do analito, que cresce a cada nova adição padrão múltipla que é realizada. Durante a formação do filme, em geral, o analito de interesse é pré-concentrado. A concentração de Bi foi otimizada, pois existe uma relação entre a concentração e o sinal analítico do analito que será determinado.

4.5 Estudo Preliminar dos materiais de eletrodo para determinação de Mg^{2+}

A Tabela 4 apresenta os materiais utilizados para a avaliação do melhor meio para o estudo do Mg^{2+} , utilizando como substrato, o eletrodo de carbono vítreo.

Tabela 4: Estudo de diferentes eletrodos a base de filmes metálicos para a análise de Mg^{2+} .

Substrato	Eletrólito suporte mol L ⁻¹	Ligantes	Referência
Somente Carbono vítreo (GCE), MFE <i>ex situ</i>	Tampão amônio 0,01	EBT	O próprio autor, 2013
	Tampão fosfato 0,05	EBT	O próprio autor, 2013
Somente Carbono vítreo (GCE), BiFE <i>ex situ</i>	Tampão acetato 0,1	EBT	O próprio autor, 2013

EBT: negro de eriocromo T

GCE: electrodo carbon glass (eletrodo de carbono vítreo)

MFE: eletrodo de filme de mercúrio

BiFE: eletrodo de filme de bismuto

Com base na Tabela 4, foram realizados testes para avaliar a melhor solução de eletrodeposição, com o objetivo de favorecer a formação do complexo entre o agente complexante e o analito de interesse.

4.5.1 Procedimento de análise para o Mg^{2+}

Para a determinação de Mg^{2+} , a análise foi feita utilizando-se uma célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,5) com adição de 200 μ L de EBT $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ como ligante, e utilizando-se eletrodo de carbono vítreo previamente polido com óxido de alumínio (1 μ m de granulometria) e modificado com filme de bismuto, eletrodos de referência Ag/AgCl e auxiliar. Foi feita varredura anódica do sinal do ligante (EBT) para identificar o potencial no qual o mesmo apresenta sinal eletroanalítico. Em seguida, foram feitas adições de padrão Mg^{2+} (100 μ L) a partir da solução estoque de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

A Tabela 5 apresenta os parâmetros eletroanalíticos otimizados para a determinação de Mg^{2+} por voltametria de redissolução adsortiva anódica no modo pulso diferencial.

Tabela 5: Condições eletroquímicas otimizadas obtidas para a determinação de Mg^{2+} por voltametria de redissolução adsorptiva anódica no modo pulso diferencial.

PARÂMETROS (Faixas)	ESPECIFICAÇÕES
Tempo de Deposição (0 – 250s)	120 s
Tempo de Equilíbrio	15 s
Potencial Inicial	- 0,1 V
Potencial Final	0,6 V
Potencial de Deposição (-1,4 – -0,5 V)	- 0,1 V
Amplitude de Pulso (0,025 – 0,15V)	0,1 V
Velocidade de Varredura (0,005 – 0,1 V s ⁻¹)	0,05 V s ⁻¹
Direção de Varredura	Anódica
Modo de Varredura	DP

4.6.Procedimento de análise para o Ca^{2+}

Para a determinação de Ca^{2+} , a análise foi feita utilizando-se uma célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,4) com adição de 200 μL de EDTA $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, como ligante, utilizando-se eletrodo de ouro previamente polido com óxido de alumínio ($1\mu\text{m}$ de granulometria) e modificado com filme de bismuto *in situ* ($80 \mu\text{L}$ de Bi^{3+} $4,78 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), eletrodos de referência Ag/AgCl e auxiliar. Realizou-se a varredura anódica do ligante (EDTA) para identificar o potencial no qual o mesmo apresentava sinal eletroanalítico. Em seguida, foram feitas adições de padrão de Ca^{2+} ($100 \mu\text{L}$) a partir da solução padrão de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

A Tabela 6 apresenta os parâmetros eletroanalíticos otimizados para a determinação de Ca^{2+} por voltametria de redissolução adsorptiva anódica no modo onda quadrada.

Tabela 6: Condições eletroquímicas otimizadas obtidas para a determinação de Ca^{2+} por voltametria de redissolução adsorptiva anódica no modo onda quadrada.

PARÂMETROS (Faixas)	ESPECIFICAÇÕES
Tempo de Deposição (0 – 250s)	90 s
Tempo de Equilíbrio	15 s
Potencial Inicial	- 0,3 V ou – 0,4 V
Potencial Final	0,2 V
Potencial de Deposição (0 – -1,0 V)	-1,0 V
Frequência (5 – 50 Hz)	15 Hz
Amplitude de Pulso (0,025 – 0,15V)	0,075 V
Passo Potencial (0,002 –0,01 V)	0,004 V
Direção de Varredura	Anódica
Modo de Varredura	SW
Tempo de Reação Ca-EDTA (0 – 5 min)	3 min

5. PREPARO DA AMOSTRA DE BIODIESEL

As determinações via DPAdSV e SWAdSV foram realizadas após a decomposição ácida das amostras de biodiesel em sistema fechado em equipamento Multiwave 3000 modelo XQ804 (Anton Paar, Austria). Foi utilizada amostra de biodiesel de soja proveniente do programa interlaboratorial da ANP cedidas pelo laboratório LAPQAP da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Para o tratamento da amostra foi realizado a digestão via úmida por radiação de microondas em sistema fechado. A amostra foi preparada diretamente em tubos de quartzo de 30 mL pela adição de 300 mg de amostra de biodiesel, 4 mL de ácido nítrico ultrapuro (HNO_3), 2 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e 1 mL de água desionizada (ALMEIDA,2014). Logo após, os frascos foram devidamente fechados e levados ao aquecimento de acordo com a programação otimizada. Ao final, a amostra foi armazenada sobre refrigeração e em tubo voltamétrica de 15 mL.

O programa de aquecimento do forno microondas otimizado para a digestão da amostra de biodiesel está apresentado na Tabela 7.

Tabela 7: Programa de aquecimento do forno de microondas para digestão da amostra de biodiesel.

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

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

6. VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO

A validação do procedimento analítico desenvolvido para determinar Mg^{2+} e Ca^{2+} em amostras de biodiesel por DPAdSV e SWAdSV, foi mediada com base nos seguintes parâmetros estatísticos: linearidade, sensibilidade, precisão, repetitividade, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão.

6.1 Linearidade

A linearidade foi verificada pelo coeficiente de correlação linear (R) resultante da linha de regressão de concentrações diferentes para Mg^{2+} e Ca^{2+} . As concentrações utilizadas para a adição padrão no digerido da amostra de biodiesel foram: $[Mg^{2+}]$: $2,0 \times 10^{-5}$, $3,0 \times 10^{-5}$, $4,0 \times 10^{-5}$, $5,0 \times 10^{-5}$, $6,0 \times 10^{-5}$ e $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $[Ca^{2+}]$: $8,0 \times 10^{-7}$; $1,6 \times 10^{-6}$; $2,4 \times 10^{-6}$; $3,2 \times 10^{-6}$; $4,0 \times 10^{-6}$; $4,8 \times 10^{-6}$; $5,6 \times 10^{-6}$; $6,4 \times 10^{-6}$; $7,2 \times 10^{-6}$ e $8,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

6.2 Precisão

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

$$RSD = \frac{s}{\bar{X}} * 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde s= desvio padrão absoluto;

\bar{X} = média das determinações.

6.3 Repetitividade

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

6.4 Limite de Detecção

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

$$LD = \frac{3 * s}{b} \quad (\text{Equação 4})$$

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

6.5 Limite de Quantificação

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

$$LQ = \frac{10 * s}{b} \quad (\text{Equação 5})$$

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

6.6 Exatidão

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

$$R (\%) = \frac{\textit{média do valor obtido}}{\textit{média do valor adicionado}} \times 100 \quad (\text{Equação 6})$$

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Filme de Bismuto *ex situ*

Após a deposição do Bi^{3+} sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo, realizou-se uma varredura anódica (Figura 8) para demonstrar que o Bi^{3+} estava realmente depositado. Essa varredura foi feita através da voltametria de redissolução anódica no modo diferencial de pulso (DPASV).

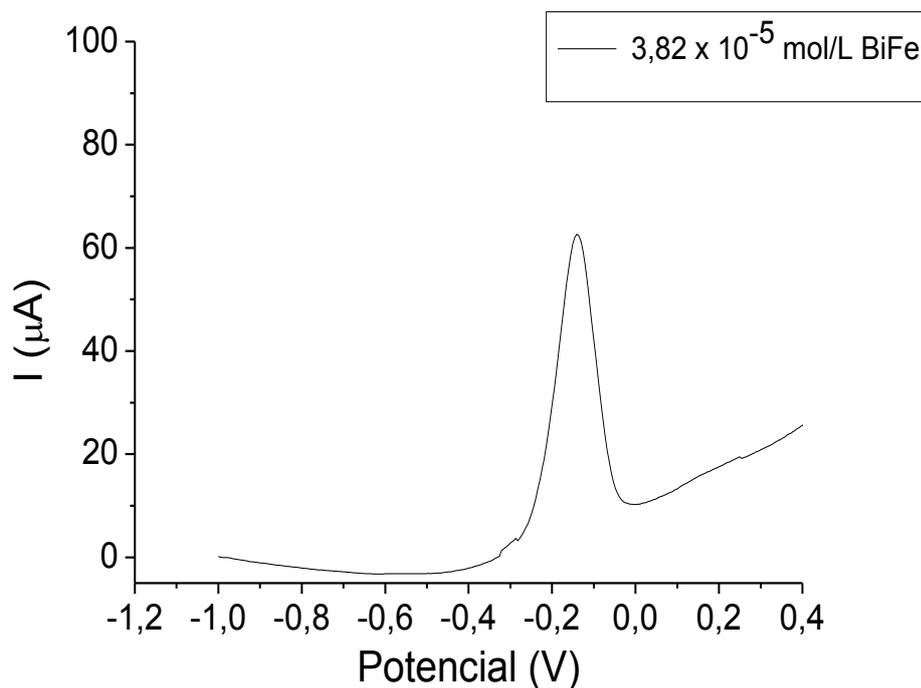


Figura 8: Voltamograma característico do filme de bismuto (DPASV/Varredura Anódica). Condições experimentais: tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5); $[\text{Bi}^{3+}]$ $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_i = -1,4 \text{ V}$; $E_f = 0,4 \text{ V}$; $E_d = -1,2 \text{ V}$; $t_d = 480 \text{ s}$; Amp = 100 mV ; $V = 40 \text{ mV s}^{-1}$.

A Figura 8 mostra um voltamograma referente à dissolução do filme de bismuto, no qual se observa uma boa resposta voltamétrica, onde o potencial de redissolução anódica do Bi^{3+} aparece por volta de $-0,2 \text{ V}$.

Este voltamograma de dissolução foi obtido através da otimização para determinar as melhores condições para a dissolução do filme de bismuto depositado na superfície do eletrodo de carbono vítreo, conforme apresentado na Tabela 3.

7.2 Filme de Bismuto *in situ*

A escolha no uso do filme de bismuto *in situ* em eletrodo de ouro foi feita com base no desempenho e na resposta obtida para o analito. A resposta que ofereceu maior sensibilidade e melhor performance analítica foi determinante para a metodologia de preparo do filme, e para ver a possibilidade de uma determinação de cálcio neste tipo de eletrodo, visto que já existe na literatura um trabalho para determinação de cálcio em carbono vítreo (ALMEIDA, 2013).

7.3 Eletrodo de filme de bismuto modificado com EBT para determinação de magnésio em biodiesel

7.3.1 Estudos preliminares do GCE/BiFE para magnésio

Diante da inviabilidade com o filme de mercúrio, procedeu-se o estudo com o BiFE utilizando o eletrólito suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,5$). A Figura 9 mostra um estudo voltamétrico preliminar para verificar a interação eletroanalítica do complexo formado entre EBT- Mg^{2+} .

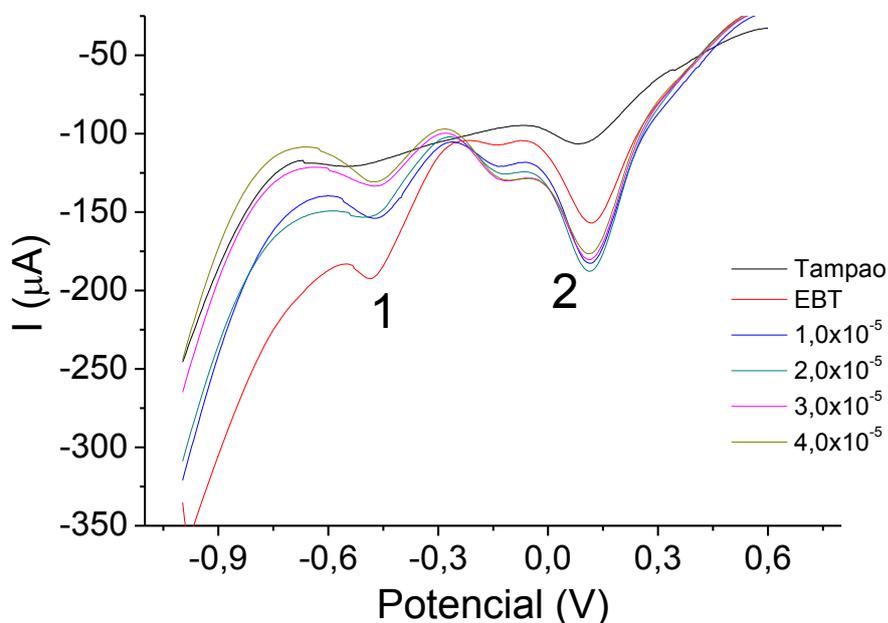


Figura 9: Voltamogramas para a determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Catódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,5$); EBT $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Mg}^{2+}] = 1,0 \times 10^{-5}$, $2,0 \times 10^{-5}$, $3,0 \times 10^{-5}$ e $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_d = -1,2 \text{ V}$; $t_d = 160 \text{ s}$; Amp = $0,1 \text{ V}$; $V = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

De acordo com a Figura 9, nota-se que o ligante apresentou um discreto sinal em um potencial em torno de $-0,5\text{ V}$ (pico 1), porém as adições sucessivas de Mg^{2+} não apresentaram nenhuma resposta eletroanalítica que evidenciasse tratar-se do sinal de complexação EBT- Mg^{2+} , visto que o sinal do EBT aumentou de forma desproporcional como pode ser observado na Figura 9. O pico (2), trata-se do sinal de redução correspondente ao filme de bismuto no eletrólito suporte tampão acetato, o que nos permite concluir que a proposta para a determinação do analito através da técnica de DPAdSV/ varredura catódica não é viável.

Diante da não evidencia de picos definidos com a técnica de DPAdSV/varredura catódica mencionada anteriormente, procedeu-se o estudo com o BiFE utilizando o eletrólito suporte tampão acetato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,5$) com a técnica de técnica de DPAdSV/ varredura anódica. A Figura 10 mostra um estudo voltamétrico preliminar para verificar a interação eletroanalítica do complexo formado entre EBT- Mg^{2+} .

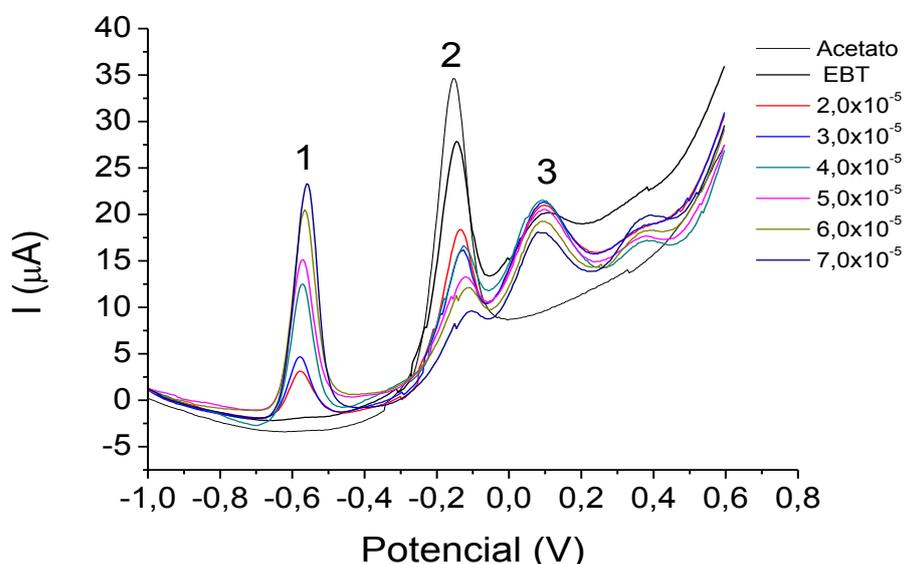


Figura 10: Voltamograma para a determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: eletrólito suporte: $10,0\text{ mL}$ tampão acetato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,5$); EBT $2,0 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Mg}^{2+}]$: $2,0 \times 10^{-5}$, $3,0 \times 10^{-5}$, $4,0 \times 10^{-5}$, $5,0 \times 10^{-5}$, $6,0 \times 10^{-5}$ e $7,0 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$; $E_d = -1,2\text{ V}$; $t_d = 160\text{ s}$; $Amp = 0,1\text{ V}$; $V = 0,05\text{ V s}^{-1}$.

Conforme pode-se ver na Figura 10 há picos bem definidos para o Mg^{2+} (1), para o filme de bismuto (2) e EBT (3) indicam a viabilidade eletroanalítica do procedimento proposto, principalmente, devido a excelente resolução e separação

dos picos. Após a deposição do metal, e a varredura anódica realizada no intervalo de potencial de $-1,0$ V a $0,8$ V, observou-se os três picos de oxidação em aproximadamente $-0,6$ V (1), $-0,2$ V (2) e $0,1$ V (3). Adições sucessivas de alíquotas de solução estoque de Mg^{2+} $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ mostraram um crescimento significativo da corrente de pico anódica, proporcional a concentração adicionada do analito (1). Estes resultados permitiram se afirmar que trata-se da oxidação referente há transferência de carga EBT- Mg^{2+} (El-Maali *et al.*, 2000).

Os sinais referentes aos picos voltamétricos 2 e 3 são do BiFE e do ligante EBT, respectivamente. Observa-se que estes sinais não interferem na resposta voltamétrica do complexo formado entre EBT- Mg^{2+} , e que o sinal referente aos picos 2, que é do filme de bismuto e picos 3, que é do EBT, decaem à medida que o sinal do complexo formado aumenta. É importante salientar que o sinal do BiFe não causa interferência no sinal da oxidação do complexo EBT- Mg^{2+} , visto que ambos estão em diferentes faixas de potenciais.

7.3.1.1. Estudo da concentração de EBT

As otimizações de todos os parâmetros experimentais foram realizadas no mesmo eletrólito suporte tampão acetato $0,1$ mol L⁻¹ (pH = 4,5). Esse estudo foi realizado no modo univariado, variando-se a concentração do ligante e, mantendo-se todos os demais parâmetros constantes.

O estudo da concentração de EBT (Figura 11) utilizado na célula de análise foi feito através de adições sucessivas de uma solução de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ do ligante para encontrar a concentração que proporcionasse a formação do complexo Mg^{2+} -EBT e também apresentasse maior sensibilidade, além de uma resposta linear na faixa de concentração estudada.

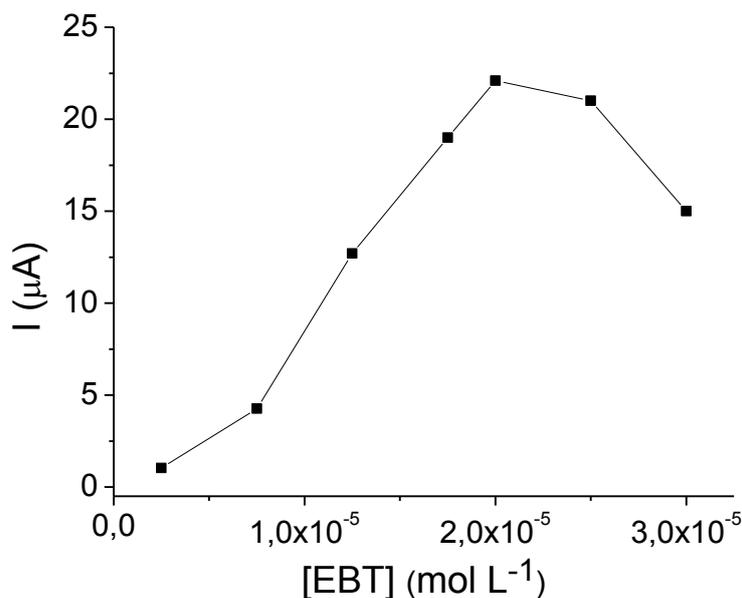


Figura 11: Estudo da adição de EBT para a determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5); EBT: 50;100;150;175; 200; 250 e 300 µL 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,2$ V; $t_d = 160$ s; Amp = 0,1 V; $V = 0,05$ V s⁻¹.

Nesse estudo (Figura 11), primeiramente foi realizado uma varredura de potencial apenas do tampão acetato e do Bi^{3+} foi observado que este eletrólito apresentou apenas o sinal referente ao Bi^{3+} no potencial de aproximadamente - 0,2 V. Em seguida adicionou-se uma alíquota de Mg^{2+} equivalente a concentração de $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ na célula e, novamente, nenhum sinal de processo redox foi observado. Entretanto, quando se adicionou concentrações equivalentes a faixa de $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de EBT foi observado, claramente, a existência de um processo redox, atribuído ao processo de oxidação do complexo Mg^{2+} -EBT.

A partir daí, um aumento da concentração de EBT mostra um efeito sobre a corrente anódica, sendo que, foi observado um ponto de maior sensibilidade (maior corrente) referente à formação do complexo Mg^{2+} -EBT e que corresponde à concentração de ligante igual a $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Esse valor foi considerado ideal e, portanto, foi usado em todos os experimentos subsequentes.

7.3.2. Otimização dos parâmetros experimentais

7.3.2.1 Estudo do tempo de reação Mg-EBT

O estudo do tempo de reação entre Mg^{2+} - EBT (Figura 12) foi realizado com objetivo de realizar as análises em tempos similares após cada adição de concentração do analito de interesse e para garantir que não houvesse perda de sinal por uma complexação incompleta do analito com o ligante.

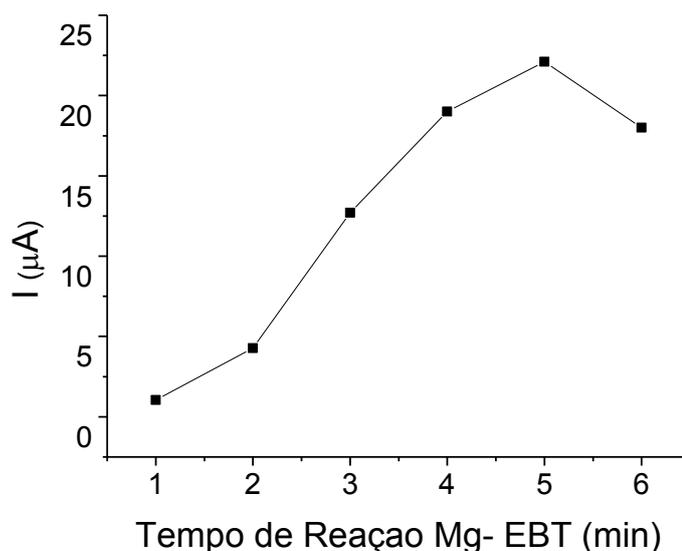


Figura 12: Estudo do tempo de reação Mg^{2+} - EBT para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5); EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0$ V; $t_d = 120$ s; Amp = 0,1 V; $V = 0,05$ Vs⁻¹.

O estudo do tempo de reação para a formação do complexo entre Mg^{2+} -EBT foi realizado de 0 a 6 minutos e de acordo com os resultados obtidos o tempo de reação mais adequado e que correspondeu ao maior sinal de corrente de pico foi o tempo de 5 minutos. Esse tempo foi adotado como tempo de espera para a formação do complexo após cada adição sucessiva do analito que era realizada.

7.3.2.2 Estudo do potencial de deposição

O estudo do potencial de acúmulo sobre as correntes de pico foi investigado no intervalo de - 1,4V a - 0,5 V (Figura 13), utilizando-se tampão acetato 0,1 mol L⁻¹, em pH= 4,5, com EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ e Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹.

O estudo revelou que o maior sinal de corrente de pico observado foi em potencial de acúmulo igual a -1,0 V.

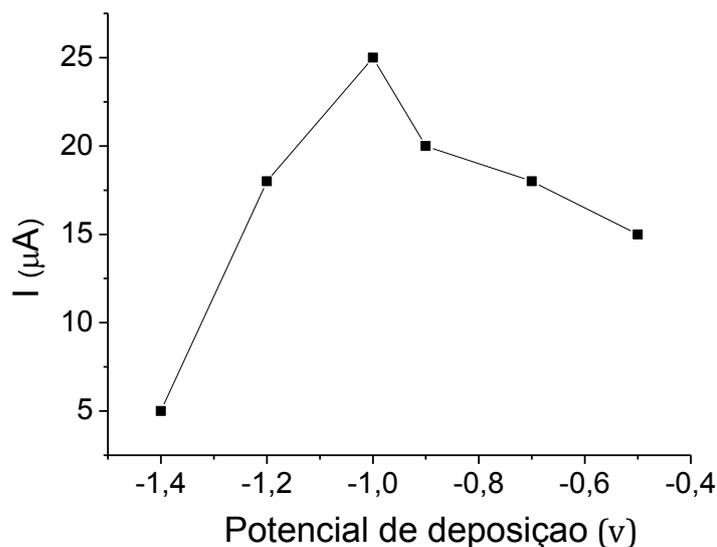


Figura 13: Estudo do potencial de reação Mg^{2+} - EBT para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5); EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,4; -1,2; -1,0; -0,9; -0,7$ e $-0,5$ V; $t_d = 160$ s; Amp = 0,1 V; V = 0,05 V s⁻¹.

O potencial de deposição igual a -1,0 V gerou um aumento na corrente anódica, ou seja, um aumento na sensibilidade da técnica. Desta forma, este valor foi escolhido como melhor potencial de deposição para determinação do analito.

Para complementar a etapa de acumulação dos analitos na superfície do eletrodo de trabalho, deve-se otimizar o tempo de pré-concentração. Este é um dos parâmetros mais importantes quando se trabalha com análise de traços de metais, utilizando a técnica de Voltametria de Redissolução, pois o tempo está diretamente relacionado com a sensibilidade do sensor (FRAZÃO, 2010).

7.3.2.3 Estudo do tempo de deposição

O estudo do tempo de deposição sobre a corrente de pico (Figura 14) foi realizado na solução eletrolítica, contendo tampão acetato (pH 4,5), EBT e Mg^{2+} . O estudo foi realizado no intervalo de 0 a 250 segundos, utilizando-se um potencial de deposição igual a -1,0 V. Os resultados obtidos mostram um crescente sinal de corrente de pico em 120 s, para em seguida observar-se um decaimento da corrente a partir de 160 s.

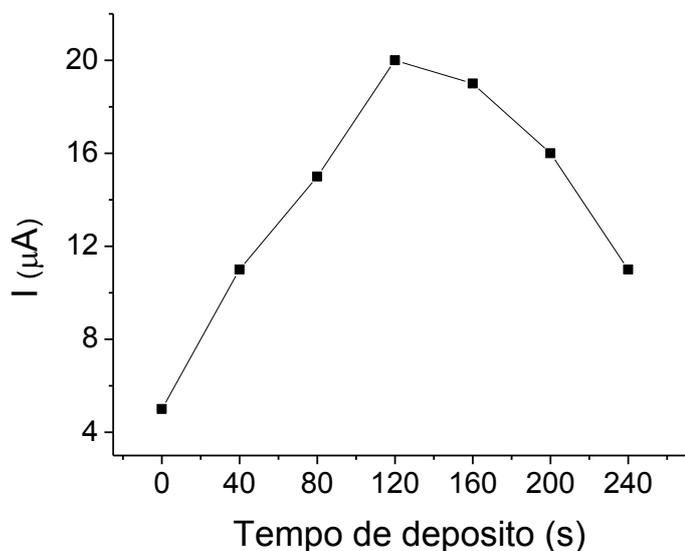


Figura 14: Estudo do tempo de depósito para determinação de Mg^{2+} (DPA_{AdSV}/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*.. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ - (pH = 4,5); EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0V$; $t_d = 0; 40; 80; 120; 160; 200$ e 240 s; Amp = 0,1 V; V = 0,05 Vs⁻¹.

O melhor sinal de corrente de pico obtido (120 s) foi escolhido como sendo ideal, nas condições estudadas. Sabe-se, contudo que, normalmente, em medidas eletroquímicas atribui-se o decaimento da corrente à saturação da superfície do eletrodo. Quando o processo é adsorptivo, há uma limitação em termos de faixa linear da concentração do analito, havendo necessidade de se usar um tempo de deposição menor que o valor que apresenta maior sensibilidade. No presente caso, nenhuma limitação da faixa de concentração foi observada com o uso do valor de 120 s, sendo este valor usado nos experimentos subsequentes.

7.3.2.4 Estudo da amplitude de pulso

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

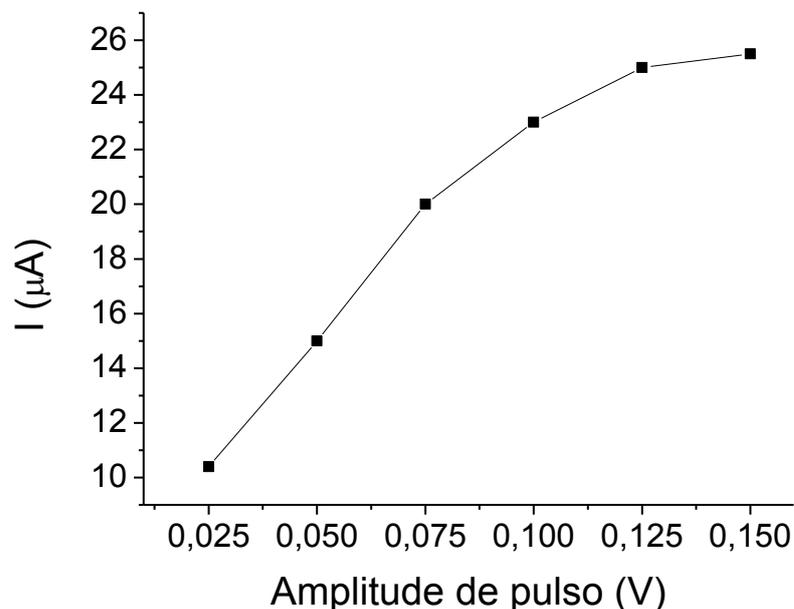


Figura 15: Estudo da amplitude de pulso para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5); EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Mg^{2+} 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0V$; $t_d = 120$ s; Amp = 0,25; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125 e 0,150 V; $V = 0,05$ V s⁻¹.

O efeito da amplitude de pulso sobre a corrente de pico (Figura 15) foi avaliada, com o objetivo de se obter, principalmente, as melhores condições de resolução e sensibilidade. Foram avaliados os valores de amplitude de 0,025 V a 0,15 V e observou-se uma dependência desta sobre a corrente. Quanto maiores são os valores de amplitude de pulso observa-se um aumento da corrente de pico, resultando em um acréscimo na sensibilidade da medida eletroquímica (SOUZA, 2004). Apesar de obter-se maior sinal de pico à medida que a amplitude era aumentada, a resolução dos voltamogramas obtidos era afetada, já que causava um alargamento dos picos. Baseado na Figura 15, a amplitude de 0,1 V foi a que apresentou melhor resposta de sensibilidade e resolução de pico, sendo esta, escolhida e usada em todos os demais experimentos.

7.3.2.5 Estudo da velocidade de varredura

A amplitude de pulso e a velocidade de varredura são dois parâmetros também importantes na otimização dos dados, em um procedimento eletroanalítico. Ambos podem influenciar na detectibilidade e na resolução dos picos voltamétricos.

Para as técnicas de pulso, as velocidades de varredura máximas são $0,1 \text{ Vs}^{-1}$, (GUIMARÃES, 2001), devido a isto foram avaliados os seguintes valores: 0,005; 0,010; 0,015; 0,020; 0,025; 0,05 e $0,1 \text{ V s}^{-1}$. Os resultados encontrados estão apresentados na Figura 16.

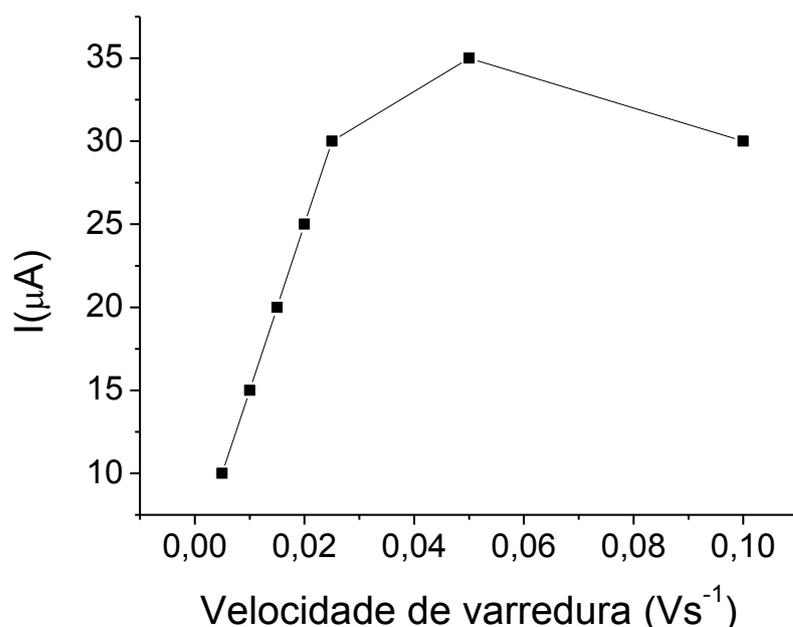


Figura 16: Estudo da velocidade de varredura para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5); EBT $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; Mg^{2+} $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_d = -1,0 \text{ V}$; $t_d = 120 \text{ s}$; Amp = 0,1 V; $V = 0,005; 0,010; 0,015; 0,020; 0,025; 0,05$ e $0,1 \text{ Vs}^{-1}$.

De acordo com a Figura 16, pode-se destacar que a velocidade de varredura igual a $0,05 \text{ V s}^{-1}$ mostrou a maior sensibilidade para o analito de interesse, sendo, portanto, mais apropriada. Este valor foi escolhido e usado nos demais experimentos.

7.3.2.6 Estudo do pH

A capacidade tamponante da solução tampão é quem controla o real valor do pH perto da superfície do eletrodo e, portanto, exerce grande influencia na determinação dos compostos. O pH do eletrólito (tampão acetato) é quem influencia na distribuição das espécies, assim como dos íons magnésio, e devido isso foi realizado um estudo do pH ótimo, uma vez que ele tem um efeito significativo sobre a determinação do complexo $\text{Mg}^{+2} - \text{EBT}$.

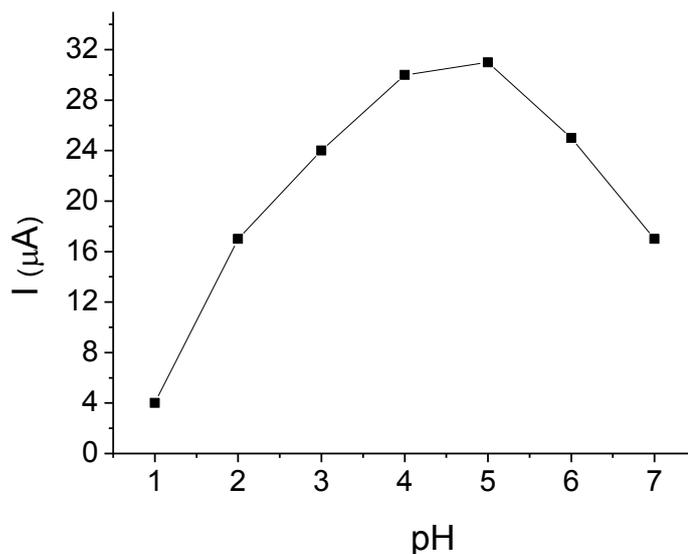


Figura 17: Estudo do pH para determinação de Mg^{2+} (DPAdSV/Varredura Anódica) no GCE/BiFE *ex situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ - pH = 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0; EBT $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; Mg^{2+} $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_d = -1,0V$; $t_d = 120 \text{ s}$; Amp = $0,1 \text{ V}$; $V=0,05 \text{ V s}^{-1}$.

De acordo com resultados obtidos (Figura 17), observou-se que íons de magnésio na presença de EBT $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sofreram uma pequena variação do equilíbrio de complexação do filme formado na superfície para corrente de pico com valores de pH menores que 4,0, e maior intensidade de corrente de pico em torno de 4,5, o qual foi escolhido e identificado como o pH ótimo para os demais estudos. Estes resultados confirmam que o pH influencia bastante na formação do complexo Mg^{2+} -EBT.

7.3.2.7 Determinação de Mg^{2+}

Diante da viabilidade do método avaliado, após a otimização das condições experimentais, o procedimento foi avaliado para a análise quantitativa do analito (Figura 18a) de acordo com os parâmetros da Tabela 5. A Figura 18b mostra a curva analítica para Mg^{2+} nas condições otimizadas.

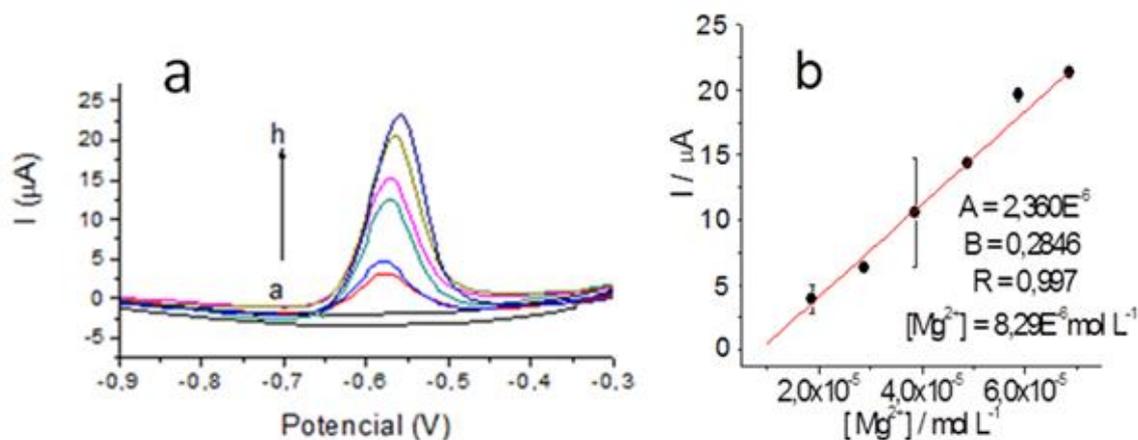


Figura 18: Resposta Voltamétrica para determinação de Mg^{2+} com GCE/BiFE *ex situ*. **a** - Voltamogramas (DPAdSV/Varredura Anódica) Condições experimentais: **(a)** eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5); **(b)** EBT $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; **(c- h)** $[Mg^{2+}]$: $2,0 \times 10^{-5}$, $3,0 \times 10^{-5}$, $4,0 \times 10^{-5}$, $5,0 \times 10^{-5}$, $6,0 \times 10^{-5}$ e $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_d = -1,0 \text{ V}$; $t_d = 120 \text{ s}$; $Amp = 0,1 \text{ V}$; $V = 0,05 \text{ V s}^{-1}$. **b** - Curva analítica para o Mg^{2+} , resultados obtidos a partir da Figura 18 a.

Uma medida voltamétrica em solução do branco contendo apenas o eletrólito de suporte foi feita para verificar se este apresentava sinal na faixa de potencial do complexo formado. Após verificar que o eletrólito é eletroinativo no potencial de estudo realizou-se uma adição somente do ligante e uma nova varredura foi feita, e o resultado desta varredura não apresentou também nenhum sinal de corrente para o EBT na faixa de potencial de interesse. Em seguida, foram feitas adições sucessivas de Mg^{2+} . Estas adições produziram as concentrações de complexo de magnésio na célula correspondentes a $2,0 \times 10^{-5}$ a $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. As adições sucessivas produziram um aumento na corrente de pico, em aproximadamente $-0,6 \text{ V}$. (Figura 18a).

A curva analítica da Figura 18b, resultante da adição de analito, mostrou uma boa correlação linear entre a corrente de pico e a concentração do analito, confirmado pelo coeficiente de correlação de 0,997. A partir dos valores obtidos de coeficiente linear ($A = 2,36 \times 10^{-6}$) e angular ($B = 0,2846$) na curva analítica, encontrou-se a concentração referente ao sinal de Mg^{2+} no branco analítico através da média de 3 replicatas e o valor encontrado foi de $8,29 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

7.3.2.8 Estudo de Interferência

Para a avaliação da possível interferência de outros cátions, foi realizado o estudo da influência de Ca^{2+} , Ba^{2+} e Sr^{2+} na análise de Mg^{2+} em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5). O estudo foi feito através da medida da corrente de pico inicial do analito em relação às correntes obtidas após as adições dos íons interferentes (adição de sucessivas alíquotas de $100 \text{ }\mu\text{L}$ de cada íon metálico interferente na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). A concentração final de cada interferente na célula de medida será de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Esse estudo foi realizado separadamente para cada íon metálico. Os resultados desse estudo são apresentados na Figura 19.

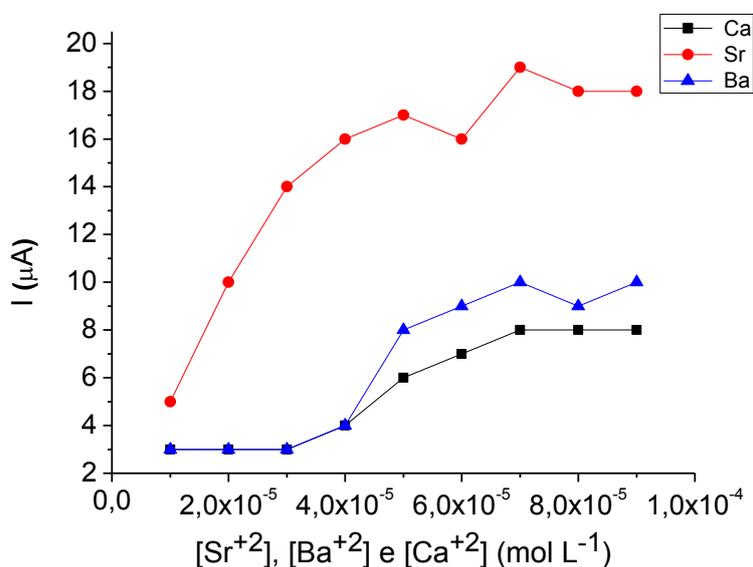


Figura 19: Estudo de interferentes na determinação de Mg^{2+} . $E_d = -1,0\text{V}$; $t_d = 120 \text{ s}$; $\text{Amp} = 0,1 \text{ V}$; $V=0,05 \text{ V s}^{-1}$. Adições de 1×10^{-5} ; 2×10^{-5} ; 3×10^{-5} ; 4×10^{-5} ; 5×10^{-5} ; 6×10^{-5} ; 7×10^{-5} ; 8×10^{-5} e $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Sr^{2+} , Ba^{2+} e Mg^{2+} respectivamente.

Observa-se que Ba^{2+} e Ca^{2+} não apresentaram qualquer efeito sobre a corrente de pico do analito até valores de concentração de $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Porém, acima desse valor de concentração um aumento na intensidade de corrente é observado, proveniente do efeito dos interferentes no sinal do magnésio. Essa interferência é mais observada para o sinal do bário. Em relação ao comportamento do estrôncio, observa-se que este já apresenta interferência no sinal de corrente do magnésio já no primeiro nível de concentração adicionado do interferente. Essa alteração de sinal é cada vez maior à medida que a concentração aumenta. Estes

resultados inviabilizam uma possível determinação simultânea de magnésio com esses analitos.

Nesse estudo, o Ca^{2+} é considerado o principal íon estudado como interferente na determinação de Mg^{2+} , pela presença desses metais em biodiesel, como sendo determinados oficialmente e, conjuntamente, além de serem provenientes da dureza da água que é utilizada no processo de lavagem do biodiesel sintetizado.

Os íons Ba^{2+} e Sr^{2+} foram estudados como interferentes por serem utilizados como catalisadores heterogêneos para a produção de biodiesel por transesterificação, pois seu uso pode eliminar alguns dos custos de processos adicionais associados a catalisadores homogêneos (corrosão, neutralização, decomposição do catalisador, etc.).

7.3.3 Aplicação Analítica

7.3.3.1 Aplicação do procedimento proposto na determinação de Mg^{2+} em amostra real de biodiesel após digestão ácida.

A Figura 20a apresenta os voltamogramas referentes à determinação de Mg^{2+} em amostra digerida de Biodiesel de soja, em meio tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5) e EBT $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, pela técnica DPAdSV, após a otimização das condições experimentais. Os voltamogramas foram obtidos pela adição sucessiva de alíquotas de solução padrão de Mg^{2+} , no nível de concentração de $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Conforme mostra na Figura 19a, a resposta voltamétrica apresentou picos com boa resolução, próximos de $-0,6 \text{ V}$, característicos do íon Mg^{2+} , os quais apresentaram excelente sensibilidade.

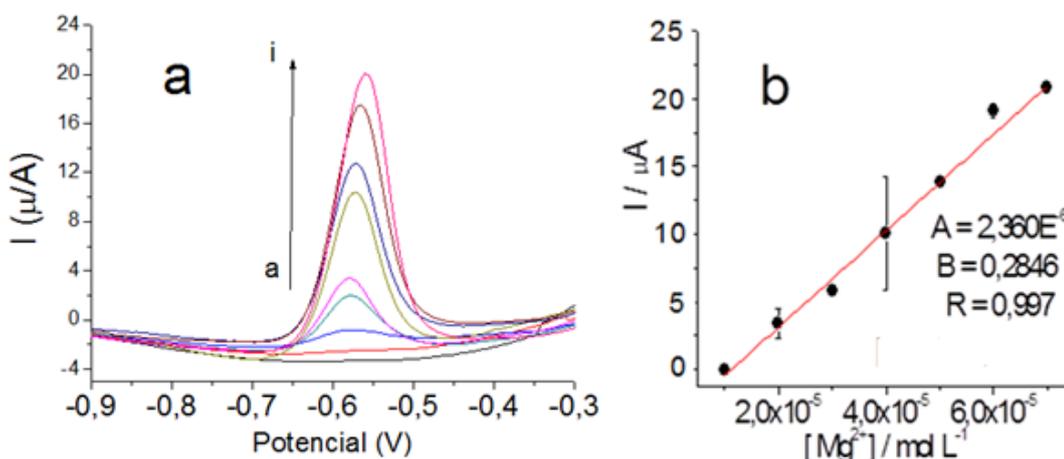


Figura 20: Resposta Voltamétrica para determinação de Mg^{2+} com GCE/BiFE *ex situ*. Voltamogramas (DPAdSV/Varredura Anódica) Condições experimentais: **(a)** eletrólito suporte: 10,0 mL tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ - pH = 4,5; **(b)** EBT 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; **(c)** 2 mL de amostra; **(d- i)** [Mg^{2+}]: 2,0 x 10⁻⁵, 3,0 x 10⁻⁵, 4,0 x 10⁻⁵, 5,0 x 10⁻⁵, 6,0 x 10⁻⁵ e 7,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; $E_d = -1,0$ V; $t_d = 120$ s; Amp = 0,1 V; V = 0,05 V s⁻¹.

A curva analítica obtida pelo método de adição de padrão na Figura 20b mostra uma boa relação linear entre a concentração de Mg^{2+} e a corrente de pico. Essa relação é representada pela regressão linear obtendo-se um coeficiente de correlação de 0,997 para a curva o que comprova a boa resposta eletroanalítica do método. A concentração média de Mg^{2+} encontrada foi de $1,47 \times 10^{-5} \pm 1,28 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a um intervalo de confiança de 95% para $n=3$, calculada pela razão entre o coeficiente linear e angular da reta.

Os resultados obtidos mostraram que a metodologia usada é adequada para análise de Mg^{2+} , pois a concentração detectada deste cátion no biodiesel foi de $1,47 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, o que indica sensibilidade adequada do procedimento proposto, com relação à norma oficial (RANP 45/2014), que indica que a soma total (Ca + Mg), o magnésio não deve ultrapassar o limite de $1,75 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ para o biodiesel, sendo assim, às características dos resultados obtidos, mostra que o procedimento pode ser aplicado para a determinação de Mg^{2+} biodiesel.

7.4 Figuras de Mérito

A Tabela 8 apresenta os parâmetros avaliados, estatisticamente, com base nos experimentos realizados para determinação de Mg^{2+} no biodiesel por voltametria de redissolução anódica no modo diferencial de pulso.

Tabela 8: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Mg^{2+} por DPAdSV.

PARÂMETROS	[Mg^{2+}] (mol L ⁻¹)
X, média	$1,47 \times 10^{-5}$
CV (%)	3,53
(LD)	$1,05 \times 10^{-6}$
(LQ)	$3,51 \times 10^{-6}$
μ (95%)	$1,47 \times 10^{-5} \pm 1,28 \times 10^{-6}$
(SD)	$5,19 \times 10^{-7}$
Sensibilidade ($\mu A/mol L^{-1}$)	0,2846

A precisão foi calculada como o coeficiente de variância, e o valor encontrado (3,53%) para a amostra de biodiesel indicam uma boa precisão. O limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), são definidos como $3sD/b$ e $10sD/b$, respectivamente, em que sD representa o desvio padrão de dez medidas do branco, calculados considerando-se o desvio padrão e o coeficiente angular da curva analítica. Os valores encontrados de LD ($1,05 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e LQ ($3,51 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) mostram boa sensibilidade da técnica para esta amostra.

A concentração de Mg^{2+} em amostra de biodiesel digerida foi determinada, considerando-se através da equação da reta, obtidas das curvas analíticas obtidas pelo método de adição padrão (" $Ip = 2,3 \times 10^{-6} + 0,2846x$ "). Os resultados obtidos em replicata, ($n=3$) apresentaram concentrações médias de Mg^{2+} , $1,47 \times 10^{-5} \pm 1,28 \times 10^{-6}$.

7.4.1 Verificação da Exatidão através do estudo de recuperação

A integridade do processo de detecção foi examinada para avaliar a recuperação de Mg^{2+} em amostra de biodiesel. Os testes de recuperação foram realizados através da adição do analito em um nível diferente de concentração. Os resultados que são mostrados na Tabela 9 comprovam que o método proposto é exato e adequado para análise de Mg^{2+} em amostra de biodiesel pela técnica de DPAdSV.

Tabela 9: Concentrações obtidas para Mg^{2+} (mol L^{-1}) em biodiesel após a adição de mol L^{-1} do analito.

Valor adicionado (mol L^{-1})	Valor encontrado (mol L^{-1})	Recuperação (%)
$1,0 \times 10^{-6}$	$1,08 \times 10^{-6}$	108,0
$2,0 \times 10^{-6}$	$1,9 \times 10^{-6}$	95,0
$3,0 \times 10^{-6}$	$3,2 \times 10^{-6}$	106,7

Os resultados obtidos a partir da Equação 6, que são mostrados na Tabela 9, confirmam a exatidão do método proposto para o analito, considerando que as recuperações ficaram na faixa de 95,0 – 108,0 % para Mg^{2+} .

7.5 Eletrodo de filme de bismuto modificado com EDTA para determinação de cálcio em biodiesel

7.5.1 Estudos preliminares do eletrodo de ouro (Au)/BiFE para Cálcio

O estudo para determinar cálcio foi adaptado de ALMEIDA *et al.*, 2014, em se tratando da utilização dos parâmetros instrumentais, porém modificações foram realizadas para tornar a pesquisa para esse analito diferente do trabalho seguido na literatura, como o substrato e o sensor eletroanalítico, conforme Tabela 6.

Primeiramente, foi realizada uma varredura de potencial apenas em solução contendo tampão amônio e do Bi^{3+} . Neste meio foi observado que, há apenas o sinal referente ao Bi^{3+} no potencial de aproximadamente - 0,05 V (Figura 21).

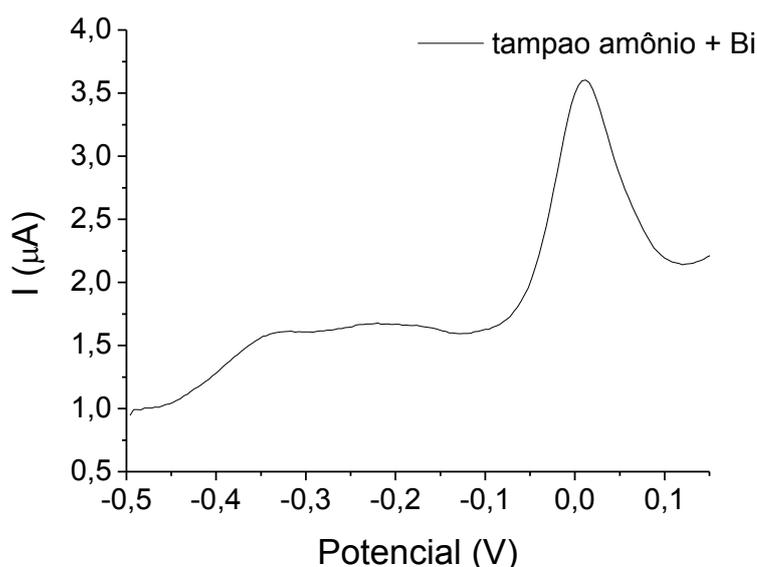


Figura 21: Voltamograma para a determinação de Ca^{2+} com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio (pH = 9,4) ; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1,2 \text{ V}$; $t_d = 120 \text{ s}$; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.

Em seguida (Figura 22), procedeu-se o estudo com o EDTA $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ no mesmo meio da Figura 21.

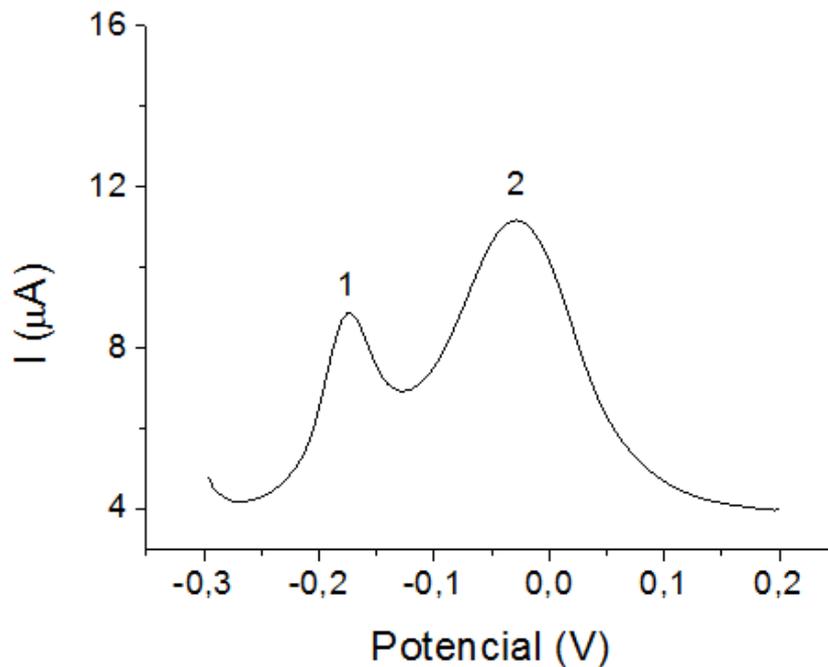


Figura 22: Voltamograma para a determinação de Ca^{2+} com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio (pH = 9,4); EDTA $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.

Como pode-se ver na Figura 22, o sinal do pico 1 (- 0,16V) é do modificador EDTA e que o sinal referente ao pico 2 (-0,05 V), é do BiFE, que apresentam boa resolução e separação dos picos

A Figura 23 mostra um estudo voltamétrico preliminar para verificar uma possível interação eletroanalítica do complexo formado entre EDTA- Ca^{2+} .

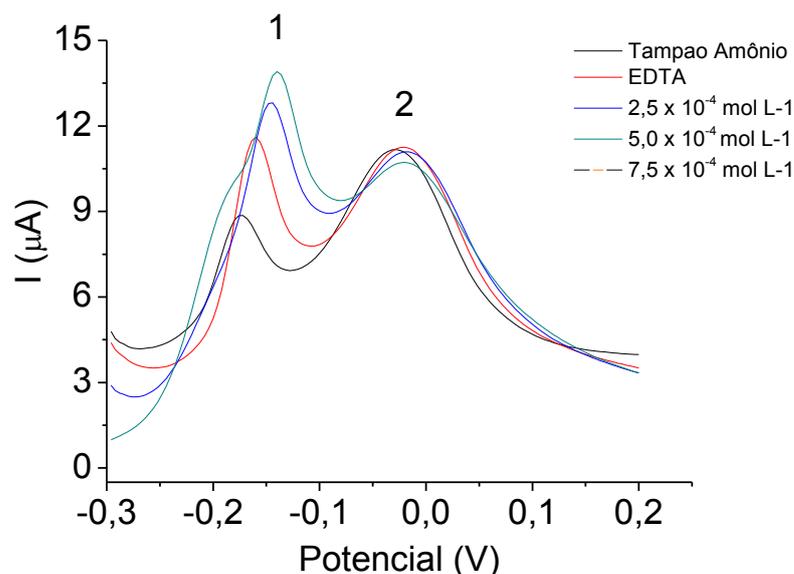


Figura 23: Voltamogramas para a determinação de Ca^{2+} com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio (pH 9,4); Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; EDTA $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ca}^{2+}] = 2,5 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$ e $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.

Conforme pode-se ver na Figura 23, há picos definidos para o Ca^{2+} (1) e para o filme de bismuto (2) que indicam a viabilidade eletroanalítica do procedimento proposto, principalmente, devido a resolução e separação dos picos. Após a deposição do metal, e a varredura anódica realizada no intervalo de potencial de -0,3 V a 0,2 V, observou-se os dois picos de oxidação em aproximadamente -0,16 V (1), e -0,05 V (2). Adições sucessivas de alíquotas de solução estoque de Ca^{2+} $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ mostraram um crescimento significativo da corrente de pico anódica, proporcional a concentração adicionada do analito (1). Estes resultados permitiram afirmar que trata-se da complexação do sistema EDTA- Ca^{2+} .

O sinal referente ao pico 2 é do BiFE. Foi observado que este sinal não interfere na resposta voltamétrica do complexo formado entre EDTA- Ca^{2+} , e que o sinal referente ao pico 2, que é do filme de bismuto, decaí à medida que o sinal do complexo formado aumenta. É importante salientar que o sinal do BiFE não causa interferência no sinal da complexação EDTA- Ca^{2+} , visto que ambos estão em diferentes faixas de potenciais.

7.5.2. Otimização dos parâmetros experimentais

7.5.2.1. Estudo da concentração de Bi^{3+}

O estudo da concentração de Bi^{3+} (Figura 24) foi realizado com o objetivo de encontrar a concentração ideal para a formação do filme de bismuto e na qual essa concentração não interferisse no sinal correspondente a eletrodeposição do possível complexo formado entre Ca^{2+} -EDTA. Além disso, optou-se por trabalhar com o filme de bismuto *in situ* para se ter sempre uma renovação da superfície do eletrodo de trabalho a cada novo ciclo de varredura, com o objetivo de evitar a saturação do mesmo na superfície do eletrodo.

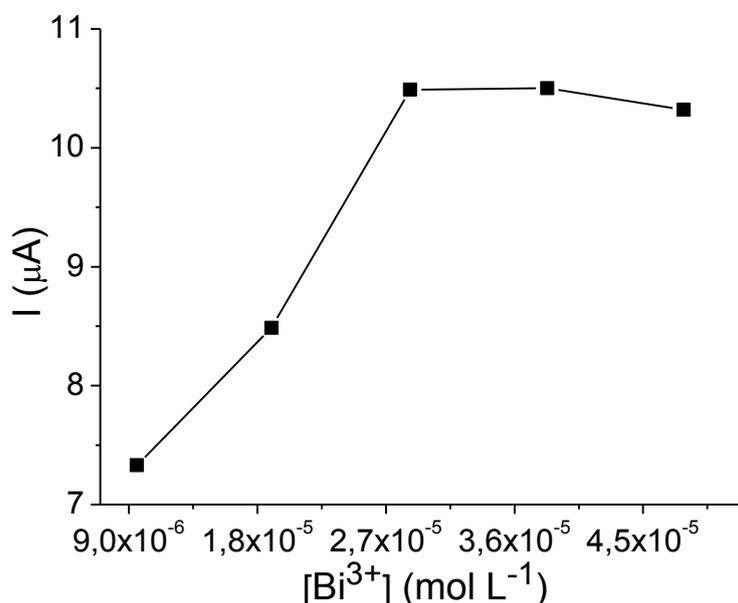


Figura 24: Estudo da adição do Bi^{3+} para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH 9,4); EDTA 4,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca^{2+} 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi^{3+} : 20; 40; 60; 80 e 100 μL 4,78 x 10⁻³ mol L⁻¹; $E_{\text{dep}} = -1,2$ V; $t_{\text{d}} = 120$ s; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.

A Figura 24 apresenta o estudo da concentração de Bi^{3+} na célula de análise para a formação do filme de bismuto *in situ*. A faixa de concentração estudada variou de $9,57 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ até $4,785 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e de acordo com estudo observa-se um crescimento da resposta de corrente de pico até um valor de $2,87 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e essa resposta mantém-se constante até $3,83 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ seguido de um leve decaimento da corrente de pico. Esse decaimento de sinal pode ser provocado pela saturação elevada do filme na superfície do eletrodo de ouro juntamente com o complexo formada entre Ca^{2+} -EDTA. Por isso a concentração

correspondente a $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foi a escolhida como a concentração que melhor responde para a formação do filme de bismuto e determinação do analito de interesse.

7.5.2.2 Estudo da concentração de EDTA

As otimizações de todos os parâmetros experimentais foram realizadas no mesmo eletrólito suporte. Esse estudo foi realizado no modo univariado, variando-se o parâmetro de interesse e, mantendo-se todos os demais parâmetros constantes.

O estudo da concentração de EDTA (Figura 25) utilizado na célula de análise foi feito através de adições sucessivas de uma solução de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ do ligante para encontrar a concentração que proporcionasse a formação do complexo Ca^{2+} -EDTA e também apresentasse maior sensibilidade, além de uma resposta linear na faixa de concentração estudada.

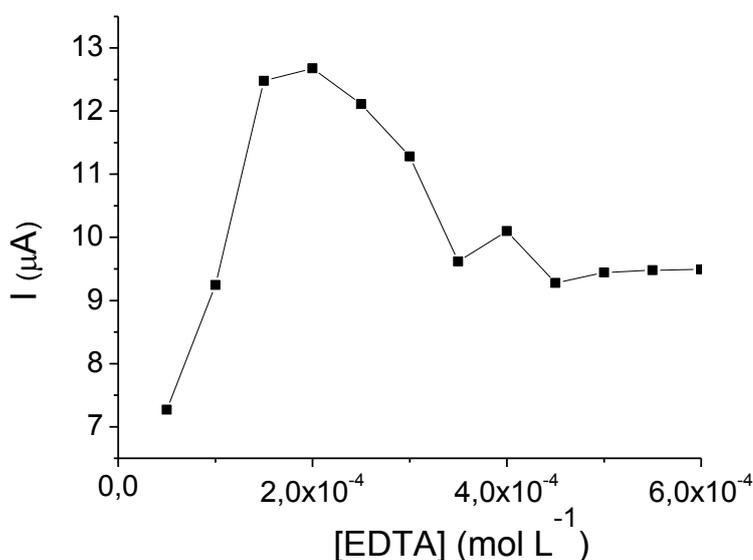


Figura 25: Estudo da adição de EDTA para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,4); Ca^{2+} $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; V_{EDTA} : 50;100;200; 300; 400; 500 e 600 μL $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.

Nesse estudo (Figura 25), um aumento da concentração de EDTA mostra um efeito sobre a corrente, sendo que se observou um ponto de maior sensibilidade (maior corrente) referente à formação do complexo Ca^{2+} -EDTA e que corresponde à

concentração de ligante igual a $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Esse valor foi considerado ideal e, portanto, foi usado em todos os experimentos subsequentes.

7.5.2.3 Estudo do tempo de reação Ca-EDTA

O estudo do tempo de reação entre Ca^{2+} - EDTA (Figura 26) foi realizado com objetivo de realizar as análises em tempos similares após cada adição de concentração do analito de interesse e para garantir que não houvesse perda de sinal por uma complexação incompleta do analito com o ligante.

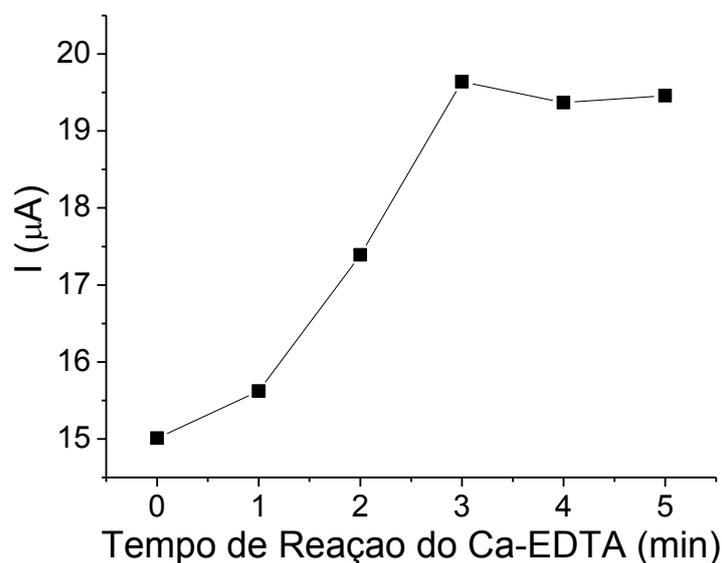


Figura 26: Estudo do tempo de reação entre Ca^{2+} - EDTA para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,4); EDTA $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Ca^{2+} $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{d}} = 120 \text{ s}$; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004.

O estudo do tempo de reação para a formação do complexo entre Ca^{2+} -EDTA foi realizado de 0 a 5 minutos e de acordo com os resultados obtidos o tempo de reação mais adequado e que correspondeu ao maior sinal de corrente de pico foi o tempo de 3 minutos. Esse tempo foi adotado como tempo de espera para a formação do complexo após cada adição sucessiva do analito que era realizada.

7.5.2.4 Estudo do potencial de deposição

O estudo do potencial de acúmulo sobre as correntes de pico foi investigado no intervalo de 0 a -1,0 V (Figura 27), utilizando-se tampão amônio 0,01 mol L⁻¹, em pH=9,4, com EDTA 1,0 x 10⁻² mol L⁻¹ e solução estoque de Ca²⁺ 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹.

O estudo revelou que o maior sinal de corrente de pico observado foi em potencial de acúmulo igual a -1,0 V.

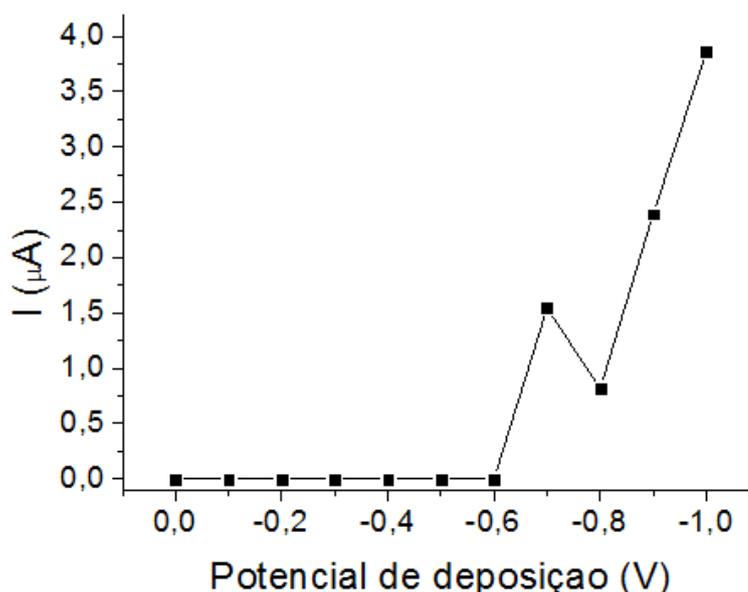


Figura 27: Estudo do potencial de deposição para a determinação de Ca²⁺ no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH = 9,4); EDTA 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca²⁺ 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi³⁺ 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Edep = 0; -0,1; -0,2; -0,3; -0,4; -0,5; -0,6; -0,7; -0,8; -0,9 e -1,0 V; t_d = 120 s; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.

Em estudos de potenciais de acúmulo para metais, geralmente o comportamento eletroquímico é caracterizado por um aumento de corrente seguido por um decaimento da mesma medida que o potencial de depósito é variado. Mas, para esse estudo em especial, esse tipo de comportamento não foi observado (Figura 27), observa-se um aumento crescente da corrente de pico à medida que o potencial de depósito torna-se mais negativo, contudo não houve necessidade de avaliar potenciais de acúmulo mais negativos até obter-se um decaimento progressivo da corrente de pico, pois como o analito avaliado apresenta sinal de corrente em torno de -0,2 V, a faixa estudada de potencial já garante uma boa resposta para avaliar o melhor potencial para a determinação do analito. Então o

valor de -1,0 V foi o escolhido como o valor ideal de potencial de acúmulo para determinar Ca^{2+} , este valor foi adotado, subsequentemente, em todos os demais experimentos.

7.5.2.5 Estudo do tempo de deposição

O estudo do tempo de deposição sobre a corrente de pico (Figura 28) foi realizado na solução eletrolítica, contendo tampão amônio (pH 9,4), EDTA e Ca^{2+} . O estudo foi realizado no intervalo de 0 a 300 segundos, utilizando-se um potencial de deposição igual a -1,0 V. Os resultados obtidos mostram, que primeiro a corrente cresce até em torno de 40 s, em seguida, com um pequeno decaimento da corrente em 60 segundos podendo ser decorrente de uma oscilação de energia visto que nota-se um crescente sinal de corrente de pico no limite de 90 s, em seguida, observou-se um decaimento da corrente.

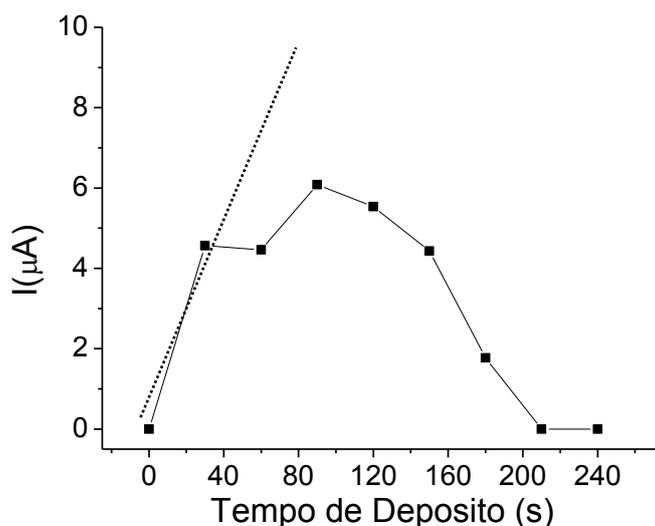


Figura 28: Estudo do tempo de pré-concentração para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV).. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH = 9,4); EDTA 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca^{2+} 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi^{3+} 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; t_d = 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 s; $E_{\text{dep}} = -1,0$ V; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.

O melhor sinal de corrente de pico obtido (90 s) foi escolhido como sendo ideal, nas condições estudadas. Sabe-se, contudo que, normalmente, em medidas eletroquímicas atribui-se o decaimento da corrente à saturação da superfície do eletrodo. Entretanto, como os complexos de EDTA não são comumente conhecidos em termos de propriedades adsorptivas, acredita-se que outro tipo de competição

seja responsável pelo decaimento da corrente. De fato, quando o processo é adsortivo, há uma limitação em termos de faixa linear da concentração do analito, havendo necessidade de se usar um tempo de deposição menor que o valor que apresenta maior sensibilidade. No presente caso, nenhuma limitação da faixa de concentração foi observada com o uso do valor de 90 s, sendo este valor usado nos experimentos subsequentes.

7.5.2.6 Estudo da amplitude de pulso

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

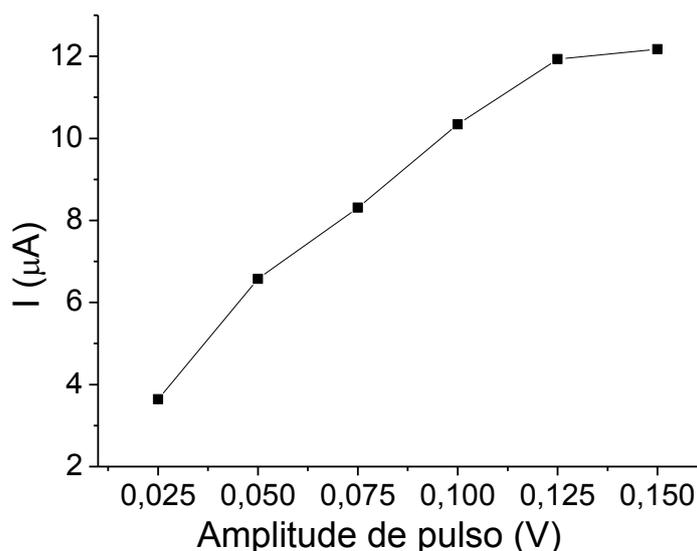


Figura 29: Estudo da amplitude de pulso para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE (SWAdSV) *in situ*. Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,4); EDTA $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Ca^{2+} $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; Amp = 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125 e 0,15 V; $E_{\text{dep}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{d}} = 90 \text{ s}$; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V.

O efeito da amplitude de pulso sobre a corrente de pico (Figura 29) foi avaliada, com o objetivo de se obter, principalmente, as melhores condições de resolução e sensibilidade. Foram avaliados os valores de amplitude de 0,025 V a 0,15 V e observou-se uma dependência desta sobre a corrente. Apesar de obter-se maior sinal de pico à medida que a amplitude era aumentada, a resolução dos voltamogramas obtidos era afetada, já que causava um alargamento dos picos.

Baseado na Figura 29, a amplitude de 0,075 V foi a que apresentou melhor resposta de sensibilidade e resolução de pico, sendo esta, escolhida e usada em todos os demais experimentos.

7.5.2.7 Estudo da frequência

Na voltametria de onda quadrada o estudo da frequência é considerado importante porque este parâmetro influencia diretamente na ampliação do pulso de onda quadrada. No presente trabalho a frequência foi estudada em um intervalo de 5 a 50 Hz (Figura 30). Observou-se que uma frequência de 15 Hz foi a que apresentou maior sensibilidade das medidas, proporcionando uma maior corrente de pico, com boa resolução dos voltamogramas. Acima dessa frequência houve um decaimento da corrente e decréscimo nítido na resolução dos voltamogramas.

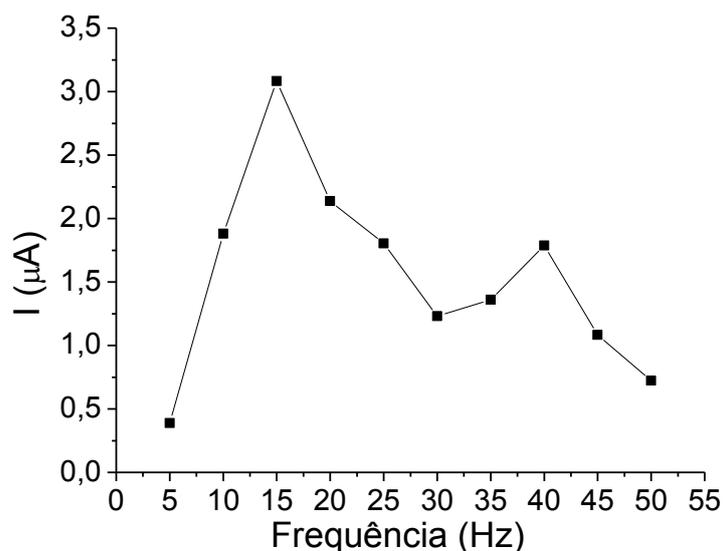


Figura 30: Estudo da frequência para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH 9,4); EDTA 2,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; Ca^{2+} 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; Bi^{3+} 3,82 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; Freq = 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 Hz; $E_{\text{dep}} = -1,0$ V; $t_d = 90$ s; Amp = 0,075 V; Step E = 0,004 V.

7.5.2.8 Estudo do delta escada

O delta de escada foi avaliado em intervalos de 0,002 a 0,010 V e de acordo com os resultados (Figura 31), houve um aumento da corrente de pico, sendo esta proporcional ao aumento do passo potencial. O valor escolhido como sendo ideal foi o de 0,004 V por apresentar uma boa resolução dos voltamogramas.

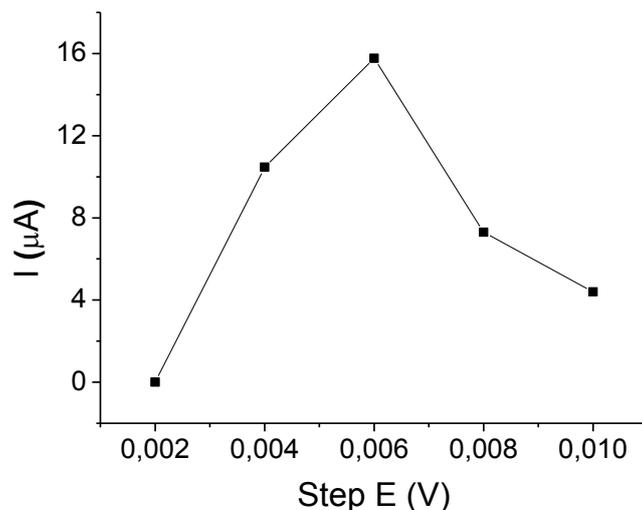


Figura 31: Estudo do passo potencial para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,4); EDTA $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Ca^{2+} $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; Step E = 0,002; 0,004; 0,006; 0,008 e 0,01 V; $E_{\text{dep}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{d}} = 90 \text{ s}$; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz.

7.5.2.9 Efeito do pH

De acordo com resultados obtidos (Figura 32), observou-se que o valor de pH 9,4 (região alcalina) apresentou maior intensidade de corrente de pico. É aquele que sofreu menor influência dos íons hidrogênio no meio reacional. Como é sabido, há uma competição entre a formação do complexo (em meio alcalino) e a formação do ácido fraco do EDTA (em meio ácido) (ALMEIDA *et al.*, 2014)

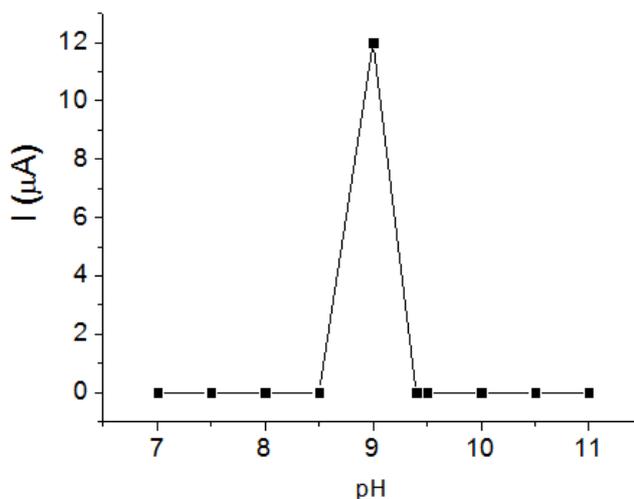


Figura 32: Estudo do pH para a determinação de Ca^{2+} no Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0;

9,4; 9,5; 10,0; 10,5 e 11,0 ; EDTA $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹; Ca²⁺ $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹; Bi³⁺ $3,82 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; E_{dep} = -1,0 V; t_d = 90 s; Amp = 0,075V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004V.

7.5.2.10 Determinação de Ca²⁺

A Voltametria Adsorptiva de Redissolução Anódica por Onda Quadrada foi empregada para análise quantitativa do analito. Segundo (ALMEIDA *et al.*, 2014) trata-se de uma técnica muito sensível principalmente pela possibilidade de obter correntes de pico bem definidas utilizando altas velocidades.

Inicialmente, após a obtenção das melhores condições experimentais em termos dos parâmetros otimizados, realizou-se uma medida voltamétrica em uma solução do branco contendo apenas o eletrólito suporte (10 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH 9,4); EDTA $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹; Bi³⁺ $3,82 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹). Esse estudo foi feito para conferir a viabilidade do procedimento para determinar Ca²⁺. Na Figura 33 é apresentado o voltamograma obtido com o eletrodo de ouro nas condições otimizadas já descritas. Esse voltamograma apresenta um máximo de corrente de pico em aproximadamente - 0,16 V (voltamograma 1), onde foram feitas adições sucessivas de Ca²⁺. Estas adições produziram as concentrações do complexo de cálcio na célula correspondentes a $2,5 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$; $7,5 \times 10^{-4}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

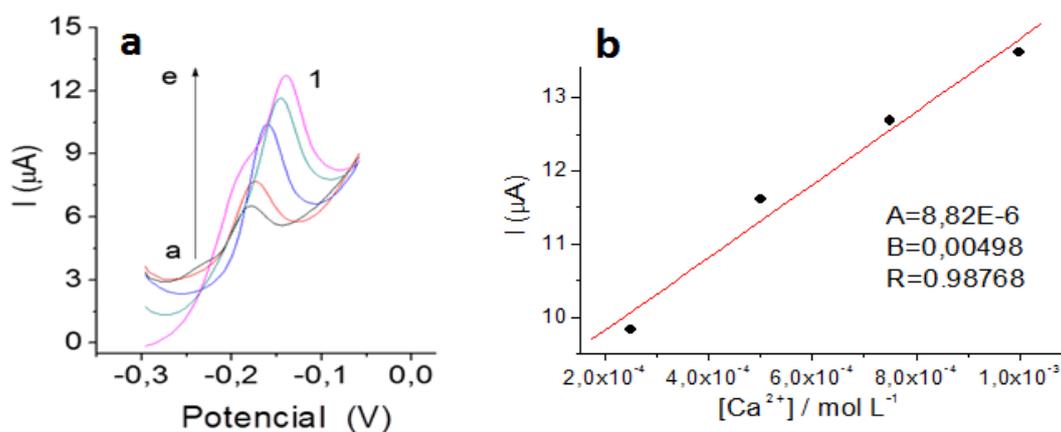


Figura 33: Resposta Voltamétrica para determinação de Ca²⁺ com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV) **a-** Voltamogramas. Condições Experimentais: Eletrólito suporte: 10,0 mL tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH 9,4) ; Bi³⁺ $3,82 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; **(a)** EDTA $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹; **(b-e)** [Ca²⁺]= $2,5 \times 10^{-4}$; $5,0 \times 10^{-4}$; $7,5 \times$

10^{-4} e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; $E_{\text{dep}} = -1,0$ V; $t_d = 90$ s; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V. **b**- Curva analítica para Ca²⁺. Dados extraídos da Figura 32a.

As adições sucessivas de alíquotas da solução estoque de cálcio produziram um aumento na corrente de pico, em aproximadamente - 0,16 V (voltamogramas de **a – e**), sendo inicialmente observada apenas para o EDTA, no voltograma **a** (Figura 33a). Fica evidente nesta figura, que há uma dependência da corrente de pico com relação à concentração de Ca²⁺, confirmado pela curva analítica apresentada na Figura 33b.

A curva analítica da Figura 33 b, resultante da adição padrão do analito, mostrou uma correlação linear entre a corrente de pico e a concentração do analito, confirmado pelo coeficiente de correlação de 0,98. A partir dos valores obtidos de coeficientes linear ($A = 8,828 \times 10^{-6}$) e angular ($B = 0,00498$) na curva analítica, encontrou-se a concentração de Ca²⁺ no branco analítico através da média de 3 replicatas e o valor encontrado foi de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

Um ponto importante a ser destacado nesse estudo para a determinação de Ca²⁺-EDTA é que os dados apresentados até agora são referentes à otimização de alguns parâmetros instrumentais e de condições de solução, a aplicação feita até o presente momento foi para confirmarmos que é possível determinar Ca²⁺ utilizando como agente complexante o EDTA, porém o estudo de sensibilidade ainda não foi feito, por isso a concentração de Ca²⁺ determinada até agora está alta, mas o estudo de sensibilidade é o próximo parâmetro a ser estudado, assim como a aplicação na amostra real de biodiesel e outros parâmetros que servem para avaliar a precisão do método.

7.5.2.11 Estudo de Interferência

Para a avaliação da possível interferência de outros cátions, foi realizado o estudo da influência de Mg²⁺, Ba²⁺ e Sr²⁺ na análise de Ca²⁺ em tampão amônio 0,01 mol L⁻¹ (pH 9,4). O estudo foi feito através da medida da corrente de pico inicial do analito em relação às correntes obtidas após as adições dos íons interferentes (adição de sucessivas alíquotas de 100 µL de cada íon metálico interferente na concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹). A concentração final de cada interferente na célula de medida foi de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Esse estudo foi realizado separadamente para cada íon metálico. Os resultados desse estudo são apresentados na Figura 34.

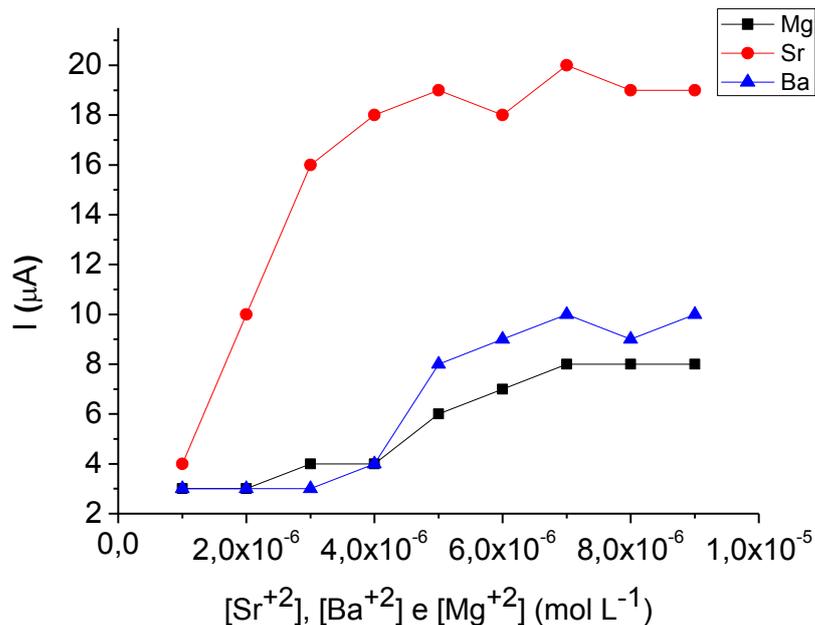


Figura 34: Estudo de interferentes na determinação de Ca^{2+} . Edep = -1,0 V; t_d = 90 s; Amp = 0,075 V; Freq = 15 Hz; Step E = 0,004 V Adições de 1×10^{-6} ; 2×10^{-6} ; 3×10^{-6} ; 4×10^{-6} ; 5×10^{-6} ; 6×10^{-6} ; 7×10^{-6} ; 8×10^{-6} e 9×10^{-6} mol L⁻¹ de Sr^{2+} , Ba^{2+} e Mg^{2+} respectivamente.

Observa-se que Ba^{2+} não apresentou qualquer efeito sobre a corrente de pico do analito até os valores de concentração de $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, já para Mg^{2+} até $2,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Porém, acima desse valor de concentração um aumento na intensidade de corrente é observado, proveniente do efeito dos interferentes no sinal do magnésio. Essa interferência é mais observada para o sinal do bário. Em relação ao comportamento do estrôncio, observa-se que este já apresenta interferência no sinal de corrente do cálcio já no primeiro nível de concentração adicionado do interferente. Essa alteração de sinal é cada vez maior à medida que a concentração aumenta. Estes resultados inviabilizam uma possível determinação simultânea de cálcio com esses analitos.

Nesse estudo, o Mg^{2+} é considerado o principal íon estudado como interferente na determinação de Ca^{2+} , pela presença desses metais em biodiesel, como sendo determinados oficialmente e, conjuntamente, além de serem provenientes da dureza da água que é utilizada no processo de lavagem do biodiesel sintetizado.

Os íons Ba^{2+} e Sr^{2+} foram estudados como interferentes por serem utilizados como catalisadores heterogêneos para a produção de biodiesel por transesterificação, pois seu uso pode eliminar alguns dos custos de processos

adicionais associados a catalisadores homogêneos (corrosão, neutralização, decomposição do catalisador, etc.).

7.5.3 Aplicação Analítica

7.5.3.1 Aplicação do Procedimento Proposto na Determinação de Ca^{2+} em amostra real de biodiesel, após Digestão Ácida.

A Figura 35 apresenta os voltamogramas referentes à determinação de Ca^{2+} em amostra digerida de Biodiesel de soja, em meio tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 9,4) e EDTA $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, pela técnica SWAdSV. Os voltamogramas foram obtidos pela adição sucessiva de alíquotas de solução padrão de Ca^{2+} , no nível de concentração de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Estas adições produziram as concentrações do complexo de cálcio na célula correspondentes a $8,0 \times 10^{-7}$; $1,6 \times 10^{-6}$; $2,4 \times 10^{-6}$; $3,2 \times 10^{-6}$; $4,0 \times 10^{-6}$; $4,8 \times 10^{-6}$; $5,6 \times 10^{-6}$; $6,4 \times 10^{-6}$; $7,2 \times 10^{-6}$ e $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Conforme mostra na Figura 33, a resposta voltamétrica apresentou picos com boa resolução, próximos de $-0,16 \text{ V}$, característicos do íon Ca^{2+} , os quais apresentaram excelente sensibilidade.

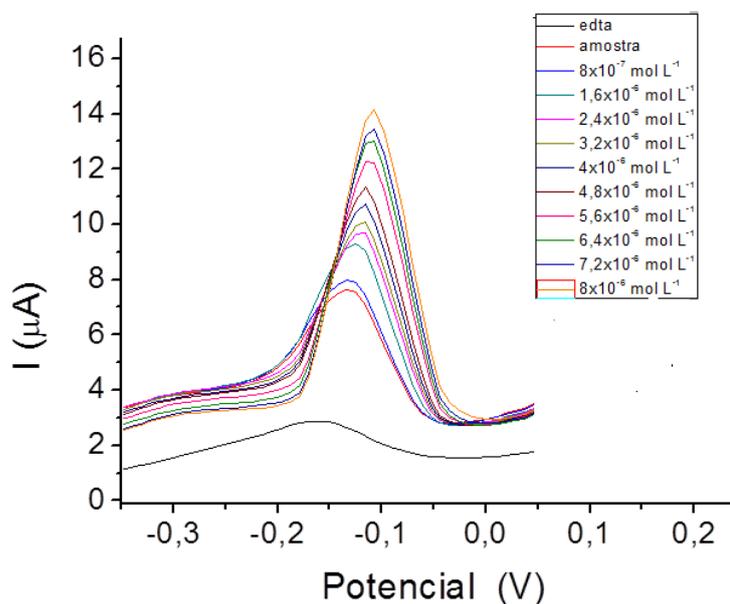


Figura 35: Resposta Voltamétrica para determinação de Ca^{2+} com Au/BiFE *in situ* (SWAdSV). Condições Experimentais: Eletrólito suporte: $10,0 \text{ mL}$ tampão amônio - pH 9,4 ; Bi^{3+} $3,82 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; EDTA $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; 2 mL amostra; $[\text{Ca}^{2+}] = 8,0 \times 10^{-7}$; $1,6 \times 10^{-6}$; $2,4 \times 10^{-6}$; $3,2 \times 10^{-6}$; $4,0 \times 10^{-6}$; $4,8 \times 10^{-6}$; $5,6 \times 10^{-6}$; $6,4 \times 10^{-6}$; $7,2 \times 10^{-6}$ e $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{dep}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{d}} = 90 \text{ s}$; Amp = $0,075 \text{ V}$; Freq = 15 Hz ; Step E = $0,004 \text{ V}$.

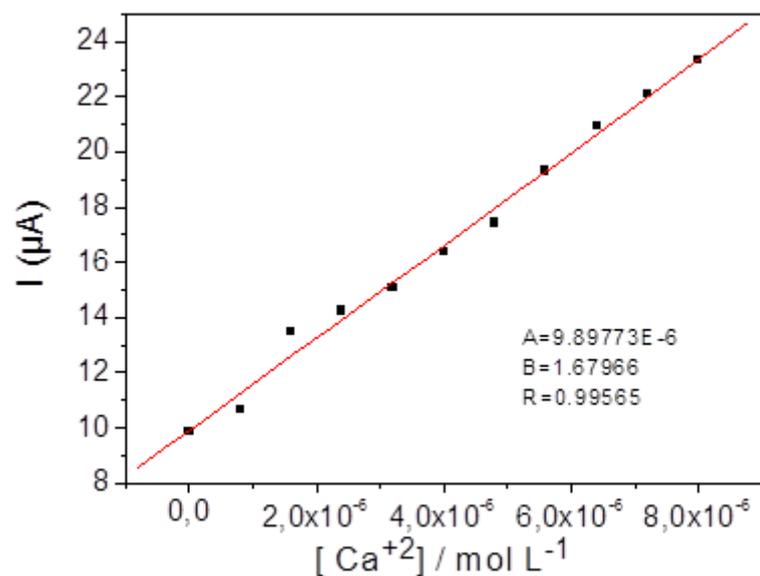


Figura 36: Curva analítica para Ca²⁺ por SWAdSV . Dados extraídos da Figura 35.

A curva analítica obtida pelo método de adição padrão na Figura 36, mostra uma boa relação linear entre a concentração de Ca²⁺ e a corrente de pico. Essa relação é representada pela regressão linear obtendo-se um coeficiente de correlação de 0,995 para a curva o que comprova a boa resposta eletroanalítica do método. A concentração média de Ca²⁺ encontrada foi de $5,57 \times 10^{-6} \pm 3,77 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a um intervalo de confiança de 95% para n=3 replicatas, calculada pela razão entre o coeficiente linear e angular da reta, e subtraindo do valor da concentração de EDTA.

7.6 Figuras de Mérito

A Tabela 10 apresenta os parâmetros avaliados, estatisticamente, com base nos experimentos realizados para determinação de Ca²⁺ no biodiesel por voltametria de redissolução anódica no modo onda quadrada.

Tabela 10: Parâmetros de mérito obtidos a partir da determinação de Ca^{2+} por SWAdSV.

PARÂMETROS	$[\text{Ca}^{2+}]$ (Mol L ⁻¹)
X, média	$5,57 \times 10^{-6}$
CV (%)	2,3
(LD)	$2,8 \times 10^{-7}$
(LQ)	$9,46 \times 10^{-7}$
μ (95%)	$5,57 \times 10^{-6} \pm 3,77 \times 10^{-7}$
(SD)	$1,52 \times 10^{-7}$
Sensibilidade ($\mu\text{A/mol L}^{-1}$)	1,67

A precisão foi calculada como o coeficiente de variância, e o valor encontrado (2,3 %) para a amostra de biodiesel indicam uma boa precisão. O limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), são definidos como $3sD/b$ e $10sD/b$, respectivamente, em que sD representa o desvio padrão de dez medidas do branco, calculados considerando-se o desvio padrão e o coeficiente angular da curva analítica. Os valores encontrados de LD ($2,80 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e LQ ($9,46 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) mostram boa sensibilidade da técnica para esta amostra.

A concentração de Ca^{2+} em amostra de biodiesel digerida foi determinada, considerando-se através da equação da reta, obtidas das curvas analíticas obtidas pelo método de adição padrão (" $I_p = 9,89 \times 10^{-6} + 1,67x$ "). Os resultados obtidos em replicata, ($n=3$) apresentaram concentrações médias de Ca^{2+} $5,57 \times 10^{-6} \pm 3,77 \times 10^{-7}$.

7.6.1 Verificação da Exatidão através do estudo de recuperação

A integridade do processo de detecção foi examinada para avaliar a recuperação de Ca^{2+} em amostra de biodiesel. O teste de recuperação foi realizado através da adição do analito em um nível diferente de concentração. Os resultados que são mostrados na Tabela 11 comprovam que o método proposto é exato e adequado para análise de Ca^{2+} em amostra de biodiesel pela técnica de SWAdSV.

Tabela 11: Concentrações obtidas para Ca^{2+} (mol L^{-1}) em biodiesel após a adição de mol L^{-1} do analito.

Valor adicionado (mol L^{-1})	Valor encontrado (mol L^{-1})	Recuperação (%)
$7,0 \times 10^{-6}$	$7,2 \times 10^{-6}$	102,8
$9,0 \times 10^{-6}$	$8,8 \times 10^{-6}$	97,8
$2,0 \times 10^{-7}$	$2,1 \times 10^{-7}$	105,0

Os resultados obtidos a partir da Equação 6, que são mostrados na Tabela 11, confirmam a exatidão do método proposto para o analito, considerando que as recuperações ficaram na faixa de 97,8 – 105,0 % para Ca^{2+} .

Com base em todos os resultados obtidos no processo de validação do método proposto para determinação de Mg^{2+} e Ca^{2+} , podemos dizer que o procedimento é bastante adequado, sensível, exato e preciso para o nível de concentração, eletrodo e a matriz, avaliados.

8 CONCLUSÃO

O método proposto neste estudo para a determinação de Mg^{2+} com GCE/ BiFE *ex situ* modificado com o Negro de Eriocromo – T (EBT), mostrou ser aplicável utilizando a técnica de voltametria adsortiva de redissolução anódica no modo diferencial de pulso EBT em meio tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5). Os resultados obtidos mostraram que a metodologia usada é adequada para análise de Mg^{2+} , pois a concentração detectada deste cátion no biodiesel foi de $1,47 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, o que indica sensibilidade adequada do procedimento proposto, com relação à norma oficial (RANP 45/2014), que indica que a soma total cálcio e magnésio, não deve ultrapassar o limite de $2,81 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para o biodiesel, sendo assim, o resultado obtido está abaixo da norma e mostra que o procedimento pode ser aplicado para a determinação de Mg^{2+} em meio aquoso e biodiesel. Os valores encontrados de LD ($1,05 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e LQ ($3,51 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) mostram boa sensibilidade da técnica. O método proposto para determinação de Ca^{2+} com Au/BiFE *in-situ* modificado com Ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), mostrou ser aplicável utilizando a técnica de voltametria adsortiva de redissolução anódica no modo onda quadrada no tampão amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,4). Os resultados obtidos mostraram que a metodologia usada é adequada para a determinação de Ca^{2+} , pois a concentração detectada deste cátion no biodiesel foi de $5,57 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, o que indica alta sensibilidade do procedimento proposto, com relação à norma oficial (RANP 45/2014), que indica que a soma total cálcio e magnésio, não deve ultrapassar o limite de $2,81 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para o biodiesel, sendo assim, o resultado obtido está abaixo da norma, e mostra que o procedimento pode ser aplicado para a determinação de Ca^{2+} em meio aquoso e biodiesel. Os valores encontrados de LD ($2,80 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) e LQ ($9,46 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) mostram boa sensibilidade da técnica. Os métodos alternativos propostos para determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+} em amostra de biodiesel mostram que a eletroanalítica nos fornece análises químicas rápidas e precisas.

9 REFERÊNCIAS

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

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

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP)- Biodiesel: introdução. 2011. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/>>. Acesso em 26 julho. 2011.

ALBUQUERQUE, Daniel dos Santos. *Eliminação de interferência do Bi^{3+} na determinação de Cu^{2+} em biocombustíveis com BiFE e procedimento eletroanalítico otimizado por planejamento experimental*. São Luís, 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Maranhão.

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

AL-HAJAAR, A.M.; AL- ENIZZI, M.S.; MAHFOODH, S. Fourth Derivative Spectrophotometry in Simultaneous Determination of Calcium and Magnesium in Mixture. Mosul University, College Co of Agriculture and Forestry, Science. Dept .,(2008).

ALMEIDA, Joseany de Moraes Santos. *Procedimento eletroanalítico para determinação de cálcio em biodiesel*. São Luís, 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Maranhão.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ÇACIRK, O.C.; ÇOSKUN, E.; BIÇER, E.; ÇAKIR, S. Voltammetric and Polarographic Studies of Eriochrome Black T – Nickel (II) Complex. *Turk J Chem* **25**: 33 – 38, 2001.

CHAVES, E. S.; LEPRI, F. G.; SILVA, J. S. A.; QUADROS, D. P. C.; PIERRE, T. D. S.; CURTIUS, A. J. Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS. *Journal of Environmental Monitoring* **10**: 1211-1216, 2008b.

CHAVES, E. S.; PIERRE, T. D. S.; SANTOS, E. J. dos; TORMEN, L.; BASCUÑAN, V. L. A. F.; CURTIUS, A. J. Determination of Na and K in biodiesel by flame atomic emission spectrometry and microemulsion sample preparation. *Journal Brazilian Chemical Society* **19** (5): 856-861, 2008a.

CHAVES, E. S.; SANTOS, E. J.; ARAUJO, R. G. O.; OLIVEIRA, J. V.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Metals and phosphorus determination in vegetable seeds used in the production of biodiesel by ICP OES e ICP-MS. *Microchemical Journal* **96**: 71-76, 2010.

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

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

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

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

ECONOMOU, A. Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 24, n. 4, p. 334-340, 2005.

DORNELLAS, R.M.; NOGUEIRA, D.B.; AUCÉLIO, R.Q. The boron-doped diamond electrode voltammetric method for ultra-trace determination of the fungicide pyraclostrobin and evaluation of its photodegradation and thermal degradation. *Anal. Methods*, 6, 944, 2014.

DOWNARD, A. J.; HART, J. B.; POWELL, H. K. J.; XU, S. Amperometric techniques in flow-injection analysis: determination of magnesium in sera and natural waters.

Analytica Chimica Acta, v. 269, n. 1, p. 41-48, 1992.

EL – MAALI, N. A.; EL – HADY, D. A.; EL – HAMID, M. A.; SELIEM, M.M. Use of adsorptive stripping voltammetry at the glassy carbon electrode for the simultaneous determination of magnesium(II) and aluminium(III) Application to some industrial samples. *Analytica Chimica Acta* **417** : 67–75, 2000.

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

FILHO, L. C. S. F.; JANEGITZ B. C.; FARIA, R. C.; FILHO, O. F.; JUNIOR, L. H. M. JUNIOR; CAETANO, F. R.; MATTOS, I. L. Construção e aplicação de um minissensor de filme de bismuto utilizando materiais de baixo custo para determinações voltamétricas in loco. *Química Nova*, Vol. 35, n. 5, p.1016-1019, 2012.

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

FREITAS, L.; SOUZA, D. L. T.; RUFINO, M. P.; BALLOTTIN, D. P. M., STRADIOTTO, N. R. *Desenvolvimento de sensor eletroanalítico para determinação de Cu²⁺ em álcool combustível utilizando eletrodo compósito a base de poliuretana-grafite*. Instituto de Química. UNESP – Araraquara, 2009.

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

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

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

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

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

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

HUTTON, E.A.; OGOREVC, B.; HOCEVAR, S.B.; WELDON, F.; SMYTH, M.R, WANG, J. An introduction to bismuth film electrode for use in cathodic electrochemical detection. *Electrochemistry Communications*. Vol.3, p. 707-711, 2001.

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

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

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

Knothe G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. *Fuel Process Technol* **88** (7): 669–77, 2007.

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

KREFT, G.L.; BRAGA, O.C.; SPINELLI, A. **Analytical electrochemistry of vitamin B12 on a bismuth-film electrode surface.** *Electrochimica Acta*, Vol. **83**, p. 125–132, 2012.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

OLIVEIRA, M. F.; SACZK, A. A.; OKUMURA, L. L.; FERNANDES, A. P.; MORAES, M.; STRADIOTTO, N. R. Simultaneous determination of zinc, copper, lead and cadmium in fuel ethanol by anodic stripping voltammetry using a glassy carbon-mercury-film electrode. *Analytical and Bioanalytical. Chemistry* **380**: 135-140, 2004.

PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. *Rev. Virtual Quim.* **5** (4): 516-537, 2013.

PETERSON, C. L.; HUSTRULID, T. Carbon cycle for rapeseed oil biodiesel fuels. *Biomass and Bioenergy* **14**: 91-101, 1998.

PIERINI, G. D.; GRANERO, A. M.; NEZIO, M. S.; CENTURIÓN, M. E.; ZON, M. A.; FERNÁNDEZ, H. Development of an electroanalytical method for the determination of lead in Argentina raw propolis based on bismuth electrodes. *Microchemical Journal*. Vol. **106**, p. 102–106, 2013.

PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P. de; ANDRADE, J. B. Biodiesel: An Overview. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **16**: 1313-1330, 2005.

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

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

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

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

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

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

SEGURA, R.; PRADENA, M.; PINTO, D.; GODOY, F.; NAGLES, E. ; ARANCIBIA, V. Adsorptive stripping voltammetry of nickel with 1-nitroso-2-naphthol using a bismuth film electrode. *Talanta*. Vol. **85**, p. 2316– 2319, 2011.

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

SILVA, J. S. A.; CHAVES, E. S.; SANTOS, E. J.; PIERRE, T. D. S.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Calibration techniques and modifiers for the determination of

Cd, Pb and TI in biodiesel as microemulsion by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **21**: 620-626, 2010.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

WANG, J.; LU, J., Bismuth film electrodes for adsorptive stripping voltammetry of trace nickel. *Electrochemistry Communications*, Vol. 2, n.2, p. 390–393, 2000a.

WANG, J.; LU, J.; HOCEVAR, S.B.; FARIAS, P.A.M. Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry. *Anal. Chem.*, Vol. 72, p. 3218-3222, 2000b.

WANG, L.; LIAO, X.; DING, Y.; GAO, F.; WANG, Q. DNA biosensor based on a glassy carbon electrode modified with electropolymerized Eriochrome Black T. *Microchim Acta* 181:155–162, 2014.

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

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

WU, XIANIAN - LI; ZHOU, HONG-BI; WANG, SHU-JIE; Ye, BAO-XIAN. Determination of Magnesium and Calcium in Biological Samples by Potentiometric Stripping Analysis. *Journal of the Chinese Chemical Society* **57**: 647-652, 2010.

XIAO, L.; LIGIANG, L.; YAPING, D.; ZHANGPINNG, K.; DAIXIN, Y. *Bioelectrochemistry*, Vol.86, pp.38-45, 2012.

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

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

ZEZZA, T. R. C.; PAIM, L.L.; STRADIOTTO, N. R. Determination of Mg (II) in Biodiesel by Adsorptive Stripping Voltammetry at a Mercury Film Electrode in the Presence of Sodium Thiopentone. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **8**: 658 - 669, 2013.

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

ZHANG, Q.; LI, X.; SHI, H.; HONGZHOU, YUAN, Z. Determination of trace selenium by differential pulse adsorptive stripping voltammetry at a bismuth film electrode. *Electrochimica Acta*. Vol. 55, p. 4717–4721, 2010.

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

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

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