

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**KELLI CRISTINE NUNES**

**DETECTAÇÃO DE FERRO EM AMOSTRAS DE BIODIESEL POR IMAGEM  
DIGITAL**

**MEDIANEIRA**

**2022**

**KELLI CRISTINE NUNES**

**DETECÇÃO DE FERRO EM AMOSTRAS DE BIODIESEL POR IMAGEM  
DIGITAL**

**Iron detection in biodiesel samples by digital image**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para obtenção do título de Licenciado em Química – Licenciatura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).  
Orientador: Prof. Dr. Éder Lisandro de Moraes Flores.

**MEDIANEIRA**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**KELLI CRISTINE NUNES**

**DETECÇÃO DE FERRO EM AMOSTRAS DE BIODIESEL POR IMAGEM  
DIGITAL**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Licenciado em Química da Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 24/junho/2022

---

Éder Lisandro de Moraes flores  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Paulo Rodrigo Stival Bittencourt  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Cristiane Canan  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**MEDIANEIRA**

**2022**

*“Devemos acreditar que somos talentosos em  
alguma coisa, e que essa coisa, a qualquer custo,  
deve ser conquistada”*

*Marie Curie*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela sua grandiosa bondade e pelas maravilhas da vida.

À minha família que esteve comigo em todas as fases da minha vida, a minha mãe Idalina, minha irmã Cristiani e minha avó Marcelina. Gratidão a todas as cobranças, apoio e toda a paciência nessa trajetória.

À minha filha Eloá, que é minha fonte de força e inspiração.

Ao prof. Dr Oldair Donizetti Leite, por todo o ensinamento passado, por toda ajuda prestada e pelas cobranças. Sou extremamente grata por ter me acolhido e confiado em mim até mesmo quando eu não acreditei. Obrigada por toda a paciência para que este trabalho fosse concluído.

Ao meu orientador, Prof. Dr Éder Lisandro de Moraes Flores, por toda base e apoio prestado, pelas dúvidas sanadas e também por todo o conhecimento compartilhado.

A todos os professores de Licenciatura em Química, por todo o ensinamento compartilhado, pelo acolhimento em cada matéria, pelos momentos de alegria, pelos puxões de orelha e cobranças, e também por todos os conselhos ao longo desses anos.

Aos meus colegas e amigos, em especial a Nájila, que não mediu nenhum esforço para me apoiar e me motivar, gratidão por essa amizade incrível que você é. A Nicoli e a Liana, que por mais que nossos caminhos se tornaram diferentes, nunca deixaram de estar presentes, sempre fortalecendo a nossa amizade. Ao Gabriel, Maria Eduarda, Deise, Eduarda Biff, Lenine, Murilo, Angélica e Daiane. Gratidão por todos os momentos juntos, pela companhia nessa caminhada, por todos os choros juntos e por todo apoio ao longo desses anos, vocês foram essenciais na minha vida.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira pelo espaço e pelo apoio financeiro para esse trabalho.

À cada um que de alguma maneira fez parte desse trabalho.

À todos que contribuíram com essa Conquista.

## RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido procedimento micro analítico simples, e de baixo custo para a determinação de ferro em biodiesel empregando microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME), e detecção por imagem digital. Os seguintes parâmetros operacionais da técnica de (RP-DLLME) foram avaliados e otimizados: natureza do solvente dispersor (isopropanol e n-propanol), natureza e concentração (pH do ácido utilizado como solvente extrator ( $\text{HNO}_3$  e  $\text{HCL} + \text{HNO}_3$ ) e o pH (1, 2 e 3), proporção utilizada da solução solvente dispersor/extrator (40/60%, 50/50% e 70/30% (v/v)), volume da solução do solvente/ extrator/dispersor para 1 g de amostra, (1,0; 1,5 e 2,0 mL) e o tempo de centrifugação. Na reação para determinação colorimétrica do ferro (detecção por imagem digital) foi estuda a concentração do reagente complexante Tiocianato (ion  $\text{SCN}^-$ ) nas concentrações entre (0,6; 0,8 e 1,0 mol  $\text{L}^{-1}$ ). Para a detecção por imagem digital do complexo colorido  $[\text{FeSCN}]$  foi utilizado um manifold, produzido por impressão 3D, caixa de 15 cm x 15 cm, que contém acoplado uma mini câmera USB para captura da imagem, um Led branco para manter a luminosidade controlado e, um conjunto de poços para a reação colorimétrica que suportam volumes de até 30  $\mu\text{L}$ . O processamento dos sinais obtidos nas imagens digitais foi realizado empregando o programa SisGARQ. Após a otimização dos parâmetros operacionais, o procedimento apresentou as seguintes figuras de mérito: Linearidade de resposta de ferro total em biodiesel de 1  $\mu\text{g g}^{-1}$  a 10  $\mu\text{g g}^{-1}$ , Limite de detecção e quantificação estimados em 0,007  $\mu\text{g g}^{-1}$  e 0,022  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. A precisão e exatidão do procedimento foi analisada por ensaios de recuperação de analito na amostra de biodiesel em dois níveis de concentrações 3 e 10  $\text{mg kg}^{-1}$ , apresentando recuperações entre 98 a 107%, com RSD em torno de 6%.

Palavra-chave: RP-DLLME; imagem digital; ferro; biocombustível.

## ABSTRACT

In this work, a simple, low-cost microanalytical procedure was developed for the determination of biodiesel iron using reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME), and digital imaging detection. The following operational parameters of the (RP-DLLME) technique were optimized and optimized: nature of the dispersing solvent (propanol and n-propanol), nature and concentration (pH0 of the solvent as extracting solvent (HNO<sub>3</sub> and HCL + HNO<sub>3</sub>) and the pH ( 1, 2 and 3, proportion/extractor of the disperser solvent solution (40/60%/50% and 70/30% (v/v)), volume of solvent/extractor/solution for 1 g of decompactor Image, (1, 0; 1.5 and 2.0 mL) and centrifugation time. Nato sample for colorimetric determination of iron (digital detection) was the concentration of the complexing reagent Thiocia-) in the Study between (0.6; 0.8 and 1, 0 mol L<sup>-1</sup>). For the digital image of the colored complex [FeSCN] a manifold was used, produced by 3D printing, 15 cm x 15 cm box, which contains a mini USB camera coupling for image capture, a white LED to maintain luminosity and control, a set of wells for colorimetric reaction that support volumes of up to 30 uL. Video processing obtained in digital images is was performed using the SisGAR program. After the optimization response of the operational parameters, the procedure presented as the following figures of merit: Linearity of total iron g<sup>-1</sup> to 10 µg g<sup>-1</sup>, Limit of detection and quantification of biodiesel in 0.007 µg g<sup>-1</sup> 0.022 µg g<sup>-1</sup>, respectively. The accuracy and precision of the procedure was performed by testing a biodiesel sample at two test levels in the RSD3 package and 10 recoveries between 98 to 107%, with around 6%.

Keywords: RP-DLLME; digital image; iron; biodiesel.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Procedimento geral para DLLME.....	18
Figura 2 - Caixa com câmera e protótipo.....	22
Figura 3 - Tela inicial Projeto SisGARQ.....	22
Figura 4 - sistema de captura de imagem com protótipo.....	24
Figura 5 - Tela inicial Projeto SisGARQ – “ A: média de capturas” “B: obter diferenciador” “C: iniciar”.....	25
Figura 6 - ilustração do procedimento de RP-DLLME em microtubo para análise de Fe(III) em biodiesel por imagem digital.....	27
Figura 7 - análise com isopropanol e n-propanol como solvente dispersor para análise de Fe (III) por imagem digital.....	29
Figura 8 - análise do ácido empregado como solvente extrator para análise de Fe (III) por imagem digital.....	30
Figura 9 - análise do pH para solução extratora para análise de Fe (III) por imagem digital.....	31
Figura 10 - Análise das proporções do solvente dispersor/extrator na quantificação de Fe(III) por imagens digitais.....	32
Figura 11 - concentração de NCS- para sinal analítico em análise de Fe(III) por imagem digital.....	33
Figura 12 - Análise do volume da solução dos solventes dispersor/extrator na quantificação de Fe(III) por imagens digitais.....	35



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Matéria-prima empregada na produção nacional de biodiesel em 2018. .....	16
Tabela 2 - Ajustes de condições para determinação de Ferro na plataforma....	25
Tabela 3 - ANOVA de isopropanol e n-propanol empregados na quantificação de Fe(III) por imagem digital .....	30
Tabela 4 - ANOVA do tipo de ácido na solução extratora empregados na quantificação de Fe(III) por imagem digital.....	31
Tabela 5 - ANOVA do sinal analítico do pH para a solução extratora empregado na quantificação de Fe(III) por imagens digitais.....	32
Tabela 7 - ANOVA para análise das proporções do solventes dispersor na solução de solventes na quantificação Fe(III) por imagens digitais.....	33
Tabela 8 - ANOVA do sinal analítico da concentração de SCN- na quantificação de Fe(III) por imagens digitais.....	34
Tabela 9 - Teste de Tukey (5% significância) para análise da diferença das médias de pH na quantificação de Fe(III) por imagens digitais. ....	34
Tabela 10 - Melhores condições para o uso de RP-DLLME como preparo de amostras na quantificação de Fe(III) em biodiesel por meio de imagens digitais. .....	36
Tabela 11 - Curva analítica para quantificação de Fe(III) em biodiesel por imagens digitais.....	37
Tabela 12 - LD e LQ do método proposto para determinação de Fe em biodiesel por imagens digitais. ....	37
Tabela 13 - Ensaios de recuperação em concentrações de 3 e 10 ppm de Fe em amostra de biodiesel submetida ao método de RP-DLLME proposto e quantificadas por imagens digitais. ....	37

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Gráfico de uma função biodimensional.....	19
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica, do inglês, atomic absorption spectrometry
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	Análise de variância, do inglês, analysis of variance
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
DLLME	Microextração Líquido-Líquido dispersiva, do inglês, dispersive liquid-liquid microextraction
EPE	Empresa de Pesquisa Energética
F	Estatística F
F AAS	Espectrometria de absorção atômica em chama, do inglês, flame atomic absorption spectrometry
GI	Graus de liberdade
ICP-OES	Espectroscopia de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente, do inglês, inductively coupled plasma optical emission spectrometry
LD	Limite de detecção
LED	Diodo emissor de luz, do inglês, light emitter diode
LLE	Extração Líquido-Líquido, do inglês, liquid-liquid extraction
LQ	Limite de quantificação
MQ	Quadrado médio
NBR	Normas Brasileiras
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel
RGB	Vermelho, Verde e Azul, do inglês, Red Green Blue
RP DLLME	Microextração Líquido-Líquido dispersiva em fase reversa, do inglês, reverse phase dispersive liquid-liquid microextraction
RPM	Rotação por minuto
RSD	Desvio Padrão Relativo, do inglês, relative standard deviation
SD	Desvio Padrão, do inglês, standard deviation
SPE	Extração na fase sólida
SPME	Microextração na fase sólida
SQ	Soma dos quadrados

UTFPR      Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
v/v          Volume/volume

## LISTA DE SÍMBOLOS

pH	Potencial hidrogeniônico
Fe	Ferro
HCl	Ácido clorídrico
Na	Sódio
K	Potássio
Ca	Cálcio
Mg	Magnésio
Cu	Cobre
Pb	Chumbo
Cd	Cádmio
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
SCN <sup>-</sup>	Ânion tiocianato
NH <sub>4</sub> SCN	Tiocianato de amônio

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b>Biodiesel no Brasil e sua produção.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2</b>	<b>Contaminação do biodiesel .....</b>	<b>17</b>
<b>3.3</b>	<b>Métodos analíticos utilizados na detecção de metais.....</b>	<b>17</b>
3.3.1	Microextração líquido-líquido dispersiva de fase reversa (RP-DLLME)..	17
3.3.2	Imagem digital .....	18
<b>3.4</b>	<b>Ferro .....</b>	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1</b>	<b>Amostra de biodiesel .....</b>	<b>22</b>
<b>4.2</b>	<b>Reagentes e soluções .....</b>	<b>22</b>
<b>4.3</b>	<b>Processo de centrifugação.....</b>	<b>23</b>
<b>4.4</b>	<b>Sistema de captura de imagem para análise .....</b>	<b>23</b>
<b>4.5</b>	<b>Projeto SisGARQ .....</b>	<b>24</b>
<b>4.6</b>	<b>Determinação de fatores de influência para preparação de amostra</b>	<b>25</b>
4.6.1	Adição de analitos na amostra de biodiesel .....	25
4.6.2	Solvente dispersor e proporção com solvente extrator.....	26
4.6.3	Solvente extrator e o pH da solução.....	26
4.6.4	Concentração do íon tiocianato .....	26
4.6.5	Volume da solução de solvente dispersor/extrator e amostra .....	26
4.6.6	Centrifugação .....	26
<b>4.7</b>	<b>Procedimento proposto para análise de ferro em biodiesel por imagem</b>	<b>27</b>
<b>digital</b>		
<b>4.8</b>	<b>Figuras de mérito para validação de metodologia .....</b>	<b>27</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>5.1</b>	<b>Análise do solvente dispersor.....</b>	<b>29</b>
<b>5.2</b>	<b>Análise do solvente extrator e pH do meio .....</b>	<b>30</b>
<b>5.3</b>	<b>Análise da proporção entre solvente dispersor/extrator .....</b>	<b>32</b>
<b>5.4</b>	<b>Análise da concentração do íon tiocianato.....</b>	<b>33</b>

<b>5.5</b>	<b>Análise do volume da solução de solvente dispersor/extrator empregado na amostra de biodiesel .....</b>	<b>34</b>
<b>5.6</b>	<b>Análise para radiação de ultrasom e análise de temperatura .....</b>	<b>35</b>
<b>5.7</b>	<b>Análise para centrifugação.....</b>	<b>36</b>
<b>5.8</b>	<b>Parâmetros otimizados para RP-DLLME para extração de Fe em biodiesel</b>	<b>36</b>
<b>5.9</b>	<b>Curva de calibração e faixa linear para determinação de ferro por imagens digitais .....</b>	<b>36</b>
<b>5.10</b>	<b>Figuras de mérito do método RP-DLLME otimizadas .....</b>	<b>37</b>
5.10.1	Limites de detecção e quantificação.....	37
5.10.2	Precisão e exatidão .....	37
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>39</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>40</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O biodiesel é um combustível renovável composto por ésteres alquílicos compostos por ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou gordura animal (ANP, 2018). Uma variedade de rotas para a síntese desse biocombustível tem sido desenvolvida, mas a rota mais comumente aplicada é a metanólise, usando metóxido de sódio como catalisador. Alguns metais, mesmo que em baixas concentrações, acabam comprometendo a qualidade do biodiesel preparado, na maioria das vezes, a partir de óleos vegetais, onde a contaminação pode ocorrer desde a semente e o solo no qual a mesma é plantada (KNOTHE *et al.*, 2006).

A presença de metais no biodiesel pode resultar em uma série de problemas como a aceleração da decomposição do biocombustível, catálise das reações de oxidação e redução da estabilidade térmica e eficiência, contribuindo para corroer as peças internas do motor (SAINT'PIERRE, 2004; EDUNDLE 2002, QUADROS 2011) além de comprometendo o sistema catalítico, aumentando assim a poluição atmosférica (SAINT'PIERRE, 2004; CHAVES, 2008). Os oligoelementos podem ser incorporados no biodiesel durante a extração, síntese, lavagem, refinamento, transporte e armazenamento do óleo (QUADROS, 2011). Eles também podem se originar das plantas como consequência de sua área de crescimento (DEMIRBAS, 2018; GRABOSKI, 1998).

O procedimento padrão para quantificação de metais em biodiesel, segundo a legislação brasileira, são baseados em técnicas espectrométricas como a Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS) e, a espectroscopia de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (ICP OES) ( ABNT, 2009; ABNT,2008). No entanto, devido as características orgânicas da amostra e sua viscosidade, protocolos de preparo da amostra como a diluição em solventes orgânicos ou a necessidade de mineralização (digestão acida com aquecimento) são necessárias (KORN, 2010; SOUZA 2008).

A análise direta de metais em biodiesel não é uma tarefa simples devido, como mencionado, às características físico-química da amostra. Apesar da detectabilidade adequada das técnicas de espectrométricas algumas desvantagens restringem seu uso extensivo, como instrumentações relativamente caras, a necessidade de analistas



qualificados requisitos de energia e instalações laboratoriais adequadas. Além disso, essas técnicas exigem etapas de preparação de amostras normalmente demoradas e complexas (SÁNCHEZ, 2017; SOUZA, 2008; PEREIRA 2014). Outra desvantagem é a necessidade o uso de solventes tóxicos (xileno (ABNT, 2008) e clorofórmio (DEMIRBAS, 2008)).

Portanto, a crescente demanda por controle de qualidade do biodiesel exige, o desenvolvimento de procedimentos alternativos para superar essas desvantagens. A formação de emulsões (SOUZA, 2008), microemulsões (AMAI, 2012) ou o uso de microextração em fase reversa (RP DLLME) têm se apresentado como procedimentos alternativos e mais práticos para o tratamento destas amostras (LOURENÇO, 2016). A técnica de microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME), utilizada neste trabalho, emprega uma fase aquosa como solvente extrator e utiliza a fase orgânica(biodiesel) como amostra (GODOY-CABALLERO, ACEDO-VANEZUELA, GALEANO-DÍAZ. 2013

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo desenvolver um procedimento micro analítico simples, e de baixo custo para a determinação de ferro em biodiesel explorando microextração por RP DLLME e detecção por imagem digital.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver um procedimento micro analítico simples, portátil e de baixo custo para a determinação de ferro em biodiesel por RP DLLME e detecção por imagem digital.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Otimizar os parâmetros físico-químicos da microextração RP DLLME como: natureza, concentração e pH do solvente extrator, natureza e proporção do solvente dispersor.
- Otimizar os parâmetros físico-químicos da reação complexação de ferro com tiocianato de potássio, como a concentração e volume do reagente colorimétrico.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Biodiesel no Brasil e sua produção

O biodiesel é um biocombustível de fontes renováveis, que é produzido através da transesterificação de gorduras vegetais e animais, proveniente de uma reação química entre um álcool, metanol ou etanol, e o óleo vegetal ou animal, junto com um catalizador ácido ou básico (KNOTHE *et al.*, 2006).

**Tabela 1- Matéria-prima empregada na produção nacional de biodiesel em 2018.**

Matéria-prima	Produção total (%)	m <sup>3</sup>
Óleo de soja	70,00	3.744.757,70
Gordura bovina	13,24	708.451,77
Outros materiais graxos	9,74	520.986,51
Gordura suína	2,14	114.651,27
Óleo de fritura	1,65	88.329,09
Óleo de palma/ dendê	1,34	71.422,98
Óleo de algodão	0,86	45.796,31
Gordura de frango	0,85	45.368,31
Óleo de milho	0,11	5.617,54
Óleo de colza/canola	0,07	3.852,03
Outras matérias-primas	0,02	802,51
Total	100	5.350.036

Fonte: Relatório mensal de biodiesel da ANP (2018).

Dentre as matérias primas usada na produção do biodiesel destaca-se o óleo de soja, óleo de palma/dendê, óleo de algodão, o óleo de milho e o óleo de canola, na qual são matérias primas de origem vegetal, nas matérias primas de origem animais destaca-se a gordura bovina, a gordura suína e a gordura de frango. O Brasil, contava com 101 indústria de biodiesel conforme relatório da ANP, 2018, onde foram produzidos 5.350,036 m<sup>3</sup> desse biocombustível.

Segundo a nota técnica EPE/DPG/SDB/2021/03 da EPE, 2021, a indústria brasileira já produziu mais de 47 bilhões de litro desde 2005, ano no qual foi implantado o Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel, até 2020. De acordo ainda com a nota técnica, o Brasil registrou 49 indústrias ativas de biodiesel em dezembro de 2020, onde a maioria dessas indústrias estão situadas no Centro-Oeste e Sul do país (EPE, 2021).

### 3.2 Contaminação do biodiesel

A contaminação do biodiesel pode acontecer nas etapas de processamento durante a produção, ou até mesmo, no caso de biocombustíveis sintetizados de óleos vegetais, pela semente ou solo onde é plantado (KNOTHE *et al.*, 2006).

O biodiesel quando contaminado pode acarretar vários problemas, como a diminuição do tempo de vida útil, aceleração da oxidação, perda da eficiência e da estabilidade térmica, podendo assim causar corrosão em peças dentro de motores e aumentar a poluição atmosférica (LORENÇO, 2016).

A obrigações no controle de qualidade estão na Resolução nº 14 da ANP e devem ser seguidas pelos fornecedores de biodiesel no Brasil (ANP, 2018). Não existe um limite para Ferro em qualquer resolução brasileira, porém segue-se os parâmetros de outros metais como Ca+Mg e Na+K, onde o limite da soma das concentrações não pode ultrapassar  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  (ABNT, 2008).

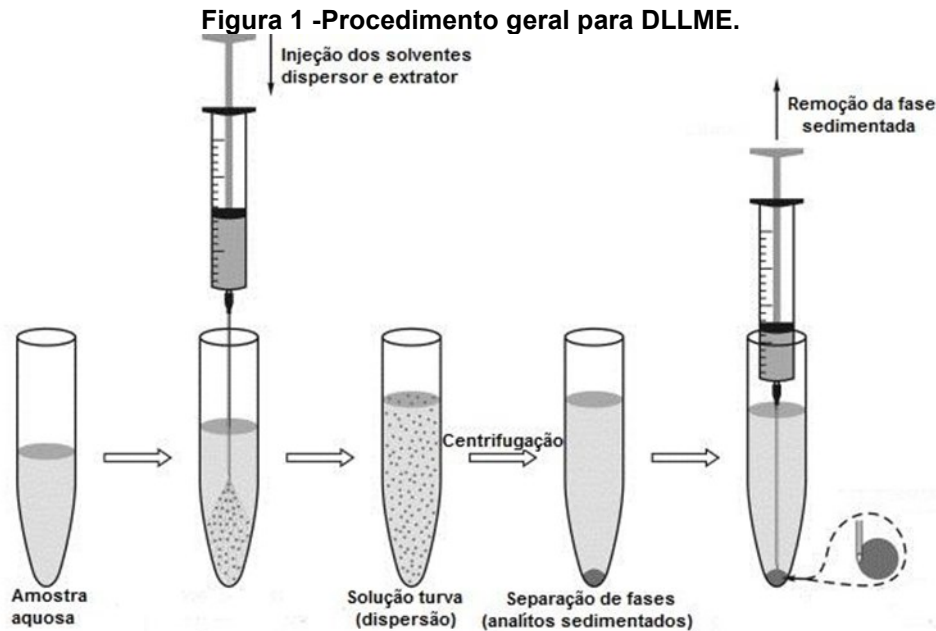
### 3.3 Métodos analíticos utilizados na detecção de metais

#### 3.3.1 Microextração líquido-líquido dispersiva de fase reversa (RP-DLLME)

A técnica extração líquido-líquido (LLE) é bastante empregada quando é preciso preparar a amostra para extrair metais na fase líquida, porém, é uma técnica que demora muito, em alguns casos até horas, onde também é utilizada uma grande quantidade de solventes orgânicos, sendo alguns desses solventes tóxicos. Os pesquisadores desenvolveram outras técnicas a partir disso para tentar resolver esses empecilhos, como a extração na fase sólida (SPE) e a microextração na fase sólida (SPME) (LOURENÇO, 2016).

Outro método desenvolvido a partir desses estudos é a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLEM) onde é realizado a partir de amostras aquosas que contém analitos, é adicionado um solvente dispersor e um solvente extrator, onde o solvente dispersor é orgânico que se dissolve com água e o solvente extrator é apolar, não se dissolve com água e é mais denso do que a água. A partir disso, o solvente faz com que as fases tenham uma maior interação, onde acelera o processo de extração dos metais (LOURENÇO, 2016). Na segunda etapa, é usado um tubo cônico para auxiliar

no processo, onde após a centrifugação forma uma fase orgânica sedimentada, que é pipetada e analisada para a determinação dos analitos. (REZAEI *et al.*, 2006, REZAEI *et al.*, 2010).



Fonte: adaptado de Zgola-Grzeskowiak e Grzeskowiak (2011).

A micro extração líquido-líquido dispersiva na fase reversa (RP-DLLME) emprega o extrator como fase aquosa e utiliza a fase orgânica como amostra e não mais como o extrator (GODOY-CABALLERO, ACEDO-VANEZUELA, GALEANO-DÍAZ. 2013), que é o reverso do DLLEM.

A RP-DLLME é uma técnica desenvolvida recentemente, o que resulta em poucos artigos publicados sobre o assunto. Trabalhos elaborados na pesquisa de metais em óleos comestíveis estão sendo desenvolvidos por essa técnica, onde dão ênfase a dois metais, o Cd e o Pb. Também foi utilizada essa técnica para a extração do Arsênio em amostras de óleo vegetal comestível, onde os valores de recuperação desse metal foram de 93% a 98% (LOURENÇO, 2016).

### 3.3.2 Imagem digital

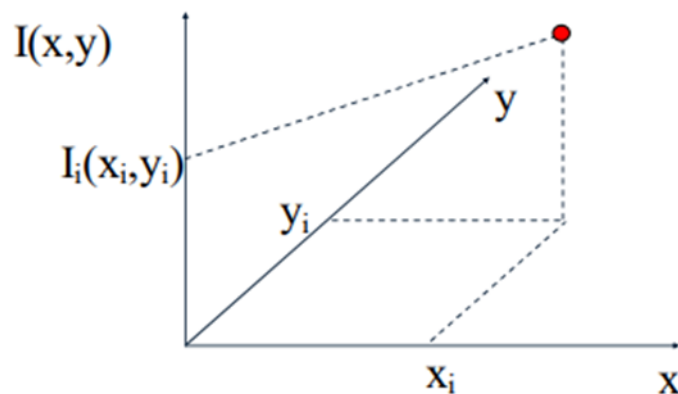
A imagem digital é adquirida a partir de uma amostragem e quantificada por meio de uma função de  $x$  e  $y$ , onde  $x$  e  $y$  são números inteiros, dentro de um intervalo de 0 a  $x$ , e 0 a  $y$ , (Scuri, 2002), conforme mostra a equação 1. Essa amostragem traz uma matriz de valores que representam as cores, os elementos contidos nessa matriz é chamado de pixel.

$$I(x,y) = \text{cor no ponto } (x,y) \quad (1)$$

$$x \in [0,x] \text{ e } y \in [0,y]$$

Graficamente falando temos:

**Gráfico 1- Gráfico de uma função biodimensional**



**Fonte: Antonio Escaño Scuri (2002).**

O modelo de cores contidas nos Pixels no qual são mais utilizadas são RGB, CMYK e HSI. O modelo de cor RGB, apresenta em cada Pixel valores referentes as cores vermelha, verde e azul, sendo esse o modelo utilizado para análise nesse trabalho.

Apesar de ainda não ser um método muito empregado, nos últimos anos, vários trabalhos forma publicados envolvendo análise colorimétrica por meio de imagens digitais (LOVATO, 2022).

### 3.4 Ferro

A contaminação do biodiesel pelo ferro e por outros metais, se origina desde a semente e o solo no qual é plantado, isso porque a maioria do biodiesel é produzido

a partir de óleo vegetal. A avaliação quantitativa dos metais em biodiesel é de extrema importância para obtenção de um produto de qualidade, determinando a concentração total e monitorando a variação de concentrações ao longo do tempo (ANTUNES, 2017).

O ferro é um metal que pode ser analisado e quantificado por várias técnicas analíticas, como F AAS por exemplo. As técnicas desenvolvidas até o presente momento tem um custo de análise muito alto e demanda muito tempo para a preparação de amostras. Por conta dessas desvantagens, vários trabalhos estão sendo desenvolvidos com o método de análise colorimétrica, onde o custo é baixo e demanda menos tempo de procedimento (LOVATO, 2022)

Firdaus *et al.* (2014), analisou Ferro em água por meio da reação com KSCN, utilizando dois métodos diferentes: uni e multivariado. João e seus colaboradores (João *et al.*, 2019) realizaram análises de Ferro (III) em etanol combustível por imagens digitais capturadas por um celular e analisadas no aplicativo *Color Grab*. As análises apresentaram resultados lineares e o método foi validado a partir de comparações das concentrações obtidas por outros métodos de análises.

A análise colorimétrica por imagem digital tem a facilidade de execução, ao contrário das técnicas analíticas profissionais onde se exige um analista capacitado para fazer o manuseio dos aparelhos. Helfer *et al.* (2017) desenvolveram um aplicativo capaz de realizar análises colorimétrica através da câmera do celular, esse aplicativo é grátis e conta com vários modelos matemáticos univariados e multivariados utilizados para a detecção do sinal de cores RGB. Esse aplicativo já foi empregado na detecção de iodo em amostras de biodiesel por meio de *spot test*, e na determinação de biodiesel em *blends* de diesel através da formação de um complexo violeta com Fe (III) e íon hidroxamato por meio de *spot test* (SOARES, *et al.*, 2020).

## 4 METODOLOGIA

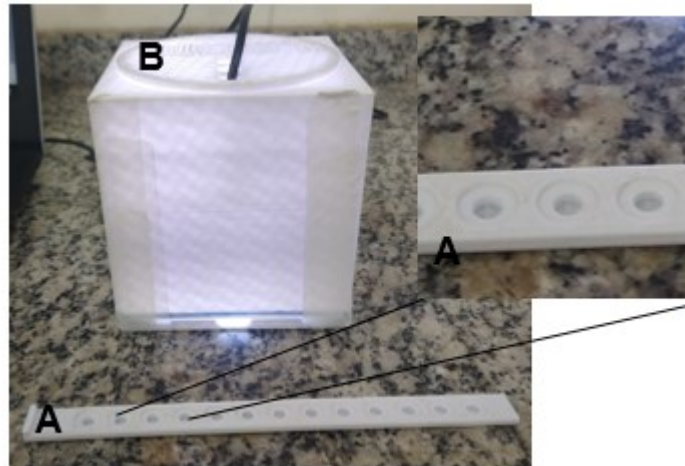
O presente estudo foi desenvolvido nas dependências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, no campus Medianeira, Paraná, junto ao Laboratório de Análise Instrumental e Tecnologia Química (LAITEC).

As análises do presente trabalho foram elaboradas em etapas. Na primeira etapa, foi desenvolvido o procedimento empregando o método RP-DLLME. Após a otimização dos parâmetros de extração foi avaliada a detecção do complexo FESCN por imagem digital. Foi utilizada uma balança analítica (Marte, modelo AW220, Brasil) com margem de erro de 0,0001 g e peso máximo de 220 g, micropipetadores (KASVI, modelo K1P100, modelo K1-P1000, Brasil) com volumes de 10-100  $\mu\text{g}$  e 100-1000  $\mu\text{g}$ , respectivamente. Para a etapa de centrifugação foi utilizada uma microcentrífuga analógica da marca IONSPIN, modelo TC7200, com rotação única de 7200 RPM.

Na etapa de detecção de ferro por imagem digital, foi utilizado um protótipo, prototipado em impresso 3D, contendo 13 poços que capacidade máxima de volume em cada poço de 30  $\mu\text{L}$  (figura 2A). Para controlar a iluminação na medida das imagens digitais, os poços foram acoplados a uma caixa de 15 cm x 15 cm, que continha um led de luz branca, para manter a luminosidade constante e uma mini câmera para registro das imagens dos respectivos poços (Figura 2B). A mini câmera utilizada foi configurada na resolução de 640x480 pixels e uma taxa de quadros de 30fps. As imagens capturadas foram analisadas empregando um software SisGARQ (figura 3).

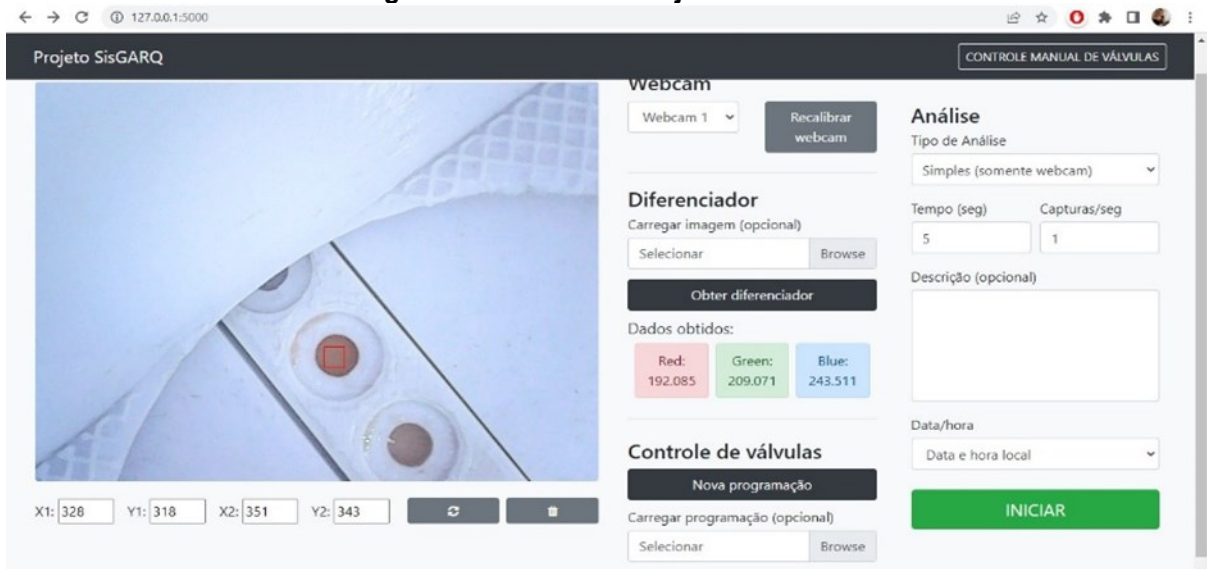


Figura 2 - Caixa com câmera e protótipo.



Fonte: A autoria própria (2022)

Figura 3 - Tela inicial Projeto SisGARQ.



Fonte: A autoria própria (2022)

#### 4.1 Amostra de biodiesel

A amostra analisada nesse trabalho foi de biodiesel, produzido a partir de uma mistura de 50% de óleo de soja e 50% sebo bovino, oriundo de uma empresa de Cuiabá, Mato Grosso.

#### 4.2 Reagentes e soluções

Para as análises do presente trabalho, foram utilizados alguns reagentes pré-analisados para as melhores condições apresentadas.

Como solvente dispersor utilizou-se isopropanol com pureza  $\geq 95\%$  (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA). O ácido nítrico de pureza  $\geq 65\%$  (Vetec, Brasil) foi utilizado como solvente extrator. A proporção utilizada de amostra e reagente foi de 50%/50% (15  $\mu\text{L}$  de cada).

Para a curva de calibração pesou-se 0,3012 g de spike do padrão individual de ferro (Specsol, Brasil) e avolumado até 10 g de biodiesel.

### **4.3 Processo de centrifugação**

O processo de centrifugação no método RP-DLLME leva um tempo estimado de 3 minutos para separação das fases. Nessa etapa as amostras foram levadas a micro centrífuga por três minutos apenas, com uma velocidade de rotação de 7200 RPM.

### **4.4 Sistema de captura de imagem para análise**

O sistema para leitura foi elaborado em um laboratório e impresso por uma impressora 3D, com o controle de requisitos para a leitura de amostras, como iluminação, fixação do protótipo com amostra e direção da câmera. A câmera utilizada portava um USB na ponta, onde conectou-se a um notebook Lenovo Ideapad 110 para posterior leitura em um programa (SisGARQ) de tratamento de imagens desenvolvido por Scheeren *et al.* (2021) (figura 4)

**Figura 4 - sistema de captura de imagem com protótipo.**



**Fonte: Autoria própria (2022).**

#### **4.5 Projeto SisGARQ**

Para analisar as imagens foi empregado o uso de uma plataforma que é baseada em *hardware* e *software*. A plataforma possui um funcionamento simples e foi desenvolvida pela *Raspberry Pi Foundation* (CROTTI, *et al.*, 2013). O pacote *OpenCV* juntamente com *python* permitem a obtenção e análise das imagens por outros computadores (SCHEEREN, 2021).

As imagens foram analisadas pelo projeto SisGARQ, no qual as análises são leituras de sinais analíticos providos dos valores dos canais RGB. Nesse projeto é possível editar o campo de captura de imagem pelos pixels apresentados nos campos  $X_1$ ,  $Y_1$ ,  $X_2$  e  $Y_2$ , como podemos ver na figura 5.

No projeto SisGARQ temos o sinal a partir da média de capturas no qual podemos definir (figura 5A). Após definido a quantidade de captura precisa-se “obter diferenciador” (figura 5B), em seguida fazemos a captura de imagem do branco, e posteriormente das amostras desejadas clicando em iniciar (figura 5C).

Figura 5 - Tela inicial Projeto SisGARQ – “A: média de capturas” “B: obter diferenciador” “C: iniciar”.



Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 2 - Ajustes de condições para determinação de Ferro na plataforma.

Parâmetros	Condições
Quantidade de imagens capturadas por segundos	5
Dimensões da área de captura	X <sub>1</sub> =328; Y <sub>1</sub> = 318; X <sub>2</sub> = 351; Y <sub>2</sub> = 343

Fonte: Autoria própria (2022).

#### 4.6 Determinação de fatores de influência para preparação de amostra

Os fatores nos quais podem ter influência foram investigados e otimizados. As etapas investigadas foram: tipo do solvente dispersor (isopropanol ou n-propanol), proporção do solvente dispersor/extrator, qual ácido a ser utilizado e o pH do meio no preparo do solvente extrator (HNO<sub>3</sub> e HCL + HNO<sub>3</sub>, pH 1, 2 e 3).

##### 4.6.1 Adição de analitos na amostra de biodiesel

As análise da amostra de biodiesel foi realizada a partir da adição do *spike* do analito ferro. A adição de analito na amostra foi elaborada diariamente para evitar erros analíticos durante as etapas. A preparação do *spike* procedeu-se a partir da pesagem de 0,3012 g de solução padrão de 100 µg g<sup>-1</sup> de ferro (III), avolumando-se com biodiesel puro para 10 g de solução final da amostra, seguida de agitação manual durante três minutos. Posteriormente foi transferido para cada frasco 2 g de amostra.

#### 4.6.2 Solvente dispersor e proporção com solvente extrator

Para determinação do solvente dispersor foram analisados o isopropanol e o n-propanol.

Após a definição do solvente dispersor foi analisada a proporção do solvente dispersor em relação ao volume do solvente extrator nas seguintes proporções: 40%, 50% e 70%.

#### 4.6.3 Solvente extrator e o pH da solução

Nessa etapa foram investigados os solventes extratores  $\text{HNO}_3$  e  $\text{HCl} + \text{HNO}_3$ , e o pH ideal na preparação da solução extratora o pH investigado foi entre 1 a 3.

#### 4.6.4 Concentração do íon tiocianato

A concentração do íon tiocianato, oriundo do sal  $\text{NH}_4\text{SCN}$ , foi investigada no intervalo de concentração entre 0,6; 0,8 e 1 M. O volume da solução de íons tiocianato foram previamente estudados, e estabelecido em 15  $\mu\text{L}$  em cada poço de análise.

#### 4.6.5 Volume da solução de solvente dispersor/extrator e amostra

Os volumes investigados nessa etapa foram: 0,5, 0,8, 1,0; 1,5 e 2,0 mL, seguindo os parâmetros já investigados anteriormente.

#### 4.6.6 Centrifugação

A centrifugação foi executada em uma mini centrífuga de rotação única, devido as amostras serem analisadas em microtubos de 2 mL.

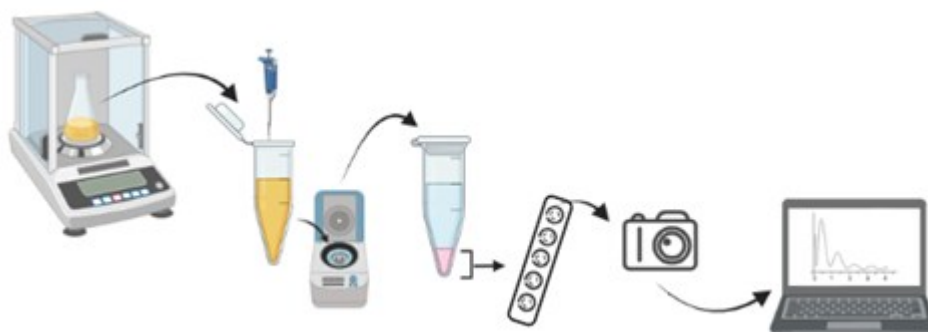
#### 4.7 Procedimento proposto para análise de ferro em biodiesel por imagem digital

Os parâmetros propostos para otimização da técnica de RP-DLLME e da análise por imagens seguiram os seguintes procedimentos: amostras de *spike* biodiesel em biodiesel 1 a 10 ppm, foram preparadas e uma alíquota de aproximadamente 1 g foi adicionado a um micro tubo de 3 mL. Um volume de 1,0 mL de solução dispersor/extrator foi adicionado e a reação ocorreu por agitação manual por 3 minutos.

Após agitação, o material foi centrifugado, para melhor separação de fases durante 3 minutos, em uma micro centrífuga a 3000 rpm.

Na sequência uma alíquota de 15 uL da fase aquosa (extratora) foi transferida para um spot reação onde continha 15 uL de solução de tiocianato de sódio 0,8 M. A reação se processou por 5 minutos e na sequência a análise das imagens foi obtido com uma micro câmera, no sistema “*home made*” (descrito no item 4.4) e, os sinais analíticos foram processados utilizando o programa SisGARQ, descrito no item 4.5. A Figura 6 ilustra as etapas na determinação de ferro em biodiesel.

**Figura 6 - ilustração do procedimento de RP-DLLME em microtubo para análise de Fe(III) em biodiesel por imagem digital.**



Fonte: Autoria própria (2022).

#### 4.8 Figuras de mérito para validação de metodologia

Os testes para figuras de mérito foram seguidos conforme orientação do documento DOQ-CGCRE-008, Revisão em 09 de junho de 2020 publicado pelo

Inmetro. Para validar o método proposto os testes de definição foram aplicados nos seguintes fatores: exatidão, precisão, limite de detecção e limite de quantificação.

Para a definição de exatidão foram realizados teste de recuperação nas amostras com analito. As análises foram elaboradas em triplicatas e utilizou-se a equação 2:

$$\text{Recuperação em \%} = \left( \frac{C1 - C2}{C3} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde que:

- C1 é a concentração do analito na amostra fortificada;
- C2 é a concentração de analito na amostra não fortificada;
- C3 é a concentração de analito adicionado à amostra fortificada.

Para os testes de precisão foram utilizados os desvios padrões referentes das replicatas do método de recuperação. Para o limite de detecção foi utilizada a equação 3 com base nas medidas do branco.

$$LD = \frac{3,3.s}{S} \quad (3)$$

Para os testes de limite de quantificação foi utilizada a equação 4, que se baseou também nas medidas do branco.

$$LQ = \frac{10.s}{S} \quad (4)$$

Em que, na equação 3 e 4:

- s é o desvio padrão da resposta do branco; e
- S é a inclinação da curva analítica.

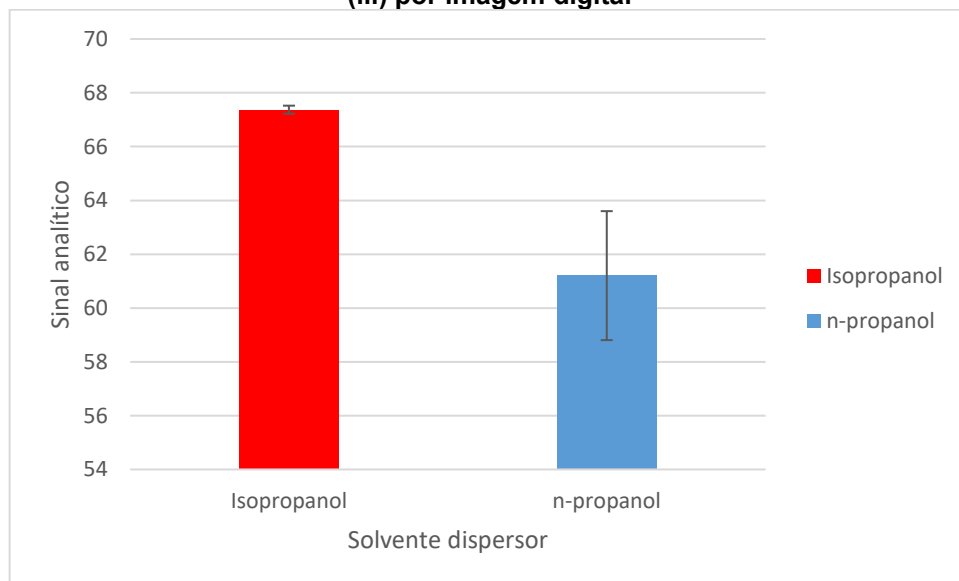
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a obtenção das melhores condições dos parâmetros utilizou-se como base o maior sinal analítico obtido nos testes. Em sequência a escolha das melhores condições, testes de recuperação foram desenvolvidos para avaliar a exatidão do método.

### 5.1 Análise do solvente dispersor

A determinação do solvente dispersor baseou-se nos parâmetros de RP-DLLME no grupo para amostras equivalentes. Os resultados da análise para sinal analítico empregando isopropanol e n-propanol estão apresentados na figura 7.

**Figura 7- Análise com isopropanol e n-propanol como solvente dispersor para análise de Fe (III) por imagem digital**



**Fonte: Autoria própria (2022)**

Para avaliar se há diferença estatística entre os solventes utilizados empregou-se a análise de variância (ANOVA). Os dados obtidos pela ANOVA compõem a tabela 3:



**Tabela 3 - ANOVA de isopropanol e n-propanol empregados na quantificação de Fe(III) por imagem digital**

Fonte da variação	SQ	GI	MQ	F	p-valor	F crítico
Entre os grupos	38,07	1	38,06	13,20	0,07	18,51
Dentro dos grupos	5,77	2	2,88			

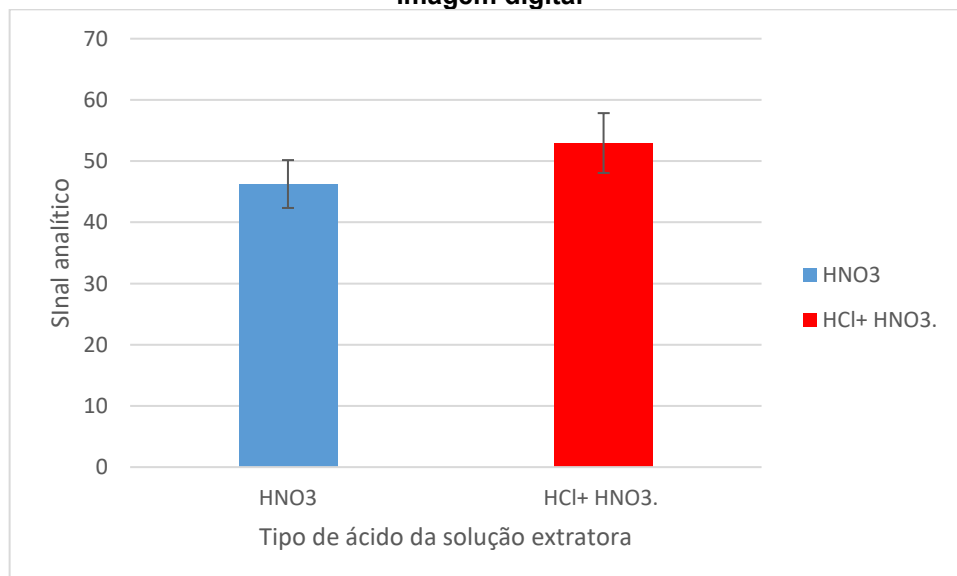
Fonte: Autoria própria (2022)

Analisando o p-valor, observa-se que não há diferença estatística ao nível de 5% entre as médias dos dispersores empregados, o critério para escolha passou a se basear nos valores RSD% para cada solvente, nesse caso, o isopropanol é o dispersor mais adequado. Os testes seguintes foram analisados a partir de amostras preparadas com o solvente dispersor escolhido.

## 5.2 Análise do solvente extrator e pH do meio

Os ácidos HNO<sub>3</sub> e HCL + HNO<sub>3</sub>, concentração final de 0,01 M, foram analisados para avaliar desempenho como solvente extrator. Os resultados obtidos são apresentados na figura 8.

**Figura 8 - Análise do ácido empregado como solvente extrator para análise de Fe (III) por imagem digital**



Fonte: Autoria própria (2022).

Para avaliar se há diferença estatística entre os solventes utilizados empregou-se a análise de variância (ANOVA). Os dados obtidos pela ANOVA compõem a tabela 4:

**Tabela 4 - ANOVA do tipo de ácido na solução extratora empregados na quantificação de Fe(III) por imagem digital.**

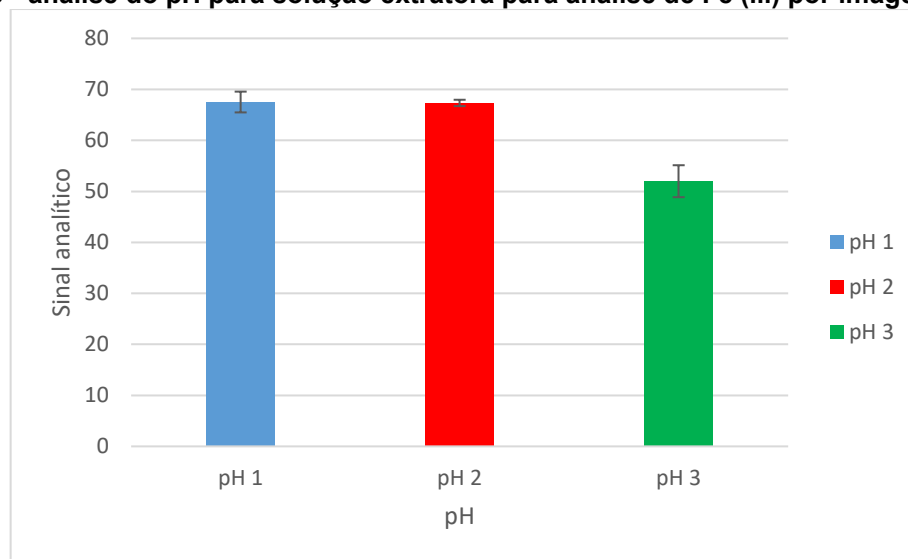
Fonte da Variação	SQ	GI	MQ	F	p-valor	F crítico
Entre os grupos	44,89	1	44,89	2,29	0,27	18,51
Dentro dos grupos	39,16	2	19,58			

Fonte: Autoria própria (2022).

O ácido escolhido foi o  $\text{HNO}_3$ , mesmo sendo o extrator de menor sinal analítico obtido, e o quesito para tal determinação foi a precisão. O  $\text{HCL} + \text{HNO}_3$ , apesar do sinal analítico maior, apresentou uma diferença analítica muito baixa, sendo insignificativa no intervalo de confiança determinado. Os testes seguintes foram analisados a partir de amostras preparadas com as determinações frisadas até o momento.

Após a determinação do ácido, analisou o pH de 1 a 3 (concentrações do ácido 0,1, 0,01 e 0,001 mol  $\text{L}^{-1}$ ) que apresentaria melhor sinal analítico. As análises apresentam os resultados na figura 9.

**Figura 9 - análise do pH para solução extratora para análise de Fe (III) por imagem digital.**



Fonte: Autoria própria (2022).

Aplicando a ANOVA podemos ver que não diferença estatística entre os pH, observando que  $p\text{-valor} < 0,05$ . Observe a tabela 5:

**Tabela 5- ANOVA do sinal analítico do pH para a solução extratora empregado na quantificação de Fe(III) por imagens digitais.**

Fonte da Variação	SQ	GI	MQ	F	p-valor	F crítico
Entre os grupos	317,69	2	158,84	33,21	0,00	9,55
Dentro dos grupos	14,35	3	4,78			

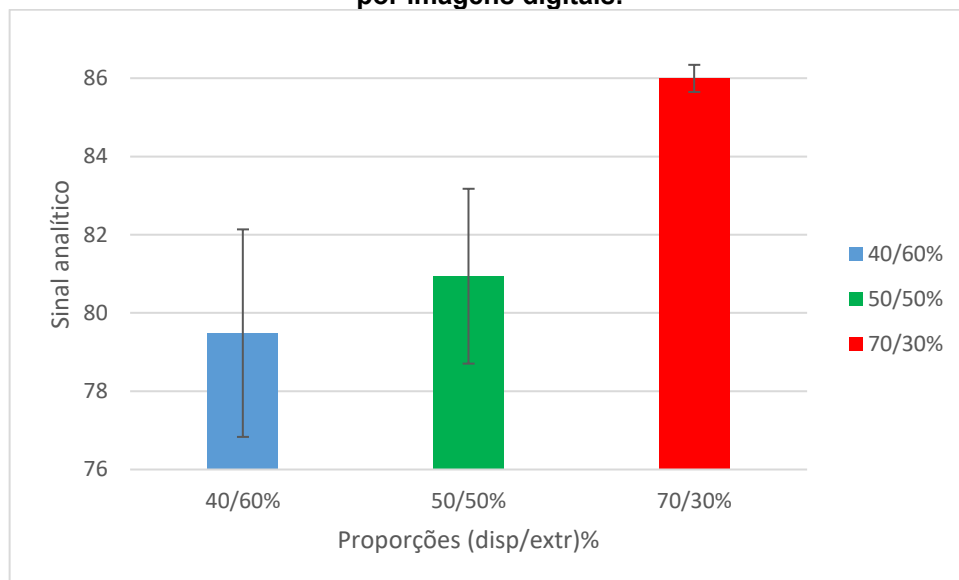
Fonte: Autoria própria (2022).

O pH determinado para a solução solvente extrator foi o pH2. A justificativa se dá pela prioridade de utilizar ácidos mais diluídos no método de preparação de amostras.

### 5.3 Análise da proporção entre solvente dispersor/extrator

Para as proporções do solvente dispersor/extrator foram analisadas em três proporções: 60/40%; 50/50% e 70/30%. A formação de microgotas foi constatada em todas as proporções analisadas. A figura 10 apresenta os valores de sinal analítico para essas proporções:

**Figura 10 - Análise das proporções do solvente dispersor/extrator na quantificação de Fe(III) por imagens digitais.**



Fonte: Autoria própria (2022).

Aplicando a ANOVA podemos ver que não há diferença estatística entre os pH, observando que  $p\text{-valor} < 0,05$ . Observe a tabela 7:

**Tabela 6 - ANOVA para análise das proporções do solventes dispersor na solução de solventes na quantificação Fe(III) por imagens digitais.**

Fonte da Variação	SQ	GI	MQ	F	p-valor	F crítico
Entre os grupos	46,70	2	23,35	5,77	0,09	9,55
Dentro dos grupos	12,14	3	4,05			

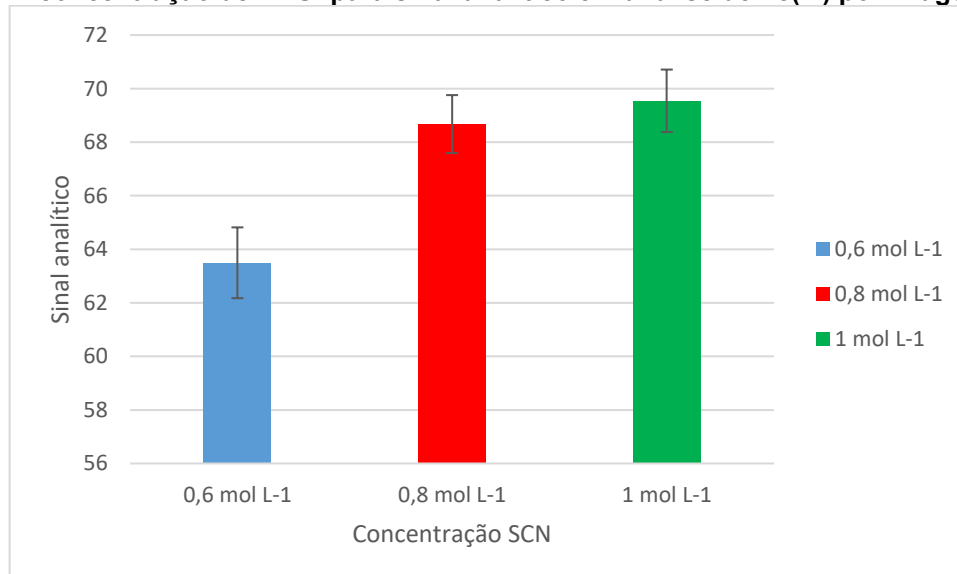
Fonte: Autorial própria (2022).

A proporção adotada foi a de 70/30% de solvente dispersor/extrator em virtude do RSD apresentado ser menor.

#### 5.4 Análise da concentração do íon tiocianato

A intensa cor vermelha é resultante da reação entre o íon tiocianato com o Fe, onde forma-se seis complexos  $\text{Fe}^{3+}$ , onde um desses é neutro, dois são catiônicos e três são aniônicos. O  $\text{FeSCN}^+$  é o único complexo proveniente da reação de  $\text{Fe}^{2+}$  com o ânion, esse complexo é demasiadamente instável se comparado na mesma proporção complexante 1:1 resultante da reação com  $\text{Fe}^{3+}$  (BARBOSA FILHO, 1992). Em teste prévio a concentração de  $1,2 \text{ mol L}^{-1}$  foi descartada por apresentar resultados semelhantes a concentração de  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , logo, as concentrações investigadas foram  $0,6$ ;  $0,8$  e  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , os resultados compõem a figura 11.

**Figura 11 - concentração de  $\text{NCS}^-$  para sinal analítico em análise de Fe(III) por imagem digital.**



Fonte: Autorial própria (2022).

Para avaliar se há diferença estatística entre as concentrações de  $\text{NCS}^-$  empregou-se a ANOVA. Os dados obtidos compõem a tabela 8:

**Tabela 7 - ANOVA do sinal analítico da concentração de SCN<sup>-</sup> na quantificação de Fe(III) por imagens digitais.**

Fonte da Variação	SQ	GI	MQ	F	p-valor	F crítico
Entre os grupos	42,79	2	21,40	14,00	0,03	9,55
Dentro dos grupos	4,28	3	1,43			

Fonte: Autoria própria (2022).

Observando a tabela constata-se a existência da diferença entre as médias,  $p\text{-valor} < 0,05$ . Em decorrência disso aplicou-se o Teste de Tukey para análise dos grupos divergentes entre si. Os resultados estão elencados na tabela 9.

**Tabela 8 - Teste de Tukey (5% significância) para análise da diferença das médias de pH na quantificação de Fe(III) por imagens digitais.**

[SCN <sup>-</sup> ] mol L <sup>-1</sup>	Média
0,6	a
0,8	b
1,0	b

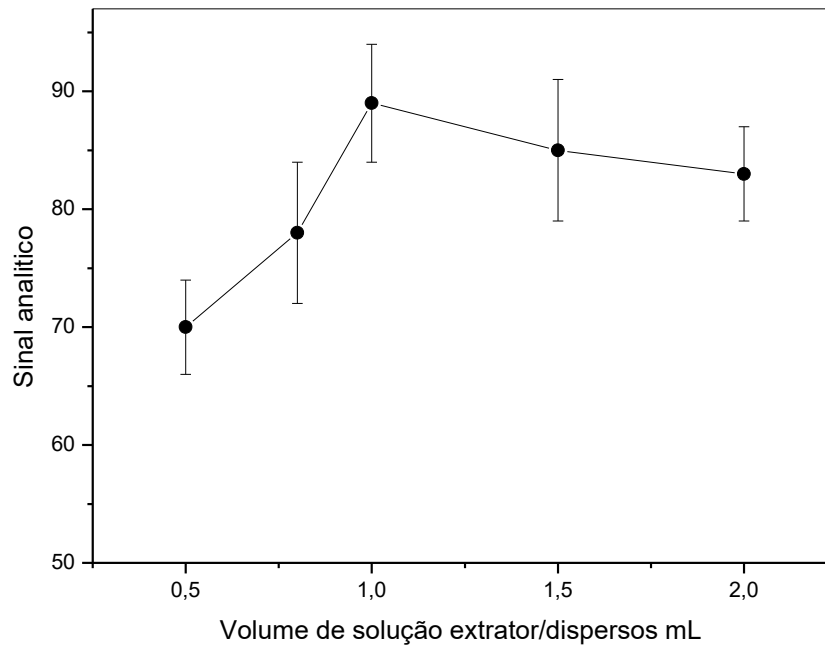
Fonte: Autoria própria (2022).

A concentração escolhida foi a de 0,8 mol L<sup>-1</sup> para NCS<sup>-</sup>. A escolha baseou-se na igualdade estatística entre as medidas de 0,8 e 1,0 mol L<sup>-1</sup>, seguindo ainda o menor RSD que foi de 1,58% para a concentração de 0,8 mol L<sup>-1</sup> e de 1,58% para a concentração de 1,0 mol L<sup>-1</sup>.

### 5.5 Análise do volume da solução de solvente dispersor/extrator empregado na amostra de biodiesel

A proporção do solvente dispersor/extrator fixou-se em 70/30 % (v/v). nessa etapa, analisou-se o volume de melhor condição para solução dispersor/extrator, fixando o volume de amostra de biodiesel em 2 g. Os volumes testados foram de 0,5, 0,8, 1,0; 1,5 e 2,0 mL, os resultados constam na figura 12.

**Figura 12 - Análise do volume da solução dos solventes dispersor/extrator na quantificação de Fe(III) por imagens digitais.**



**Fonte: Autoria própria (2022)**

Observa-se no gráfico da Figura 8, que quanto maior no volume de 1 mL obteve-se o maior sinal analítico. Volumes maiores provavelmente estão colaborando mais com a diluição da amostra e volumes menores que 1,0 mL não foram suficientes para extrair todo o ferro do biodiesel, portanto na etapa de extração proporção entre solvente dispersos/extrator foi utilizado a proporção de 1,0 mL para 1 g de biodiesel.

## **5.6 Análise para radiação de ultrassom e análise de temperatura**

A fim de otimizar tempo e diminuir custos, a etapa de ultrassom foi retirada. O ultrassom pode ser um aliado no método de RP-DLLME, afirmação publicada em algumas pesquisas de extração de metais em matrizes oleosas confirmam a eficácia do ultrassom na microextração (LOPEZ-GARCIA *et al.*, 2014; LOPEZ-GARCIA *et al.*, 2015). A etapa de ultrassom não se torna uma regra, e sim uma aliada do método, um ponto que pode ser otimizado.

## 5.7 Análise para centrifugação

A separação da fase orgânica e fase aquosa acontece na centrifugação. As amostras foram elaboradas em microtubos, desta maneira, a centrifugação ocorreu em uma mini centrífuga de rotação única (7200 RPM) por três minutos. Essa escolha otimizou tempo de análise e também diminuiu custos.

## 5.8 Parâmetros otimizados para RP-DLLME para extração de Fe em biodiesel

Na tabela 10 está apresentado as melhores condições como parâmetros para a extração de Fe (III) em amostras de biodiesel por meio de RP-DLLME. A partir dessas definições foram determinadas as figuras de mérito e empregado para determinação de Fe (III) em biodiesel.

**Tabela 9 - Melhores condições para o uso de RP-DLLME como preparo de amostras na quantificação de Fe(III) em biodiesel por meio de imagens digitais.**

Parâmetros	Condições ótimas
Solvente dispersor	Isopropanol
Solvente extrator	HNO <sub>3</sub>
Proporção (solvente dispersor/ solvente extrator)	70/30 % (v/v)
pH da solução extratora	2
Concentração do íon tiocianato (solução extratora)	0,8 M
Volume da solução (solvente dispersor/ solvente extrator)	1,0 mL
Tempo de Ultrassom (37 kHz, 70 W, temperatura a 35°C)	--
Temperatura	--
Tempo de Centrifugação (rotação única, 7200)	3 min

**Fonte: Autoria própria (2022).**

## 5.9 Curva de calibração e faixa linear para determinação de ferro por imagens digitais

O procedimento analítico proposta apresentou uma linearidade de resposta no intervalo de concentração em 1 a 10 µg g<sup>-1</sup> de Ferro de biodiesel. Os parâmetros da curva analítica obtida esta apresentada na tabela 11.

**Tabela 10 - Curva analítica para quantificação de Fe(III) em biodiesel por imagens digitais.**

Analito	R <sup>2</sup>	Equação da reta	Faixa linear, µg g <sup>-1</sup>
Fe	0,9987	y = 119,53x + 15,87	1 - 10

Fonte: Autoria própria (2022).

## 5.10 Figuras de mérito do método RP-DLLME otimizadas

### 5.10.1 Limites de detecção e quantificação

O LOD é valor de menor quantidade que pode-se encontrar uma amostra, porém, não é necessariamente a quantificação do mesmo. O LOQ é a menor quantidade do analito analisado que pode-se detectar com precisão e exatidão. O limite de detecção e quantificação obtidos estão elencados na tabela 12.

**Tabela 11 - LOD e LOQ do método proposto para determinação de Fe em biodiesel por imagens digitais.**

Analito	LOD µg g <sup>-1</sup>	LOQ µg g <sup>-1</sup>
Fe	0,007	0,022

Fonte: Autoria própria (2022).

### 5.10.2 Precisão e exatidão

A precisão e exatidão foram calculados conforme citado no item 4.11, a partir dos ensaios de recuperação e os RSD. A tabela 13 é composta pelos resultados.

**Tabela 12: Ensaios de recuperação em concentrações de 3 e 10 ppm de Fe em amostra de biodiesel submetida ao método de RP-DLLME proposto e quantificadas por imagens digitais.**

Adição analito (ppm)	Fe	
	R (%)	RSD (%)
3	107	5
10	98	6

Fonte: Autoria própria (2022).

Segundo o documento DOQ-CGCRE-008, emitido pelo Inmetro, o critério para validação de recuperação de analitos com concentrações na faixa de 1 – 10 ppm (mg kg<sup>-1</sup>) devem ter uma faixa de recuperação entre 80-100%. O método proposto nesse



estudo, apresentou uma recuperação superior ao limite máximo para a concentração de 3 ppm e uma recuperação dentro do limite desejável para a concentração de 10 ppm. Para os mesmos limites de concentração, o documento apresenta um limite de RSD que está na faixa de 11 – 7,3%, no qual indica a aceitação de repetibilidade através do desvio padrão relativo. Os resultados obtidos têm valores inferiores aos exigidos pelo documento orientativo, aceitando assim o método proposto.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a otimização dos parâmetros operacionais de extração (1,0 mL do solvente dispersor/extrator (isopropanol + HNO<sub>3</sub> pH 2,0) na proporção de 70/30%, em 1 g de amostra de biodiesel, tempo de centrifugação de 3 minutos (3000 RPM). Foi utilizado uma alíquota de 15 µL da solução para reação colorimétrica com 15 µL de solução de tiocianato 0,8 M. A quantificação foi realizada em um protótipo home made, por meio de imagem digital, onde foi possível estabelecer uma relação entre a intensidade da cor e a concentração de Fe (III).

Com o sistema foi possível determinar ferro em amostras de biodiesel em intervalo de 1 a 10 µg g<sup>-1</sup> de ferro em biodiesel, empregando pequenos volumes de reagentes.

Os valores das figuras de mérito apresentam resultados semelhantes aos observados na literatura para determinação de ferro, apresentando como atrativos, um tempo menor de análise, instrumentos mais acessíveis para quantificação de ferro em matriz oleosa e um pequeno volume de reagente.

## REFERÊNCIAS

AMAIS 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: 167–71. 2012.

AMORIM, F. A. C., BEZERRA, M. A. “Online preconcentration system for determining ultrace amounts of Cd in vegetal samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry”. **Microchim. Acta**, 159 (1): 183-189, 2007.

ANTUNES, G. A.; DOS SANTOS, H. S; SILVA, Y. P; SILVA, M. M.; PIATNICKI, C. M. S.; SAMIOS, D. Determination of iron, copper, zinc, aluminum, and chromium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry using a microemulsion preparation method. **Energy Fuel**,, v. 31 , p. 2944-2950. 2017.

ANP. **Boletim mensal do biodiesel**. Dezembro de 2018. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/producao-de-biocombustiveis/biodiesel/informacoes-demercado>>. Acesso em: 16 de junho de 2022.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **ABNT NBR 15553**, Fat and Oil Product Derivatives – Fatty Acid Methyl/Ethyl Esters – Determination of Calcium, Magnesium, Sodium, Phosphorus and Potassium Content by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICPOES), Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **ABNT NBR 15556**: Produtos Derivados de Óleos e Gorduras - Ésteres Metílicos/Étilílicos de Ácidos Graxos - Determinação do Teor de Sódio, Potássio, Magnésio e Cálcio por Espectrometria de Absorção Atômica. Rio de Janeiro, 2008.

BARBOSA FILHO, O. O Uso de Soluções de Ferro (III)-Tiocianato Para Lixiviação de Ouro. Parte1: Processos Redox Em Soluções de Ferro (III)-Tiocianato. In: V. S. T Ciminelli; M. J. G. Salum. (Org.). Extração de Ouro Fundamentos, Prática e Meio Ambiente. 1ed.Belo Horizonte: Ass. Bras. Tec. Min., 1992, v., p. 52-71.

BENEDETTI, L. P. dos Santos *et al.* A digital image analysis method for quantification of sulfite in beverages. **Anal. Methods**, v. 7, n. 18, p. 7568–7573, 2015.

CHAVES, E. S.; LEPRI F.G; SILVA J.S.A; QUADROS D. P. C.; SAINT'PIERRE, T. D.; CURTIUS, A. J.; ENVIRON, J. Monit 10 **Talanta**; 2008; p.1211-1216.

DEMIRBAS A., Biodiesel: A Realistic Fuel Alternative for Diesel Engines, Springer-Verlag, **Talanta**; London, 2008.

EDLUND, M.; VISSER, H.; HEITLAND, P.; J. ANAL. AT. SPECTROM. **Talanta** p.232–235. 2002.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. Análise de conjuntura dos biocombustíveis – Ano 2020. **Nota Técnica EPE/DPG/SDB/2021/03**. 2021. Disponível em :< [https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-615/NT-EPE-DPG-SDB-2021-03\\_Analise\\_de\\_Conjuntura\\_dos\\_Biocombustiveis\\_ano\\_2020.pdf](https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-615/NT-EPE-DPG-SDB-2021-03_Analise_de_Conjuntura_dos_Biocombustiveis_ano_2020.pdf)>. Acesso em: 11 de junho de 2022.

FIRDAUS, L. M.; ALWI, W.; TRINOVELDI, F.; RAHAYU, I.; RAHMIDAR, L.; WARSITO, K.; Determination of chromium and Iron Using Digital image-based colorimetry. **Procedia environmental Sciences**, 20, 298-304, 2014.

GRABOSKI, M.S.; MCCORMICK, R.L. Prog. Energy Combust. **Talanta** p.125–164. 1998.

GODOY-CABALLERO, M. P., ACEDO-VALENZUELA., M. I. GALEANO-DÍAZ, T. New reversed phase dispersive liquid–liquid microextraction method for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil by rapid resolution liquid chromatography with ultraviolet–visible and mass spectrometry detection. P. 291-301. Vol 1313. 2013.

GOMES, M. S.; TREVISAN, L. C.; NÓBREGA, J. A. Uso de Scanner em Espectrofotometria de Absorção Molecular: Aplicação em Experimento Didático Enfocando a Determinação de Ácido Ascórbico. **Quim. Nova**, v. 31, n. 6, p. 1577-1581, 2008.

HARNLY, J. M.; SMITH C. M. M.; WICHEMS, D. N.; IVALDI J. C.; LUNDBERG P. L.; RADZIUK, B. Use of a segmented array charge coupled device detector for continuum source atomic absorption spectrometry with graphite furnace atomization. **Journal Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.12, p.617-627, y 1997.

HELPER, G. A.; MAGNUS, V, S.; BÖCK, F. C.; TEICHMANN, A.; FERRÃO, M, F.; COSTA, A, B. PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, p. 328. 2017.

INMETRO. DOQ-CGCRE-008. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. INMETRO, v. 9, Rio de Janeiro, jun., 2020. Disponível em: < [http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8\\_08.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_08.pdf)>. Acesso em: 28 de abril de 2022.

JOÃO, A.F.; SQUISSATO, A. L.; FERNANDES, G.M.; CARDOSO R. M. Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-bases device. **Microchemical Journal**, 146, 1134-1139, 2019

KNOTHE, G.; GERPEN, J.; KRAHL, J., TRAD.; RAMOS, L. P., **Manual do Biodiesel**, Ed. Blucher, São Paulo, 2006.

KNOTHE, G.; STEIDLEY, K. R. The effect of metals and metal oxides on biodiesel oxidative stability from promotion to inhibition. **Fuel Processing Technology**, , v.177, p. 75-80, 2018.

KORN M. G. A.; SANTOS D. C. M. B.; GUIDA M. A. B.; BARBOSA I. S.; PASSOS M. L. C.; SARAIVA M. L. M. F. S.; *et al.* Evaluation of digestion procedures for simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Fuel**; J Braz Chem Soc 2010;

LIMA, R. A. C.; *et al.* Digital movie-based on automatic titrations. **Talanta**, v. 147, p. 226–232, 2016.

LOURENÇO, Emilene de Carvalho. **Desenvolvimento de métodos empregando microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa para determinação de Na, K, Ca e Mg em biodiesel**. Medianeira – PR, 2016. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016. LOVATO, P. F.F; Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para quantificação de ferro em amostras ambientais por imagem digital. Dissertação qualificatória de Mestrado. **Programa de pós-graduação em Química**. Curitiba. 2022.

NETO, G. F. S.; FONSECA, Classificação de águas minerais baseada em imagens digitais obtidas por smartphones. **Quim. Nova**, v. 39, n. 7, p. 876–881, 2016.

O'HAVER T. C.; HARNLY J. M.; GOLDEN B.; WOLF W. R. Background-corrected simultaneous multielement atomic absorption spectrometer. **Anal. Chem.** 1979.

PEREIRA F.M.; BRUM D.M.; LEPRI F. G.; CASSELLA R. J.; Extraction induced by emulsion breaking as a tool for Ca and Mg determination in biodiesel by fast sequential flame atomic absorption spectrometry (FS-FAAS) using Co as internal standard. **Microchem J. Fuel** 2014; 117:172–7

PROJAHN H. D.; STEEG U.; SANDERS J.; VANCLAY E. Application of the reference-element technique for fast sequential flame atomic-absorption spectrometry. **Anal Bioanal Chem.** 2004.

QUADROS, D.P.C.; RAU M.; IDREES M.; CHAVES E.S.; CURTIUS, A.J.; BORGES, D.L.G.; Spectrochim. Acta, **Talanta**, 2011 p.373–377.

REZAEI, M.; ASSADI, Y.; HOSSEINI, M. R. M.; AGHAEI, E.; AHMADI, F.; BERIJANI, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, p. 1-9. 2006

REZAEI, M.; YAMINI, Y.; FARAJI, M. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. **Journal of Chromatography A**, 1217, 2342–2357. 2010.

SÁNCHEZ R., MAESTRE, S., PRATS, S., TODOLÍ, J. L. Aerosol-Phase extraction method for determination of Ca, K, Mg, and Na in biodiesel through inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Anal Chem. Fuel** 2017;89(24):13618–25

SCHEEREN, M. H.; FILHO, P. L. de P.; LEITE, O. D.; Emprego de webcam para detecção de fósforo em extrato de solo por imagens digitais. **XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR**. Guarapuava – PR. 2021.

SOARES, S., LIMA, M. J. A., ROCHA, F. R. P. A spot test for iodine value determination in biodiesel based on digital images exploiting a smartphone. **Microchemical Journal**, p.195–199. 2017.

SOUZA R. M. de; LEOCADIO L. G.; SILVEIRA C. L. P. de; ICP OES simultaneous determination of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, and P in biodiesel by axial and radial inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. **Fuel; Anal Lett** 2008;

SOUZA, F. R. de, Avaliação de dispositivos de captura de imagens digitais para detecção colorimétrica em microzonas impressas. **Quim. Nova** v. 37, n. 7, p. 1171–1176, 2014

SULLIVAN, J.F.; BURCH, R.E.; HAHN, H. K.; Aspectos mais recentes das funções do Zinco, Manganês e Cobre na nutrição humana. **Clin. Chern.** P.501-520. 1975.

SAINT'PIERRE, T.D.; DIAS, L.F. POZEBON, D.; AUCELIO, R.Q.; CURTIUS, A.J.; WELZ, B.; Spectrochim. Acta, B 57 **Talanta**; 2002; p.1991–2001.

SAINT'PIERRE, T.D.; DIAS, L.F. POZEBON, D.; AUCELIO, R.Q.; CURTIUS, A.J.; Spectrochim. Acta, B 59 **Talanta**; 2004 p.551–558.

WALSH, A. The application of atomic absorption spectrochemical analysis. Spectrochim. P.108-117. 1955.

ZHU, Y., KITAMAKI, Y., NUMATA, M. Simultaneous direct determinations of Na, Mg, K, Ca, P, and S in biodiesel fuel by ICP-QMS/QMS after xylene dilution: development and application of a high-throughput method for a homogeneity assessment of a candidate reference material. **Anal Sci** 2017;33(2):209–15