

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ESTUDO DE MÉTODOS ANALÍTICOS ALTERNATIVOS NA
DETERMINAÇÃO DE Mg EM ÓLEOS VEGETAIS POR
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA**

LIRIANA MARA ROVEDA

**DOURADOS
FEVEREIRO DE 2015**

LIRIANA MARA ROVEDA

Estudo de Métodos Analíticos Alternativos na Determinação
de Mg em Óleos Vegetais por Espectrometria de Absorção
Atômica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luiz Raposo Júnior

Dourados
Fevereiro de 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R873e	<p>Roveda, Liriana Mara.</p> <p>Estudo de métodos analíticos alternativos na determinação de Mg em óleos vegetais por espectrometria de absorção atômica. / Liriana Mara Roveda. – Dourados, MS : UFGD, 2015.</p> <p>70f.</p> <p>Orientador: Profr. Dr. Jorge Luiz Raposo Júnior.</p> <p>Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Preparo de amostra. 2. Emulsão. 3. Microemulsão. 4. Padronização interna. I. Título.</p> <p>CDD – 543.085</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.



Termo de Aprovação

Após a apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: “Estudo de Métodos Analíticos Alternativos na Determinação de Mg em Óleos Vegetais por Espectrometria de Absorção Atômica”, de autoria de Liriana Mara Roveda, apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Federal da Grande Dourados.

Jorge Raposo Jr

Prof. Dr. Jorge Luiz Raposo Junior (Orientador-UFGD)
Presidente da Banca Examinadora

Claudia Cardoso

Profa. Dra. Claudia Andréa Lima Cardoso
Membro Examinador (UEMS)

Daniele M. dos Santos

Profa. Dra. Daniele Mignolo dos Santos
Membro Examinador (UFGD)

*Aos meus pais
Nadia e Lirio Roveda,
a quem devo tudo o que sou.*

*Aos meus irmãos
Geordano Cleriston Roveda, meu primeiro melhor amigo,
e Ana Carolina Roveda, irmã, mãe, filha, amiga, companheira.*

Amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Jorge Luiz Raposo Júnior, pela oportunidade e parceria na realização deste trabalho, pelos valiosos ensinamentos e conselhos e, principalmente pela paciência e a postura sempre tão educada e elegante ao corrigir os meus erros e me conduzir na busca pelo conhecimento. Minha gratidão, respeito e admiração.

Aos professores e técnicos do curso de Química e da Pós-graduação em Química da FACET/UFGD, em especial aos professores Heberth Juliano Vieira e Daniele Mignolo dos Santos, pelas contribuições indiretas na realização deste trabalho.

A todos os meus amigos, pelo simples fato de existirem em minha vida, em especial à minha querida amiga Vanessa Peronico, não só pela amizade, como pelas suas contribuições na realização deste trabalho, pelo apoio, paciência e o bom humor que me contagia nos momentos difíceis.

À Lucinéia Crestani e Anderson Greco, amigos e companheiros de laboratório.

À Universidade Federal da Grande Dourados e à Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia pelo apoio institucional e estrutura oferecida.

À Embrapa Agropecuária Oeste pelo fornecimento das amostras.

À Fundect e a CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

A composição mineral de óleos vegetais é uma importante informação para avaliar a qualidade destes produtos, uma vez que a presença de metais em matrizes oleosas pode catalisar reações de oxidação de ácidos graxos e acelerar os processos de degradação. Neste estudo foram desenvolvidos métodos analíticos para a determinação de Mg por espectrometria de absorção atômica em chama em amostras de óleo vegetal utilizando o procedimento de preparo de amostra por emulsões e microemulsões. As emulsões foram preparadas com 0,1000 g de amostra de óleo de girassol, canola, pinhão-manso e crambe em meio de etanol + Triton X-100 e as microemulsões em meio de n-butanol + Triton X-100. Para compensar as interferências provocadas por efeitos de matriz foi proposto o método de calibração por padronização interna e Cd, Co e Cu foram avaliados como possíveis padrões internos (PI). Os melhores resultados foram obtidos utilizando Co ou Cu como padrão interno, com linearidade ($R > 0,9972$) e desvios padrão relativos inferiores a 3,6%. Limites de quantificação de $0,30 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,49 \mu\text{g g}^{-1}$ Mg foram obtidos com a calibração por padronização interna em meio aquoso utilizando Co e Cu, respectivamente. A exatidão dos métodos foi avaliada por meio de testes de adição e recuperação de analito utilizando a amostra de óleo de girassol preparada pelos dois procedimentos (emulsão e microemulsão) alternativos, e os valores obtidos apresentaram intervalo entre 98,4 – 106,6% com Co como PI e 93,9 – 106,9% com Cu como PI. Testes estatísticos utilizados para comparação dos teores de Mg demonstraram que os resultados obtidos nas emulsões e microemulsões por padronização interna com Co e Cu foram concordantes ao nível de 95% de confiança. A proposta de preparo de amostra por emulsões e microemulsões de óleos vegetais utilizando o método de calibração com padronização interna mostrou ser uma estratégia simples e eficiente para avaliar a qualidade de óleos vegetais quanto a concentração de Mg determinada por F AAS.

Palavras-chave: preparo de amostra, emulsão, microemulsão, padronização interna.

ABSTRACT

The mineral content of vegetable oils is an important information to evaluate the quality of these products, since the presence of metals in oily matrices can catalyze oxidation reactions of fatty acids and accelerate the degradation processes. In this study, analytical methods for the determination of magnesium by flame atomic absorption spectrometry in vegetable oil samples were developed based on emulsions and microemulsions procedures for sample preparation. The solutions were prepared with 0.1000 g of sunflower, canola, jatropha and crambe oils samples in ethanol + Triton X-100 and n-butanol + Triton X-100 for emulsion and microemulsions, respectively. To compensate interferences from matrix effects, calibration method based on internal standardization using Cd, Co and Cu were evaluate as possible internal standards (PI). Best results were obtained using Co or Cu as internal standard, with linearity ($R > 0.9972$) and relative standard deviations less than 3.6%. Limits of quantification of $0,30 \mu\text{g g}^{-1}$ and $0.49 \mu\text{g g}^{-1}$ Mg were obtained by calibration curves with aqueous solution with internal standardization using Co and Cu, respectively. The accuracy of the method was checked by recovery test using the sunflower oil sample prepared by proposed procedures (emulsion and microemulsion), and the values varied from 98.4 to 106.6% with Co as IS and from 93.9 to 106.9% with Cu as IS. Statistical tests were used to compare the content of Mg and showed that the results obtained in the emulsions and microemulsions procedures using internal standardization calibration with Co and Cu as IS were in agreement at 95% confidence. The sample preparation proposed based on microemulsions and emulsions of vegetable oils using internal standardization calibration method is a simple and efficient strategy to evaluate the quality of vegetable oils concerning the determination of Mg by F AAS.

Keywords: sample preparation, emulsion, microemulsion, internal stardization.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Instrumento utilizado por Lockyer: (A) atomizador, (B) tubo de ferro inserido em um forno alimentado por carvão, (C) dispositivo tipo Kipp utilizado para gerar hidreto, (D) lâmpada elétrica de fonte contínua e (E) espectrógrafo com prisma e dispositivo fotográfico. 19
- Figura 2** - Estrutura de uma microgotícula de microemulsão O/W (a) e W/O (b). 29
- Figura 3** - Foto ilustrativa do espectrômetro de absorção atômica em chama AA 240FS. 35
- Figura 4** - Foto ilustrativa das sementes oleaginosas após moagem em moinho multiuso: a) canola; b) crambe; c) pinhão-manso; d) girassol. 37
- Figura 5** - Foto ilustrativa de sistema tipo soxhlet para extração de óleos vegetais. 38
- Figura 6** - Foto ilustrativa das microemulsões de óleo de crambe (a) e girassol (b); e emulsões de óleo de crambe (c) e girassol (d). 45
- Figura 7** - Medidas de absorbância de Mg em microemulsões de canola em função de diferentes concentrações de La em % (m/v) 46
- Figura 8** - Curvas de resposta obtidas para o estudo do intervalo linear de trabalho para determinação Mg em óleo vegetal por F AAS em 285,2 nm (a) e 202,6 nm (b). 47
- Figura 9** - Curva analítica de calibração referente ao intervalo linear de trabalho para determinação de Mg em 285,2 nm. 48
- Figura 10** - Curvas de resposta obtidas em meio aquoso para a) Cd (228,8 nm), b) Co (240,7 nm) e c) Cu (324,7 nm) por F AAS. 49
- Figura 11** - Curvas analíticas de resposta para Mg obtidas em meio de - ■ - água; - ● - butanol + Triton X-100; - ▲ - etanol, com calibração externa (a) e com padronização interna com Cd (b); Co (c) e Cu (d). 50
- Figura 12** - Curvas analíticas para determinação de Mg em emulsões e microemulsões de óleos vegetais por F AAS: a) padronização interna com Co; b) padronização interna com Cu; c) padronização interna com Cd. 53
- Figura 13** - Resultado obtido com a aplicação do teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação dos valores médios de Mg determinados em amostras de óleo de girassol (a), canola (b), pinhão-manso (c) e crambe (d) preparados por emulsão e microemulsão com calibração por padronização interna utilizando Cu, Co e Cd como padrões internos. 57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Principais diferenças observadas entre emulsões e microemulsões.	29
Tabela 2 -	Exemplos da aplicação de microemulsões no preparo de amostras para determinação de metais por diferentes técnicas espectrométricas.	31
Tabela 3 -	Exemplos da aplicação de emulsões no preparo de amostras para determinação de metais por diferentes técnicas espectrométricas.	32
Tabela 4 -	Parâmetros instrumentais utilizados na determinação de Mg em óleo vegetal bruto por espectrometria atômica.	35
Tabela 5 -	Detalhamento da natureza e da quantidade de reagente adicionado para mineralização de 0,1000 g de amostra de óleo de girassol empregando o Procedimento 2 de decomposição ácida.	40
Tabela 6 -	Comparação dos percentuais de óleo obtidos na extração em sistema soxhlet com percentuais presentes em sementes oleaginosas de acordo com a literatura.	44
Tabela 7 -	Viscosidade dos solventes água, n-butanol e etanol, a 25 °C.	48
Tabela 8 -	Parâmetros das curvas analíticas de resposta para Mg obtidas em meio de água; butanol + Triton X-100 e etanol, com calibração externa e com padronização interna com Cd, Co e Cu.	51
Tabela 9 -	Comparação estatística de curvas analíticas com padronização interna em diferentes meios ao nível de confiança de 95%. $F_{tab.,95\%}$ para (8,8) graus de liberdade = 3,44; $t_{tab.,95\%}$ para 16 graus de liberdade = 2,12.	52
Tabela 10 -	Parâmetros de confiabilidade analítica relativos à determinação de Mg em emulsões e microemulsões de óleos vegetais por F AAS com padronização interna.	54
Tabela 11 -	Resultados ($n= 3$) da recuperação (%) de Mg (mg L^{-1}) em óleo de girassol bruto preparado por microemulsões e emulsões utilizando os método de padronização interna.	55
Tabela 12 -	Resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n= 3$) dos teores de Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$) em microemulsões de óleos vegetais empregando métodos de padronização interna.	56
Tabela 13 -	Resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n= 3$) dos teores de Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$) em emulsões de óleos vegetais empregando métodos de padronização interna.	56
Tabela 14 -	Resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n= 3$) dos teores de Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$) em amostras de óleo vegetal de girassol preparadas por digestão ácida. Resultados de %RSD entre parênteses.	59

Tabela 15-	Comparação dos resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n= 3$) de Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$) obtidos por digestão ácida e por emulsões e microemulsões de óleos vegetais por meio de padronização interna com Co e Cu.	59
Tabela 16 -	Resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n= 3$) dos teores de Mg em sementes oleaginosas por espectrometria atômica em chama.	61

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês Atomic Absorption Spectrometry
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
C₀	Concentração característica
CICP	Cloreto de cetilpiridíneo
CTAB	Brometo de cetiltrimetil amônio
DDBS	Dodecil benxeno sulfonato de sódio
EDL	Lâmpada de Descarga sem Eletrodo, do inglês electrodeless discharge lamps
EUA	Estados Unidos da América
F AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama, do inglês Flame Atomic Absorption Spectrometry
F AES	Espectrometria de Emissão Atômica em Chama, do inglês Flame Atomic Emission Spectrometry
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite , do inglês Graphite Furnace Atomic Emission Spectrometry
HCL	Lâmpada de Catodo Oco, do inglês Hollow Cathode Lamp
HDL	Lipídeo de Alta Densidade, do inglês High Density Lipid
HR-CS AAS	Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua, do inglês High-Resolution Cotinuum Source Atomic Absorption Spectrometry
ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry
LD	Limite de Detecção
LDL	Lipídeo de Baixa Densidade, do inglês Light Density Lipid
LQ	Limite de Quantificação

O/W	Emulsão Óleo em Água
PI	Padrão interno
RSD	Desvio Padrão Relativo, do inglês Relative Standard Deviation
SDS	Dodecil sulfato de sódio
W/O	Emulsão Água em Óleo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 REVISÃO DA LITERATURA	18
3.1 Espectrometria de Absorção Atômica: um breve histórico	18
3.2 Óleos Vegetais	22
3.3 Pré-tratamento de amostras	24
3.3.1 Decomposição ácida	25
3.3.2 Diluição direta com solventes orgânicos	27
3.3.3 Emulsões e microemulsões	28
3.4 Padronização interna	33
4 PARTE EXPERIMENTAL	35
4.1 Instrumentação e acessórios	35
4.2 Reagentes e soluções analíticas	36
4.3 Amostragem e pré-tratamento das amostras	37
4.4 Procedimentos de preparo de amostras de óleos vegetais...	38
4.4.1 Emulsões	38
4.4.2 Microemulsões	39
4.4.3 Decomposição ácida em sistema aberto	39
4.5 Procedimento de preparo de amostras de sementes oleaginosas.....	41
4.6 Método de determinação de Mg em óleo vegetal utilizando a padronização interna e procedimentos de preparo de amostra por emulsão e microemulsão	42
4.6.1 Intervalo linear de trabalho	42
4.6.2 Padronização interna	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 Obtenção dos óleos vegetais	44
5.2 Obtenção das emulsões e microemulsões	44
5.3 Método de determinação de Mg em óleo vegetal utilizando padronização interna	47
5.3.1 Intervalo linear de trabalho	47
5.3.2 Estudo do comportamento dos elementos Cd, Co e Cu como padrões internos	48

5.4 Determinação de Mg em emulsões e microemulsões de óleos vegetais com calibração por padronização interna	55
5.5 Avaliação da decomposição ácida como método de preparo de amostras de óleo vegetal	58
5.6 Determinação de Mg em sementes oleaginosas	60
6 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

Óleos vegetais têm papel importante na nutrição humana, já que constituem fonte de energia concentrada em alimentos e proporcionam propriedades benéficas ao organismo quando consumidos em quantidades adequadas [1]. Atualmente, mais de 80% da produção de óleos vegetais no mundo é destinada à alimentação [2]. O restante é utilizado para fins industriais na produção dos mais variados tipos de produtos, como cosméticos, fármacos, inseticidas e outros [3].

Nas últimas décadas a população mundial tem elevado, de forma expressiva, a produção e o consumo de óleos vegetais, devido a recente necessidade de diversificação da matriz energética e a consequente inserção dos óleos vegetais como matéria-prima para a produção de biocombustíveis [2]. Em países como o Brasil, que apresenta um grande potencial agrônomo, o cultivo de espécies oleaginosas voltadas à produção de óleo vegetal de qualidade e/ou biocombustível pode alcançar o ápice e influenciar diretamente o setor econômico [4].

A presença de metais em óleos vegetais depende de diversos fatores como característica da espécie oleaginosa, composição química do solo, água de irrigação, fertilizantes e pesticidas aplicados durante o cultivo da espécie, ou podem ser introduzidos nas etapas de extração, armazenamento e transporte do produto [5,6]. Quando o óleo tem finalidades comestíveis, a presença em quantidades apropriadas de metais essenciais (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn) é desejável, pois atuam de maneira benéfica no organismo [7,8]. No entanto, estes e outros metais apresentam um efeito deletério sobre a qualidade do óleo, uma vez que podem catalisar reações de oxidação de ácidos graxos, provocando a degradação do óleo e comprometendo a qualidade do produto quanto ao frescor, manutenção das propriedades e tempo de armazenamento [9]. Portanto, a análise química mineral é um importante parâmetro para avaliar a qualidade desses produtos, independente da aplicação ou destino final dado ao óleo vegetal [10,11].

A Química desempenha importante papel no monitoramento da composição mineral dos óleos vegetais por meio das várias técnicas analíticas que têm sido empregadas na determinação de metais nesse tipo de matriz, tais como a potenciometria [3] e a voltametria [12], sendo as técnicas de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) [9,13–16], espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) [6,17–20] e espectrometria de absorção atômica (AAS) [4,10,11,13,21–25], as

mais utilizadas.

O maior desafio enfrentado na análise de amostras contendo elevado teor de óleo é a adequação destas às técnicas analíticas disponíveis, devido a problemas como alto teor de matéria orgânica, características físicas da matriz como viscosidade e imiscibilidade em água e baixas concentrações dos analitos de interesse [4]. O pré-tratamento da amostra é, provavelmente, a fase mais crítica da análise, pois consome a maior parte do trabalho analítico, contribui para aumentar os custos e, principalmente, é onde a maioria dos erros aleatórios acontece [26].

Sendo assim, o presente estudo propõe o uso de procedimentos de preparo de amostra por emulsões e microemulsões na determinação de Mg em óleos vegetais por espectrometria de absorção atômica em chama utilizando o método de calibração por padronização interna. Estes procedimentos visam o mínimo de manipulação e preparo da amostra, de modo a reduzir os diversos problemas inerentes à maioria dos procedimentos de tratamento de amostras e que comprometem a qualidade dos resultados analíticos.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Estabelecer procedimentos alternativos de preparo de amostra para determinação de Mg em óleo vegetal bruto de girassol, canola, pinhão-manso e crambe por espectrometria de absorção atômica em chama.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Avaliar procedimentos de emulsão e microemulsão como alternativas no preparo de amostras de óleo vegetal para introdução no F AAS,
- ✓ Propor método analítico de calibração com padronização interna para determinação de Mg em emulsões e microemulsões de óleo vegetal, estabelecendo os principais parâmetros de confiabilidade analítica,
- ✓ Estabelecer procedimento de preparo de amostra utilizando o sistema de digestão ácida por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional (bloco digestor),
- ✓ Determinar os teores de Mg em amostras de óleo vegetal extraído das sementes oleaginosas girassol, canola, pinhão-manso e crambe pelos métodos propostos,
- ✓ Investigar o desempenho analítico dos procedimentos de preparo de amostra (emulsão, microemulsão e decomposição ácida) utilizados no preparo de amostra de óleo vegetal,
- ✓ Determinar os teores de Mg presentes nas sementes das espécies oleaginosas empregadas na extração dos óleos vegetais utilizando o método de digestão ácida.

3 REVISÃO DA LITERATURA

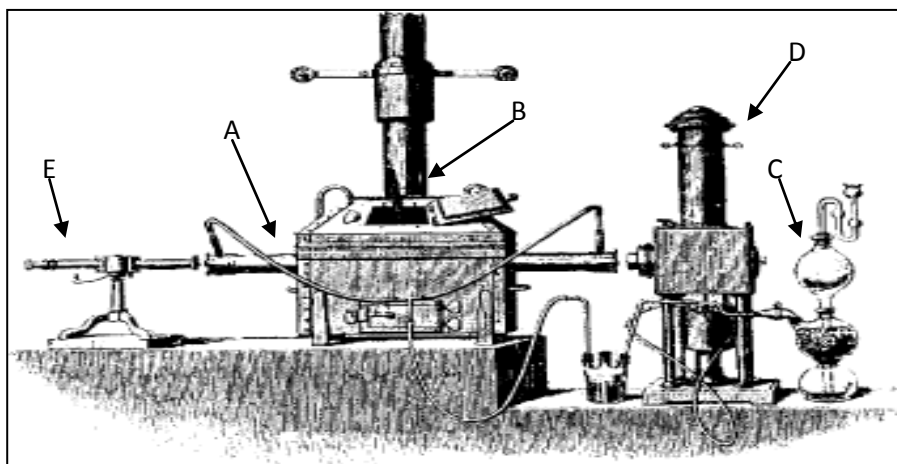
3.1 Espectrometria de Absorção Atômica: um breve histórico

Os primeiros relatos envolvendo a espectrometria (ou espectroscopia, como era mais conhecida) atômica devem-se a Isaac Newton quando, ao enviar uma carta em 1672 à *Royal Society*, descreveu pela primeira vez o fenômeno de decomposição da luz solar ao ser atravessada por um prisma [27]. Daí por diante, vários experimentos foram realizados com o espectro oriundo da decomposição da luz solar, como os que culminaram na descoberta da região do infravermelho por Willian Herschel em 1800 e a região do ultravioleta em 1801, por Johann W. Ritter e Willian H. Wollaston [28]. Em 1802, Wollaston observou linhas escuras no espectro contínuo da luz solar, as quais somente foram explicadas em 1820 por Brewster como sendo causadas por processos de auto-absorção de átomos frios gerados por nuvem presente na periferia solar [29].

Em 1859, o químico Robert W. Bunsen em parceria com o físico Gustav R. Kirchhoff criaram um espectroscópio que lhes permitiu observar as linhas de emissão de elementos químicos que eram excitados em uma chama não luminosa (queimador de Bunsen). Com o uso desse equipamento, descobriram dois novos elementos químicos, o célio e o rubídio [28].

Em 1860, Kirchhoff estabeleceu a relação entre emissão e absorção enunciando que, de maneira geral, os átomos no estado fundamental só poderiam absorver radiações de comprimento de onda produzidas por eles próprios [30]. Desde então, foram poucos os avanços envolvendo o princípio da absorção atômica proposto por Kirchhoff e Bunsen. Apenas em 1878, Lockyer desenvolveu um instrumento capaz de obter, além de espectros de absorção, espectros de emissão também [31] (Figura 1).

Figura 1. Instrumento utilizado por Lockyer: (A) atomizador, (B) tubo de ferro inserido em um forno alimentado por carvão, (C) dispositivo tipo Kipp utilizado para gerar hidreto, (D) lâmpada elétrica de fonte contínua e (E) espectrógrafo com prisma e dispositivo fotográfico.



Fonte: Welz *et al.*, 2003 [31]

Em 1900, Max Planck estabeleceu a lei quântica de absorção e emissão da radiação, de acordo com a qual um átomo pode somente absorver radiação de comprimento de onda bem definido [30]. Entretanto, somente em 1955 que, com base nas leis de Planck e Kirchhoff, o físico australiano Alan Walsh verificou que os átomos gerados em uma chama poderiam absorver a radiação proveniente de uma fonte de radiação primária e a quantificação dessa atenuação poderia ser utilizada para a determinação quantitativa dos mesmos [30]. Dessa forma, Walsh revolucionou os conceitos de determinação de espécies metálicas, propôs o conceito inicial da espectrometria de absorção atômica (AAS) e confeccionou o primeiro protótipo de um espectrômetro de absorção atômica [28]. O princípio fundamental da técnica desenvolvida por Walsh estava baseada na absorção de radiação de certo comprimento de onda por um elemento metálico no estado atômico. A absorção de parte da radiação causava a transição de elétrons, principalmente da camada de valência, para um nível de maior energia. Em condições ideais, a quantidade de radiação absorvida está diretamente relacionada com a concentração de átomos no estado fundamental [30].

Os primeiros espectrômetros de absorção atômica apresentavam uma chama como atomizador (F AAS – *flame atomic absorption spectrometry*) e uma lâmpada de cátodo oco como fonte de radiação específica para o elemento a ser determinado, permitindo que a AAS alcançasse excelentes limites de detecção, sensibilidade e seletividade, e ainda hoje é a fonte de radiação mais utilizada em absorção atômica. [30]. Em 1959, Boris L'vov propôs um espectrômetro de absorção atômica que utilizava um forno de grafite como atomizador

eletrotérmico (GF AAS - *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*), obtendo assim, uma redução bastante significativa dos limites de detecção [28].

Walsh havia proposto, inicialmente, a utilização de uma fonte contínua de radiação, porém ficou evidente a necessidade de monocromadores com alta resolução para isolar as linhas espectrais e garantir a relação entre absorção e concentração, o que na época não era possível. Para contornar esta dificuldade, Walsh propôs então o uso de lâmpadas de catodo oco (HCL – *hollow cathode lamps*) como fonte de emissão de linhas espectrais atômicas, cujas larguras são mais estreitas que as linhas de absorção e dispensam, portanto, o uso de monocromadores de alta resolução [28]. As lâmpadas de catodo oco possibilitaram o alcance de excelentes limites de detecção, alta sensibilidade e seletividade, tornando a AAS uma técnica conveniente e aceita para análises de rotina. Por ser uma técnica simples e de baixo custo de operação, vários laboratórios, especialmente os industriais, passaram a adquirir espectrômetros de absorção atômica [28].

Pouco tempo após a apresentação da técnica por Walsh, iniciaram-se as buscas por determinações multielementares utilizando a AAS [28]. As primeiras tentativas para construir um espectrômetro de absorção atômica multielementar foram realizadas com a utilização de um arranjo de lâmpadas de catodo oco ou de descarga sem eletrodo. No entanto, estes instrumentos foram caracterizados pela baixa sensibilidade, pobres razões sinal/ruído e restrições quanto aos elementos a serem determinados. Posteriormente foi descoberto que o sistema de divisão e combinação do feixe de radiação faz com que combinações de lâmpadas de catodo oco mono e multielementares sofram de perda da intensidade [28].

Na busca por soluções, os pesquisadores voltaram novamente sua atenção para as fontes de radiação contínua, mas seria necessário fazer adaptações em todo o equipamento, a fim de resolver problemas inerentes à utilização destas fontes de radiação, tais como a baixa sensibilidade e especificidade, curvas de calibração não lineares e suscetibilidade a interferências de radiação de fundo [28].

Neste contexto, em 1979 O'Haver, Harnly e colaboradores lançaram o primeiro instrumento multielementar simultâneo, após melhorias no arranjo instrumental com a introdução da modulação de comprimento de onda, da fonte contínua pulsada e do detector de malha linear de fotodiodos [32]. O sistema era compatível com atomizadores de chama ou eletrotérmicos e utilizava uma fonte contínua de arco de xenônio e um policromador Echelle, que possibilitava a análise de até 16 elementos simultaneamente, embora os limites de detecção tenham sido significativamente superiores àqueles obtidos com fonte de linhas [33]. A partir de 1990, a necessidade de modulação mecânica do comprimento de onda foi

eliminada com o emprego de detectores no estado sólido, o que possibilitou a leitura simultânea em diferentes comprimentos de onda [28].

Diversos esforços foram concentrados na busca pelo aprimoramento da capacidade de determinação multielementar e simultânea em AAS, tanto com atomização em chama como em forno de grafite. No entanto, os excelentes limites de detecção para a maioria dos elementos, possibilidade de análise direta, necessidade de pequenos volumes de amostra, alta frequência analítica, baixo custo operacional e a possibilidade do uso de padronização interna, fizeram com que a GF AAS fosse mais atraente para determinações multielementares do que os atomizadores de chama [28].

O surgimento da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS - *High-Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*) favoreceu o desenvolvimento das determinações multielementares, devido ao seu elevado poder de resolução, que possibilita distinguir linhas espectrais; correção da variação da intensidade da fonte, da absorção de fundo, das interferências devido à sobreposição de linhas e dos espectros estruturados; melhora na razão sinal/ruído devido à elevada intensidade da fonte de radiação, resultando em melhor precisão e limites de detecção, e possibilidade de determinação de novos elementos para os quais fontes de radiação ainda não estavam disponíveis [31]. Mas apesar do desenvolvimento e a aplicação dos sistemas de alta resolução com fonte contínua, as determinações multielementares simultâneas ainda sofrem limitações devido às diferenças quanto ao comportamento termoquímico de diversos elementos. Este fato torna as determinações multielementares sequenciais uma atraente alternativa para a AAS com a atomização em chama, uma vez que o comprimento de onda desejado é selecionado rapidamente pelo monocromador e a estequiometria da chama e a altura do queimador podem ser selecionadas de forma independente para cada elemento, permitindo um aumento significativo da frequência analítica [28].

Ao longo dos anos, outros avanços contribuíram para o desenvolvimento da AAS, a exemplo da câmara de pré-mistura acoplada aos queimadores dos espectrômetros de chama, da lâmpada de catodo oco de alta intensidade, da aplicação de novas fontes de radiação como as lâmpadas de descarga sem eletrodo (EDL - *electrodeless discharge lamps*), HCLs multielementares e o uso de laser de diodos [28]. No entanto, o desenvolvimento das técnicas de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) levou a especulações sobre o abandono da AAS como técnica analítica, especialmente devido ao fato de a ICP-OES

e a ICP-MS serem técnicas essencialmente multielementares, característica que, apesar de todos os esforços, ainda não é atribuída à espectrometria de absorção atômica [28]. Em trabalho publicado em 1999, Welz [34] contesta este posicionamento afirmando que, embora as técnicas de ICP apresentem determinadas vantagens em relação à AAS, “não existe uma única técnica analítica que possa resolver todos os problemas, e cada técnica apresenta o melhor desempenho somente em sua melhor faixa de trabalho”.

Sendo assim, características como simplicidade, baixo custo relativo de aquisição e operação, baixa possibilidade de interferências espectrais, aliadas aos recentes avanços como o emprego de técnicas de injeção em fluxo para introdução de amostras, possibilidade de separação e pré-concentração on-line, uso de sistemas alternativos de atomização, entre outros, reafirmam a AAS como uma bem estabelecida e importante técnica de determinação elementar de metais e alguns ametais [28].

3.2 Óleos Vegetais

Os óleos pertencem a uma classe de substâncias químicas hidrofóbicas constituídas por cadeias orgânicas com elevado número de átomos de carbono, os quais podem ou não estar ligados a grupos funcionais com heteroátomos, como alcoóis, fenóis, ácidos carboxílicos e outros [35]. São caracterizados pela presença de ácidos graxos ligados randomicamente à glicerina formando os chamados triacilgliceróis (ou triacilglicerídeos), substâncias responsáveis por mais de 90% da composição dos óleos vegetais [35].

Além dos derivados de ácidos graxos, podem estar presentes outras substâncias lipídicas como os esteróis, carotenos e ceras, e ainda substâncias não-lipídicas como glicosídeos, isoflavonas e complexos metálicos. Estas impurezas são responsáveis pelas propriedades organolépticas dos óleos, visto que os derivados de ácidos graxos não apresentam cor, cheiro ou sabor. No entanto, as propriedades físico-químicas dos óleos são resultado da interação de todos os seus constituintes [35].

Os óleos vegetais, juntamente com as gorduras, figuram entre os primeiros insumos naturais que o homem usou para fins não alimentares, tanto na forma natural como a partir de modificações químicas. Sua utilização na produção de tintas e sabões remonta ao início dos primeiros grupamentos humanos e desde a antiguidade até o século XIX foram empregados como fontes de combustíveis líquidos para uso em sistemas de iluminação, como as lamparinas, e lubrificantes para engrenagens mecânicas [35]. Atualmente, são utilizados nas

indústrias químicas como matéria-prima na fabricação dos mais variados tipos de produtos, embora a maior parte seja consumida na alimentação.

Uma vez inseridos na dieta/alimentação humana, os óleos desempenham importantes funções no organismo: fonte de energia, componentes estruturais celulares e reguladores biológicos, além da participação em reações metabólicas [5,6].

De acordo com a Portaria nº 795, de 15 de dezembro de 1993 do Ministério da Agricultura, do Abastecimento e Reforma Agrária [36], óleos vegetais podem ser obtidos por meio de prensagem mecânica e/ou extração por solvente dos grãos de oleaginosas. Em regras gerais, se o teor de óleo for inferior a 20-25%, como é o caso da soja, a extração deve ser feita diretamente por solvente, obtendo-se o farelo como subproduto. Os materiais com teor de óleo mais elevado (>25%) são preferencialmente submetidos à prensa mecânica, obtendo-se, além do óleo, tortas com 10-15% de óleo residual [37], as quais são posteriormente submetidas à extração por solvente enquanto o óleo extraído e filtrado segue para as etapas de purificação [35].

Nas extrações conduzidas com solvente orgânico, os componentes contidos em uma matriz sólida são extraídos em um solvente líquido e a miscela (óleo + solvente) obtida é removida do extrator e encaminhada para um evaporador para a remoção do solvente [35].

Embora o hexano seja o solvente orgânico preferido no processo de extração (maior seletividade, estreita faixa de ebulição e imiscibilidade com a água), a seleção do solvente deve ser feita de acordo com a legislação que governa o uso do extrato, se para fins alimentícios, farmacêuticos, cosméticos ou perfumaria, já que o solvente influencia na composição do extrato, na qualidade sensorial e no rendimento da extração [35].

A extração de óleos vegetais em sistema soxhlet com solvente orgânico apresenta diversas vantagens, dentre as quais destacam-se [38]: i) maior rendimento de óleo em relação a outros métodos; ii) a amostra está sempre em contato com o solvente, havendo sua constante renovação; iii) a temperatura do sistema é constante devido ao processo de evaporação do solvente, o que possibilita temperatura relativamente alta; iv) dispensa filtração da miscela após o término da extração, pois as sementes ficam envoltas em cartucho durante todo o procedimento e v) trata-se de uma metodologia simples que não requer treinamento especializado.

Em todo o planeta existem mais de 4000 espécies vegetais das quais óleos podem ser extraídos. Dentre as espécies mais comuns destacam-se a palma, soja, milho, algodão, girassol, canola, amendoim, oliva, coco e outras [39].

Os óleos de canola e girassol, 3º e 4º mais consumidos no mundo, respectivamente [2], são conhecidos por seus efeitos benéficos à saúde, uma vez que o uso controlado pode contribuir para a redução do LDL-colesterol e aumento do HDL-colesterol (previnindo contra doenças cardiovasculares), além de serem fontes de ômega-6 e vitamina E [1].

Oleos vegetais obtidos das sementes de crambe e pinhão-mansão não podem ser empregados na nutrição humana por conterem componentes tóxicos ao organismo [40], sendo utilizados para outras finalidades. O óleo de pinhão-mansão tem sua maior aplicação na fabricação de sabão, sendo ainda utilizado em indústrias de fiação de lã, tintas para canetas esferográficas, impressão e pintura, biocidas ou para envernizar e lustrear móveis. Devido à baixa viscosidade e elevada porcentagem de ácidos graxos, não pode ser utilizado como lubrificante, mas estudos demonstraram que este óleo pode ser utilizado como combustível nos motores Diesel sem qualquer tratamento prévio especial [41].

O óleo de crambe é considerado impróprio para o consumo humano devido ao seu alto teor de ácido erúico, um ácido graxo de cadeia longa que provoca lesões no coração quando presente no organismo [42]. Na indústria, este óleo é usado como matéria-prima na fabricação de borracha sintética, filmes plásticos, nylon, adesivos, antiestático, isolamento elétrico, além de ser empregado como lubrificante industrial e inibidor de corrosão [42].

Devido a atual necessidade de diversificação da matriz energética e a consequente inserção dos óleos vegetais como matéria-prima para a produção de biocombustíveis, pode-se observar um aumento expressivo na produção de óleo vegetal e a busca por fontes alternativas de matéria-prima nas últimas décadas [2]. Neste contexto, pinhão-mansão e crambe despertaram o interesse de produtores por serem fontes promissoras na produção de biocombustíveis por apresentarem elevado teor de óleo em suas sementes, são vegetais robustos que se adaptam a condições climáticas pouco favoráveis e são excelentes alternativas para a rotação de cultura e plantio de safrinha, uma vez que ainda não competem com as culturas principais e as alimentares [41–44].

3.3 Pré-tratamento de amostras

De maneira geral, para que o elemento de interesse seja determinado por técnicas espectrométricas, é bastante comum converter a amostra de interesse em uma forma compatível de aspiração/introdução de amostra com a técnica utilizada, e para que isso seja verdadeiro deve-se submeter à amostra a algum tipo de preparo que a converta em uma solução ‘verdadeira’ [45]. Ainda são poucos os instrumentos comerciais que dispensam ou

que requerem o mínimo de preparo de amostra, nos casos mais comuns podemos citar os procedimentos de *solid sampling* e *slurry sampling*.

O pré-tratamento da amostra é, provavelmente, a fase mais crítica de uma análise química, pois é nesta que acontece a maior parte dos erros aleatórios e em muitos casos é bastante morosa, de modo que todas as etapas devem ser conduzidas cuidadosamente [26]. É importante assegurar que o sinal analítico atribuído ao analito na etapa de medida seja proveniente somente da absorção atômica do elemento de interesse, e que este esteja livre de qualquer espécie interferente produzida durante as medidas ou até mesmo durante a manipulação da amostra. Sendo assim, a possibilidade de ocorrer, ou não, interferência por outra espécie química, depende não só da seletividade/especificidade da etapa de medida, mas também da eficiência do método de preparo da amostra [26].

O procedimento escolhido e empregado na etapa de preparo deve, preferencialmente, depender da natureza das amostras, do analito que se quer determinar e de sua concentração, do método de análise escolhido e da precisão e exatidão requeridas. De maneira geral, o procedimento deve apresentar simplicidade, rapidez, utilizar pequenos volumes de ácidos, permitir ser aplicado em um grande número de amostras e produzir resultados precisos e exatos [46].

No entanto, quando se trata de amostras com elevado teor de óleo, o desafio de torná-las adequadas à técnica analítica disponível é grande, devido a problemas como alto teor de matéria orgânica, características físicas da matriz como viscosidade e imiscibilidade em água e baixas concentrações dos analitos de interesse [4].

Diversos procedimentos vêm sendo estudados para simplificação de amostras oleosas, como a decomposição ácida, diluição direta com solventes orgânicos e a conversão da amostra em emulsão ou microemulsão.

3.3.1 Decomposição ácida

A decomposição ácida permite minimizar, ou até mesmo eliminar, problemas relacionados com matrizes complexas, pois consiste na destruição da matéria orgânica existente nas amostras em presença de um ácido mineral oxidante, mistura de ácidos oxidantes ou ainda mistura de um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio, sob aquecimento. Os ácidos mais utilizados são o HNO_3 , H_2SO_4 , HCl , e HClO , os quais podem oxidar completamente a maioria das amostras se o aquecimento for feito em temperaturas

adequadas durante o tempo necessário, possibilitando que os analitos estejam na solução ácida resultante na forma inorgânica mais simples e apropriada para a análise [26].

Este procedimento tem como grande vantagem a utilização de padrões inorgânicos aquosos na calibração, pois as características físicas das soluções resultantes são similares às soluções de referência [47]. No entanto, vários inconvenientes estão associados a este método de preparo de amostras, dos quais destacam-se a perda de componentes voláteis (por exemplo, Hg, haletos de As, Se, V e Pb), risco de contaminação (quando realizado em sistema aberto ou devido às impurezas dos reagentes), tempo elevado de execução, elevado consumo de reagentes, possibilidade de perda do analito pela formação de precipitados insolúveis no tratamento com alguns tipos de ácidos, efeitos de matriz devido a não decomposição total da matéria orgânica, além do fato de que a acidez elevada das soluções pode afetar os processos de nebulização da amostra [26,47].

Poucos trabalhos têm dedicado a utilização de procedimentos que empregam a digestão ácida com aquecimento em chapa ou bloco digestor no pré-tratamento de amostras de óleos vegetais. Entretanto, a decomposição ácida assistida por micro-ondas como uma alternativa efetiva aos procedimentos convencionais de decomposição tem sido bastante empregada [5,6,9,13,14,25], devido a vantagens como redução nos tempos de digestão e dos problemas associados a perdas do analito e contaminação da amostra, além de ser possível utilizar ácidos diluídos ou em quantidades reduzidas [46,48,49].

Llorent-Martínez *et al* [6] determinaram os teores de vários elementos traço (Ag, As, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Ti, Tl e V) em óleos comestíveis utilizando ICP-MS após digestão por micro-ondas, empregando apenas ácido nítrico. O método foi validado e obteve resultados satisfatórios quando foram utilizados material de referência e ensaios de adição e recuperação de analito.

Zeiner *et al* [13] descreveram a determinação de Ca, Fe, Mg, Na e Zn por ICP-OES e Al, Co, Cu, K, Mn e Ni por GF AAS em amostras de óleo de oliva digeridas em micro-ondas empregando a mistura de HNO₃ e H₂O₂.

Em estudos realizados por Pereira *et al* [50], os teores de Ag, As, Ba, Bi, Ca, Cd, Cr, Fe, K, Mg, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, V e Zn foram determinados pela técnica de ICP-MS, em amostras de óleo cru utilizando micro-ondas para a mineralização das amostras. Os autores observaram que 6,0 mL de ácido nítrico concentrado e 2,0 mL de H₂O₂ 30% (v/v), adicionados a 250,0 mg de amostra foram suficientes para obtenção de soluções verdadeiras. O método apresentou valores de RSD inferiores a 5% e os resultados foram concordantes com material de referência certificado.

Os custos elevados e o número limitado de amostras (apenas uma matriz por vez) que podem ser digeridas simultaneamente constituem as principais desvantagens do método de decomposição assistida por micro-ondas, além dos riscos de explosão devido aos rápidos ciclos de aquecimento e pressurização decorrente da formação de produtos gasosos, especialmente na presença de material orgânico [26].

3.3.2 Diluição direta com solventes orgânicos

A diluição com solventes orgânicos é um procedimento rápido de preparo de amostra e particularmente atrativo, pois consiste na simples diluição da amostra em um solvente orgânico apropriado [50]. Xileno, isobutilmetilcetona, dimetilbenzeno, querosene, pentano, hexano, heptano, tolueno etc., são exemplos de alguns solventes utilizados [51].

A diluição com xileno é recomendada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) para determinação de Na, K, Mg e Ca em amostras de biodiesel empregando as técnicas instrumentais F AAS e ICP OES, (normas NBR 15553, NBR 15554, NBR 15555) [52], seguindo a mesma tendência das normas europeias e americanas [53].

Apesar da simplicidade, muitos inconvenientes estão relacionados com a aplicação deste método de preparo [54–56]: i) a maioria dos solventes utilizados são tóxicos e carcinogênicos; ii) os solventes orgânicos podem produzir chamas muito ricas em combustível e instáveis para F AAS; iii) necessidade do uso de padrões orgânicos, que apresentam custo elevado em relação aos padrões inorgânicos; iv) baixa estabilidade do analito nos padrões orgânicos diluídos para calibração; v) a concentração do analito pode mudar rapidamente após a diluição devido à adsorção nas paredes do recipiente ou ainda devido à evaporação do solvente; vi) a gestão de alguns solventes orgânicos com equipamentos convencionais de laboratório é difícil devido à sua elevada pressão de vapor e/ou baixa viscosidade e vii) a diluição em solventes orgânicos implica na diluição do próprio analito exigindo técnicas com elevada sensibilidade.

Barros *et al* [56] propuseram a determinação de Na e K em amostras de biodiesel diluídas em etanol por F AES. Para o ajuste da viscosidade dos padrões de calibração foi utilizado biodiesel lavado livre dos analitos de interesse. Chaves *et al* [57] também utilizaram a diluição em etanol de amostras de biodiesel e óleos vegetais para determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, S, P e Zn por ICP OES, com padrões inorgânicos de calibração diluídos em etanol, assim como as amostras.

O uso de etanol como uma alternativa aos solventes comumente utilizados possibilita a redução de alguns inconvenientes deste método de preparo por ser um solvente de baixo custo e baixa toxicidade, de fácil aquisição, além de possibilitar a utilização de padrões inorgânicos, conforme realizado nos trabalhos acima citados.

3.3.3 Emulsões e Microemulsões

De acordo com Burguera & Burguera [58], emulsões são sistemas coloidais, heterogêneos e cineticamente estáveis, formados por dois líquidos imiscíveis, como água e óleo, em que um está disperso e o outro é a fase contínua, com tamanhos de partículas que variam de 0,5-50 μm . O tipo de emulsão formado depende da proporção entre os líquidos constituintes, podendo ser do tipo óleo em água (O/W), se as gotículas de óleo estão dispersas em água, ou água em óleo (W/O) se as gotículas de água estão dispersas em óleo. As emulsões necessitam de agitação mecânica para sua formação e resultam em sistemas instáveis e de aspecto turvo com tendência à separação de seus dois componentes após alguns minutos.

A formação das emulsões é facilitada pela adição de um agente tensoativo (surfactante), que diminui a tensão superficial da água e melhora a interação entre os líquidos imiscíveis [59]. Esses surfactantes correspondem a grupos de substâncias cujas moléculas são anfifílicas, ou seja, sua estrutura possui uma parte hidrofílica (solúvel em água) e outra parte lipofílica (solúvel em lipídeos) e, de acordo com sua estrutura, podem ser classificados em não iônicos (Triton X-100, Triton X-114, tween 80[®], tween 60[®]), catiônicos [brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB), cloreto de cetilpiridínio (CICP)], aniônicos [dodecil sulfato de sódio (SDS), dodecil benzeno sulfonato de sódio (DDBS)] ou anfóteros (N-alquil e C-alquil betaína e sultaína, álcool amino fosfatidil) [59,60].

As microemulsões se formam a partir de uma aparente solubilização espontânea de dois líquidos imiscíveis (água, óleo), ou parcialmente imiscíveis, na presença de um surfactante e, se necessário, um co-surfactante, (normalmente um álcool de cadeia curta) [58]. A adição de um co-surfactante a estes sistemas tem como função neutralizar o efeito repulsivo entre as cabeças polares do surfactante permitindo a formação de uma membrana entre a micela e a fase contínua da emulsão, o que impede a elevação significativa da viscosidade do sistema [6]. Adicionalmente, a presença de um álcool pode influenciar a solubilidade das fases aquosa e oleosa, devido à partição entre ambas as fases [61].

As microemulsões são caracteristicamente sistemas dispersos (microgotículas dispersas), monofásicos, termodinamicamente estáveis, transparentes ou translúcidos, com baixíssima tensão interfacial e com capacidade de combinar grandes quantidades de dois líquidos imiscíveis em uma única fase homogênea [58,61]. As principais diferenças entre emulsões e microemulsões estão destacadas na Tabela 1.

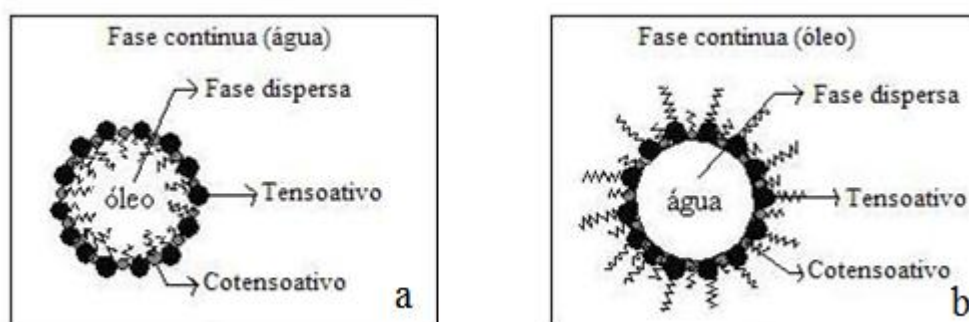
Tabela 1. Principais diferenças observadas entre emulsões e microemulsões.

Parâmetros	Emulsões	Microemulsões
Formação	Agitação mecânica ou manual	Espontânea
Estabilidade	Cinética	Termodinâmica
Tamanho das gotículas (μm)	0,5 – 50	0,01 – 0,10
Aparência	Opaca/turva	Transparente
Área superficial ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	Baixa	Alta
Tensão interfacial	Baixa	Ultrabaixa

Fonte: Burguera & Burguera, 2012 [57]

Assim como as emulsões, as microemulsões também podem ser do tipo O/W, quando o sistema é rico em água e as microgotículas são ditas diretas (Figura 2a), ou W/O, onde o sistema é rico em óleo e as microgotículas são ditas inversas (Figura 2b). Em ambos os casos, a cabeça polar das moléculas do tensoativo fica voltada para a fase aquosa, e sua cauda apolar para a fase óleo [58,62].

Figura 2. Estrutura de uma microgotícula de microemulsão em O/W (a) e W/O (b).



Fonte: Rossi *et al.*, 2007 [61]

Desde as primeiras pesquisas realizadas na década de 1940, as emulsões e microemulsões já receberam inúmeras aplicações, tais como [58]: indústria de cosméticos, para aumentar a qualidade dos produtos; indústrias de produtos farmacêuticos para tornar o sabor dos medicamentos mais atraente ou com propriedades antibacterianas; indústria de agroquímicos e de alimentos, através da incorporação de novos ingredientes; extração de petróleo, baseada na baixa tensão interfacial e boa propriedade emoliente das microemulsões; extração de metais nobres de minérios com baixo conteúdo de metais; pesquisa de poluentes ambientais em amostras de solo e efluentes dissolvidos na microemulsão. Em Química Analítica, a emulsificação de amostras constitui uma atraente alternativa aos métodos convencionais empregados na modificação de matrizes complexas, devido a uma série de vantagens como [23,63]: i) não requer a destruição da matéria orgânica; ii) necessita de um mínimo de manipulação da amostra, reduzindo os riscos de contaminação; iii) não ocorrem perdas do analito por volatilização; iv) requer baixo ou nenhum consumo de ácidos; v) é rápida, quando comparada com os métodos de decomposição de amostras; vi) não utiliza solventes com alto teor de toxicidade e vii) possibilita o uso de padrões aquosos.

Huang e Jiang [20] prepararam emulsões contendo 10% (v/v) de amostra, 2,0% (v/v) de Triton X-100, 2,0% (v/v) H_2O_2 e 0,4% (v/v) de HNO_3 em meio aquoso para a determinação de Zn, Cd e Pb em amostras de óleo vegetal empregando ICP-MS com vaporização eletrotérmica. As emulsões foram sonicadas em banho ultrassônico por 5 minutos e agitadas em vortex e, de acordo com os autores, se mantiveram estáveis por 20 minutos sem que houvesse a separação das fases. Os autores testaram dois métodos de calibração, a adição de padrão e a diluição isotópica, e os resultados obtidos foram concordantes e mostraram que ambos podem ser empregados com sucesso na calibração e determinação dos elementos de interesse. Os valores de RSD foram inferiores a 10% para todas as amostras.

Em estudos realizados por Castillo *et al* [64], os surfactantes Triton X-100, Span 20 e Tween 20 foram testados para o preparo de emulsões de óleo vegetal. Segundo os autores, emulsões mais estáveis foram obtidas quando 2,0 g de óleo foram adicionados a 1,5 mL de Triton X-100 e o volume da solução completado com água deionizada. Em seguida, as amostras foram agitadas mecanicamente por 5 minutos e em banho ultrassônico por mais 5 minutos. Foram determinados os elementos Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Tl, Pb, U, V e Zn por ICP-MS utilizando o In como padrão interno na calibração.

Um procedimento de determinação de Cu, Fe, Ni e Zn em microemulsões de óleos vegetais por espectrometria de absorção atômica com fonte contínua de alta resolução (HR-CS FAAS) foi proposto por Nunes *et al* [4]. As microemulsões foram preparadas a partir de

0,5 g de óleo vegetal adicionado a 100 μ L de HCl e avolumado com n-propanol sob agitação contínua. Segundo os autores, as soluções resultantes apresentaram aspecto homogêneo e foram estáveis por algumas horas. A viabilidade do uso de padrões aquosos foi avaliada por comparação com o método de adição de padrão utilizando padrões organometálicos. As curvas obtidas apresentaram valores de coeficiente angular bastante semelhantes, o que permitiu o uso de padrões aquosos na calibração. Os valores de RSD foram inferiores a 9,0% e os percentuais de recuperação variaram de 89 – 102%, mostrando que o método proposto apresentou precisão e exatidão satisfatórios.

Nas Tabelas 2 e 3 estão apresentados alguns trabalhos em que a formação de microemulsões e emulsões foi aplicada no preparo de amostras para determinação de metais por meio de técnicas espectrométricas.

Tabela 2. Exemplos da aplicação de microemulsões no preparo de amostras para determinação de metais por diferentes técnicas espectrométricas.

Amostra	Reagentes	Técnica	Analitos	Ref.
Óleo cru	HNO ₃ ; n-propanol; água	ICP-OES	Mo, Zn, Cd, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr e Co	[65]
Óleo vegetal	HCl; n-propanol	F AAS	Cu, Fe, Ni e Zn.	[4]
Biodiesel	HNO ₃ ; n-propanol	F AAS	Na, K, Ca e Mg	[66]
	HCl; n-propanol	F AAS	Na e K	[67]
	n-pentanol; Triton X- 100; HNO ₃ ; água	F AAS	Na e K	[54]
	Triton X-100; HNO ₃ ; n-propanol	F AAS	Ca, Mg e Zn	[63]
	Triton X-100; HNO ₃	ET AAS	Ni e Cd	[45]
	Triton X-100; HNO ₃ ; n-propanol	ICP-MS	Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn	[68]

Tabela 3. Exemplos da aplicação de emulsões no preparo de amostras para determinação de metais por diferentes técnicas espectrométricas.

Amostra	Reagentes	Técnica	Analitos	Ref.
Óleo Lubrificante	Etoxinonilfenol; água	F AAS	Al, Cr, Cu, Pb, Mg, Ni e Si	[69]
	HCl/HNO ₃ ; MIBK, Nemol K-39; água	F AAS	Mo	[70]
	HF/HNO ₃ ; MIBK; Nemol K-39; água	F AAS	Fe	[71]
Óleo Cru	LASA; etanol; HNO ₃ ; HCl	F AAS	V, Ni, Fe, Mg e Na	[72]
Gasolina	Propan-2-ol; água	F AAS	Pb	[73]
	HNO ₃ ; Triton X-100; água	ICP-MS ET AAS	Cd, Cu, Fe, Pb e Tl	[74]
	HNO ₃ ; Triton X-100; água	ICP-MS	Cu, Mn, Ni e Sn	[75]
Biodiesel	HNO ₃ ; Triton X-100; água; isopropanol	ET AAS	Cd e Hg	[76]
Óleo vegetal, Margarina e Manteiga	Triton X-100 ou Tween 80; água	F AAS ET AAS	Na, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Cr, Ni, As, Pb, Cd, Cu e Mn	[23]
Óleo Vegetal	Triton X-100; água	ICP-MS F AAS	Al, Ba, Bi, Ca, Mg, Mn, Na, Pb, Sn	[24]
	Triton X-100; ácido ascórbico, Y-30; água	ICP-MS	Cu, As, Hg e Pb	[18]
	Triton X-100; HCl; água	ICP-MS	As, Cd e Hg	[17]
	Triton X-100; H ₂ O ₂ ; HNO ₃ ; água	ICP-MS	Zn, Cd e Pb	[20]
	Triton X-100; água	ICP-MS	Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Tl, Pb, U, V e Zn	[64]
	Triton X-100; água	ICP-OES	Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu Fe, Ga, In, Mg, Mn, Ni, Pb, Tl e Zn	[16]
	Tween 80; água	ICP-OES	Cu, Fe e Ni	[77]

3.4 Padronização interna

Embora a espectrometria de absorção atômica seja uma técnica analítica bem estabelecida e suficientemente robusta, está sujeita a erros sistemáticos e aleatórios que podem prejudicar a exatidão e a precisão de resultados, bem como o método de determinação utilizado [78]. Propriedades como viscosidade, composição e tensão superficial podem afetar as taxas de aspiração e nebulização das soluções amostra e influenciar diretamente os processos de transformação do analito e a população de átomos na chama [46]. Adicionalmente, variações instrumentais, ou seja, aquelas ocorridas no equipamento durante o procedimento de medida, como variações na composição, temperatura e geometria da chama, também podem comprometer a qualidade dos resultados analíticos [46,78]. Com a finalidade de compensar esses erros em espectrometria atômica, Gerlach e Schweitzer propuseram, em 1929, o método da padronização interna, que vem sendo utilizado desde então para minimizar os erros aleatórios e sistemáticos provocados durante o processo de medida [78].

Em 1965, Massman descreveu o uso de padrão interno para reduzir as variações decorrentes da introdução da amostra utilizando um espectrômetro multicanal confeccionado em laboratório. A dispersão entre os resultados foi ligeiramente reduzida para certas combinações de elementos e aumentada para outras [79].

Feldman *et al* [80], em 1969, compararam a determinação direta com a padronização interna para a determinação de Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Si e Zn em amostras de cimentos, ligas metálicas e rações animais por F AAS. Em outro trabalho desenvolvido por Feldman em 1970 [81], foi descrita a utilização de técnicas de padronização interna para compensar erros associados à chama e aos processos de nebulização. A eficiência de alguns elementos como padrões internos na determinação individual de vários metais foi avaliada por meio da variação de parâmetros como estequiometria da chama, taxa de aspiração e viscosidade das soluções. De acordo com o autor, a precisão nas medidas foi pelo menos duas vezes maior com a utilização da padronização interna.

Em estudo publicado em 1981, Takada e Nakano [82] afirmaram que a necessidade de detecção simultânea de dois sinais representava uma limitação na aplicação da padronização interna, já que, na época, a maioria dos instrumentos possuía monocromadores de canal único. A fim de sanar esta dificuldade, os autores desenvolveram em laboratório um sistema de monocromador multicanal, a partir do qual puderam estabelecer alguns critérios de seleção e considerações experimentais para a seleção de um padrão interno em espectrometria de absorção atômica com chama, avaliando determinados parâmetros experimentais, com ênfase

nas mudanças de condições de atomização e fatores que podem afetar uma atomização eficiente. Anteriormente, Takada e Nakano [83] já haviam desenvolvido um monocromador multicanal a fim de avaliar o uso da padronização interna em espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica para determinar ferro, usando cobalto como padrão interno.

Em 1999, Radziuk *et al* [79] utilizaram um espectrômetro de absorção atômica multielementar simultâneo equipado com um atomizador de grafite com aquecimento transversal e um sistema de correção de fundo por efeito Zeeman longitudinal para avaliar o uso de Tl e Bi como padrões internos na determinação de Pb em amostras de sangue, urina e placenta. De acordo com os autores, bismuto apresentou comportamento eletrotérmico semelhante ao do Pb e foi usado para compensar alterações nos sinais atômicos de Pb, melhorando assim o desempenho analítico.

Além da exigência de técnica que possibilite determinações multielementares, outro ponto crítico da padronização interna é a escolha do elemento a ser utilizado como padrão interno, que deverá atender aos seguintes pré-requisitos [84]: i) apresentar características similares às do analito, mas ser determinado separadamente; ii) estar ausente na amostra ou em concentrações abaixo do limite de detecção da técnica a ser utilizada; iii) ser solúvel nas soluções analíticas e amostras.

No método de padronização interna, o padrão interno deve ser adicionado aos brancos, às soluções de referência e às amostras em quantidades fixas e conhecidas. No entanto, se o provável padrão interno já contiver originalmente na amostra de interesse, deve ser adicionado em quantidades elevadas de modo a anular o efeito da concentração original [84,85]. Os cálculos devem ser efetuados baseados na suposição de que tanto o analito como o padrão interno sofrem influências similares de matriz e também que ambos são perturbados igualmente pelas alterações nas condições instrumentais ou operacionais [83]. Portanto, para se obter o sinal analítico do elemento de interesse é necessário determinar a razão do sinal de absorção do analito pelo sinal de absorção do padrão interno, tanto para as curvas de calibração quanto para as amostras. Dessa forma, é possível compensar qualquer perturbação nos sinais, melhorando a precisão e exatidão das medidas [84].

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Instrumentação e Acessórios

O espectrômetro de absorção atômica em chama AA 240FS (*Agilent Technologies*[®], EUA) equipado com lâmpada de cátodo oco (Figura 3) foi utilizado em todas as medidas experimentais. As condições instrumentais utilizadas para a determinação de Mg foram as que forneceram melhor sinal atômico e estão representadas na Tabela 4.

Figura 3. Foto ilustrativa do espectrômetro de absorção atômica em chama AA 240FS.



Fonte: próprio autor.

Tabela 4. Parâmetros instrumentais utilizados na determinação de Mg em óleo vegetal bruto por espectrometria atômica.

Parâmetros Instrumentais	Mg	Cd	Co	Cu
Linha atômica (nm)	285,2	228,8	240,7	324,7
Corrente da lâmpada (mA)	6	4	7	4
Fenda de saída (nm)	0,5	0,5	0,2	0,5
Composição da chama	ar/acetileno			
Vazão de acetileno (L min ⁻¹)	2,0			
Vazão de oxidante (L min ⁻¹)	13,5			
Queimador (mm)	100			

Na etapa de preparo prévio das amostras, as sementes oleaginosas foram secas em estufa Orion 515 (Fanem[®], Brasil), processadas em moinho multiuso TE-631 (Tecnal[®], Brasil) e pesadas em balança analítica FA2104N (Bioprecisa[®], Brasil). A extração do óleo vegetal foi conduzida em sistema soxhlet e o solvente evaporado em evaporador rotativo 553 (Fisatom[®], Brasil) sob pressão reduzida. Banho de ultrassom USC-14004 (Unique[®], Brasil) operando em frequência de 40 khz e agitador tipo *vortex* QL-901 (Biomixer[®], Brasil) foram utilizados no preparo das emulsões. Para os procedimentos de digestão ácida por via úmida em sistema aberto foi utilizado o bloco digestor TE-007MP (Tecnal[®], Brasil) contendo tubos de 100 mL.

Micropipetas Eppendorf[®] (10 - 100 μ L e 100 - 1000 μ L) foram outros materiais volumétricos utilizados no preparo das soluções.

4.2 Reagentes e soluções analíticas

Água ultrapura (resistividade 18,2 $M\Omega\text{ cm}^{-1}$) obtida a partir de um deionizador Millipore Milli-Q Academic (Beadford[®], EUA) foi utilizada para o preparo de todas as soluções de trabalho. A extração dos óleos vegetais foi realizada em hexano [Dinâmica[®], Brasil]. Para os procedimentos de preparo de amostra baseado na decomposição ácida em bloco digestor foram utilizados HCl [37% (m/v), Vetec[®], Brasil], HNO₃ [65% (m/v), Sigma-Aldrich[®], Brasil], H₂SO₄ [98% (m/v), Vetec[®], Brasil], H₂O₂ [30% (m/v), Dinâmica[®], Brasil]. Para os procedimentos de emulsão e microemulsão os solventes orgânicos etanol [96% (v/v), Dinâmica[®], Brasil], n-butanol. [99,5% (v/v), Proquímios[®], Brasil] e isopropanol [99,5% (v/v) Vetec[®], Brasil] foram utilizados. Para o auxílio no preparo das emulsões e microemulsões, foram adicionados Triton X-100 [Dinâmica[®], Brasil] ou Triton X-114 [Sigma-Aldrich[®], Brasil].

Solução estoque contendo 5,0% (m/v) de lantânio foi preparada pela dissolução de aproximadamente 29,6 g de La₂O₃ [99,9% (m/m), Vetec[®], Brasil] em 60 mL de HCl concentrado completando o volume para 500,0 mL com água deionizada.

Soluções intermediárias de Mg (10, 25 e 250 mg L^{-1}), Cd (100 mg L^{-1}), Co (250 mg L^{-1}) e Cu (25 mg L^{-1}) foram preparadas por diluição apropriada de soluções estoques monoelementares contendo 1000 mg L^{-1} (SpecSol[®], SRM-682), armazenadas em frascos de polipropileno (Nalgene[®], EUA) de alta densidade e mantidas sob refrigeração.

As soluções analíticas de calibração foram preparadas a cada rotina de trabalho por

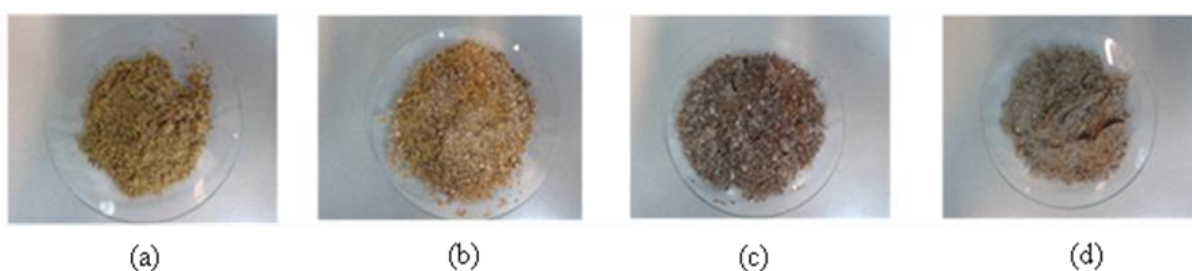
meio de diluição apropriada das soluções intermediárias de Mg no intervalo de 0,01 – 1,00 mg L⁻¹ em meio de 1,0% (v/v) de HNO₃ contendo 2,5 mg L⁻¹ de Cd e 5,0 mg L⁻¹ de Co e Cu (padrões internos) para determinação de Mg nas emulsões e microemulsões e de 0,01 – 1,00 mg L⁻¹ Mg em meio de 1,0% (v/v) de HNO₃ e 1,0% (m/v) de La para a determinação de Mg nos digeridos de óleo vegetal.

Todos os materiais utilizados foram descontaminados por imersão em solução 10% (v/v) HNO₃ por 24 horas e enxaguados com água destilada e deionizada.

4.3. Amostragem e pré-tratamento das amostras

As sementes das espécies oleaginosas girassol (*Helianthus annuus*), canola (*Brassica napus* L.), pinhão-manso (*Jatropha curcas*) e crambe (*Crambe Hochst abyssinica*) foram fornecidas pela Embrapa Agropecuária Oeste – Dourados/MS. As amostras foram lavadas abundantemente em água corrente para remoção de impurezas, submetidas à secagem em estufa a 70 °C por 36 horas, processadas em moinho multiuso e novamente secas em estufa por um período de 24 horas à 70 °C. Toda a quantidade processada foi devidamente armazenada em sacos plásticos identificados. A Figura 4 ilustra o aspecto físico das amostras após processo de secagem e moagem dos grãos.

Figura 4. Foto ilustrativa das sementes oleaginosas após moagem em moinho multiuso: **a)** canola; **b)** crambe; **c)** pinhão-manso; **d)** girassol.



Fonte: próprio autor

Para a extração dos óleos vegetais das sementes foram utilizadas massas de aproximadamente 200,0 g de sementes. Esta quantidade foi acondicionada em “copos” confeccionados com papel de filtro ($\varnothing = 150$ mm e 80 g m²) e introduzidas dentro do sistema soxhlet. A amostra foi mantida sob refluxo em 600 mL de hexano a 70 °C por 5 horas (Figura 5). Em seguida o balão contendo óleo vegetal + solvente foi conduzido ao evaporador rotativo para recuperação do hexano utilizado. O óleo vegetal extraído foi transferido para frascos de

polietileno com tampa e armazenado sob refrigeração.

Figura 5. Foto ilustrativa de sistema tipo soxhlet para extração de óleos vegetais.



Fonte: próprio autor.

4.4. Procedimentos de preparo de amostras de óleos vegetais

4.4.1. Emulsões

Para o preparo das emulsões, massas de 0,1000 g ($\pm 0,0001$ g) de óleo vegetal foram transferidas para frascos de polipropileno de 50 mL e tratadas com 200 μL de HNO_3 concentrado por 5 minutos, de modo a promover a conversão das espécies organometálicas em inorgânicas e o aumento da estabilidade do analito e dissolução das partículas em suspensão. Em seguida foram adicionados os padrões internos nos volumes de 50 μL , 100 μL e 100 μL de soluções padrão de 1000 mg L^{-1} Cd, Co e Cu, respectivamente, e mais 4,0 mL de água deionizada e 200 μL de Triton X-100. As misturas resultantes foram submetidas ao banho ultrassônico por 10 minutos, avolumadas para 20 mL com etanol e novamente submetidas ao banho ultrassônico por 10 minutos, seguido de agitação em sistema *vortex* por 60 segundos. Este procedimento possibilita a obtenção de emulsões homogêneas de aspecto levemente turvo e estáveis por vários minutos, ou seja, a homogeneidade da emulsão permaneceu estável durante todo o procedimento de leitura. Entretanto, em casos de perda de

homogeneidade, esta foi facilmente recuperada por meio de agitação vigorosa. Todas as emulsões (amostra e branco de amostra) foram preparadas em triplicata.

4.4.2. Microemulsões

Para a obtenção das microemulsões, alíquotas de 0,1000 g ($\pm 0,0001$ g) de óleo vegetal foram transferidas para frascos de polipropileno de 50 mL e tratadas com 200 μL de HNO_3 concentrado por 5 minutos. Em seguida foram adicionados os volumes de 50 μL , 100 μL e 100 μL de soluções padrão aquosas de 1000 $\text{mg L}^{-1}\text{Cd}$, Co e Cu , respectivamente; 1,75 mL de água deionizada e 200 μL de Triton X-100. O volume foi completado para 20 mL com n-butanol e as misturas resultantes agitadas manualmente por alguns segundos até obtenção de microemulsões estáveis e de aspecto cristalino. No entanto, para garantir a homogeneidade e estabilidade das soluções, é necessário que a fase aquosa não seja superior a 12% do volume total da microemulsão, uma vez que, ultrapassando este percentual, observa-se imediata separação de fases. Todas as microemulsões (amostra e branco de amostra) foram preparadas em triplicata.

4.4.3 Decomposição ácida em sistema aberto

Devido à indisponibilidade de material de referência certificado para óleos vegetais, as amostras também foram preparadas por meio da decomposição ácida em sistema aberto com aquecimento convencional (bloco digestor) como forma de obter um procedimento comparativo aos métodos propostos neste estudo. Para estabelecer o procedimento mais adequado, foram avaliados 8 procedimentos de digestão ácida utilizando a amostra de girassol. Estes procedimentos foram realizados em triplicata e estão descritos abaixo:

Procedimento 1: em 0,1000 g ($\pm 0,0001$ g) de amostra foram adicionados 6,0 mL de solução $\text{HNO}_3\text{:HCl}$ [1:3 (v/v)], e em seguida as misturas resultantes foram submetidas a aquecimento lento até 180 °C. Em 30 e 120 min de aquecimento à 180 °C foram adicionados mais 2,0 mL de $\text{HNO}_3\text{:HCl}$ [1:3 (v/v)]. As amostras permaneceram sob aquecimento por um tempo total de 300 minutos.

Procedimento 2: em 0,1000 g ($\pm 0,0001$ g) de amostras foram adicionados 6,0 mL de solução $\text{HNO}_3\text{:HCl}$ [3:1 (v/v)] e as misturas resultantes foram submetidas a aquecimento lento até que

a temperatura de 180 °C fosse atingida. Em seguida, adições sucessivas de reagentes foram feitas conforme expresso na Tabela 5. O tempo total do procedimento foi de 540 minutos.

Tabela 5. Detalhamento da natureza e da quantidade de reagente adicionado para mineralização de 0,1000 g de amostra de óleo de girassol empregando o Procedimento 2 de decomposição ácida.

Reagente	Volume adicionado (mL)	Tempo de aquecimento a 180 °C (min)
HNO ₃ :HCl [3:1 (v/v)]	2,0	90 min
H ₂ O ₂	3,0	45 min
H ₂ SO ₄	3,0	Até completa carbonização
HNO ₃	5,0	60 min
H ₂ O ₂	3,0	15 min

Procedimento 3: em 0,1000 g (\pm 0,0001 g) de amostra foram adicionados 5,0 mL de HNO₃, e a mistura amostra + reagente foi mantida em repouso por 12 horas (*overnight*) para pré-digestão. Em seguida as amostras foram submetidas a aquecimento a 50 °C por 30 minutos. Foram adicionados mais 3,0 mL de HNO₃ e a temperatura foi elevada lentamente a 180 °C. Duas adições sucessivas de 2,0 mL de H₂O₂ em intervalo de 30 minutos foram feitas em 150 °C e depois repetidas quando a temperatura de 180 °C foi atingida. A temperatura da reação foi mantida em 180 °C até completar 480 minutos de digestão.

Procedimento 4: em 0,1000 g (\pm 0,0001 g) de amostras foram adicionados 1,5 mL de HNO₃, e a mistura amostra + reagente foi mantida em repouso por 12 horas para pré-digestão. Decorrido este tempo, 4,5 mL de HCl foram adicionados e as amostras submetidas a aquecimento lento até 150 °C. Em seguida foram adicionados 2,0 mL de H₂O₂ e as amostras foram mantidas em aquecimento por mais uma hora. O tempo total de aquecimento foi de 360 minutos.

Procedimento 5: em 0,1000 g (\pm 0,0001 g) de amostras foram adicionados 4,5 mL de HNO₃ mantendo em repouso por 12 horas. Decorrido este tempo, 1,5 mL de HCl foi adicionado e as amostras submetidas a aquecimento lento até 200 °C com adições de 2,0 mL de H₂O₂ em 150 °C e 0,5 mL de HNO₃ em 170 °C. O tempo total de aquecimento foi de 575 minutos.

Procedimento 6: em 0,1000 g ($\pm 0,0001$ g) de amostras foram adicionados 5,0 mL de HNO_3 e mantendo em repouso por 12 horas. Em seguida, as amostras foram submetidas a aquecimento lento até 150 °C com três adições de 2,0 mL de H_2O_2 em intervalos de 30 minutos. Após 90 minutos à 150 °C a temperatura da reação foi elevada a 170 °C onde permaneceu por mais 20 minutos. O tempo total de aquecimento foi de 515 minutos.

Procedimento 7: em 0,1000 g ($\pm 0,0001$ g) de amostras foram adicionados 2,0 mL de HNO_3 e 2,0 mL de H_2SO_4 . A mistura resultante (amostra + reagente) foi submetida a aquecimento até 200 °C, e ao atingir esta temperatura foram feitas 3 adições de 0,5 mL de HNO_3 em intervalos de 30 minutos. Tempo de duração do procedimento foi de 180 minutos.

Procedimento 8: em 0,1000 g ($\pm 0,0001$ g) de amostras foram adicionados 2,5 mL de HNO_3 e 1,5 mL de H_2SO_4 , e as misturas resultantes foram submetidas a aquecimento a 200 °C até completa carbonização. Uma adição de 2,0 mL de H_2O_2 foi feita para dissolução da massa carbonizada e a reação foi mantida sob aquecimento a 200 °C até a obtenção de soluções límpidas e incolores. A duração do procedimento foi de 120 min.

Os brancos de amostra foram preparados pela adição dos reagentes nos tubos de reação e então submetidos aos mesmos procedimentos descritos em cada procedimento avaliado. As soluções (amostras e brancos de amostra) resultantes dos procedimentos de digestão foram transferidas para frascos de polipropileno em meio de 1,0% (m/v) de La e os volumes completados para 20,0 mL com água deionizada.

4.5 Procedimento de preparo de amostras de sementes oleaginosas

Os teores de Mg presentes nas sementes oleaginosas empregadas na obtenção dos óleos vegetais neste estudo foram determinados por procedimento de decomposição proposto em literatura [86], no qual 0,2000 g de sementes foram misturadas a 4,5 mL de HCl e 1,5 mL de HNO_3 e mantidas em *overnight* por 12 horas. A decomposição das amostras foi realizada em bloco digestor com aquecimento lento até 180 °C e adições de alíquotas de 1,0 mL de HNO_3 em 130, 150, 165 e 180 °C, até o clareamento das soluções.

4.6 Método de determinação de Mg em óleo vegetal utilizando a padronização interna e procedimentos de preparo de amostra por emulsão e microemulsão

4.6.1 Intervalo linear de trabalho

O estabelecimento do intervalo linear de trabalho e a escolha da linha atômica mais adequada para a determinação de Mg foram feitos a partir do preparo de 30 soluções padrão em meio de 1,0% (v/v) de HNO₃ no intervalo de concentração de 0,01 – 50,0 mg L⁻¹ e as medidas obtidas nos comprimentos de onda de 285,2 nm e 202,6 nm. As soluções foram aspiradas para dentro do sistema nebulizador/queimador a uma taxa de aspiração de 5,0 mL min⁻¹ e os elementos foram atomizados com mistura gasosa composta por ar e C₂H₂. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

4.6.2 Padronização interna

Para definir a concentração utilizada de cada um dos possíveis padrões internos, curvas de resposta foram obtidas por meio de 10 soluções padrão multielementares nos intervalos de 0,10 – 15,0 mg L⁻¹ Cd; 0,50 – 20,0 mg L⁻¹ Co e 0,05 – 15,0 mg L⁻¹ de Cu em 228,8 nm, 240,7 nm e 324,7 nm, respectivamente. Após conhecer o intervalo linear de calibração para os 3 elementos e definir a concentração adicionada destes nas emulsões e microemulsões, soluções padrão no intervalo de 0,01 – 1,00 mg L⁻¹ Mg contendo 2,5 mg L⁻¹ de Cd e 5,0 mg L⁻¹ de Co e Cu foram preparadas em meio de água, etanol e butanol + 1,0% (v/v) Triton X-100. Desta maneira, a sensibilidade da curva de calibração obtida em meio aquoso seria comparada com aquelas obtidas para soluções de calibração preparadas em meio de etanol e butanol, uma vez que estas teriam as mesmas características físicas (viscosidade e tensão superficial) das soluções amostras preparadas por meio de emulsões e microemulsões.

A exatidão dos métodos propostos foi avaliada por ensaios de adição e recuperação de analito em dois níveis de adição às amostras de óleo de girassol. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

Os métodos de determinação de Mg por F AAS com padronização interna utilizando o procedimento de preparo de amostra por emulsão e microemulsão foram avaliados com base nos principais parâmetros de confiabilidade analítica como: faixa linear de trabalho, sensibilidade, exatidão, precisão, concentração característica (C₀) e limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de acordo com o método descrito por Currie [87]. Testes estatísticos como

teste *t* de *Student*, teste F e *teste de Tukey* foram utilizados para verificar a concordância entre os valores médios obtidos ao nível de 95% de confiança. Os programas *Microsoft Excel*[®] e *Microcal OriginPro*[®] foram empregados como ferramentas de cálculo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção dos óleos vegetais

A Tabela 6 apresenta uma comparação entre o rendimento % (m/m) de óleos vegetais obtidos na extração em sistema soxhlet neste estudo com o teor médio contido nas sementes oleaginosas de acordo com a literatura.

Tabela 6. Comparação dos percentuais de óleo obtidos na extração em sistema soxhlet com percentuais presentes em sementes oleaginosas de acordo com a literatura.

Espécie oleaginosa	Rendimento da extração em soxhlet, %(m/m)	Teor de óleo nas sementes, %(m/m)
Girassol	30	48 [1]
Canola	32	40 – 45 [1]
Pinhão-manso	34	25 – 40 [41]
Crambe	25	36 – 38 [42]

Observa-se que, exceto para o óleo de pinhão-manso, o rendimento da extração dos óleos vegetais ficou abaixo do teor existente nas sementes das espécies estudadas, o que talvez tenha ocorrido devido à insuficiente secagem das sementes, já que o rendimento do óleo depende não só do processo de extração, como também do teor de umidade contido nas sementes. A quantidade de óleo vegetal extraída foi utilizada para determinação de Mg utilizando os métodos propostos.

5.2 Obtenção das emulsões e microemulsões

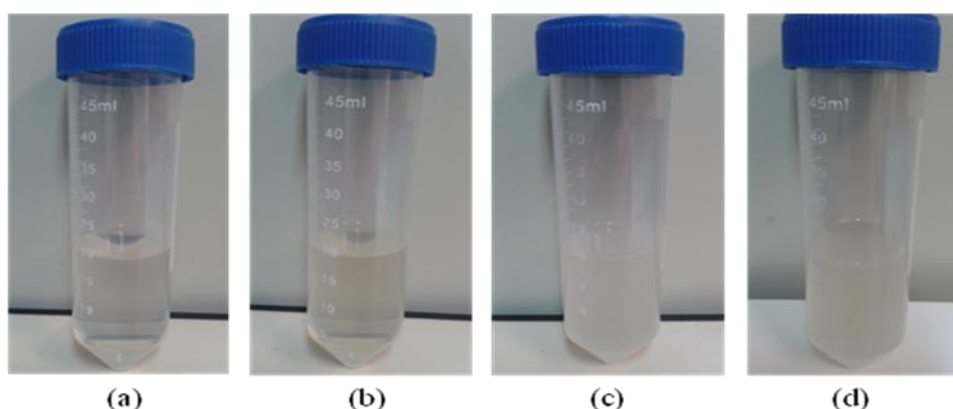
O uso de quantidades elevadas de amostra no preparo das emulsões é interessante porque aumenta a sensibilidade do método analítico, porém também promove um aumento da viscosidade com consequente redução da eficiência da nebulização [88]. Sendo assim, uma quantidade de 0,5% (m/v) de amostra foi suficiente para determinação de Mg em óleos vegetais, além de ter favorecido a diminuição da turbidez das emulsões e o aumento da estabilidade.

Com as quantidades de amostra e ácido nítrico fixadas em 0,5% (m/v) e 1,0% (v/v), respectivamente, concentrações de 5 a 90% (v/v), com incrementos de 5%, dos solventes etanol, n-butanol e isopropanol, combinadas com 100 e 200 μ L de surfactante Triton X-100 ou Triton X-114 foram testadas para o preparo das emulsões. As misturas resultantes foram avaliadas levando-se em consideração o aspecto físico em relação à homogeneidade, turbidez e estabilidade.

A presença do componente água nas emulsões e microemulsões é importante, pois possibilita a utilização de padrões aquosos na calibração. No entanto, grandes quantidades de água impossibilitaram a estabilização da fase hidrofóbica ainda que o percentual de óleo não tenha ultrapassado 0,5 % em massa. Sendo assim, melhores resultados foram obtidos quando elevados percentuais de co-surfactante e baixos percentuais de água foram empregados.

A utilização de 90% (v/v) de n-butanol combinado a 200 μ L de Triton X-100 resultou em microemulsões de aspecto cristalino e estáveis. As misturas preparadas com 75% (v/v) de etanol + 200 μ L de Triton X-100 constituíram emulsões de aspecto levemente turvo em que ocorre separação de fases após vários minutos, porém a homogeneidade é facilmente recuperada após agitação vigorosa. Os testes em que foram empregadas diferentes quantidades de isopropanol resultaram em misturas cuja separação de fases ocorreu imediatamente após o preparo, sendo inadequadas para as análises. Na Figura 6, estão representadas as microemulsões e emulsões de crambe e girassol.

Figura 6. Foto ilustrativa das microemulsões de óleo de crambe (a) e girassol (b); e emulsões de óleo de crambe (c) e girassol (d).

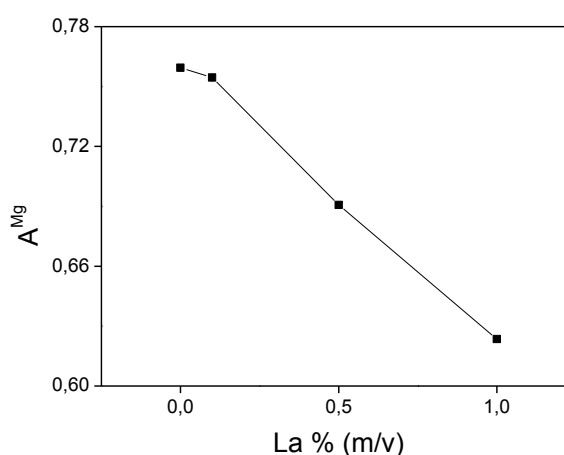


Fonte: próprio autor

As medidas de absorvância do Mg podem sofrer redução significativa devido a interferências de natureza química, pois este elemento tende a formar com certos íons

compostos refratários que não se dissociam em temperaturas relativamente baixas como as da chama de ar-acetileno [89]. Sendo assim, após estabelecer as condições de preparo das emulsões e microemulsões, foram realizados ensaios com amostras de óleo de canola preparadas por meio de microemulsões com adições de 0,0 – 0,1 – 0,5 – 1,0% (m/v) de La para avaliar sua eficiência como agente protetor na eliminação de possíveis interferências. Os resultados obtidos estão representados graficamente na Figura 7.

Figura 7. Medidas de absorvância de Mg em microemulsões de canola em função de diferentes concentrações de La em % (m/v).



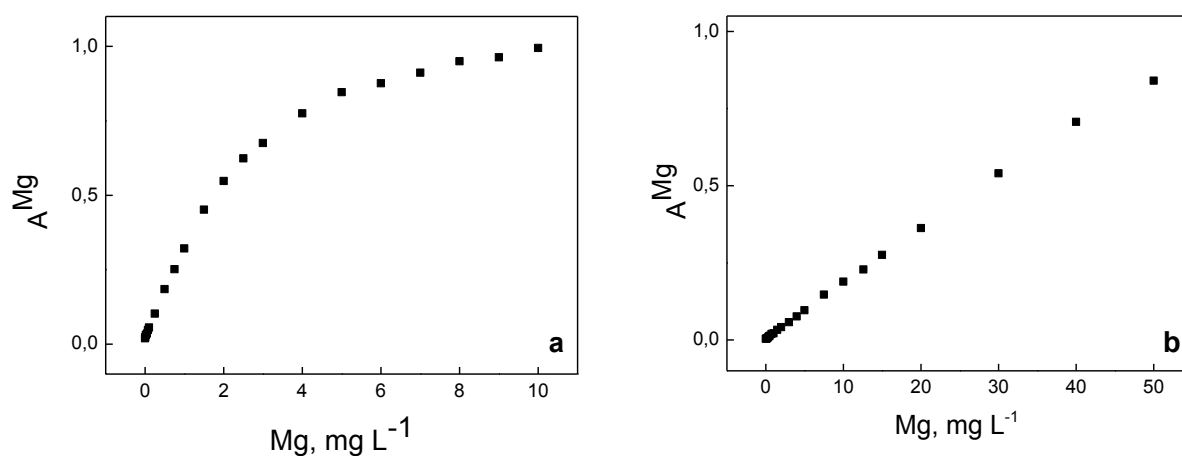
Analisando a Figura 7, é possível observar que o aumento da concentração de La nas microemulsões causou um decréscimo no sinal de absorvância do Mg. A diferença entre as soluções contendo 0,0% (m/v) e 1,0% (m/v) de La é de aproximadamente 20%, e essa diminuição pode estar associada a uma elevada acidez das misturas, uma vez que ao adicionar o volume apropriado da solução estoque 5,0% (m/v) de La, preparada pela dissolução de La_2O_3 em água com o auxílio de HCl $12,0 \text{ mol L}^{-1}$, às microemulsões, a acidez final produzida de aproximadamente $0,29 \text{ mol L}^{-1}$, pode ter prejudicado a nebulização das amostras. Adicionalmente, foi observada uma redução na estabilidade das emulsões evidenciada por uma separação de fases em menor intervalo de tempo quando a solução de La foi adicionada. Sendo assim, optou-se pela não adição de agente protetor no preparo das amostras para a continuidade dos experimentos.

5.3 Método de determinação de Mg em óleo vegetal utilizando padronização interna

5.3.1 Intervalo linear de trabalho

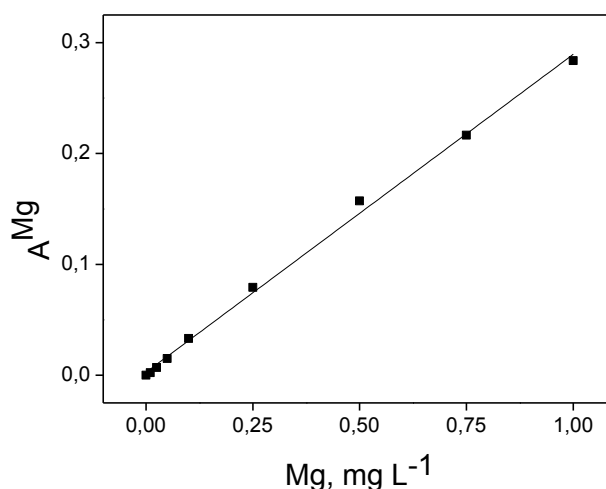
A escolha do intervalo linear de trabalho e da linha atômica mais adequada para determinação de Mg em óleos vegetais foi estabelecida de acordo com o teor do elemento nas amostras e dos valores de coeficiente de correlação linear obtidos nas curvas analíticas. Empregando os parâmetros instrumentais que proporcionaram a maior sensibilidade, foi efetuada uma calibração para obter a curva de resposta, e em seguida estabelecer o intervalo linear de trabalho para determinação de Mg. A calibração foi feita com soluções padrão nos intervalos de 0,01 – 10,0 mg L⁻¹ (285,2 nm) e 0,10 – 50,0 mg L⁻¹ (202,6 nm). As curvas de resposta, obtidas em dois comprimentos de onda estão ilustrados na Figuras 8.

Figura 8. Curvas de resposta obtidas para o estudo do intervalo linear de trabalho para determinação de Mg em óleo vegetal por F AAS em 285,2 nm (a) e 202,6 nm (b).



De acordo com as curvas de resposta apresentadas na Figura 8, é possível determinar a concentração de Mg em óleos vegetais utilizando o comprimento de onda em 285,2 nm se o teor do analito estiver em baixas concentrações (inferior a 2,0 mg L⁻¹) ou em 202,6 nm se estiver em concentrações mais elevadas. Sabe-se que o teor de metais em óleos vegetais é da ordem de µg g⁻¹, de modo que o intervalo linear de trabalho estabelecido foi de 0,01 – 1,00 mg L⁻¹ de Mg em 285,2 nm (Figura 9). Este intervalo de calibração é adequado para a faixa de aplicação da análise de Mg nos digeridos, nas emulsões e microemulsões de óleo vegetal.

Figura 9. Curva analítica de calibração referente ao intervalo linear de trabalho para determinação de Mg em 285,2 nm.



5.3.2 Estudo do comportamento dos elementos Cd, Co e Cu como padrões internos

Técnicas analíticas de determinação exigem que os padrões de calibração sejam cuidadosamente preparados, e que estas soluções apresentem características muito semelhantes às observadas nas amostras, pois a nebulização das soluções padrão e amostras é altamente dependente da viscosidade do meio e da tensão superficial [88], uma vez que o tamanho e a distribuição das gotículas formadas no nebulizador são influenciadas pelos fatores mencionados [90].

O uso de emulsões e microemulsões como método de simplificação de amostras oleosas tem como vantagem possibilitar o uso de padrões aquosos, uma vez que as misturas obtidas apresentam características similares às soluções aquosas. No entanto, neste estudo, não foi possível utilizar a calibração externa pois as emulsões e microemulsões foram preparadas com elevado percentual de etanol e n-butanol, apresentando características diferentes de soluções aquosas devido às diferenças de viscosidade (Tabela 7), inflamabilidade e volatilidade destes solventes em relação à água.

Tabela 7. Viscosidade dos solventes água, n-butanol e etanol, a 25 °C.

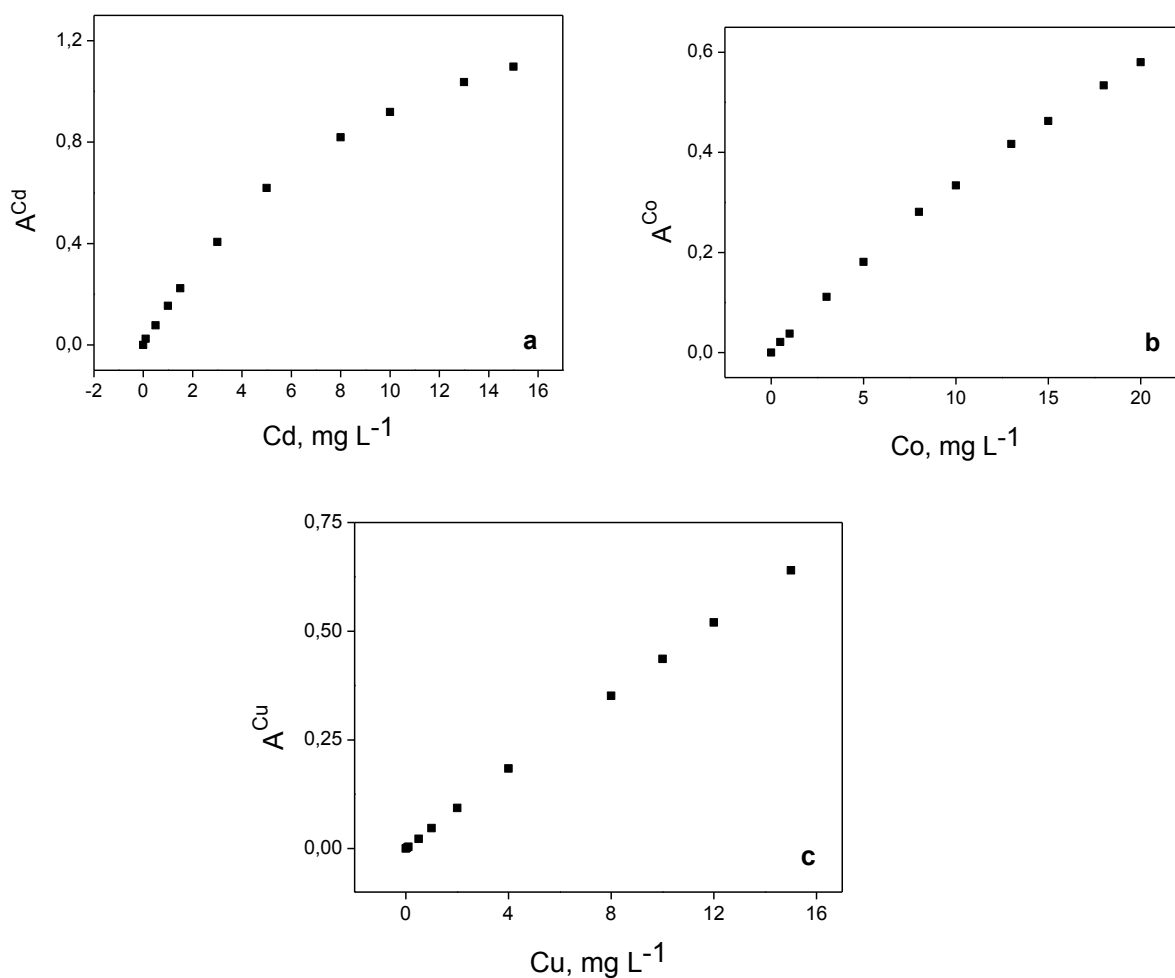
Líquido	Viscosidade (mPas)
Água	0,890
n-Butanol	2,554
Etanol	1,074

Fonte: Handbook [91]

Neste contexto, a utilização do método de calibração baseado na padronização interna constitui uma estratégia simples e eficiente na correção de efeitos de matriz possibilitando a utilização de padrões aquosos na calibração de amostras de óleos vegetais preparadas por emulsões e microemulsões.

Os elementos Cd, Co e Cu foram avaliados como possíveis padrões internos na determinação de Mg devido às suas características de atomização (tipo de chama) e reduzida probabilidade de serem encontrados em amostras de óleo vegetal bruto. Para viabilizar a utilização do método, foram inicialmente construídas curvas de resposta para os elementos Cd, Co e Cu para determinar o intervalo linear de calibração e estabelecer a concentração adicionada desses elementos (Figura 10).

Figura 10. Curvas de resposta obtidas em meio aquoso para **a)** Cd (228,8 nm), **b)** Co (240,7 nm) e **c)** Cu (324,7 nm) por F AAS.



Após a análise dos intervalos lineares, foi definido que as concentrações de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Cd; $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Co e de Cu seriam as adicionadas, uma vez que estas concentrações pertencem ao intervalo linear de calibração dos elementos estudados.

Definidas as concentrações de Cu, Co e Cd adicionadas às soluções analíticas, curvas de calibração para determinação de Mg foram obtidas em meio aquoso, n-butanol + Triton X-100 e etanol utilizando a calibração externa e a padronização interna. Os resultados estão representados graficamente na Figura 11 e os parâmetros das curvas obtidas estão descritos na Tabela 8.

Figura 11. Curvas analíticas de resposta para Mg obtidas em meio de - ■ - água; -●- butanol + Triton X-100; -▲- etanol, com calibração externa (a) e com padronização interna com Cd (b); Co (c) e Cu (d).

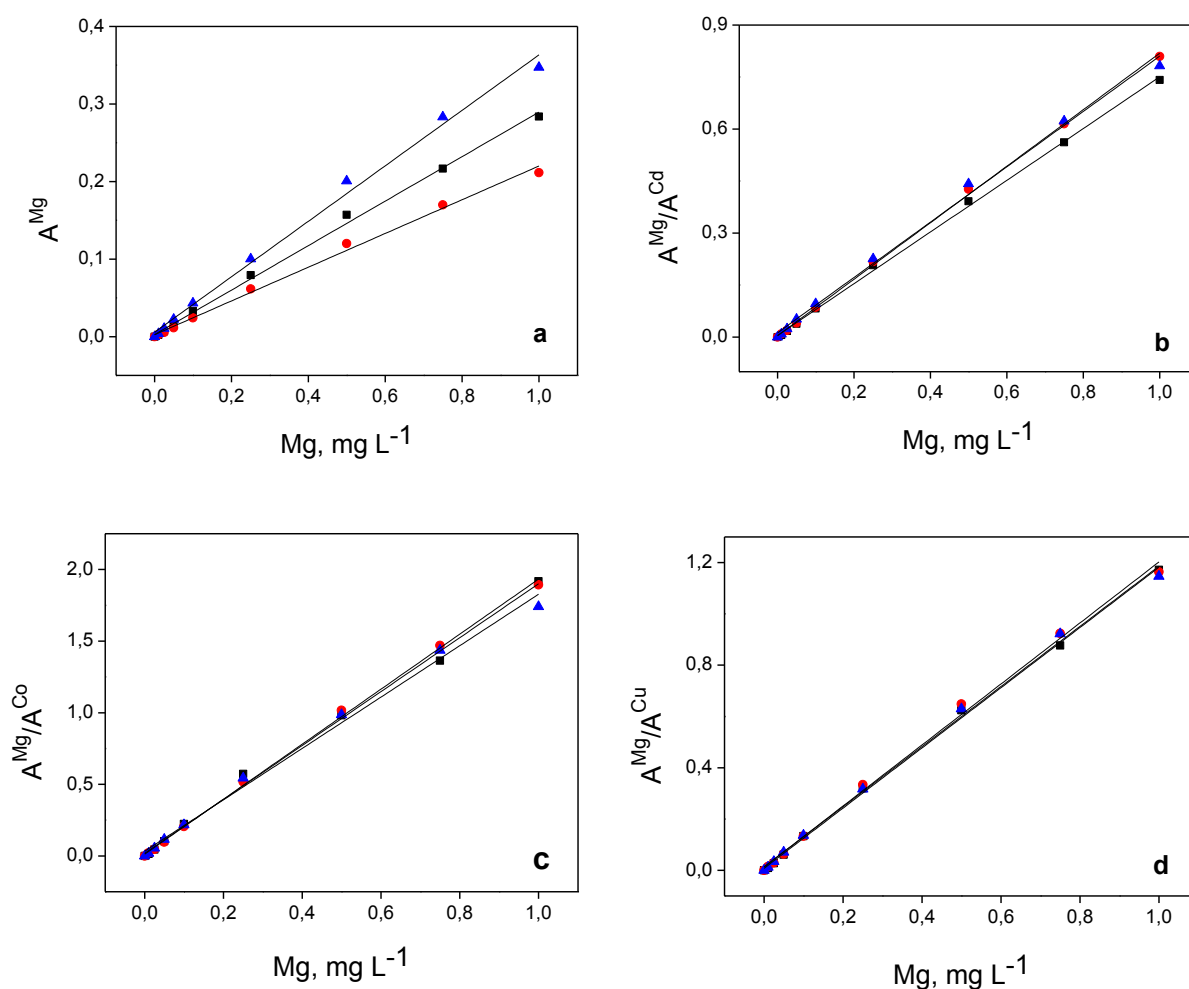


Tabela 8. Parâmetros das curvas analíticas de resposta para Mg obtidas em meio de água; butanol + Triton X-100 e etanol, com calibração externa e com padronização interna com Cd, Co e Cu.

Curva Analítica		Equação de Regressão Linear	R
Sem PI	Água	$A = 0,2870c + 0,0026$	0,9972
	n-Butanol + Triton X-100	$A = 0,2176c + 0,0025$	0,9953
	Etanol	$A = 0,3578c + 0,0056$	0,9942
Mg/Cd	Água	$A = 0,7459c + 0,0046$	0,9987
	n-Butanol + Triton X-100	$A = 0,8153c + 0,0036$	0,9993
	Etanol	$A = 0,7982c + 0,0122$	0,9959
Mg/Co	Água	$A = 1,8823c + 0,0184$	0,9959
	n-Butanol + Triton X-100	$A = 1,9211c + 0,0120$	0,9986
	Etanol	$A = 1,7941c + 0,0330$	0,9933
Mg/Cu	Água	$A = 1,1743c + 0,0076$	0,9986
	n-Butanol + Triton X-100	$A = 1,1901c + 0,0127$	0,9966
	Etanol	$A = 1,1728c + 0,0133$	0,9970

Comparando-se as curvas analíticas obtidas com calibração externa (Figura 11a) utilizando água, butanol + Triton X-100 e etanol no preparo das soluções analíticas, é observado que a sensibilidade da curva analítica obtida em meio aquoso é bastante diferente daquelas obtidas para os meios etanólico e butanólico, evidenciando claramente o efeito de matriz. A curva analítica preparada em meio de etanol apresentou maior inclinação, pois a intensidade da absorção é significativamente maior quando se faz uso de álcoois de baixo peso molecular, em virtude das viscosidades e tensões superficiais menores, evaporação mais rápida e completa, além do fato de o solvente orgânico contribuir para elevação da temperatura da chama [90]. No caso da curva em meio de n-butanol + Triton X-100, esses efeitos foram suprimidos pela viscosidade relativamente alta do solvente.

A eficiência dos padrões internos na correção dos efeitos de matriz foi avaliada por meio da comparação das inclinações das curvas analíticas em meio de etanol e n-butanol + Triton X-100 com a inclinação da curva em meio aquoso, empregando os testes estatísticos teste F e teste *t* de *Student*, conforme o recomendado pelo Manual de Garantia da Qualidade Analítica do Ministério da Agricultura [92]. O número de observações (*n*) para cada curva foi estabelecido de acordo com o número de níveis de concentração (9), uma vez que os parâmetros das curvas foram obtidos com base nesses pontos (Tabela 9).

Tabela 9. Comparação estatística de curvas analíticas com padronização interna em diferentes meios ao nível de confiança de 95%. $F_{tab,95\%}$ para (8,8) graus de liberdade = 3,44; $t_{tab,95\%}$ para 16 graus de liberdade = 2,12.

Curva Analítica		Coefficiente Angular $\pm s$	$F_{calc.}$	$t_{calc.}$
Mg/Cd	Água	0,7459 \pm 0,0094	----	----
	n-Butanol	0,8153 \pm 0,0079	1,42	16,96
	Etanol	0,7982 \pm 0,0181	0,27	7,69
Mg/Co	Água	1,8823 \pm 0,0426	-----	-----
	n-Butanol	1,9211 \pm 0,0256	2,77	2,34
	Etanol	1,7941 \pm 0,0518	0,68	3,95
Mg/Cu	Água	1,1743 \pm 0,0153	-----	----
	n-Butanol	1,1901 \pm 0,0247	0,38	1,63
	Etanol	1,1728 \pm 0,0227	0,45	0,16

Ao comparar as inclinações das curvas analíticas, fica claro, a princípio, que a utilização da calibração por padronização interna corrigiu os efeitos de matriz nos diferentes meios, haja vista a aparente sobreposição das curvas de calibração (Figura 11b, 11c e 11d) e sensibilidade muito próximas (Tabela 6). No entanto, quando as inclinações das curvas são comparadas por meio do teste t de *Student* (Tabela 7), verifica-se que, utilizando padronização interna com Cd e Co, as curvas de calibração não são estatisticamente equivalentes e que, portanto, os efeitos de matriz não foram corrigidos satisfatoriamente. Por outro lado, a técnica de padronização interna com Cu pode ser utilizada com sucesso para determinação de Mg em emulsões e microemulsões de óleo vegetal preparadas com etanol e n-butanol, respectivamente, já que as curvas de calibração obtidas em meio destes solventes são estatisticamente equivalentes à curva de calibração em meio aquoso.

Em estudo reportado na literatura, Pereira *et al* [93] descreveram o sucesso da utilização de Co como padrão interno na determinação de Mg e Ca em amostras de biodiesel, preparadas por meio de quebra de emulsão. Feldman [81], em um de seus estudos sobre padronização interna, selecionou cerca de 20 elementos que podem ser empregados como padrões internos na determinação individual de 18 metais, dentre os quais a utilização de Cd como padrão interno na determinação de Mg. Com base nestas informações e também na similaridade das inclinações das curvas obtidas nos diferentes meios utilizando a calibração

por padronização interna com Co e Cd, ainda que os testes estatísticos tenham mostrado que estas inclinações são diferentes ao nível de confiança de 95%, a determinação de Mg nas emulsões e microemulsões de óleo vegetal foi realizada utilizando os métodos de padronização interna com Cd, Co e Cu.

As curvas de calibração com padronização interna empregadas na determinação de Mg estão representadas na Figura 12 e os parâmetros de determinação do analito, avaliados por meio do cálculo dos principais parâmetros de confiabilidade analítica, estão descritos na Tabela 10.

Figura 12. Curvas analíticas para determinação de Mg em emulsões e microemulsões de óleos vegetais por F AAS: **a)** padronização interna com Co; **b)** padronização interna com Cu; **c)** padronização interna com Cd.

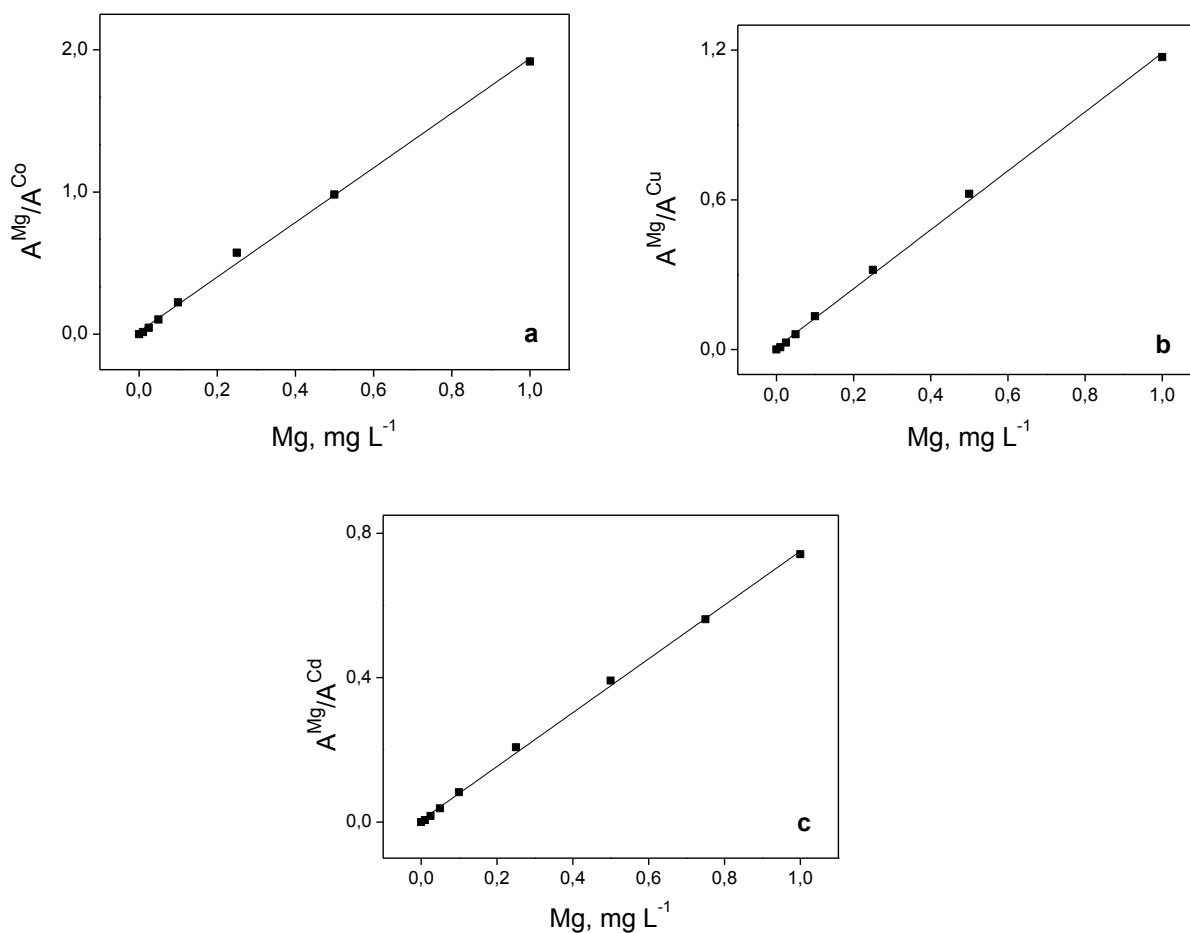


Tabela 10. Parâmetros de confiabilidade analítica relativos à determinação de Mg em emulsões e microemulsões de óleos vegetais por F AAS com padronização interna.

Curva analítica	Sensibilidade	R	LD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	C ₀ (mg L^{-1})	*RSD (%)
Mg/Cd	0,7459	0,9987	0,23	0,77	0,0059	0,5 – 1,1
Mg/Co	1,9216	0,9972	0,09	0,30	0,0023	0,4 – 3,6
Mg/Cu	1,1812	0,9985	0,15	0,49	0,0037	0,3 – 3,6

* **RSD:** desvio padrão relativo, do inglês *relative standard deviation*

Embora os menores valores de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) e maior sensibilidade tenham sido obtidos quando o Co foi empregado como padrão interno na determinação de Mg, os valores de LD, LQ, sensibilidade, coeficiente de correlação linear e RSD também foram bastantes satisfatórios para os métodos de padronização interna com Cd e Cu.

Os parâmetros de confiabilidade analítica obtidos por meio da calibração interna com Co proposta neste estudo, foram melhores quando comparados aos valores obtidos por Ieggli *et al* [23] na determinação de Mg em emulsões de óleos vegetais utilizando a calibração externa, e bastante semelhantes utilizando Cu como padrão interno. No referido estudo, as emulsões foram preparadas pela adição de Tween-80 e água aos óleos vegetais, e os valores de sensibilidade, concentração característica, LD e LQ do método empregado foram 0,7514, 0,0058 mg L^{-1} , 0,12 e 0,38 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

A exatidão dos métodos de padronização interna aqui propostos para determinação de Mg em óleo vegetal por F AAS foi avaliada por meio de teste de adição e recuperação em dois níveis de adição utilizando a amostra de óleo de girassol (Tabela 11). O cálculo para determinação dos percentuais de recuperação foi efetuado considerando as médias das massas de óleo utilizadas no preparo das soluções em triplicata, de modo que as concentrações adicionadas e determinadas foram convertidas para μg de Mg por grama de óleo presente nas soluções. Sendo assim, foram adicionados 50 e 100 μL de solução estoque 10 mg L^{-1} de Mg, os quais produziram as concentrações de 4,72 e 9,45 $\mu\text{g g}^{-1}$ Mg nas microemulsões e 4,45 e 8,50 $\mu\text{g g}^{-1}$ Mg nas emulsões.

Tabela 11. Resultados ($n= 3$) da recuperação (%) de Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$) em óleo de girassol bruto preparado por microemulsões e emulsões utilizando os método de padronização interna.

Preparo de amostra	[Mg] adicionado	PI – Cd		PI - Co		PI – Cu	
		[Mg] determinado	% Rec.	[Mg] determinado	% Rec.	[Mg] determinado	% Rec.
Microemulsão	0,00	8,79±0,14	-	9,28±0,11	-	8,65±0,10	-
	4,72	13,75±0,82	105,2	13,93±0,53	98,4	13,08±0,58	93,9
	9,45	18,49±0,67	102,7	19,27±0,50	105,7	17,94±0,33	98,3
Emulsão	0,00	11,63±0,52	-	10,56±0,30	-	10,26±0,24	-
	4,45	17,40±0,79	130,0	15,27±0,03	106,1	14,74±0,11	100,7
	8,50	23,44±0,39	139,5	19,59±0,11	106,6	19,32±0,08	106,9

Valores de recuperação entre 98,4 – 106,6% (PI – Co) e 93,9 – 106,9% (PI – Cu) determinados para Mg em amostras de óleo de girassol preparadas por microemulsão e emulsão foram satisfatórios, mostrando que o método tem boa precisão e exatidão. No entanto, o método de padronização interna com Cd apresentou precisão e exatidão satisfatórias apenas para o procedimento de preparo de amostra por microemulsões (102,7 – 105,2%), uma vez que nas emulsões, os valores de recuperação foram superiores a 130,0 %.

5.4 Determinação de Mg em emulsões e microemulsões de óleos vegetais com calibração por padronização interna

Após o estabelecimento das condições instrumentais e experimentais, o método proposto baseado no preparo de amostra por emulsão e microemulsão e de determinação por calibração com padronização interna foi avaliado na determinação de Mg em óleo vegetal bruto de girassol, canola, pinhão-manso e crambe por espectrometria de absorção atômica em chama. Os resultados obtidos para as microemulsões estão apresentados na Tabela 12 e para as emulsões na Tabela 13.

Tabela 12. Resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n=3$) dos teores de Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$) em microemulsões de óleos vegetais empregando métodos de padronização interna.

Amostras	Mg/Cd	Mg/Co	Mg/Cu
Girassol	9,18 \pm 0,82	9,00 \pm 0,78	8,91 \pm 0,30
Canola	173,74 \pm 5,95	161,84 \pm 11,29	163,88 \pm 0,48
Pinhão-manso	93,17 \pm 1,40	84,98 \pm 1,05	89,78 \pm 1,34
Crambe	70,17 \pm 1,59	64,28 \pm 1,40	65,46 \pm 1,76

Tabela 13. Resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n=3$) dos teores de Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$) em emulsões de óleos vegetais empregando métodos de padronização interna.

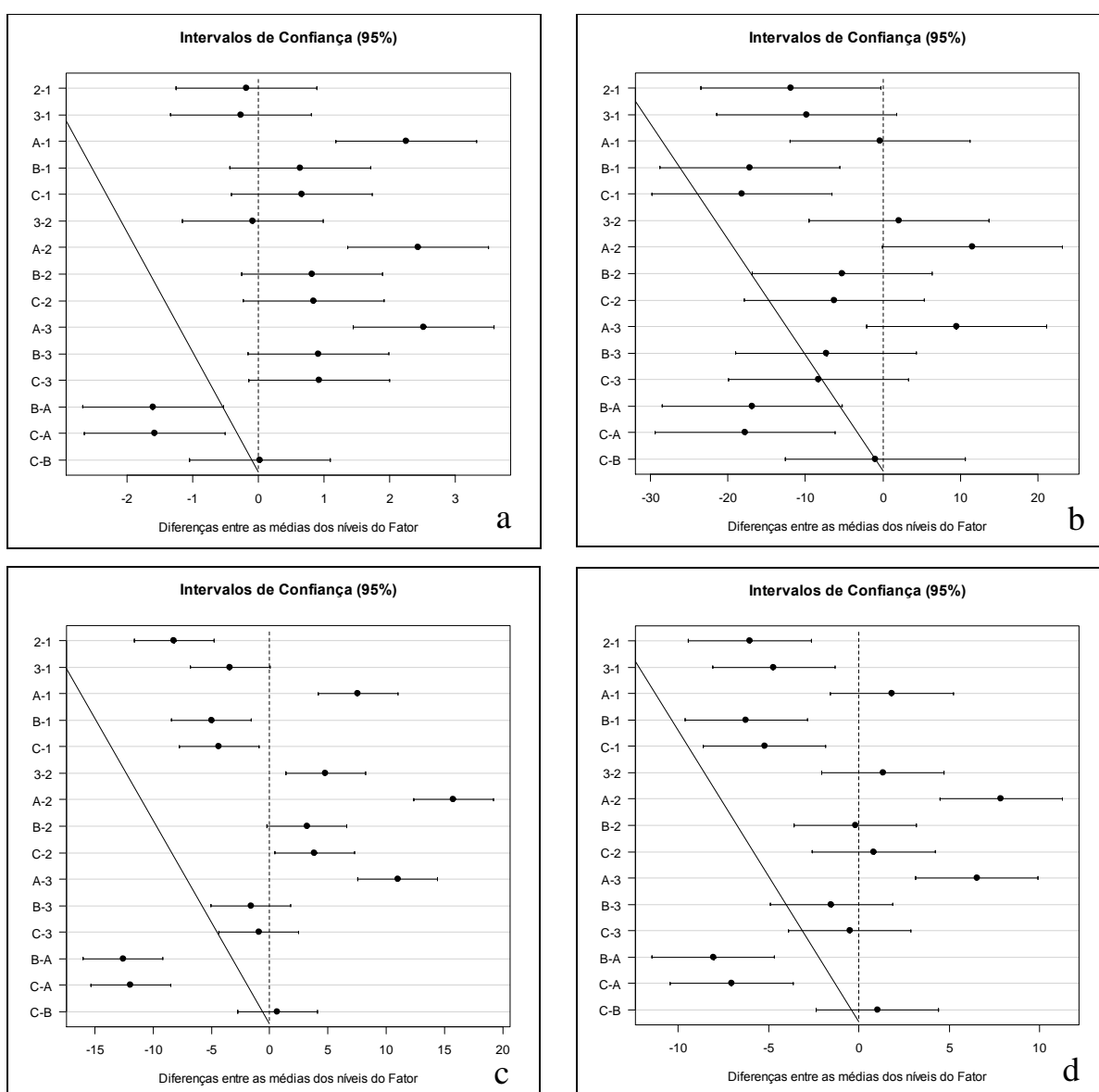
Amostras	Mg/Cd	Mg/Co	Mg/Cu
Girassol	11,43 \pm 0,25	9,82 \pm 0,31	9,84 \pm 0,18
Canola	173,39 \pm 0,41	156,55 \pm 2,87	155,56 \pm 0,31
Pinhão-manso	100,75 \pm 1,53	88,17 \pm 0,67	88,83 \pm 1,28
Crambe	71,99 \pm 0,30	63,93 \pm 1,08	64,95 \pm 0,56

Os desvios padrão relativos (%RSD) obtidos na determinação de Mg com calibração por padronização interna utilizando o preparo de amostra por emulsão variaram entre 0,29 – 3,20% e entre 0,29 – 8,90% por microemulsão. Os valores de %RSD demonstram que tanto os métodos de preparo de amostra quanto os métodos de calibração propostos para determinação de Mg têm precisão satisfatória.

Os intervalos de concentração obtidos para ambos os métodos de preparo de amostra são bastante semelhantes, o que pode ser confirmado pela análise individual das amostras estudadas. Sem considerar o tipo de preparo de amostra (emulsão ou microemulsão) ou o padrão interno utilizado, os teores variaram de 8,91 \pm 0,30 – 11,43 \pm 0,25 mg L⁻¹, 155,56 \pm 0,31 – 173,74 \pm 5,95 mg L⁻¹, 84,98 – 1,05 \pm 100,75 \pm 1,53 mg L⁻¹, 63,93 \pm 1,08 – 71,99 \pm 0,30 mg L⁻¹ Mg para amostras de óleos girassol, canola, pinhão-manso e crambe, respectivamente.

O teste *t* pareado demonstrou que, ao nível de confiança de 95%, os métodos propostos são concordantes entre si. No entanto, para verificar a concordância entre os teores de Mg encontrados em cada uma das amostras de óleo vegetal pelos diferentes métodos empregados, ainda foi aplicado o teste de Tukey, (Figura 13), método exato de comparações múltiplas que testa todas as combinações dois a dois entre os níveis de um fator.

Figura 13. Resultado obtido com a aplicação do teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação dos valores médios de Mg determinados em amostras de óleo de girassol (a), canola (b), pinhão-mansó (c) e crumbe (d) preparados por emulsão e microemulsão com calibração por padronização interna utilizando Cu, Co e Cd como padrões internos.



1- microemulsão/padronização com Cd; **2-** microemulsão/padronização com Co; **3 -** microemulsão/padronização com Cu; **A –** emulsão/padronização com Cd; **B –** emulsão/padronização com Co; **C –** emulsão/padronização com Cu.

O teste de Tukey demonstrou que os teores de Mg determinados nas microemulsões e emulsões com padronização interna com Co e Cu, foram todos concordantes entre si, exceto para as microemulsões de pinhão-manso. Os resultados obtidos empregando Cd como padrão interno foram maiores e estatisticamente diferentes dos resultados obtidos por meio dos demais métodos propostos, para todas as amostras de óleos vegetais.

Tendo em vista os resultados apresentados pelo teste estatístico das comparações múltiplas (Tukey), os resultados obtidos de recuperação (Tabela 11) e o teste *t de Student* aplicado na comparação das curvas analíticas (Tabela 9), a determinação de Mg em amostras de óleos vegetais empregando o preparo de amostra por emulsão ou microemulsão com calibração por padronização interna utilizando Cd como PI não apresentou resultados satisfatórios. Por outro lado, os métodos de calibração por padronização interna com Co e Cu podem ser utilizados com eficiência na correção dos efeitos de matriz na determinação de Mg em óleo vegetal por microemulsão e por emulsão, uma vez que os resultados apresentarem exatidão e precisão satisfatórias, sensibilidade, baixos limites de detecção e resultados estaticamente concordantes entre si ao nível de 95% de confiança.

5.5 Avaliação da decomposição ácida como método de preparo de amostras de óleo vegetal

Para fins de comparação de resultados, as determinações também foram feitas por calibração externa com padrões aquosos após digestão ácida das amostras em sistema aberto com aquecimento convencional. Devido à indisponibilidade de trabalhos na literatura em que este método é aplicado no preparo de amostras de óleos vegetais, foi necessário estabelecer um procedimento que fosse adequado para a digestão das amostras por meio de vários testes, nos quais foram avaliadas diferentes combinações e proporções entre os reagentes (HNO₃, H₂SO₄, HCl, H₂O₂), temperaturas, rampa de aquecimento e uso de *overnight*.

A eficiência dos procedimentos de digestão foi avaliada, a princípio, considerando-se o aspecto físico das soluções resultantes. Os procedimentos 3, 7 e 8 resultaram em soluções cristalinas e incolores, indicando a possível decomposição das amostras. Nos demais procedimentos (1, 2, 4-6), a decomposição das matrizes oleosas não foi satisfatória, uma vez que foi observada uma quantidade residual de óleo nos tubos de digestão, mesmo após várias horas de aquecimento. Diante destas informações, os procedimentos 3, 7 e 8 foram empregados para decomposição das amostras de girassol para avaliar seu desempenho na determinação de Mg (Tabela 14).

Tabela 14. Resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n=3$) dos teores de Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$) em amostras de óleo vegetal de girassol preparadas por digestão ácida. Resultados de %RSD entre parênteses.

Amostra	Procedimento 3	Procedimento 7	Procedimento 8
Óleo de girassol	10,76 \pm 2,95 (27%)	7,29 \pm 0,49 (6,67%)	8,02 \pm 0,41 (5,09%)

Os resultados indicaram que o procedimento de digestão e/ou método de determinação 3 não apresentou precisão satisfatória, o que pode ser justificado pelo elevado tempo de decomposição da matriz (480 minutos para completa decomposição) e reações turbulentas ocasionadas pelas adições de H_2O_2 , levando a perdas de amostra, uma vez que a digestão é realizada em sistema aberto.

Os procedimentos 7 e 8 foram de fácil execução com tempos relativamente baixos de aquecimento e permitiram a obtenção de resultados com valores de %RSD satisfatórios (6,67 e 5,09%, respectivamente). O teste t de *Student* demonstrou que, ao nível de 95% de confiança, os resultados obtidos utilizando estes procedimentos de digestão foram concordantes entre si, de modo que os teores de Mg nas amostras de óleo vegetal foram determinados empregando o procedimento 8, devido ao menor tempo de execução (120 minutos) e consumo de reagentes em relação ao procedimento 7. Os resultados obtidos empregando o procedimento 8 de digestão foram comparados com aqueles determinados nas emulsões e microemulsões por calibração com padronização interna adicionando os elementos Cu e Co como PI e estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Comparação dos resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n=3$) de Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$) obtidos por digestão ácida e por emulsões e microemulsões de óleos vegetais por meio de padronização interna com Co e Cu.

Amostra	Digestão ácida	Microemulsão		Emulsão	
		PI-Co	PI-Cu	PI-Co	PI-Cu
Girassol	8,02 \pm 0,41	9,00 \pm 0,78	8,91 \pm 0,30	9,82 \pm 0,31	9,84 \pm 0,18
Canola	133,91 \pm 0,92	161,84 \pm 11,29	163,88 \pm 0,48	156,55 \pm 2,87	155,56 \pm 0,31
Pinhão-manso	74,35 \pm 0,52	84,98 \pm 1,05	89,78 \pm 1,34	88,17 \pm 0,67	88,83 \pm 1,28
Crambe	54,25 \pm 1,16	64,28 \pm 1,40	65,46 \pm 1,76	63,93 \pm 1,08	64,95 \pm 0,56

Embora o método de digestão ácida tenha apresentado precisão satisfatória, com desvios padrão relativos inferiores a 5,09%, os resultados obtidos foram significativamente inferiores àqueles determinados em emulsões e microemulsões por padronização interna, exceto para a amostra de girassol. As médias das determinações por padronização interna e por digestão ácida foram avaliadas pelo teste *t de Student*, por meio do qual pode-se constatar que os resultados são estatisticamente diferentes, ao nível de 95% de confiança. O teor de Mg obtido por digestão ácida foi estatisticamente concordante apenas com as médias obtidas nas microemulsões de girassol.

Os problemas inerentes aos procedimentos de digestão ácida já foram muito discutidos e são bem conhecidos. É comum ocorrerem perdas do analito por volatilização bem como contaminações das amostras, dentre outros inconvenientes. A realização do procedimento de digestão empregado ocorreu de maneira tranquila sem turbulências nos tubos de digestão que pudessem levar a perdas das amostras, fato que é comprovado pelos baixos valores de desvio padrão. Também é pouco provável que os reagentes utilizados (HNO_3 , H_2SO_4 e H_2O_2) tenham levado a perdas do analito Mg por volatilização [26]. O mais provável é que a digestão tenha sido incompleta, ou seja, nem toda matéria orgânica presente nas amostras foi destruída, o que pode ter levado a interferências na etapa de medida.

A suposição de que a obtenção de soluções cristalinas e incolores implica que a oxidação da matéria orgânica foi completa não é verdadeira em todos os casos [26], especialmente levando-se em conta que os óleos vegetais são matrizes complexas com elevado teor de matéria orgânica. Testes que possibilitem a detecção e identificação de material orgânico residual presente na solução para comprovação da eficiência da digestão seriam desejáveis, no entanto, estes não estavam disponíveis.

5.6 Determinação de Mg em sementes oleaginosas

Em plantas, assim como nos mais variados tipos de amostras biológicas e ambientais, Mg, Ca e K são classificados como macronutrientes e os teores desses elementos estão na ordem de mg g^{-1} [94]. Entretanto, em óleos vegetais, os valores encontrados para o Mg são da ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$, ou seja, apenas uma pequena quantidade dos minerais presentes nas sementes é incorporada à fração do óleo vegetal durante os processos de extração.

Os teores de Mg presentes nas sementes oleaginosas empregadas na obtenção dos óleos vegetais neste estudo foram determinados e os resultados estão representados na Tabela 16.

Tabela 16. Resultados (média \pm desvio padrão) da determinação ($n= 3$) dos teores de Mg em sementes oleaginosas por espectrometria atômica em chama.

Amostra	Mg, mg g⁻¹
Girassol	2,85 \pm 0,01
Canola	3,24 \pm 0,05
Pinhão-manso	3,11 \pm 0,14
Crambe	2,88 \pm 0,08

Comparando-se os teores determinados nos óleos vegetais brutos (Tabelas 12 e 13) com aqueles determinados nas sementes oleaginosas (Tabela 16), verifica-se que a quantidade de Mg na fração oleosa não acompanha a proporcionalidade deste elemento nas sementes, haja vista a diferença significativa dos teores determinados nas duas matrizes. Nas sementes de girassol, o teor de Mg chega a ser 320 vezes maior em relação ao que foi encontrado no óleo vegetal desta espécie. A quantidade de Mg nas amostras de óleo vegetal bruto de girassol, canola, pinhão-manso e crambe corresponde a 0,3; 5,0; 2,9 e 2,3% dos teores determinados nas amostras de sementes originais.

6 CONCLUSÕES

O preparo de amostra por meio da obtenção de emulsão e microemulsão de óleos vegetais constituiu um procedimento simples e rápido, que possibilitou o mínimo de manipulação da amostra, favorecendo a redução de contaminações e perdas de analito por volatilização, uma vez que as amostras não foram submetidas ao aquecimento convencional na etapa de preparo.

A calibração por padronização interna com soluções padrão em meio aquoso foi a estratégia utilizada para corrigir os efeitos de matriz (interferência) proporcionados pela elevada concentração de etanol e butanol nas emulsões e microemulsões.

Os parâmetros de confiabilidade analítica como sensibilidade, coeficientes de correlação linear, limites de detecção e de quantificação, concentrações características e desvios padrão relativos (%RSD) obtidos para a determinação de Mg em óleo vegetal por espectrometria de absorção atômica em chama utilizando a calibração com padronização interna com Cd, Co e Cu foram satisfatórios. No entanto, os testes estatísticos demonstraram haver concordância apenas entre as médias das determinações de Mg obtidas com calibração por padronização interna com Co e Cu, ao nível de 95% de confiança, sendo estas diferentes das médias obtidas por meio da padronização interna com Cd.

Os teores de Mg determinados nas amostras de óleo vegetal pelos métodos propostos neste estudo foram superiores e estatisticamente diferentes daqueles obtidos pelo procedimento de digestão ácida em bloco digestor, ao nível de 95% de confiança. Sendo assim, a utilização do método de digestão ácida como método comparativo aos métodos propostos não foi satisfatória, uma vez que a ausência da informação do teor de carbono residual não permitiu garantir que o procedimento de digestão ácida em bloco digestor tenha sido eficiente.

Os métodos propostos baseados no uso de microemulsões ou emulsões com calibração por padronização interna, seja utilizando Co ou Cu como padrão interno, mostraram ser alternativas eficientes na determinação de Mg em amostras de óleos vegetais. A simplicidade e a possibilidade do uso de padrões inorgânicos em soluções aquosas e solventes de baixa toxicidade e custo relativo no preparo das soluções amostra, tornam estas metodologias bastante atraentes em determinações de rotina.

REFERÊNCIAS

- [1] MANDARINO, J. M. G.; ROESSING, A. C.; BENASSI, V. T. **Óleos Alimentos Funcionais**. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2005. 91 p.
- [2] NUNES, S. P. Produção e consumo de óleos vegetais no Brasil. **Departamento de Estudos Sócio-Econômico Rurais**, N° 159, 2007.
- [3] DUGO, G.; LAPERA, L.; LATORRE, G.; GIUFFRIDA, D. Determination of Cd(II), Cu(II), Pb(II), and Zn(II) content in commercial vegetable oils using derivative potentiometric stripping analysis. **Food Chemistry**, v. 87, p. 639-645, 2004.
- [4] NUNES, L. S.; BARBOSA, J. T. P.; FERNANDES, A. P.; LEMOS, V. A., DOS SANTOS, W. N. L.; KORN, M. G. A.; TEIXEIRA, L. S. G. Multi-element determination of Cu, Fe, Ni and Zn content in vegetable oils samples by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry and microemulsion sample preparation. **Food Chemistry**, v. 127, p. 780-783, 2011.
- [5] MENDİL, D.; ULUÖZLÜ, O. D.; TÜZEN, M.; SOYLAK, M. Investigation of the levels of some element in edible oil samples produced in Turkey by atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, p.724-728, 2009.
- [6] LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; ORTEGA-BARRALES, P.; FERNÁNDEZ-DE CÓRDOVA, M. L.; DOMÍNGUEZ-VIDAL, A.; RUIZ-MEDINA, A. Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1257-62, 2011.
- [7] PEHLIVANA, E.; ARSLANB, G.; GODEC, F.; ALTUNA, T.; ÖZCAND, M. M. Determination of some inorganic metals in edible vegetable oils by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES). **Grasas y Aceites**, v. 59, p. 239-244, 2008.
- [8] ALLEN, L. B.; SIITONEN, P. H.; THOMPSON JR, H. C. Determination of copper, lead, and nickel in edible oils by plasma and furnace atomic spectroscopies. **JAOCs**, v. 75, p. 477-481, 1998.
- [9] GONZALVEZ, A.; GHANJAOU, M. E.; EL RHAZI, M.; DE LA GUARDIA, M. Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy Determination of Trace Element Composition of Argan Oil. **Food Science and Technology International**, v. 16, p. 65-71, 2010.
- [10] REYES, M. N. M.; CAMPOS, R. C. Determination of copper and nickel in vegetable oils by direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 70, p. 929-932, 2006.
- [11] CABRERA-VIQUE, C.; BOUZAS, P. R.; OLIVERAS-LÓPEZ, M. J. Determination of trace elements in extra virgin olive oils: A pilot study on the geographical characterisation. **Food Chemistry**, v. 134, p. 434-439, 2012.

- [12] WAHDAT, F.; HINKEL, S.; NEEB, R. Direct inverse voltammetric determination of Pb, Cu and Cd in some edible oils after solubilization. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 352, p. 393–394, 1995.
- [13] ZEINER, M.; STEFFAN, I.; CINDRIC, I. J. Determination of trace elements in olive oil by ICP-AES and ETA-AAS: A pilot study on the geographical characterization. **Microchemical Journal**, v. 81, p. 171-176, 2005.
- [14] ZHU, F.; FAN, W.; WANG, X.; QU, L.; YAO, S. Health risk assessment of eight heavy metals in nine varieties of edible vegetable oils consumed in China. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 3081-3085, 2011.
- [15] DE SOUZA, R. M.; MATHIAS, B. M.; DA SILVEIRA, C. L. P.; AUCÉLIO, R. Q. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry for trace multi-element determination in vegetable oils, margarine and butter after stabilization with propan-1-ol and water. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 60, p. 711-715, 2005.
- [16] ANTHEMIDIS, A. N.; ARVANITIDIS, V.; STRATIS, J. A. On-line emulsion formation and multi-element analysis of edible oils by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 537, p. 271-278, 2005.
- [17] CHANG, Y-T.; JIANG, S-J.. Determination of As, Cd and Hg in emulsified vegetable oil by flow injection chemical vapour generation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 23, p. 140-144, 2008.
- [18] HSU, W-H.; JIANG, S-J.; SAHAYAM, A. C. Determination of Cu, As, Hg and Pb in vegetable oils by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry with palladium nanoparticles as modifier. **Talanta**, v. 117, p. 268-272, 2013.
- [19] BENINCASA, C.; LEWIS, J.; PERRI, E.; SINDONA, G.; TAGARELLI, A. Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 585, p. 366-370, 2007.
- [20] HUANG, S.; JIANG, S. Determination of Zn, Cd and Pb in vegetable oil by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 16, p. 664-668, 2001.
- [21] VIEIRA, M. A.; DE OLIVEIRA, L. C. C.; GONÇALVES, R. A.; DE SOUZA, V.; DE CAMPOS, R. C. Determination of As in Vegetable Oil and Biodiesel by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Energy Fuels**, v. 23, p. 5942-5946, 2009.
- [22] GARRIDO, M. D.; FRÍAS, I.; DÍAZ, C.; HARDISSON, A. Concentrations of metals in vegetable edible oils. **Food Chemistry**, v. 50, p. 237-243, 1994.
- [23] IEGGLI, C. V. S.; BOHRER, D.; DO NASCIMENTO, P. C.; DE CARVALHO, L. M. Flame and graphite furnace atomic absorption spectrometry for trace element determination in vegetable oils, margarine and butter after sample emulsification. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 28, p. 640-648, 2011.

- [24] JIMÉNEZ, M. S.; VELARTE, R.; GOMEZ, M. T.; CASTILLO, J. R. Multielement Determination Using On-line Emulsion Formation and ICP-MS/FAAS for the Characterization of Virgin Olive Oils by Principal Component Analysis. **Atomic Spectroscopy**, v. 25, p. 1-12, 2004.
- [25] CINDRIC, I. J.; ZEINER, M.; STEFFAN, I. Trace elemental characterization of edible oils by ICP-AES and GFAAS. **Microchemical Journal**, v. 85, p.136-139, 2007.
- [26] KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1ª ed. Piracicaba: F. J. Krug, 2008. 340 p.
- [27] CARLOS, A. L.; FILGUEIRAS, A. Espectroscopia e a química da descoberta de novos elementos ao limiar da teoria quântica. **Química Nova na Escola**, v. 3, p. 22-25, 1996
- [28] AMORIM, F. A. C.; LOBO, I. P.; SANTOS, V. L. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. **Química Nova**, v. 31, p. 1784-1790, 2008.
- [29] OKUMURA, F.; CAVALHEIRO, E. T. G.; NÓBREGA, J. A. Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica. **Química Nova**, v. 27, p. 832-836, 2004.
- [30] KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; DE OLIVEIRA, P. V. **Espectrometria de Absorção Atômica Parte 1: Fundamentos e atomização com chama**, 2004.
- [31] WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; VALE, M. G. R. High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry: what can we expect? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, p. 220-229, 2003.
- [32] HARNLY, J. M.; O'HAVER, T. C.; GOLDEN, B.; WOLF, W. R. Background-corrected simultaneous multielement atomic absorption spectrometer. **Analytical Chemistry**, v. 51, p. 2007-2014, 1979.
- [33] HARNLY, J. M. Multielement atomic absorption with a continuum source. **Analytical Chemistry**, v. 58, p. 933A-943A, 1986.
- [34] WELZ, B. Atomic absorption spectrometry — pregnant again after 45 years. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 54, p. 2081-2094, 1999.
- [35] RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino. **Revista Virtual de Química**, v. 5, p. 2-15, 2013.
- [36] Ministério da Agricultura, do Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria nº 795 de 15 de dezembro de 1993.
- [37] GUNSTONE, F. D. **Lipids in foods: chemistry, biochemistry, and technology**. 1a ed. Oxford ; New York: Pergamon Press; 1983. 170 p.
- [38] BRUM, A. A. S.; DE ARRUDA, L. F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, p. 849-854, 2009.

- [39] SANTORI, G.; DI NICOLA, G.; MOGLIE, M.; POLONARA, F. A review analyzing the industrial biodiesel production practice starting from vegetable oil refining. **Applied Energy**, v. 92, p.109-132, 2012.
- [40] MENDONÇA, S.; LAVIOLA, B. G. Uso Potencial e Toxidez da Torta de Pinhão-manso. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009.
- [41] DE ARRUDA, F. P. BELTRÃO, N. E. M.; DE ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S.. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curca L.*) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Rev. Bras. Ol. Fibrós.** v. 8, p. 789-799, 2004.
- [42] COLODETTI, T. V.; MARTINS, L.D.; RODRIGUES, W. N.; BRINATE, S. V. B.; TOMAZ, M. A. Crambe: aspectos gerais da produção agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, p. 258-269, 2012.
- [43] ALVES, J. M. A.; SOUSA, A. A.; DA SILVA, S. G.; LOPES, G. N.; SMIDERLE, O. J.; UCHÔA, S. C. P.. Pinhão-manso: uma alternativa para produção de biodiesel na agricultura familiar da Amazônia Brasileira. **Agroambiente On-Line**, v. 2, p. 57-68, 2008.
- [44] FERREIRA, F. M.; DA SILVA, A. R. B. Produtividade de grãos e teor de óleo da cultura do crambe sob diferentes sistemas de manejo de solo em Rondonópolis-MT. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, p. 1-11, 2011.
- [45] LOBO, F. A.; GOVEIA, D.; OLIVEIRA, A. P, ROMÃO, L. P. C.; FRACETO, L. F.; FILHO, N. L. D.; ROSA, A. H. Development of a method to determine Ni and Cd in biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fuel**, v. 90, p. 142-146, 2011.
- [46] ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R. E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. **Química Nova**, v. 20, p. 638-646, 1997.
- [47] AUCÉLIO, R. Q.; DE SOUZA, R. M.; DE CAMPOS, R. C., MIEKELEY, N.; DA SILVEIRA, C. L. P. The determination of trace metals in lubricating oils by atomic spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, p. 952-961, 2007.
- [48] BARBOSA, J. T. P.; SANTOS, C. M. M.; PERALVA, V. N.; FLORES, E. M. M.; KORN, M.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. Microwave-assisted diluted acid digestion for trace elements analysis of edible soybean products. **Food Chemistry**, v. 175, p. 212-217, 2015.
- [49] DUARTE, F. A.; OLIVEIRA, P. V.; NOGUEIRA, A. R. A. **Microwave-Assisted Extraction**. In: **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis**. Elsevier, 2014, p. 231-51.
- [50] PEREIRA, J. S. F.; MORAES, D. P.; ANTES, F. G.; DIEHL, L. O.; SANTOS, M. F. P.; GUIMARÃES, R. C. L.; FONSECA, T. C. O.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Determination of metals and metalloids in light and heavy crude oil by ICP-MS after

- digestion by microwave-induced combustion. **Microchemical Journal**, v. 96, p. 4–11, 2010.
- [51] HARDAWAY, C.; SNEDDON, J.; BECK, J. N. Determination of Metals in Crude Oil by Atomic Spectroscopy. **Analytical Letters**, v. 37, p. 2881-2899, 2004.
- [52] Agência Nacional de Petróleo. Resolução N° 7 de 19 de março de 2008.
- [53] DE OLIVEIRA, L. C. C.; RIBEIRO, A. S.; BAPTISTA, P. M.; GONÇALVES, R. A.; DE CAMPOS, R. C. Determination of Na, K, Mg and Ca in Biodiesel by LS F AAS and HR-CS F AAS: Studies that Supported the Proposal of the ABNT NBR 15556 Norm. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 23, p. 1400–1408, 2012.
- [54] DE 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**, v. 74, p. 1378-1384, 2008.
- [55] KORN, M.; SANTOS, D.; WELZ, B.; VALE, M.; TEIXEIRA, A.; LIMA, D.; FERREIRA, S. Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels – A review. **Talanta**, v. 73, p. 1–11, 2007.
- [56] BARROS, A. I.; DE OLIVEIRA, A. P.; DE MAGALHÃES, M. R. L.; VILLA, R. D. Determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry, with dissolution in ethanol as a single sample preparation step. **Fuel**, v. 93, p. 381-384, 2012.
- [57] CHAVES, E. S.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C.; CURTIUS, A. J.; VANHAECKE, F. Determination of trace elements in biodiesel and vegetable oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following alcohol dilution. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 66, p.733-739, 2011.
- [58] BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M. Analytical applications of emulsions and microemulsions. **Talanta**, v. 96, p. 11-20, 2012.
- [59] PELIZZETTE, E.; PRAMAURO, E. Analytical Applications of organized molecular assemblies. **Analytica Chimica Acta**, v. 169, p. 1–29, 1985.
- [60] MENDONÇA, C. R. B. **Desenvolvimento de metodologias para análise direta de óleos vegetais empregando microemulsões de água em óleo e meios não aquosos**. Porto Alegre-RS. Programa de Pós-Graduação em Química-UFRGS, 2005. Tese de Doutorado, 206. p.
- [61] DANTAS, T. N. C.; NETO, A. A. D.; MOURA, M. C. P. A.; NETO, E. L. B.; FORTE, K. R.; LEITE, R. H. L. Heavy metals extraction by microemulsions. **Water Research**, v. 37, p. 2709-2717, 2003..
- [62] ROSSI, C. G. F. T.; DANTAS, T. N. C.; NETO, A. A. D.; MACIEL, M. A. M. Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Rev. Univ. Rural. Sér. Ci. Exatas e da Terra**, v. 26, p. 45-66, 2007.

- [63] AMAIS, R. S.; GARCIA, E. E.; MONTEIRO, M. R.; NÓBREGA, J. A. Determination of Ca, Mg, and Zn in biodiesel microemulsions by FAAS using discrete nebulization. **Fuel**, v. 93, p. 167-171, 2012.
- [64] CASTILLO, J. R.; JIMÉNEZ, M. S.; EBDON, L. Semiquantitative simultaneous determination of metals in olive oil using direct emulsion nebulization. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, p. 1515-1518, 1999.
- [65] DE SOUZA, R. M.; MELIANDE, A. L. S.; DA 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. **Microchemical Journal**, v. 82, p. 137-141, 2006.
- [66] LYRA, F. H.; CARNEIRO, M. T. W. D.; BRANDÃO, G. P.; PESSOA, H. M.; DE 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**, v. 96, p. 180-185, 2010.
- [67] CHAVES, E. S.; SAINT' PIERRE, T. D.; DOS SANTOS, E. J.; 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 of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, p. 856-861, 2008.
- [68] AMAIS, 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**, v. 96, p. 146-150, 2010.
- [69] GONCALVES, I. Determination of metals in used lubricating oils by AAS using emulsified samples. **Talanta**, v. 47, p. 1033-1042, 1998.
- [70] BLASCO, J. B. B, GIRUGEDA, M. G. Atomic Absorption Spectrometric Determination of Molybdenum in lubricating oils with use of emulsions. **Analytica Chimica Acta**, v. 174, p. 353-357, 1985.
- [71] SALVADOR, A.; DE LA GURADIA, M.; BERENQUER, V. Determination of the total iron content of used lubricating oils by atomic-absorption with use of emulsions. **Talanta**, v. 30, p. 986-988, 1983.
- [72] PLATTEAU, O.; CARRILLO, M. Determination of metallic elements in crude oil-water emulsions by flame AAS. **Fuel**, v. 74, p. 761-767, 1995.
- [73] CARDARELLI, E.; CIFANI, M.; MECOZZI, M.; SECHI, G. Analytical application of emulsions determination of lead in gasoline by atomic-absorption spectrophotometry. **Talanta**, v. 33, p. 279-280, 1986.
- [74] SAINT'PIERRE, T. D.; DIAS, L. F.; MAIA, S. M.; CURTIUS, A. J. Determination of Cd, Cu, Fe, Pb and Tl in gasoline as emulsion by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry with analyte addition and isotope dilution calibration techniques. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 59, p. 551-558, 2004.

- [75] SAINT'PIERRE, T. D.; DIAS, L. F.; POZEBON, D.; AUCÉLIO, R. Q.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B. Determination of Cu, Mn, Ni and Sn in gasoline by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, and emulsion sample introduction. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 1991–2001, 2002.
- [76] ARANDA, P. R.; GÁSQUEZ, J. A.; OLSINA, R. A.; MARTINEZ, L. D.; GIL, R. A. Method development for Cd and Hg determination in biodiesel by electrothermal atomic absorption spectrometry with emulsion sample introduction. **Talanta**, v. 1001, p. 353-356, 2002.
- [77] MURILLO, M.; BENZO, Z.; MARCANO, E.; GOMEZ, C.; GARABOTO, A.; MARIN, C. Determination of copper, iron and nickel in edible oils using emulsified solutions by ICP-AES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, p. 815-820, 1999.
- [78] BARNES, R. M.; JÚNIOR, D. S.; KRUG, F. J. **Introduction to Sample Preparation for Trace Element Determination**. In: **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis**. Elsevier, 2014. cap. 1, p. 1–58.
- [79] RADZIUK, B.; ROMANOVA, N. P.; THOMASSEN, Y. Evaluation of internal standardisation in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytical Communications**, v. 36, p. 13-16, 1999.
- [80] FELDMAN, F. J.; BLASI, J. A.; SMITH, S. B. Determination of major constituents by atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 41, p. 1095-1097, 1969.
- [81] FELDMAN, F. J. Internal standardization in atomic emission and absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 42, p.719-724, 1970.
- [82] TAKADA, T.; NAKANO, K. Internal standard method in flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 36, p. 735-745, 1981.
- [83] TAKADA, T.; NAKANO, K. Evaluation and application of internal standardization in atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization. **Analytica Chimica Acta**, v. 107, p. 129-138, 1979.
- [84] FERNANDES, K. G., DE MORAES, M.; NETO, J. A. G.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Padronização interna em espectrometria de absorção atômica. **Química Nova**, v. 26, p. 249-252, 2003.
- [85] FERREIRA, S. L.C.; DA SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; MATOS, G. D.; SANTANA, F. A.; KORN, M. G. A.; COSTA, A. C. S. Evaluation and Application of the Internal Standard Technique for the Direct Determination of Copper in Fruit Juices Employing Fast Sequential Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 41, p. 1571-1578, 2008.
- [86] PERONICO, V. C. D.; **Desenvolvimento de procedimentos para o preparo de amostra na determinação de macro- e micronutrientes em plantas oleaginosas por espectrometria de absorção atômica**. Dourados - MS, Programa de Pós-Graduação em Química - UFGD, 2014. Dissertação de Mestrado, 75 p.

- [87] CURRIE, L. A. Detection and quantification limits: origins and historical overview. **Analytica Chimica Acta**, v. 391, p.127-134, 1999.
- [88] RAPOSO, J. D. A. **Determinação simultânea de sódio, potássio e cálcio em biodiesel por espectrometria de emissão atômica com chama utilizando emulsão como preparo das amostras**. Belo Horizonte - MG. Departamento de Química - UFMG, 2010. Dissertação de Mestrado, 94 p.
- [89] BATAGLIA, O. C.; J. GALLO, J. R. Determinação de cálcio e de magnésio em plantas, por fotometria de chama de absorção. **Boletim Científico do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo**, v. 31, p. 59-74, 1972.
- [90] OHLWEILER, O. A. **Química Analítica Quantitativa**. 2a ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976. v. 3. 374 p.
- [91] LIDE, D. R. **Handbook of Chemistry and Physics**. 87a ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. várias pags. p.
- [92] Manual de Garantia da Qualidade Analítica: Resíduos e contaminantes em Alimentos. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011.
- [93] 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. **Microchemical Journal**, v. 117, p.172-177, 2014.
- [94] MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1989. 201 p.