



## ESTUDOS DE CERTIFICAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE Cu E Na EM MATERIAL DE REFERÊNCIA PARA ÁLCOOL ETÍLICO ANIDRO COMBUSTÍVEL.

*Márcia Silva da Rocha (PQ)\*, Lindomar Augusto dos Reis (PQ), Maria Cristina Baptista Quaresma (PQ), Monique Gonçalves de Mello (PQ), Rodrigo Caciano de Sena (PQ).*

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – Inmetro, Laboratório de Análise Inorgânica – Labin, Duque de Caxias, Brasil, \*msrocha@inmetro.gov.br

**Resumo:** Esse trabalho descreve o processo de certificação da concentração de cobre e sódio em um material de referência (MR) para álcool etílico anidro combustível (AEAC). O lote de AEAC, candidato a Material de Referência Certificado, foi envasado em ampolas de 10 mL. Os estudos de homogeneidade, de estabilidade e de caracterização foram realizados de acordo com o ISO Guide 35:2006. As incertezas associadas a cada valor certificado foram estimadas de acordo com o Guia para a Expressão da Incerteza de Medições e o ISO Guide 35:2006. As técnicas analíticas espectrométricas: espectrometria de emissão atômica com chama (FAES), espectrometria óptica com plasma acoplado por indução e nebulizador ultrassônico e membrana dessolvadora (USN-MD-ICP OES) e diluição isotópica em espectrometria de massas com plasma acoplado por indução (ID-ICP-MS) apresentaram alta sensibilidade e seletividade para análise dos metais (cobre e sódio). Com a produção desse MRC espera-se prover rastreabilidade e confiabilidade para os resultados das medições de metais em AEAC realizadas pelos laboratórios nacionais.

**Palavras chave:** Cu, Na, MRC, Etanol Combustível

### INTRODUÇÃO

O bioetanol proveniente da cana-de-açúcar é o combustível renovável mais utilizado no Brasil. Normalmente, o etanol em sua forma hidratada (AEHC: Álcool Etílico Hidratado Combustível) é usado diretamente nos motores como combustível, enquanto que sua forma anidra (AEAC) é empregada como aditivo à gasolina. Um dos fatores importantes na tarefa de introdução de novos combustíveis no mercado é a sua normalização, assim, a qualidade de um combustível depende de certos parâmetros, entre eles o nível de contaminação por metais, que mesmo em baixas concentrações, podem causar a degradação do combustível, corrosão ou formação de depósitos em partes do motor [1].

Esforços analíticos têm sido gastos na busca de técnicas e metodologias altamente sensíveis, capazes de trabalhar com matrizes alcoólicas com analitos em baixas concentrações. Neste contexto, a produção de um MRC para metais em álcool combustível contribui para o

desenvolvimento e validação de novas metodologias que garantam precisão e exatidão nas medições e rastreabilidade aos resultados para a determinação de metais nesse tipo de matriz, bem como no controle da qualidade dessas análises.

As técnicas de USN-MD-ICP OES e FAES foram empregadas nos estudos de certificação da concentração de sódio, enquanto que as técnicas USN-MD-ICP OES e ID-ICP-MS foram utilizadas para os estudos de cobre.

Neste trabalho, são apresentados os resultados dos estudos de homogeneidade, estabilidade e caracterização utilizados na certificação dos valores de referência em relação aos parâmetros Cu e Na em AEAC [2]. O estudo de homogeneidade é necessário na certificação de um lote de MR para demonstrar que as unidades deste lote são suficientemente homogêneas entre si. O estudo de estabilidade tem como objetivo determinar o grau de instabilidade de um candidato a MRC. O material pode ser estável para determinados parâmetros e instável para outros e por conta disto a estabilidade de todos os parâmetros deve ser avaliada. A estabilidade de um MR deve ser estudada durante um período curto (condições de transporte) e outro longo (condições de armazenamento). A caracterização do MR consiste na quantificação dos analitos de interesse, empregando preferencialmente métodos analíticos primários. Na impossibilidade do uso de métodos primários, pode-se realizar a caracterização do MR empregando dois métodos analíticos independentes sob condições de repetitividade [2].

Para garantir a rastreabilidade ao Sistema Internacional de Unidades-SI foram utilizados métodos analíticos validados [3], sendo que os resultados completos de otimização e validação (para cobre) podem ser encontrados em trabalho prévio realizado em nosso laboratório e descrito na literatura [4]. A ISO Guia 35 pressupõe a declaração das incertezas em todas as etapas da preparação do candidato à MRC, portanto, é exigido do produtor de MRC agregar à incerteza dos valores certificados, as parcelas de incertezas referentes à homogeneidade e à estabilidade. Assim, a incerteza padrão combinada para Cu e Na (em AEAC) candidato a MRC, foi estimada pela soma quadrática das parcelas da caracterização, da homogeneidade, e da estabilidade do lote.

## EXPERIMENTAL

### Instrumentação

- ICP OES (marca Jobin Yvon - HORIBA, modelo "Ultima 2") acoplado a uma membrana dessolvadora e nebulizador ultrassônico (marca CETAC, modelo U-6000AT+) foram usados para a quantificação direta de cobre e sódio em AEAC [4].

- ICP-MS do tipo quadrupolo com célula dinâmica de reação (marca PerkinElmer, modelo ELAN DRC II) foi utilizado para a quantificação de cobre em AEAC a partir do método de diluição isotópica (ID) [4].

- FAES (marca PerkinElmer, modelo AAS 800) foi utilizado para quantificação de sódio em AEAC.

- Banho seco (marca Nova Ética) foi usado para a evaporação das amostras alcoólicas e posterior análise nos equipamentos de FAES e de ICP-MS com diluição isotópica.

### Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de alto grau de pureza:

- argônio 99,999%, White Martins, São Paulo, Brasil
- água Tipo 1, Sistema Milli-Q, Millipore, Bedford, USA
- ácido nítrico Merck, subdestilado.
- solução padrão certificada de Cu SRM 3114, NIST ( $9,993 \pm 0,016$ )  $mg\ g^{-1}$ .
- solução padrão certificada do isótopo  $^{65}Cu$  IRMM-632 ( $6,287 \cdot 10^{-6}$ )  $g\ g^{-1}$ .
- solução padrão certificada de Na SRM 3152a, NIST ( $9,949 \pm 0,02$ )  $mg\ g^{-1}$ .
- material de referência padrão NIST SRM 1643e.
- etanol absoluto Merck.

### Produção do lote do candidato a MRC

Cinquenta litros de AEAC foram adquiridos no comércio. Posteriormente, o combustível foi envasado em ampolas de vidro âmbar de 10 mL e um lote candidato a MRC com 3000 ampolas foi selecionado para os estudos de certificação das concentrações de cobre e sódio. Durante a etapa de envase, foram tomados os cuidados necessários para evitar possíveis contaminações do material, já que isto poderia comprometer a homogeneidade do lote.

### Procedimentos de Calibração e preparo das amostras

Os procedimentos de calibração adotados nas determinações dos metais empregando as técnicas de USN-MD-ICP OES (Cu e Na) e ID-ICP-MS (Cu) foram similares aos descritos na literatura [4].

Para as determinações de Na por FAES foram preparadas curvas de calibração (entre  $0,25-1,50\ mg\ kg^{-1}$ ) em  $HNO_3$  subdestilado 2% a partir da solução padrão

certificada do metal. Um volume de 10 mL das amostras de AEAC foi evaporado até a secura em banho seco a  $80\ ^\circ C$ . Posteriormente, foram adicionados  $120\ \mu L$  de  $HNO_3$  concentrado e finalmente 10 mL de água tipo 1.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Otimizações, características analíticas e validação das metodologias

O sistema USN-MD foi acoplado ao ICP OES para a introdução direta do analito (Cu em AEAC) no plasma, sem procedimentos de pré-tratamento das amostras, permitindo minimizar ou eliminar os efeitos de matriz, obtendo alta sensibilidade e baixos limites de detecção. Para as análises de Cu por USN-MD-ICP OES, a potência de radiofrequência e as vazões do gás nebulizador, do gás membrana, do gás auxiliar e da introdução da amostra, foram otimizados. A discussão das otimizações realizadas encontram-se em trabalho anterior [4] e os valores utilizados e considerados mais adequados encontram-se resumidos nas tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Parâmetros instrumentais: USN-MD-ICP OES

Parâmetros	
<i>Plasma</i>	
RF: W	1400
Vazão de introdução da amostra: $mL\ min^{-1}$	1,0
Comprimento de onda: nm	324,754 (Cu) 589,592 (Na)
Gás Plasma: $L\ min^{-1}$	16
Gás Auxiliar: $L\ min^{-1}$	1,4
Modos de aquisição	Altura de pico
Número de pontos por medida	5
Número de pontos usados no cálculo	3
Tempo de integração: s	2
Tempo de estabilização: s	15
<i>USN-MD</i>	
Temperatura do nebulizador: $^\circ C$	140
Temperatura da membrana: $^\circ C$	160
Temperatura de resfriamento: $^\circ C$	-10
Vazão do gás nebulizador: $L\ min^{-1}$	0,60
Vazão do gás membrana: $L\ min^{-1}$	1,0

As condições experimentais selecionadas do ICP-MS encontram-se na Tabela 2. O equipamento foi otimizado usando o software na função "Daily Performance". As espécies de óxido ( $CeO^+/Ce^+$ ) e a razão de dupla carga ( $Ba^{2+}/Ba^+$ ) foram limitadas em menos que 3 %.

**Tabela 2. Condições experimentais: ICP-MS**

Parâmetros	
Rf: W	1100
Vazão do gás nebulizador: L min <sup>-1</sup>	0,93
Vazão do gás auxiliar: L min <sup>-1</sup>	1,04
Vazão de introdução da amostra: mL min <sup>-1</sup>	1,0
Câmara de nebulização	ciclônica
Cone "Skimmer"	Pt
Cone "sampler"	Pt
Nebulizador	Meinhard
Isótopos	<sup>63</sup> Cu, <sup>65</sup> Cu

A Tabela 3 apresenta as condições experimentais utilizadas na técnica de espectrometria de emissão atômica no modo chama para análise de Na.

**Tabela 3. Condições experimentais: FAES**

Parâmetros	
Ar/Acetileno: L min <sup>-1</sup>	17,0/2,0
Comprimento de Onda: nm	589,0
Nebulizador: mL min <sup>-1</sup>	3
Fenda: nm	0,2

As características analíticas das metodologias desenvolvidas seguiram critérios das orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos – Inmetro [3].

As características de sensibilidade do método foram avaliadas utilizando o conceito de limite de detecção (LD), através da curva de calibração, conforme Equação 1:

$$LD = 3 \frac{s}{b} \quad (1)$$

onde:

s=desvio-padrão do sinal do branco

b=coeficiente angular ou inclinação, obtido através da curva de calibração.

O limite de detecção para Cu foi de 0,1 µg kg<sup>-1</sup> (USN-MD-ICP OES) e 16,0 µg kg<sup>-1</sup> (FAES) para Na. A repetitividade da metodologia USN-MD-ICP OES foi expressa como desvio padrão relativo (RSD), com valores entre 2-5 % para cobre e sódio. Já para a metodologia FAES a repetitividade obtida foi de 0,39 % para o sódio.

Uma vez otimizadas as condições analíticas e estabelecidas as figuras de mérito mais relevantes, as metodologias FAES (para Na) e USN-MD-ICP OES (para Cu) foram validadas através da comparação de resultados utilizando um segundo método analítico independente.

Para tanto, a metodologia USN-MD-ICP OES foi usada para validar a metodologia FAES (para o analito Na), enquanto que a ID-ICP-MS foi usada para validar a metodologia MD-USN-ICP OES (para o analito Cu). A ID-MS é reconhecida pelo Comité Consultatif pour la Quantité

Matière (CCQM) como método primário de medição, possuindo as mais elevadas propriedades metrológicas cuja operação pode ser completamente descrita e compreendida, e para o qual se estabelece uma estimativa completa da incerteza de medição em termos de unidades do Sistema Internacional de Unidades (SI) [5].

### Certificação do Material de Referência

Com as metodologias USN-MD-ICP OES e FAES otimizadas e validadas, procederam-se os estudos de homogeneidade, estabilidade e caracterização para a certificação dos parâmetros Cu e Na em AEAC.

### Estudo de homogeneidade

O estudo de homogeneidade é necessário na certificação de um lote de MR para demonstrar que as unidades deste lote são suficientemente homogêneas entre si em relação a uma determinada propriedade. O número de amostras para este estudo deve ser representativo de todo lote e dependerá do tamanho do lote. Desta forma, foram selecionadas aleatoriamente 30 ampolas do lote produzido de material candidato a MR de AEAC.

A incerteza associada a esse estudo foi estimada a partir de análise de variância (ANOVA), fator único [2], sendo o resultado da incerteza obtida através da Equação 2

$$u_{\text{hom(bb)}} = \sqrt{\frac{MQ_{\text{entre}} - MQ_{\text{dentro}}}{n}} \quad (2)$$

$u_{\text{hom(bb)}}$ =incerteza da homogeneidade entre as unidades

$MQ_{\text{dentro}}$ =variação dentro das unidades

$MQ_{\text{entre}}$ =variação entre as unidades

n=número de replicatas

Os resultados dos estudos de homogeneidade são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4. Estudo de Homogeneidade**

Metal	Técnica Analítica	Incerteza da Homogeneidade ( $u_{\text{hom}}$ )
Cu	USN-MD-ICP OES	2,15 %
Na	FAES	3,52 %

### Estudo de estabilidade longa duração

O estudo de estabilidade de longa duração teve o objetivo de avaliar o comportamento do MR em situações de armazenamento. Este estudo foi realizado à temperatura de 20 °C durante o período de dez meses, sendo duas ampolas do material candidato à certificação analisadas a cada intervalo de dois meses (Tabela 5). A temperatura de referência para esse estudo foi de 4 °C, na qual se assumiu que o MR não sofreu nenhum tipo de degradação ao longo do estudo.

**Tabela 5. Estudo de estabilidade de longa duração**

Modelo de estudo de estabilidade	Clássico
Tempo total de estudo	10 meses
Periodicidade das análises	bimestral
Temperatura de referência	4 °C
Temperatura estudada	20 °C
Número total de unidades estudadas	24
Número de unidades estudadas em cada tempo	2
Número de replicatas para cada unidade	7
Técnica estatística de cada avaliação	regressão linear
O material de referência está estável	sim

A estabilidade do material foi avaliada por meio de análise por regressão [2], sendo a incerteza do estudo obtida através da equação 3.

$$u_{\text{est}} = s(b_1)t \quad (3)$$

$u_{\text{est}}$  = incerteza inerente à estabilidade  
 $s(b_1)$  = incerteza associada à inclinação  
 $t$  = tempo de validade do MRC

Sendo  $s(b_1)$  obtido através da equação 4,

$$s(b_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad (4)$$

$s$ =desvio padrão dos valores da propriedade em certificação em relação à curva

$x_i$ =tempo  $i$

$\bar{x}$ =média dos tempos  $i$

Os resultados dos estudos de estabilidade longa para as amostras de AEAC, candidato à Material de Referência encontram-se na Tabela 6.

**Tabela 6. Estudo de estabilidade longa duração**

Metal	Técnica Analítica	Incerteza da estabilidade longa ( $u_{\text{est}}$ )
Cu	USN-MD-ICP OES	0,30 %
Na	FAES	0,90 %

### Estudo de Caracterização

No estudo de caracterização é determinado o valor nominal do parâmetro a ser certificado, sendo levadas em consideração todas as fontes de incerteza desta determinação. Na Tabela 7 são apresentados os resultados deste estudo. O valor da caracterização da concentração de Cu foi confirmado empregando a técnica de ID-ICP MS, enquanto que o da concentração de Na foi confirmado com a técnica de USN-MD-ICP OES.

**Tabela 7. Estudo de Caracterização**

Metal	Técnica Analítica	Valor da Caracterização	Incerteza da Caracterização ( $u_{\text{car}}$ )
Cu	USN-MD-ICP OES	149,10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	1,11 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Na	FAES	824,80 $\mu\text{g kg}^{-1}$	9,50 $\mu\text{g kg}^{-1}$

As fontes de incerteza consideradas em ambas as técnicas foram: curva de calibração, diluição do padrão, incerteza associada à repetitividade do equipamento e incerteza associada com a diluição da amostra.

### Atribuição dos valores de referência certificados

A incerteza padrão combinada ( $u_c$ ) e a incerteza expandida ( $U_{\text{MRC}}$ ) associada a cada valor certificado foram determinadas conforme as equações 5 e 6:

$$u_c = \sqrt{u_{\text{hom}}^2 + u_{\text{est}}^2 + u_{\text{car}}^2} \quad (5)$$

$$U_{\text{MRC}} = k \cdot u_c \quad (6)$$

Onde,  $k$  = fator de abrangência (valor igual a 2) e 95 % de grau de confiança.

Na Tabela 8 são apresentados os valores dos parâmetros certificados com suas respectivas incertezas expandidas.

**Tabela 8. Valores Certificados**

Metal	Valor Certificado	Incerteza Expandida ( $U_{\text{MRC}}$ )
Cu	149,10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	6,83 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Na	824,80 $\mu\text{g kg}^{-1}$	62,80 $\mu\text{g kg}^{-1}$

## CONCLUSÕES

Mediante os estudos de certificação, o material mostrou-se homogêneo e estável por 18 meses. Com os estudos de homogeneidade, estabilidade e caracterização foi possível certificar as amostras de álcool etílico anidro combustível em relação aos parâmetros de Cu e Na. O material de referência certificado (AEAC) contribuirá diretamente para a melhoria da qualidade do etanol produzido no Brasil resultando na obtenção de um combustível com elevada qualidade para o consumo, minimizando as emissões veiculares e conseqüentemente reduzindo a poluição local.

## AGRADECIMENTOS

MDIC, FINEP e à FAPERJ pelo suporte financeiro e de bolsas.

## REFERÊNCIAS

- [1] M. G. A. Korn, D. S. S. Santos, B. Welz, M. G. R. Vale, A. P. Teixeira, D. C. Lima and S. L. C. Ferreira, *Talanta*, 73 (2007) 1-11.
- [2] International Organization for Standardization, "ISO 35:2006 Reference materials – General and statistical principles for certification".
- [3] Orientação sobre validação de métodos analíticos, Documento de caráter orientativo, DOQ-CGCRE-008, Revisão 03 Fev/2010. Inmetro.
- [4] Rocha, M. S.; Mesko, M. F.; Silva, F. F.; Sena, R. C.; Quaresma, M. C. B., Araújo, T. O.; Reis, L. A. "Determination of Cu and Fe in fuel ethanol by ICP OES using direct sample introduction by an ultrasonic nebulizer and membrane desolvator", *Anal. At. Spectrom.*, 26 (2011) 456-461.
- [5] Comité Consultatif pour la Quantité de Matière de Matière in Rapport de la 1ère session; BIPM (Ed.), Pavillon de Breteuil, F-92312 Sèvres Cedex, France, 1995.