

Lucas Quintal

Caracterização de Uísque para produção de candidato a material de referência

Monografia apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em química.

Orientador: Igor Renato Bertoni Olivares

São Carlos

2015

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, amigos e professores que foram capazes de aceitar e conviver com minhas terríveis imperfeições e falhas.

Agradecimentos

Este trabalho contou com a ajuda de diversas pessoas, então, gostaria de expressar o quanto sou grato por quem ajudou de forma direta ou indireta. Espero não me esquecer de ninguém, porém, se isto ocorrer, peço minhas sinceras desculpas.

Gostaria de começar agradecendo meu orientador, Igor Renato Bertoni Olivares, que me acolheu em seu laboratório apesar de meu demérito acadêmico e Danieli Cristina Marcki por me ceder parte de seu trabalho de mestrado para que eu pudesse concluir a graduação em química.

Agradeço também todo o pessoal do Research in Quality Assurance for Laboratories (RQALabs) pela companhia durante este tempo que passei realizando a monografia: Ricardo dos Santos Camargo, Eduardo Quaresma Júnior, Heloisa de Campos Camargo e Prof. Dr. Vitor Hugo Polisél Paccès.

Agradeço ao Laboratório Nacional Agropecuário do Estado de São Paulo (Lanagro-SP) pelos padrões doados, à Elias Paiva Ferreira Neto e à prof. Dra. Eny Maria Vieira pelo etanol, ao prof. Dr. Eduardo Bessa Azevedo pelas vidrarias e ao prof. Dr. Álvaro José dos Santos Neto pelo padrão de acetato de etila e auxílio teórico.

Agradeço também aos funcionários da CAQI que me auxiliaram, em especial a Paulo Jorge Marques Cordeiro.

Não poderia me esquecer de agradecer meus queridos amigos da turma 08 que me prestaram valiosos conselhos durante o andamento deste projeto: Anderson Luigi Luiz, Giorgio Gianini Morbioli, Mateus Batista Simões, Marcio David Bocelli, entre outros que não poderei citar senão teria que escrever o nome de 90% da minha turma.

Aos que ajudaram indiretamente me aguentando ou oferecendo sua amizade nas horas que precisei, agradeço: Marcos Vinicius Faria, Eli Valter Faria Junior, Alfredo Scunderlick Neto, Gabriela De Nadai, Vinicius Daniel Felix, Lucas Daniel Felix, Giovanni Andrade e Murilo Brunheira.

Gostaria de agradecer Gabriel Muniz Morão (turma 010) e principalmente, Thiago Brugnaro Montezelo (turma 012), os “bixos” que acabei adotando no curso de química e que mostraram como pode ser difícil o relacionamento entre pessoas

de outras épocas e como a paternidade é, muitas vezes, um trabalho ingrato. Muito obrigado pelas lições, jamais esquecerei.

Por fim, agradeço meus pais e cada brasileiro, pois graças a vocês pude me formar em uma das melhores universidades da América Latina.

Aos que esqueci, reconheço que não existe pessoa com mais falhas do que eu e, se de alguma forma ofendi alguém, peço que me perdoe. Assim, deixo o meu mais cálido agradecimento pela amizade que não soube reconhecer e dar valor.

Resumo

De acordo com a ISO Guia 34, Materiais de Referência (MR) podem ser definidos como materiais suficientemente homogêneos e estáveis em relação a uma ou mais propriedades específicas que podem ser usados para calibração de um sistema de medidas, comparações interlaboratoriais, validação de um método, atribuição de valores de propriedades a outros materiais e controle de qualidade. No Brasil, há uma grande demanda de Materiais de Referência e Materiais de Referência Certificados para aplicação no controle de qualidade de métodos para análise de alimentos e bebidas, uma vez que estas matrizes são amplamente monitoradas para avaliar se suas características atendem os parâmetros de qualidade internacionais e nacionais estabelecidos por entidades como o MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Considerando as diferentes etapas para produção de um MR, este trabalho visa a realização da etapa de caracterização para produção de um MR de uísque, uma vez que este produto tem apresentado um crescimento exponencial de consumo nos últimos anos sendo amplamente monitorado pelos laboratórios os quais necessitam de um MR para o controle de qualidade de rotina dos ensaios. O objetivo da caracterização é o de fornecer valor de propriedade e, para isso, foram seguidas as normas ISO Guia 34 e 35. Desta maneira, a matriz foi diluída gravimetricamente com padrão interno e a análise foi realizada por injeção direta sendo utilizada a Cromatografia Gasosa com detector por ionização de chama (CG-DIC). A fração mássica de cada analito foi determinada pela curva de calibração e depois fez-se o cálculo das incertezas associadas.

Palavras-chave: material de referência, material de referência certificado, uísque.

Lista de Figuras

Figura 1 - Laboratórios acreditados no Brasil por diferentes Sistemas de Gestão com base no cadastro do INMETRO; para 2013 foram considerados os dados disponíveis até a data de 17/06/2013 (a RBC corresponde a Rede Brasileira de Calibração e RBLE a Rede Brasileira de Laboratórios e Ensaios).....	10
Figura 2 - Analytical Quality Assurance Cycle.....	11
Figura 3 - Categorias de MR de interesse de laboratórios nacionais.....	14
Figura 4 - Importação de Uísque do Reino Unido pelo Brasil em milhões de Libras por ano.	15
Figura 5 – Fluxograma do método utilizado.	20
Figura 6 – Cromatograma da amostra multielementar mostrando a separação dos analitos.....	21
Figura 7 – Curva de calibração do acetaldeído para análise de background.....	24
Figura 8 – Curva de calibração do metanol para análise de background.....	24
Figura 9 – Curva de calibração do 2-butanol para análise de background.	25
Figura 10 – Curva de calibração do propanol para análise de background.	25
Figura 11 – Curva de calibração do 2-metilpropan-1-ol para análise de background.	26
Figura 12 – Curva de calibração do n-butanol para análise de background.	26
Figura 13 – Curva de calibração do 3-metilbutan-1-ol para análise de background..	27
Figura 14 – Curva de calibração do acetaldeído.....	33
Figura 15 – Curva de calibração do acetato de etila.....	34
Figura 16 – Curva de calibração do metanol.....	35
Figura 17 – Curva de calibração do 2-butanol.....	36
Figura 18 – Curva de calibração do propanol.....	38
Figura 19 – Curva de calibração do 2-metilpropan-1-ol.	39
Figura 20 – Curva de calibração do n-butanol.....	40
Figura 21 – Curva de calibração do 3-metilbutan-1-ol.....	41

Figura 22 – Diagrama geral de Ishikawa (causa e efeito) para os analitos presentes no candidato a MRC de uísque.	44
Figura 23 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do acetaldeído presente no candidato a MRC.	47
Figura 24 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do acetato de etila presente no candidato a MRC.	48
Figura 25 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do metanol presente no candidato a MRC.	49
Figura 26 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do 2-butanol presente no candidato a MRC.	51
Figura 27 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do propanol presente no candidato a MRC.	52
Figura 28 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do 2-metilpropan-1-ol presente no candidato a MRC.	53
Figura 29 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do n-butanol presente no candidato a MRC.	54
Figura 30 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do 3-metilbutan-1-ol presente no candidato a MRC.	55

Sumário

1 Introdução.....	8
2 Objetivo	18
3 Materiais e Métodos	19
3.1 Equipamentos	19
3.2 Reagentes	19
3.3 Método	19
4 Resultados e Discussões	21
5 Conclusão	57
6 Referências Bibliográficas	58

1 Introdução

Antes do início da era industrial, a produção era praticamente toda de responsabilidade do artesão, desde a concepção do produto até seu pós-venda. O artesão era próximo de seu cliente e tentava se adequar às suas necessidades, porém não se preocupava com aspectos modernos da qualidade como: confiabilidade, conformidade, metrologia, tolerância e especificação.¹

Com a Revolução Industrial, entrou em vigor uma nova ordem produtiva em que a customização, fruto dos esforços do artesão para atender as expectativas de seu cliente, foi substituída pela padronização e produção em larga escala.¹

O modelo ideal de produção foi baseado na linha de montagem, onde o trabalho foi fragmentado e as necessidades do cliente não eram direcionadoras da concepção do produto, entretanto, este modelo impulsionou o desenvolvimento de áreas como a metrologia, para garantir a intercambialidade de peças.¹

Na primeira metade do século XX foram introduzidas técnicas de amostragem e conceitos de estatística à realidade produtiva das indústrias. Neste mesmo período, a importância do engajamento dos trabalhadores no processo de produção passou a ser considerado, porém, apenas tornou-se importante para o controle de qualidade após a Segunda Guerra Mundial (1939-1945) quando vários pesquisadores, entre eles William Edwards Deming e Joseph M. Juran, foram ao Japão ajudar na reestruturação do setor no país e incorporaram este conceito às suas teorias.^{1,2}

Juran é tido como o segundo revolucionário da qualidade depois de Deming e seu livro *Quality Control Handbook*³ é considerado por muitos como a mais importante obra sobre qualidade.

Hoje, a qualidade está intrinsecamente ligada à percepção de excelência nos serviços – que se relaciona intimamente ao elemento humano.²

De acordo com Juran, o conceito de qualidade pode ser definido de várias formas, porém possui duas definições essenciais.

Na primeira, qualidade é vista como um conjunto de características presentes em um produto que atendem às necessidades do cliente e promovem sua satisfação, ou seja, maior qualidade leva à maior custo.⁴

Na segunda, qualidade é considerada ausência de defeitos que levam ao re-trabalho ou à insatisfação dos clientes, ou seja, maior qualidade leva à menor custo.⁴

Esta dualidade apresentada por Juran é resolvida definindo-se qualidade como “adequação ao uso”, ou seja, agrega-se valor ao produto reforçando as qualidades que levariam a maior satisfação do cliente e se reduzem as falhas que causariam insatisfação. Isto está associado à relação entre a necessidade e a expectativa do cliente em relação a um determinado produto, assim, o cliente compra um produto por necessidade e se fideliza a uma marca por ser a que melhor atende suas expectativas.⁴

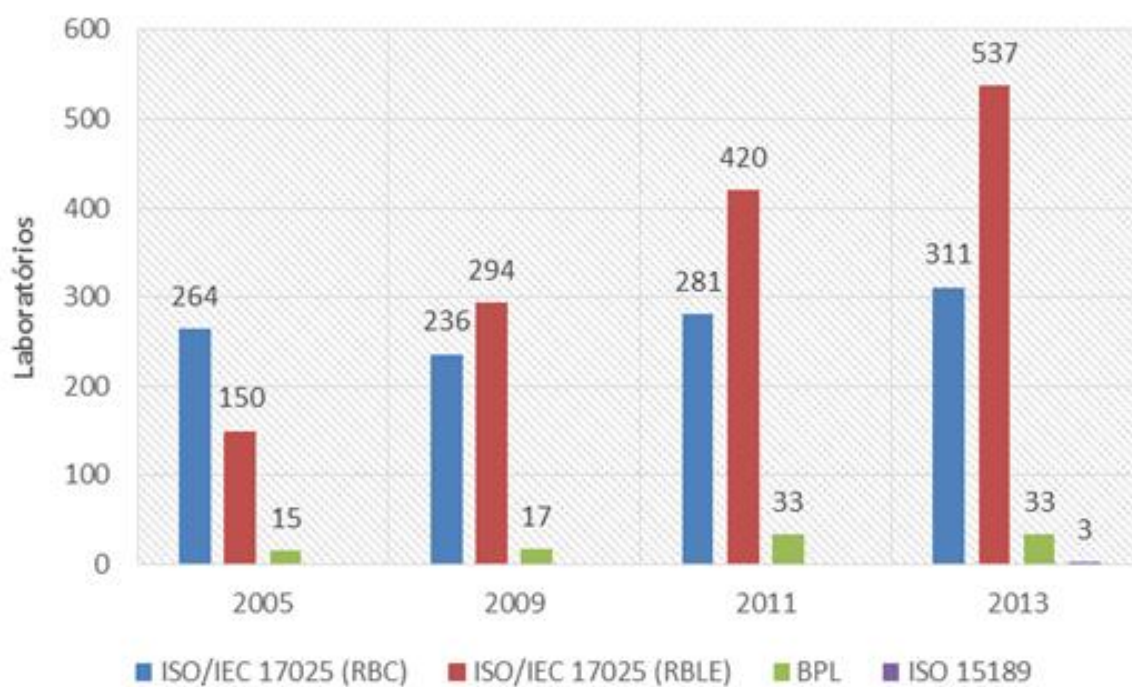
Nos laboratórios esse conceito está ligado principalmente à confiabilidade e rastreabilidade dos resultados, que pode ser obtida pela aplicação de um sistema de gestão da qualidade.

Um sistema de gestão da qualidade fornece ferramentas que permitem gerenciar todos os fatores que possam afetar a qualidade de um laboratório, utilizando procedimentos documentados para que essas ferramentas sejam aplicadas de forma adequada e sempre da mesma forma.⁴

Há normas específicas para regulamentar as diretrizes para implantação de um sistema de gestão da qualidade em laboratórios. As mais utilizadas no Brasil são a ISO/IEC 17025⁵ e BPL⁶ (Boas Práticas de Laboratório).

A adoção de um sistema de gestão da qualidade e acreditação são voluntárias, no entanto, órgãos nacionais como o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), ANA (Agência Nacional de Águas), IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente), exigem a acreditação dos laboratórios que lhes prestam serviços. Esta exigência tem levado a um aumento dos laboratórios acreditados no Brasil, como pode ser visto na Figura 1.

Figura 1 - Laboratórios acreditados no Brasil por diferentes Sistemas de Gestão com base no cadastro do INMETRO; para 2013 foram considerados os dados disponíveis até a data de 17/06/2013 (a RBC corresponde a Rede Brasileira de Calibração e RBLE a Rede Brasileira de Laboratórios e Ensaios).



Fonte: OLIVARES, I. R. B. Gestão de Qualidade em Laboratórios. 3 ed. Campinas: Átomo, 2015. p. 10.

Esta realidade tem abrangência global, inúmeros países apresentam suas próprias exigências quanto à obrigatoriedade na aplicação de sistemas de gestão da qualidade para laboratórios, visando garantir confiabilidade aos resultados analíticos, principalmente pelo fato de que os efeitos de um resultado analítico podem ter grande impacto, seja para área ambiental, farmacêutica, forense, análises clínicas, alimentos, etc.⁴

A ISO/IEC 17025 apresenta requisitos de gestão relacionados ao funcionamento do sistema de gestão da qualidade e requisitos técnicos, relacionados ao método, calibração dos equipamentos, pessoal, etc.

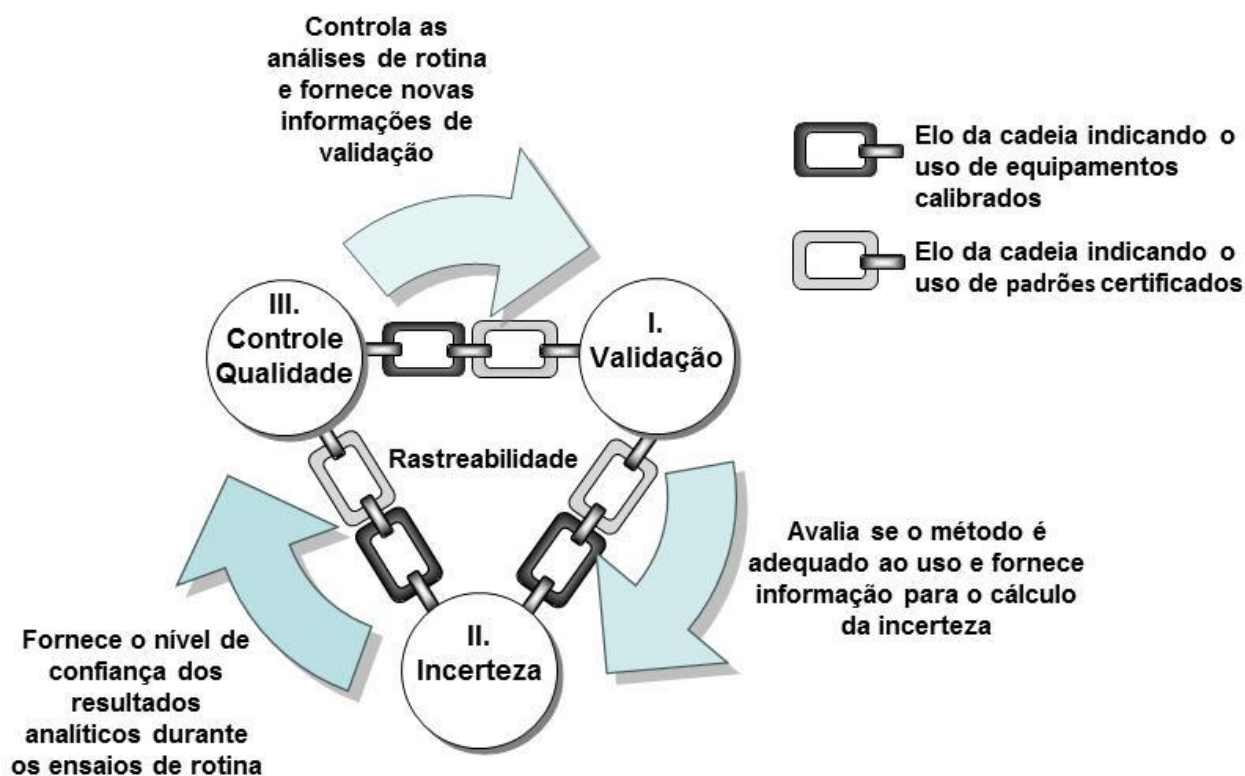
Entre os requisitos técnicos podem ser destacados três que são considerados essenciais para a confiabilidade e rastreabilidade dos resultados (os quais também se relacionam entre si), conforme apresentado na Figura 2, através do AQAC (Analytical Quality Assurance Cycle)⁷:

1. Validação do método: avalia se um método é adequado ao uso a que se pretende.

2. Estimativa da incerteza: avalia o nível de confiança de um resultado podendo utilizar os dados obtidos na etapa de validação.

3. Controle de qualidade: monitora continuamente o método bem como a qualidade dos resultados dos ensaios obtidos a cada batelada. Ao se analisar uma amostra com quantidade conhecida de analito (um Material de Referência por exemplo), é possível avaliar-se a exatidão de uma medida e, a longo prazo, a precisão intermediária que é um parâmetro da validação utilizado no cálculo de incerteza.

Figura 2 - Analytical Quality Assurance Cycle.



Fonte: OLIVARES, I. R. B.; LOPES, F. A. Essential steps to providing reliable results using the Analytical Quality Assurance Cycle. Trends in Analytical Chemistry (Regular ed.). , v.35, p.109–121, 2012.

No que se refere ao Controle de Qualidade, existem os controles interlaboratorial e intralaboratorial.

O controle interlaboratorial é baseado em ensaios de proficiência, ou seja, o desempenho do laboratório é determinado por meio de comparação interlaboratorial. No entanto, ensaios de proficiência são caros e demorados o que leva os laborató-

rios a aplicarem os controles intralaboratoriais, tais quais amostras fortificadas, amostras brancas, material de referência e/ou material de referência certificado.⁴

As amostras brancas apenas identificam possíveis contaminações do método não fornecendo informações quanto à precisão ou exatidão. As amostras fortificadas são preparadas no próprio laboratório e estão sujeitas ao erro do analista, além de muitas vezes não representar a amostra com contaminação natural devido à interação analito/matriz. Desta maneira, o ideal é a aplicação de materiais de referência e/ou materiais de referência certificado que se apresentam como ferramentas essenciais para o controle da qualidade.

O uso de materiais de referência (MR) e materiais de referência certificados (MRC) é determinado pela norma ISO/IEC 17025⁵ e seus parâmetros e modo de produção são estabelecidos pelas ISO Guide 30-35.⁸⁻¹²

De acordo com a ISO Guide 34, Materiais de Referência podem ser definidos como materiais suficientemente homogêneos e estáveis em relação a uma ou mais propriedades específicas que podem ser usados para calibração de um sistema de medidas, comparações interlaboratoriais, validação de um método, atribuição de valores de propriedades a outros materiais e controle de qualidade.¹¹

Materiais de Referência Certificados são definidos como materiais caracterizados por procedimentos metrológicos válidos definidos pelas ISO Guide 34 e 35 para uma ou mais propriedades, que são acompanhados por certificados que fornecem os valores específicos das propriedades especificadas, suas incertezas associadas e rastreabilidades metrológicas.^{11,12}

No que se refere ao MRC, rastreabilidade metrológica é definida como uma propriedade da medida cujo resultado pode ser relacionado a uma referência por uma cadeia contínua e documentada de calibrações, sendo que cada etapa dessa cadeia contém sua incerteza associada.¹¹

Segundo a ISO Guide 35, para o desenvolvimento de um candidato à MRC, deve-se passar por quatro importantes etapas: caracterização, estabilidade, homogeneidade e cálculo da incerteza expandida do MRC.

No presente trabalho será realizada apenas a etapa de caracterização, que é definida como processo de determinação dos valores de propriedade de um material de referência como parte do processo de certificação, onde os valores de propriedade são considerados uma quantidade que representa uma propriedade física, química ou biológica de um material.¹²

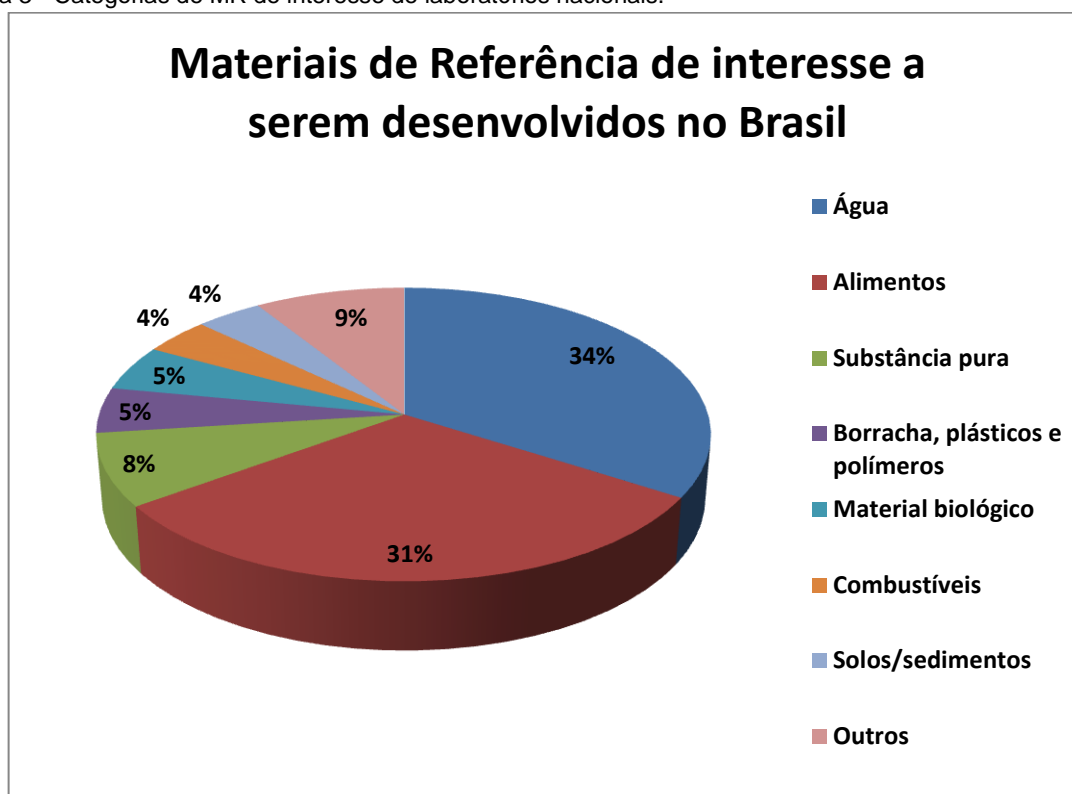
A preocupação com a confiabilidade das medidas químicas sempre foi de interesse dos Institutos Nacionais de Metrologia de diferentes países.

Em 2012, o INMETRO decidiu criar a Rede de Metrologia Química do Inmetro (Remeq-I) considerando ser necessário estabelecer sistemas de coordenação e cooperação em metrologia química que visem à integração das competências dos diversos atores e a melhor utilização dos recursos e infraestrutura disponíveis no país visando apoiar as empresas brasileiras para responder aos desafios de qualidade, competitividade e inovação do setor industrial e do comércio exterior, bem como de aumentar a confiabilidade dos resultados das medições. Nesta mesma portaria, se destaca que os Materiais de Referência são as principais ferramentas para a área de metrologia química e que existe no Brasil uma demanda metrológica reprimida, com destaque para o desenvolvimento e a produção destes materiais, exemplificada pelos resultados do "Estudo de Prospecção de Demanda Metrológica junto ao Setor Químico", sendo assim um dos objetivos principais desta rede incentivar a produção de MR e MRC.¹³

Este estudo de prospecção de demanda por MR e MRC e Ensaio de Proficiência em laboratórios de ensaios químicos realizado pelo INMETRO em 2012 cuja pergunta era "Que material de referência, inédito ou não, sua instituição/laboratório gostaria que fosse produzido no Brasil?", mostrou que 70% dos laboratórios que responderam ao questionário aplicado utilizavam algum tipo de Material de Referência, dentre eles, 82% eram certificados.¹⁴

O estudo ainda apontou que a maioria dos MR/MRC utilizados era de origem importada (80%) e que a produção de MR/MRC nacional é uma grande necessidade do mercado, como é mostrado na Figura 3, onde há uma grande demanda de MR/MRC para alimentos, os quais também são de grande interesse ao MAPA, devido ao seu programa de monitoramento da qualidade de alimentos.¹⁴

Figura 3 - Categorias de MR de interesse de laboratórios nacionais.



Fonte: Rede de Metrologia Química do Inmetro – Remeq-I. Disponível em: <http://www2.inmetro.gov.br/remeq-i/>. Acesso em: março de 2015.

Entre os diferentes produtos monitorados pelo MAPA, o uísque merece destaque devido ao seu grande volume de importação e inúmeras fraudes identificadas neste produto.

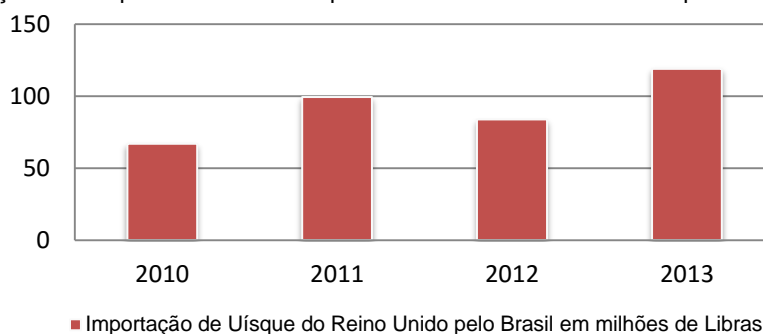
Segundo a Portaria Nº 65, de 23 de Abril de 2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o uísque (whisky ou whiskey) refere-se a uma vasta categoria de bebidas alcoólicas que são destilados simples de cereais envelhecidos com teor alcoólico entre 38% e 54%, parcial ou totalmente maltados, podendo ser adicionados de álcool etílico potável de origem agrícola ou de destilado alcoólico simples de cereais, bem como água para redução de graduação alcoólica e caramelo para correção de cor.¹⁵

A demanda por uísque escocês de mercados maduros e emergentes em todo o mundo cresceu fortemente, conforme apresentado pela Scotch Whisky Association em seu relatório anual de exportações que demonstra um rápido crescimento em toda a América do Sul e Central. O Brasil registrou um crescimento de 42% entre 2012 e 2013 tornando-se o quinto maior importador em volume e o décimo maior

importador em valor.¹⁶ Destaca-se que o agronegócio no Brasil responde por 33% do PIB, 42% das exportações totais e 37% dos empregos no país e há uma previsão de expansão, desta maneira, notoriamente sua economia está baseada no agronegócio exportador, assim só poderá se manter e expandir suas exportações (bebidas e alimentos) sendo competitivo e adequando o produto nacional às exigências do mercado internacional.¹⁷

O aumento de renda e do refino do consumo dos brasileiros tem como resultado um incremento na importação de uísque escocês. O Brasil é o país com maior aumento nas compras das garrafas oriundas das tradicionais destilarias do Reino Unido e verifica-se um crescente volume nas importações ano após ano, conforme apresentado na Figura 4.¹⁶

Figura 4 - Importação de Uísque do Reino Unido pelo Brasil em milhões de Libras por ano.



Fonte: Instituto Brasileiro de Pesquisa e Estatística. Brasil em Números. Disponível em: <http://www.biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/monografias/GEBIS%20-%20RJ/brasilnumeros/Brasil_numeros_v20_2012.pdf> . Acesso em : março 2015.

Além do grande volume importado, o Departamento de Qualidade em Alimentos e Bebidas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) contabiliza 45 produtores e 12 fabricantes de uísque cadastrados espalhados pelo país.¹⁸

Também são crescentes os números de apreensões de bebidas falsificadas e adulteradas realizadas pela Polícia Federal e demais Órgãos. Geralmente, a bebida alcoólica falsificada não possui álcoois superiores, que contem cadeias carbônicas diferenciadas e garantem sabor e qualidade ao produto.

O álcool de boa qualidade é resultado da decomposição de cereais, mas há falsificações que usam tipos de álcool impróprio para o consumo e que representam

risco à saúde. Podem até, em casos extremos, causar danos irreversíveis ao organismo.

Entre as bebidas alcoólicas, o uísque é o principal alvo das falsificações devido ao alto preço que o produto alcança no mercado. O uísque falso normalmente tem álcool etílico, éter, iodo e corantes, podendo conter até analgésicos, dentre outros compostos inapropriados para o produto.

A tabela 1 apresenta os limites máximos estabelecidos de alguns analitos em uísque. Nesta mesma tabela também é apresentado os limites máximos para a cachaça. A cachaça foi utilizada como referência uma vez que existe disponível MRC no INMETRO para esta matriz e o método de análise desta matriz é similar ao do uísque. No entanto, pode ser observado que além da cachaça ser uma matriz diferente, apesar de ser classificada como uma bebida destilada, os limites de concentrações dos analitos exigidos pela Portaria N^o 65 de 23 de abril de 2008 do MAPA, que estabelece diretrizes para os valores máximos de alguns analitos referente aos padrões de identidade e qualidade em destilados e derivados, são diferentes dos do uísque. Além disso, o MRC da cachaça não apresenta todos os analitos exigidos para o uísque, ratificando o fato do MRC da cachaça não poder ser utilizado para controle da qualidade nas análises de uísque.¹⁵

Tabela 1 - Comparação entre MRC para cachaça, MRC para uísque e valores e analitos definidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para produção de uísque.^{15,19,20}

Analito	MRC Cachaça (INMETRO)	Cachaça (Limites MAPA)	MRC Uísque (Fapas)	Uísque (Limites MAPA)
	Concentração (mg/100 mL de cachaça)	Concentração máxima permitida (mg/100 mL de álcool anidro)	Concentração (mg/100 mL de álcool anidro)	Concentração máxima permitida (mg/100 mL de álcool anidro)
Álcool metílico	8,67	20	8,34	20
Acetato de etila	não especificado	200	30,4	150
Aldeído acético	não especificado	30	4,97	20
2-butanol	3,92		não especificado	

Butanol	1,23	360	não especificado	300
Propanol	27,8		9,15	
2-metilpropan-1-ol	22,7		32,6	
2-metilbutan-1-ol	não especificado		143	
3-metilbutan-1-ol	não especificado		não especificado	
Furfural	não especificado	5	não especificado	5
Acidez volátil	não especificado	150	não especificado	150

Nota-se, também, a existência de MRC produzido pelo Fapas (Food Analysis Performance Assessment Scheme) no entanto este material, além de não possuir todos os analitos exigidos, estes se encontram em concentração distantes aos Limites estabelecidos e somado a isso, destaca-se o elevado custo e as dificuldades encontradas nos tramites de importação que podem encarecer ainda mais o MRC.¹⁹

Com base nas considerações supracitadas, destaca-se que o desenvolvimento do processo de produção de MRC é de grande interesse nacional, sendo o uísque um excelente candidato devido às necessidades do programa de monitoramento deste produto no Brasil e da demanda de seu MRC através de um processo que seja célere e seguro.

2 Objetivo

O objetivo deste trabalho foi realizar a etapa de caracterização de uísque para desenvolvimento de um candidato a material de referência através das técnicas de cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (CG/DIC) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM).

3 Materiais e Métodos

3.1 Equipamentos

Foram utilizados equipamentos do RQALabs (Research in Quality Assurance for Laboratories) e da CAQI (Central de Análises Químicas Instrumentais) do IQSC/USP.

- um cromatógrafo gasoso com detector por ionização de chama (CG-DIC) modelo GC-17A da marca Shimadzu (CAQI). Coluna de alta polaridade HP-INNOWAX da marca Agilent, fase de polietilenoglicol, comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm, espessura do filme de 0,50 μm , faixa de temperatura 40 a 260/270 °C.

- uma balança analítica modelo TE214S da marca Sartorius Mechatronics (RQALabs)

3.2 Reagentes

Foram utilizados padrões com pureza superior a 99,5% das marcas Sigma-Aldrich (metanol, acetato de etila, propanol, 2-metilpropan-1-ol, 3-metilbutan-1-ol), Vetec (n-butanol e 2-butanol), Fluka (acetaldeído) e Panreac (etanol). As soluções foram preparadas com uma solução 40% (v/v) de etanol absoluto grau HPLC que, por sua vez, foi preparada com água destilada.

3.3 Método

A amostra de uísque utilizada na caracterização foi o Black Label da marca escocesa Johnnie Walker e envelhecido por 12 anos. A injeção no cromatógrafo foi feita de forma direta para todas as amostras.

Inicialmente, fez-se a análise da concentração de background dos analitos presentes na amostra de uísque comprado. Para isto, utilizou-se o método 15 do Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).²¹

Após a análise, determinaram-se quais analitos seriam fortificados em concentração próxima aos limites máximos determinados pela Portaria nº 65 do MAPA.¹⁵

Para a caracterização, também foi utilizado o método 15 do Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres do MAPA²¹ que se encontra resumido na Figura 5.

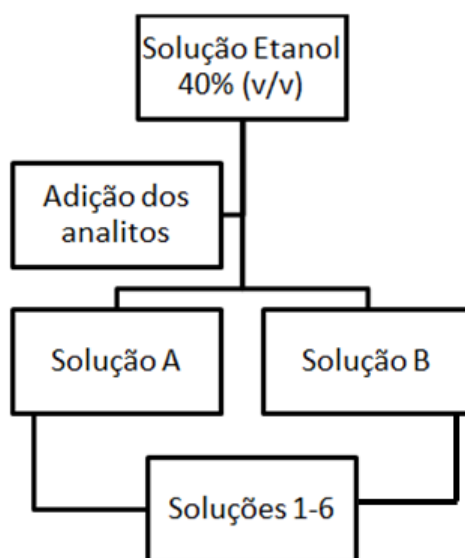
Para evitar contaminações, separou-se 2 frascos com etanol absoluto grau HPLC onde um seria utilizado para limpeza de ponteiros de pipetas e frascos e outro para injeção no cromatógrafo para limpeza da coluna.

Injetou-se sempre uma alíquota de 1 μ L das soluções a serem analisadas. O gás de arraste foi o nitrogênio a 1 mL/min e a temperatura do injetor, assim como do detector, foi de 200 °C.

A seguinte rampa de aquecimento foi utilizada para a limpeza da coluna antes do início das análises: temperatura inicial da coluna a 35°C por 2 minutos, seguido de aquecimento de 50°C/minuto até 200°C por 10 minutos.

Para a separação dos analitos utilizou-se a seguinte programação: 35°C por 4 minutos, seguindo de aquecimento de 20°C/minuto até 200°C por 15 minutos.

Figura 5 – Fluxograma do método utilizado.



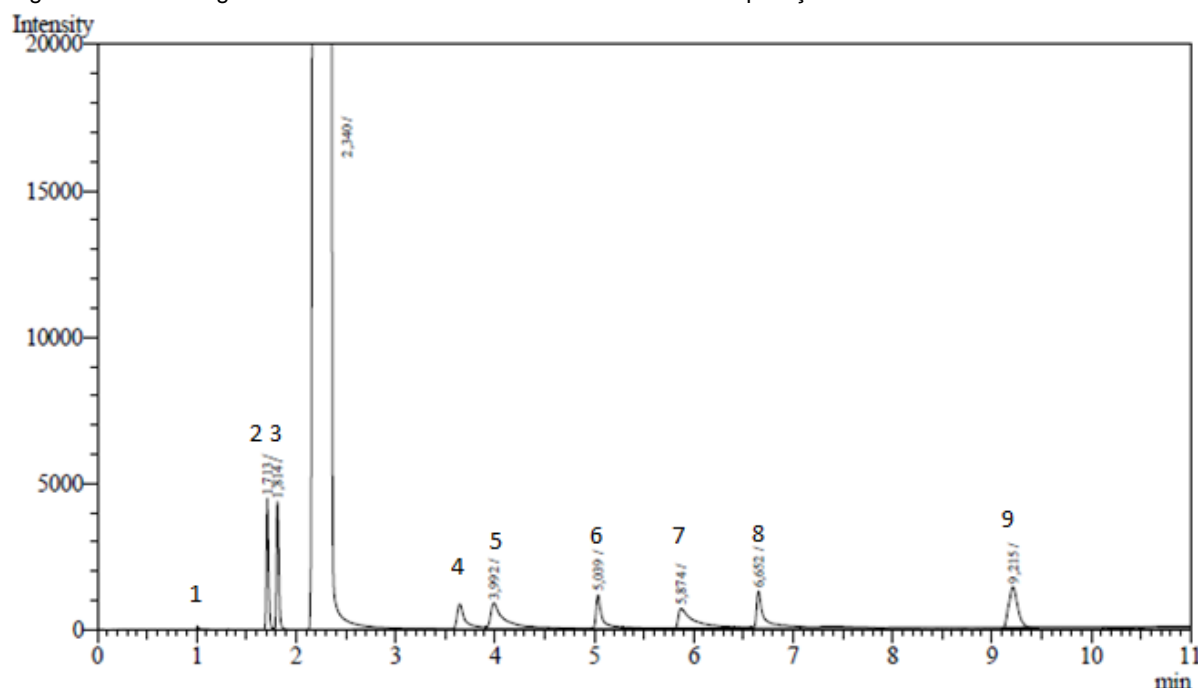
4 Resultados e Discussões

Primeiramente, foi determinado, de acordo com a Portaria nº 65¹⁵, quais seriam os analitos presentes no candidato a material de referência e quais as concentrações máximas determinadas pela legislação. Os valores encontram-se discriminados na Tabela 1.

Da tabela 1, desconsiderou-se a acidez volátil e o 2-metilbutan-1-ol, que não estava disponível para análise.

Com isso, criou-se uma amostra multielementar em etanol 40% (v/v) para simular a matriz do uísque que serviria para se determinar a rampa de aquecimento que melhor separaria os analitos e que foi explicitada na parte 3.3. O cromatograma referente a esta separação se encontra representado na Figura 5.

Figura 6 – Cromatograma da amostra multielementar mostrando a separação dos analitos.



Com o conhecimento da rampa de aquecimento, determinaram-se os tempos de retenção dos analitos fortificando-se a amostra multielementar com cada analito. Os dados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Tempo de retenção dos analitos.

Analito	Número do pico	Tempo de retenção (min)
Acetaldeído	1	1,0
Acetato de etila	2	1,7
Metanol	3	1,8
2-butanol	4	3,7
Propanol	5	3,9
2-metilpropan-ol	6	5,0
n-butanol	7	5,8
3-metilbutan-1-ol	8	6,6
Furfural	9	9,2

Com isso, passou-se etapa de determinação da concentração de background dos analitos no uísque comercial. Para isso, criou-se uma curva de calibração para cada analito de forma a se calcular sua concentração no uísque, como descrito na parte 3.3.

A curva para cada analito foi construída de acordo com a equação 1, que representa a equação de reta da curva de calibração ($y = a \cdot x + b$):

$$\text{Razão}_{\text{Área}} = \text{Razão}_{\text{Concentração}} \cdot a + b \quad (\text{Equação 1})$$

Onde,

$$\text{Razão}_{\text{Área}} = \frac{\text{Área}_{\text{analito}}}{\text{Área}_{\text{padrão interno}}} \quad (\text{Equação 2})$$

E

$$\text{Razão}_{\text{Concentração}} = \frac{\text{Concentração}_{\text{analito}}}{\text{Concentração}_{\text{padrão}}} \quad (\text{Equação 3})$$

As concentrações foram calculadas através das relações de massa e densidade:

$$m = d \cdot V \quad (\text{Equação 4})$$

E

$$C = \frac{m}{V_{\text{solução}}} \quad (\text{Equação 5})$$

Também, realizou-se um teste de Grubbs²², representado pela Equação 6, para se descartar outliers entre os dados obtidos.

$$G = \frac{x_i - \bar{x}}{s} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde,

x_i = valor a ser analisado

\bar{x} = média amostral

s = desvio padrão amostral

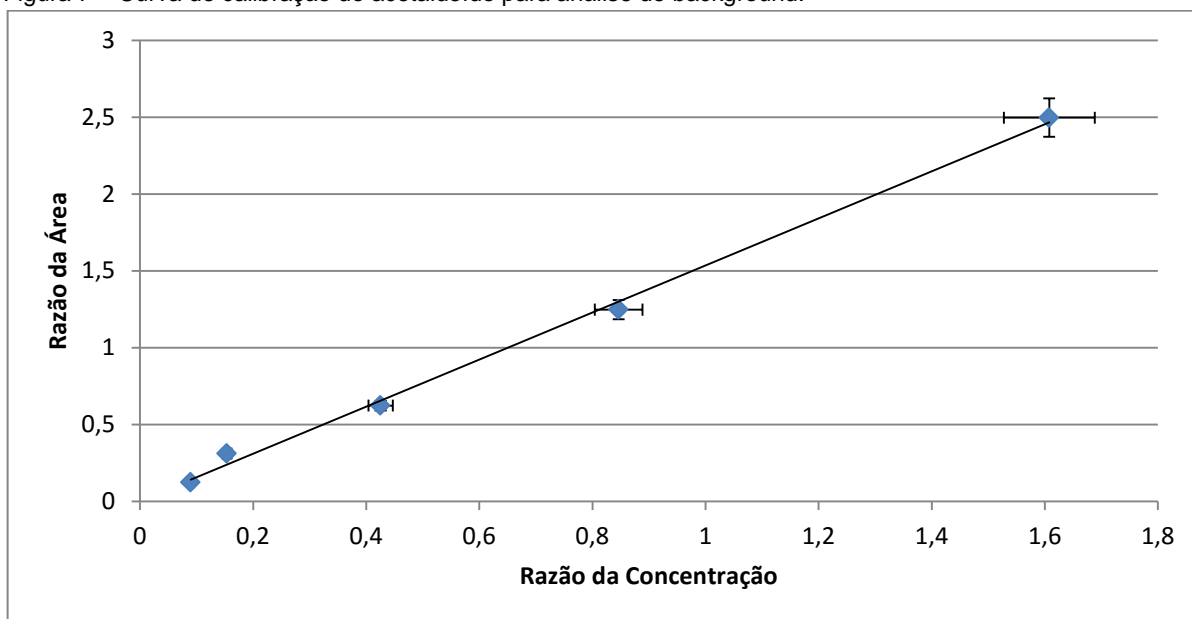
Para 3 amostras, o valor crítico de Grubbs considerado foi 1,155.²³

Tabela 3 – Concentrações das soluções utilizadas na curva de calibração (em mg/100 mL de etanol)

Analito	A	B	C	D	E
Metanol	5,6	14,1	28,3	57,2	114,0
Propanol	5,6	14,1	28,4	57,4	114,3
2-metil-1-propanol	5,5	14,0	28,1	56,7	113,0
3-metil-1-butanol	5,8	14,6	29,4	59,3	118,2
Acetato de etila	6,8	17,2	34,6	69,9	139,2
n-butanol	6,0	15,1	30,4	61,3	122,2
2-butanol	6,0	15,2	30,6	61,8	123,2
Padrão interno	54,5	55,2	55,4	56,0	55,8

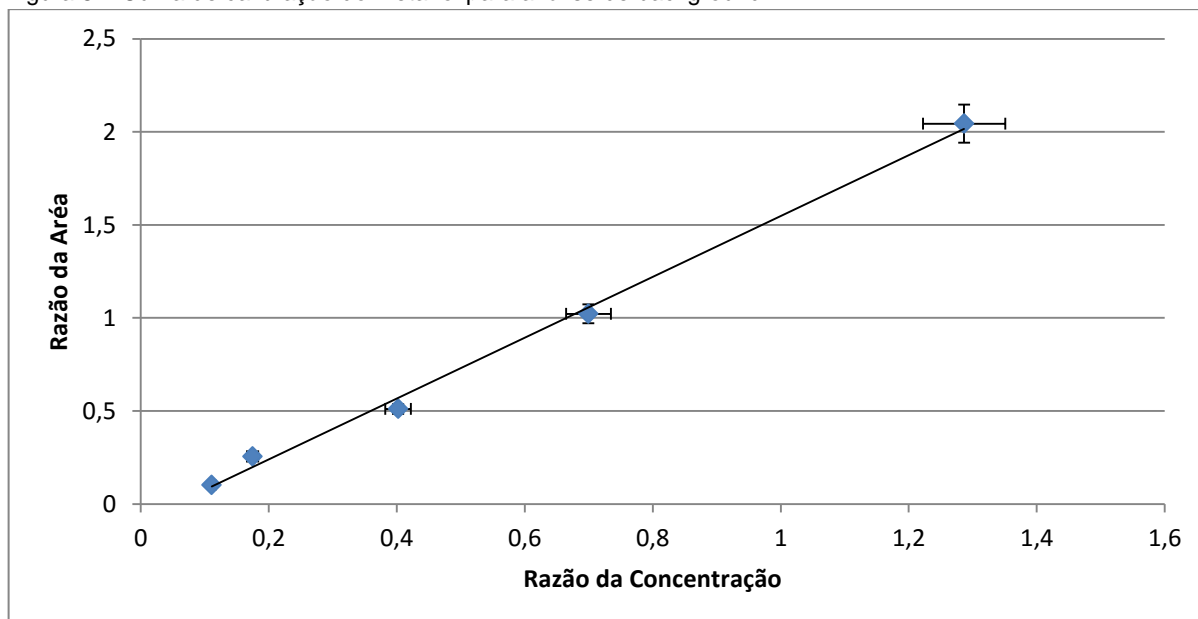
As curvas de calibração para cada analito se encontram representadas pelas figuras 7-13.

Figura 7 – Curva de calibração do acetaldeído para análise de background.



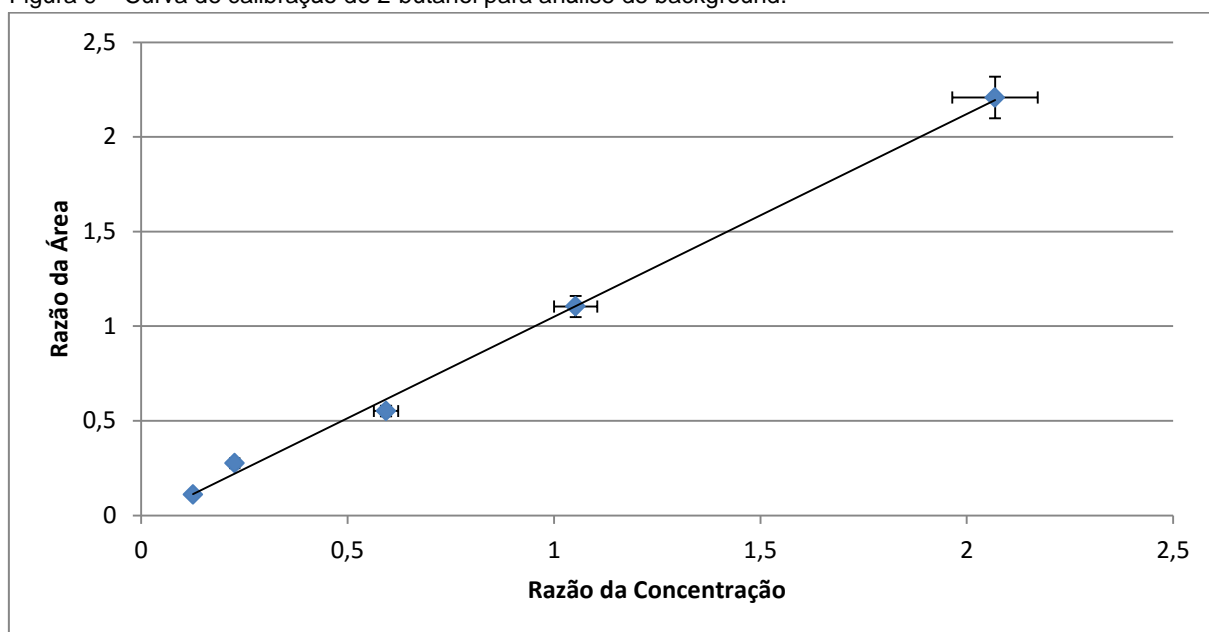
A equação da curva de calibração do acetaldeído para análise de background foi $y = 0,651x - 0,0016$.

Figura 8 – Curva de calibração do metanol para análise de background.



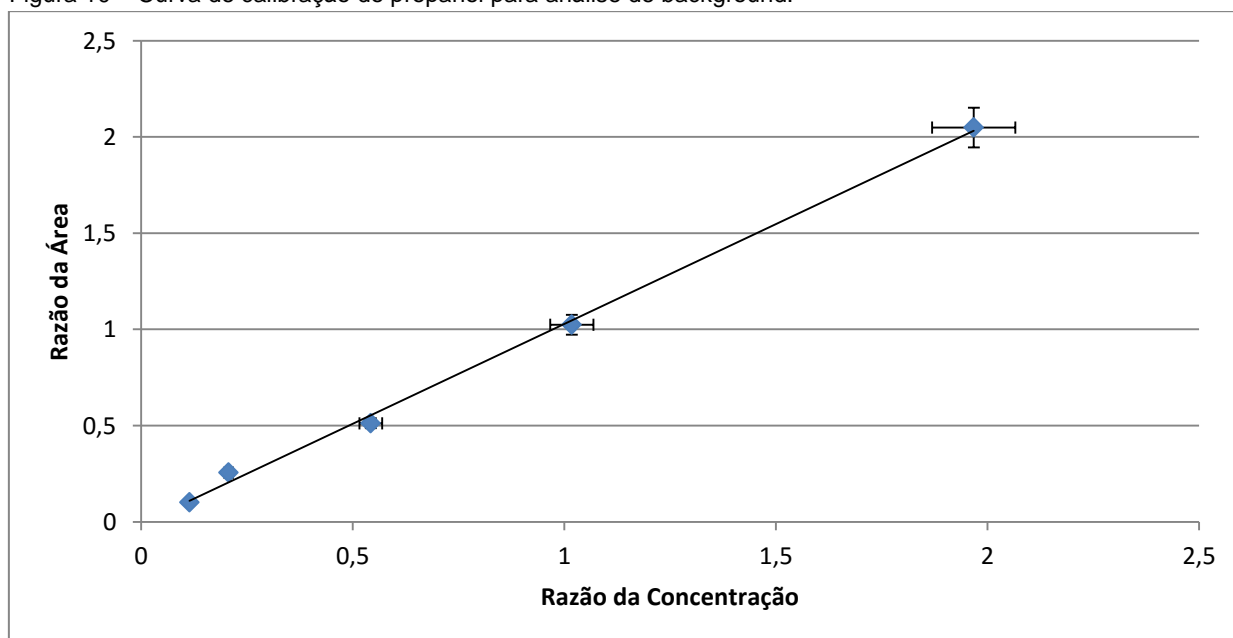
A equação da curva de calibração do metanol para análise de background foi $y = 0,610x + 0,054$.

Figura 9 – Curva de calibração do 2-butanol para análise de background.



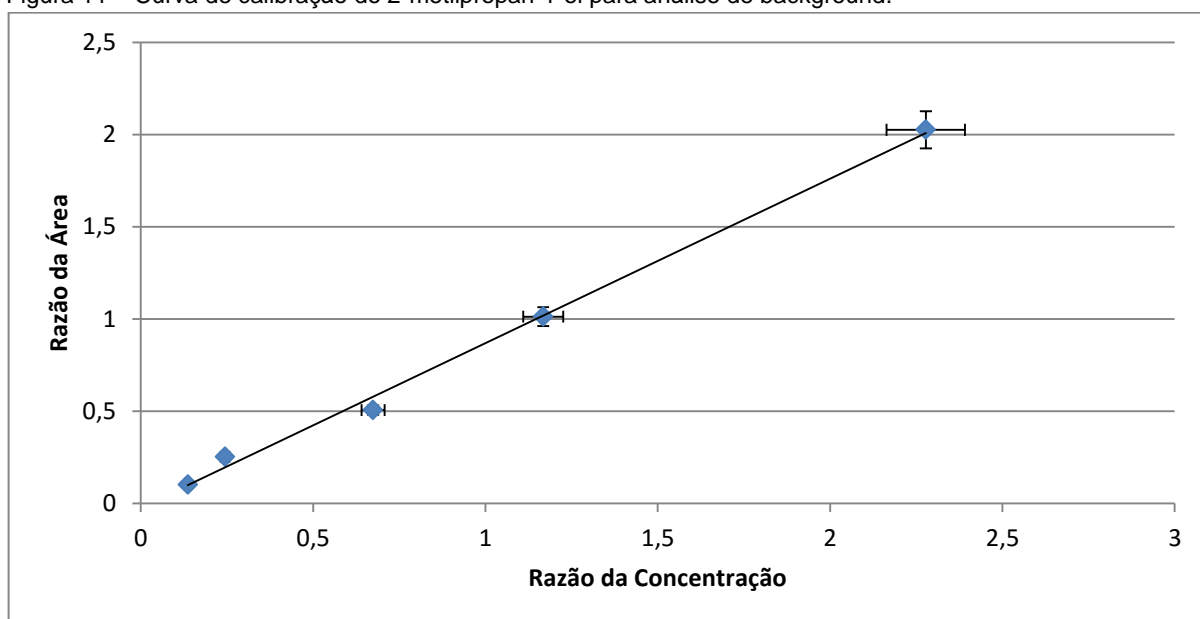
A equação da curva de calibração do 2-butanol para análise de background foi $y = 0,931x + 0,021$.

Figura 10 – Curva de calibração do propanol para análise de background.



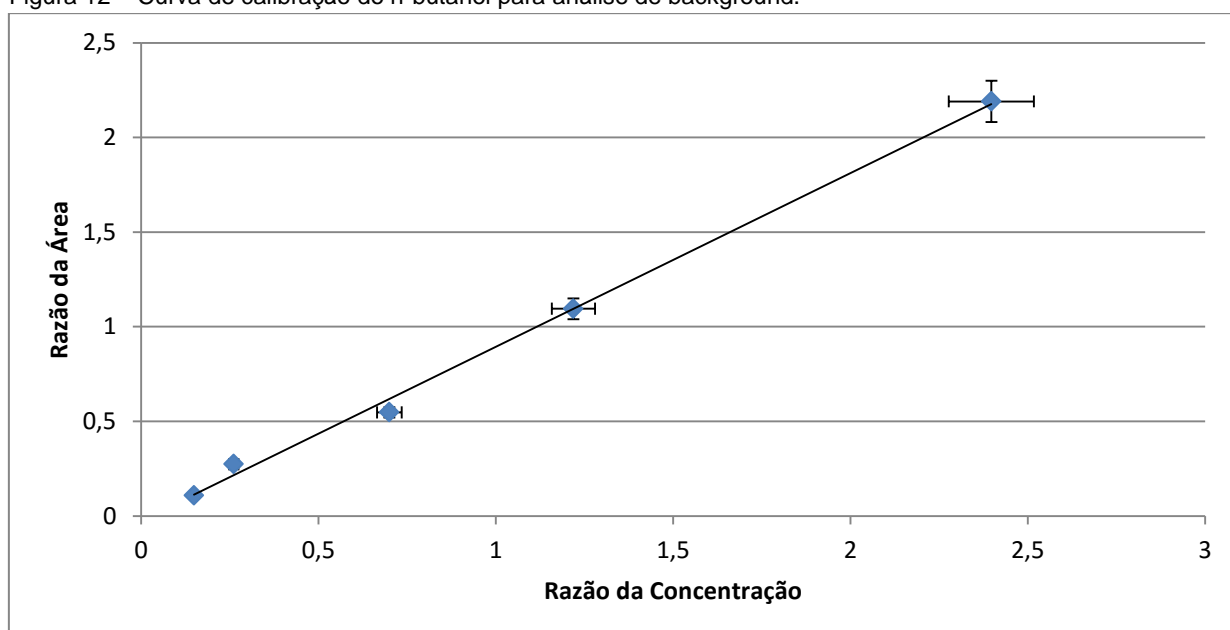
A equação da curva de calibração do propanol para análise de background foi $y = 0,962x + 0,010$.

Figura 11 – Curva de calibração do 2-metilpropan-1-ol para análise de background.



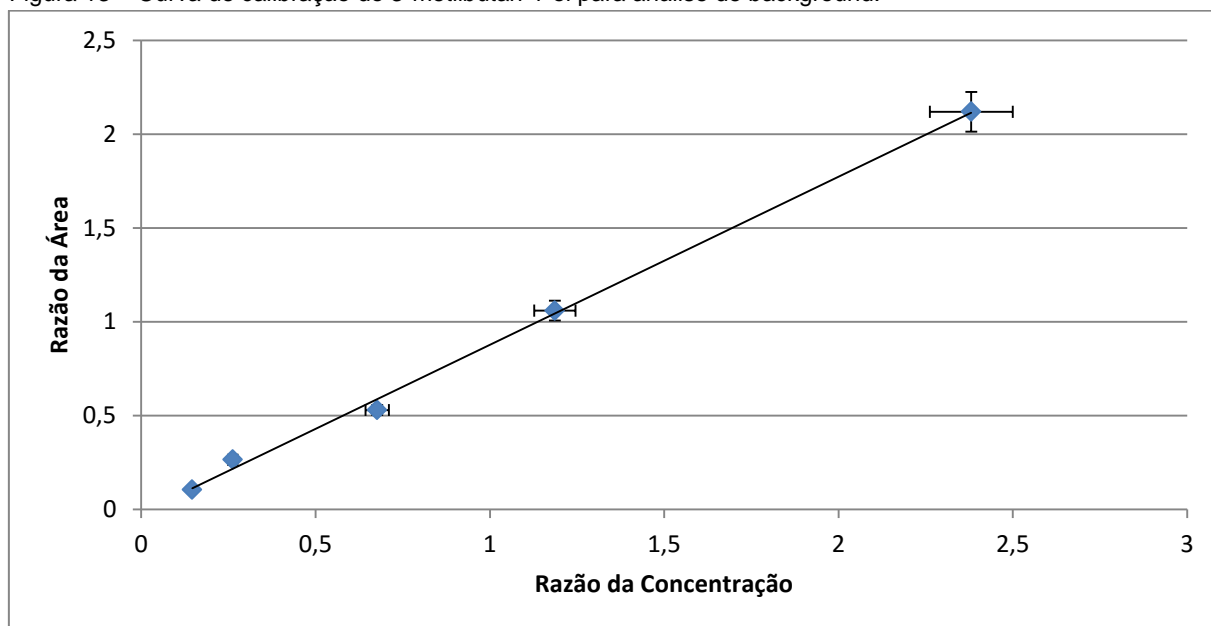
A equação da curva de calibração do 2-metilpropan-1-ol para análise de background foi $y = 1,118x + 0,028$.

Figura 12 – Curva de calibração do n-butanol para análise de background.



A equação da curva de calibração do n-butanol para análise de background foi $y = 1,086x + 0,0292$.

Figura 13 – Curva de calibração do 3-metilbutan-1-ol para análise de background.



A equação da curva de calibração do 3-metilbutan-1-ol para análise de background foi $y = 1,114x + 0,021$.

Todas as curvas tiveram seu r^2 superior a 0,99, como definido pelo método utilizado.²¹

A partir das curvas de calibração, fez-se a injeção da amostra bruta de uísque comercial com padrão interno (2-metilpentan-1-ol) e determinou-se a concentração de cada analito.

O cálculo da concentração de cada analito deu-se pela equação 1, onde se multiplicou a razão da concentração pela concentração do padrão interno na amostra (56,3 mg/100 mL de etanol anidro).

Os dados obtidos para cada analito se encontram na tabela 4, onde são comparados com resultados encontrados na literatura.²⁴

Tabela 4 – Comparação entre os resultados obtidos na análise de background e dados da literatura²⁴.

Analitos	Concentração encontrada na literatura (mg/100mL de etanol anidro)	Concentração determinada experimentalmente (mg/100mL de etanol anidro)
n-propanol	64,0 ± 18,7	55,9 ± 5,0
2-metilpropan-1-ol	56,6 ± 7,5	59,8 ± 6,6
3-metilbutan-1-ol	55,8 ± 22,8	85,1 ± 7,9
Acetato de etila	-	39,6 ± 1,0

Com estes dados, nota-se que o método é eficaz para se caracterizar o uísque visto que os resultados obtidos são próximos dos encontrados na literatura.

Após a fase de determinação da concentração de background, passou-se a fase de caracterização, onde também se utilizou a metodologia²¹ disponibilizada pelo MAPA.

O método se baseia na criação de uma curva de calibração através de uma solução estoque, chamada de A, em que se adicionava e subsequentemente se pesava um a um os analitos e um branco, chamado de B, composto por solução etanol 40% (v/v) e um padrão interno (2-metilpentan-1-ol).

Com estas duas soluções, derivaram-se outras seis com diferentes proporções de forma que o centro da curva representasse o limite máximo permitido na legislação.

Solução 1: 0,01 mL de A e 0,08 mL de B.

Solução 2: 0,015 mL de A e 0,08 mL de B.

Solução 3: 0,03 mL de A e 0,08 mL de B.

Solução 4: 0,05 mL de A e 0,08 mL de B.

Solução 5: 0,08 mL de A e 0,08 mL de B.

Solução 6: 0,10 mL de A e 0,08 mL de B.

A partir destas soluções, construiu-se a curva de calibração para cada analito e calculou-se sua concentração em 100 mL de álcool anidro. As análises foram realizadas em quintuplicata.

A curva para cada analito foi construída de acordo com a equação 1 e também se realizou o teste de Grubbs, representado pela Equação 6, para se descartar outliers entre os dados obtidos.

Para 5 amostras, o valor crítico de Grubbs considerado foi 1,715.²³

Na Tabela 5, encontram-se os valores calculados para a concentração de cada analito nas soluções que compõem a curva de calibração.

Tabela 5 – Valores calculados para a concentração de cada analito nas soluções de 1 a 6 (mg/100 mL de etanol anidro).

	Solução 1	Solução 2	Solução 3	Solução 4	Solução 5	Solução 6
Acetaldeído	8,7	12,9	26,0	43,5	69,8	87,8
Acetato de etila	17,7	26,3	52,9	88,5	141,8	178,5
Metanol	12,2	18,1	36,5	61,1	97,9	123,2
2-butanol	12,4	18,4	37,0	61,9	99,2	124,9
Propanol	12,3	18,3	37,0	61,7	98,9	124,5
2-metilpropan-1-ol	12,2	18,1	36,5	61,1	97,8	123,1
n-butanol	12,9	19,1	38,4	64,4	103,2	129,9
3-metilbutan-1-ol	12,4	18,5	37,2	62,3	99,7	125,5
Padrão interno	541,3	536,8	539,4	542,2	542,9	546,6

Nas Tabelas 6-11 encontram-se os valores das áreas de cada analito em cada solução da curva de calibração.

Tabela 6 – Áreas da solução 1.

	Ace- taldeí- do	Acetato de etila	Meta- nol	2- buta- nol	Pro- panol	2-metil- 1- propa- nol	n- butanol	3-metil- 1- butanol	Padrão interno
Solução 1A	358	853	459	879	909	1063	1152	1201	5169
Solução 1B	339	914	491	875	771	1117	1156	1270	5739
Solução 1C	316	815	368	895	828	998	1095	1153	5185
Solução 1D	323	852	408	822	809	1034	1062	1119	5319
Solução 1E	315	750	430	694	687	821	881	932	4115

Tabela 7 – Áreas da solução 2.

	Ace- taldeí- do	Acetato de etila	Meta- nol	2- bu- tanol	Pro- panol	2-metil-1- propanol	n- bu- tanol	3-metil-1- butanol	Padrão interno
Solução 2A	535	1291	796	1291	1258	1483	1629	1652	4216
Solução 2B	513	1282	723	1048	989	1187	1385	1393	3672
Solução 2C	539	1362	480	1447	1416	1682	1793	1878	4916
Solução 2D	491	1381	741	1330	1253	1523	1633	1766	4558
Solução 2E	515	1376	592	1263	1115	1495	1586	1724	4599

Tabela 8 – Áreas da solução 3.

	Acetal- deído	Acetato de etila	Meta- nol	2- buta- nol	Pro- panol	2-metil- 1- propa- nol	n- buta- nol	3-metil- 1- butanol	Padrão interno
Solução 3A	1127	2830	1803	3110	3005	3674	3882	3990	4919
Solução 3B	1156	3021	1835	3204	3053	3766	3921	4050	4946
Solução 3C	1124	2879	1729	2967	2827	3383	3710	3833	4871
Solução 3D	1109	2995	1432	3240	2906	3749	4012	4297	5712
Solução 3E	1076	2888	1769	2995	2847	3465	3724	3881	4991

Tabela 9 – Áreas da solução 4.

	Acetaldeído	Acetato de etila	Metanol	2-butanol	Propanol	2-metil-1-propanol	n-butanol	3-metil-1-butanol	Padrão interno
Solução 4A	1945	5388	2954	5027	4768	6121	5962	6189	4699
Solução 4B	1646	4806	2496	4362	4070	5539	5344	5704	4426
Solução 4C	1707	5057	2684	4826	4410	5904	5858	6261	4933
Solução 4D	1736	5247	2826	4769	4657	6026	6278	6152	4912
Solução 4E	1941	5352	3010	5249	5149	6175	6197	6315	4828

Tabela 10 – Áreas da solução 5.

	Ace- taldeído	Acetato de etila	Me- tanol	2- butanol	Pro- panol	2-metil-1- propanol	n- butanol	3-metil-1- butanol	Padrão interno
Solução 5A	2662	7550	4306	7837	7707	9154	9175	9634	4949
Solução 5B	2523	7697	3618	6802	5973	9369	8628	9266	4902
Solução 5C	2286	6737	3904	6544	6190	7905	7833	8281	4148
Solução 5D	2741	7941	4469	8293	7999	9766	9857	10548	5468
Solução 5E	2781	6963	4275	7199	6980	8520	8434	8624	4182

Tabela 11 – Áreas da solução 6.

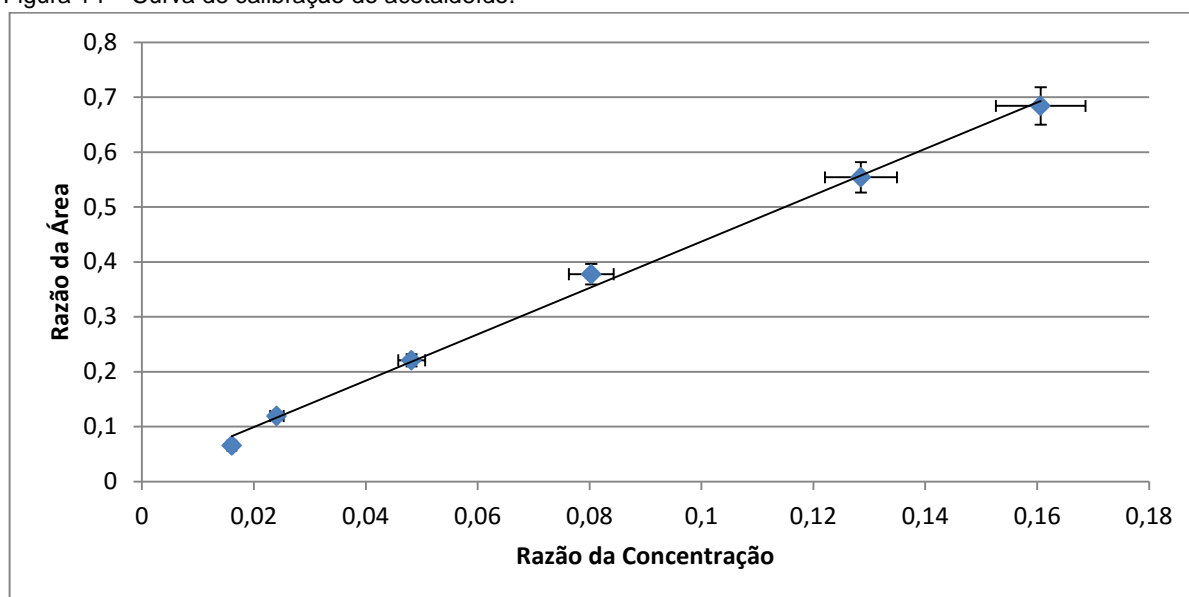
	Ace- taldeído	Acetato de etila	Me- tanol	2- butanol	Pro- panol	2-metil-1- propanol	n- butanol	3-metil-1- butanol	Padrão interno
Solução 6A	746	2396	1173	2122	1916	2371	2303	2000	388
Solução 6B	3395	10409	5607	10378	10029	12113	12214	12973	5106
Solução 6C	3629	11373	5906	11315	10756	13332	13457	14478	5745
Solução 6D	3776	11535	6274	11208	10510	13489	13630	14505	5694
Solução 6E	3468	9568	5769	9723	9375	11527	11552	11877	4466

Os dados das Tabelas 5-11 foram aplicados às equações 2 e 3 e, assim, criou-se uma curva para cada analito que relacionava a média da razão das áreas pela razão da concentração. A média corrigida é a média aritmética dos valores desconsiderando-se outliers determinados pelo teste de Grubbs.

Tabela 12 – Dados para a curva de calibração do acetaldeído.

Solução	Razão da área	Média	Desvio Padrão	Grubbs (n=5; 1,715)	Média corrigida
1	0,0693	0,0653	0,0074	-8,697	0,0653
	0,0591			-8,697	
	0,0609			-0,5905	
	0,0607			-0,6175	
	0,0766			1,513	
2	0,1269	0,1192	0,0137	0,5610	0,1191
	0,1397			1,493	
	0,1096			-0,6950	
	0,1077			-0,8347	
	0,1120			-0,5247	
3	0,2291	0,2207	0,0164	0,5160	0,2207
	0,2338			0,7977	
	0,2308			0,6142	
	0,1941			-1,620	
	0,2156			-0,3076	
4	0,4140	0,3775	0,0297	1,228	0,3775
	0,3720			-0,1849	
	0,3460			-1,059	
	0,3535			-0,8091	
	0,4020			-2,337	
5	0,5379	0,5540	0,0650	-0,2477	0,5540
	0,5147			-0,6044	
	0,5511			-0,0443	
	0,5013			-0,8106	
	0,6650			1,707	
6	1,923	0,9318	0,5566	1,780	0,6841
	0,6649			-0,4794	
	0,6317			-0,5391	
	0,6631			-0,4826	
	0,7765			-0,2789	

Figura 14 – Curva de calibração do acetaldeído.



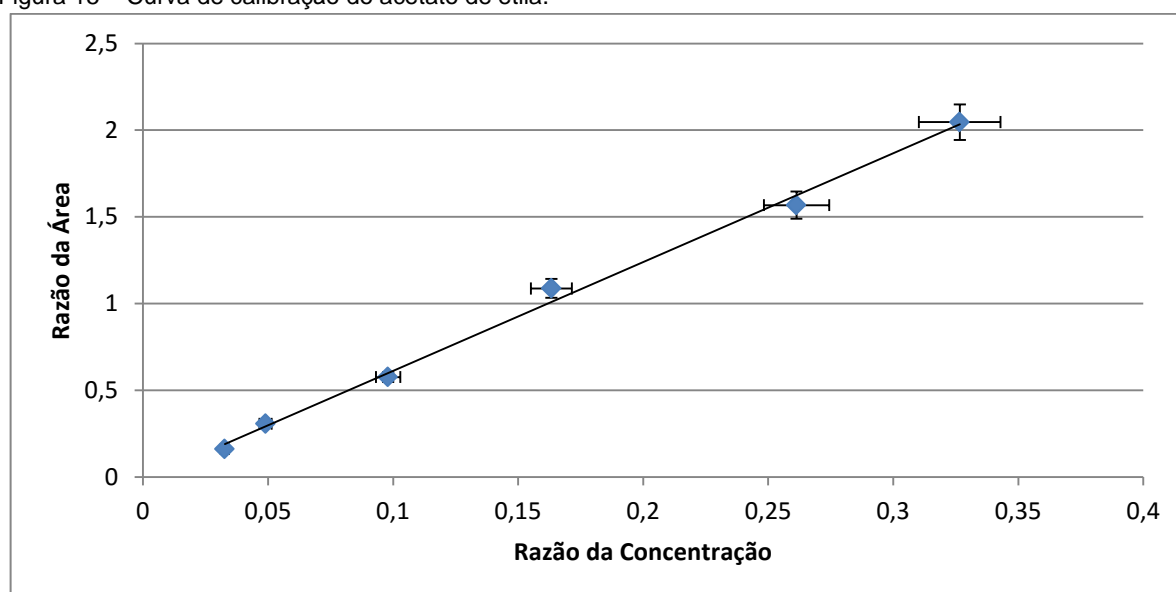
O r^2 da curva foi de 0,9968 e sua equação de reta: $y = 4,222x + 0,0146$.

Tabela 13 – Dados para a curva de calibração do acetato de etila.

Solução	Razão da área	Média	Desvio Padrão	Grubbs (n=5; 1,715)	Média corrigida
1	0,1651	0,1648	0,0102	0,0279	0,0326
	0,1593			-0,5349	
	0,1571			-0,7521	
	0,1602			-0,4555	
	0,1823			1,716	
2	0,3062	0,3069	0,0262	-0,0267	0,0490
	0,3491			1,610	
	0,2770			-1,139	
	0,3030			-0,1500	
	0,2992			-0,2945	
3	0,5753	0,5760	0,0321	-0,0227	0,0980
	0,6108			1,084	
	0,5911			0,4689	
	0,5242			-1,612	
	0,5786			0,0813	
4	1,147	1,087	0,0453	1,321	0,1633
	1,086			-0,0210	
	1,025			-1,362	
	1,068			-0,4141	
	1,108			0,4767	
5	1,525	1,567	0,0833	-0,5026	0,2613
	1,570			0,0330	
	1,624			0,6809	
	1,452			-1,382	

	1,665			1,171	
6	6,175	2,872	1,847	1,788	0,3266
	2,038			-0,4513	
	1,980			-0,4832	
	2,026			-0,4582	
	2,142			-0,3951	

Figura 15 – Curva de calibração do acetato de etila.



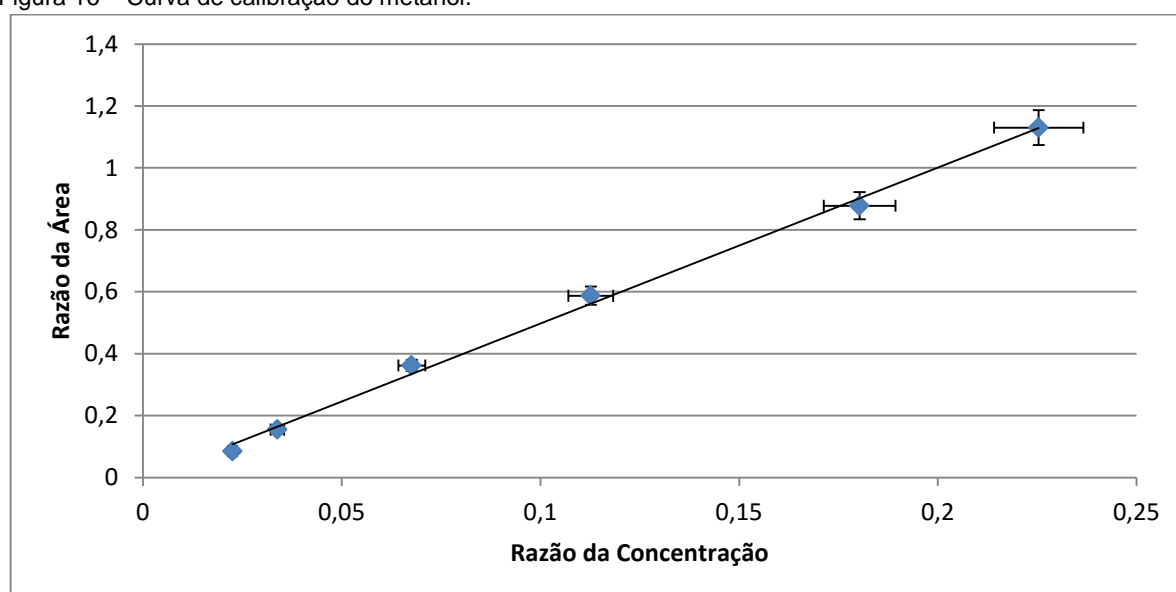
O r^2 da curva foi de 0,9960 e sua equação de reta: $y = 6,276x - 0,0163$.

Tabela 14 – Dados para a curva de calibração do metanol.

Solução	Razão da área	Média	Desvio Padrão	Grubbs (n=5; 1,715)	Média corrigida
1	0,0888	0,0853	0,0129	0,2707	0,0853
	0,0856			0,0200	
	0,0710			-1,113	
	0,0767			-0,6725	
	0,1046			1,495	
2	0,1888	0,1549	0,0416	0,8136	0,1549
	0,1969			1,008	
	0,0976			-1,376	
	0,1626			0,1836	
	0,1287			-0,6293	
3	0,3665	0,3395	0,0502	0,5380	0,3618
	0,3711			0,6281	
	0,3550			0,3082	
	0,2507			-1,770	
	0,3544			0,2958	

4	0,6286	0,5870	0,0373	1,113	0,5870
	0,5639			-0,6198	
	0,5440			-1,153	
	0,5753			-0,3147	
	0,6234			0,9745	
5	0,8701	0,8778	0,1096	-0,0702	0,8778
	0,7381			-1,274	
	0,9412			0,5780	
	0,8173			-0,5513	
	1,022			1,317	
6	3,023	1,508	0,8523	1,777	1,130
	1,098			-0,4816	
	1,028			-0,5638	
	1,102			-0,4772	
	1,292			-0,2544	

Figura 16 – Curva de calibração do metanol.



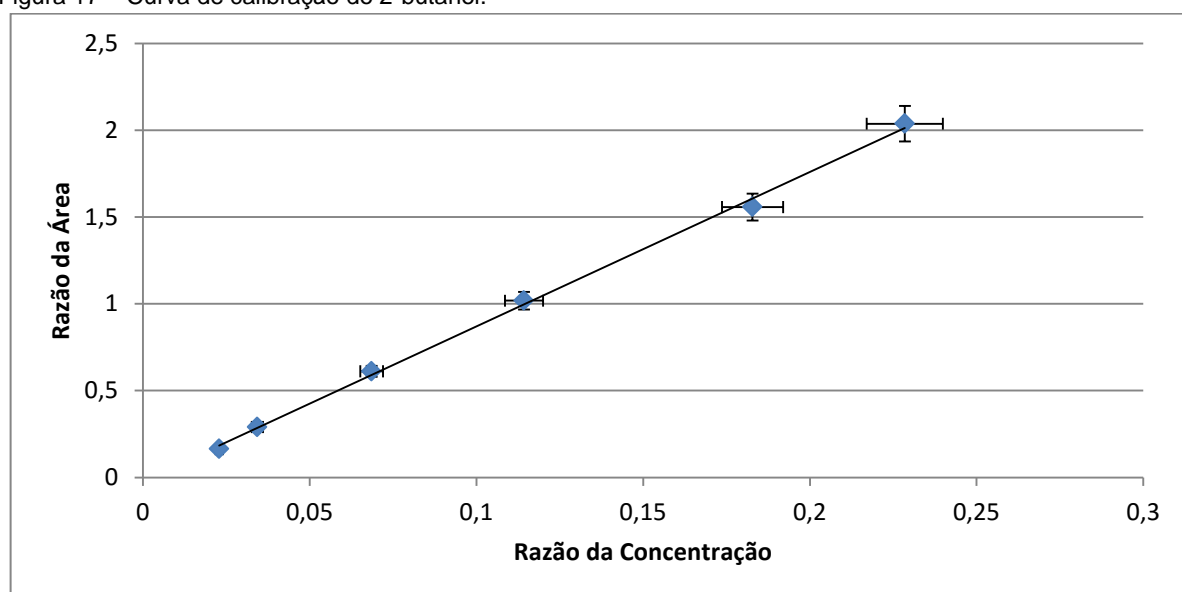
O r^2 da curva foi de 0,9970 e sua equação de reta: $y = 5,035x - 0,0062$.

Tabela 15 – Dados para a curva de calibração do 2-butanol.

Solução	Razão da área	Média	Desvio Padrão	Grubbs (n=5; 1,715)	Média corrigida
1	0,1701	0,1637	0,0094	0,6854	0,1637
	0,1524			-1,196	
	0,1725			0,9438	
	0,1546			-0,9633	
	0,1686			0,5301	
2	0,3062	0,2905	0,0116	1,353	0,2905

	0,2854			-0,4361	
	0,2943			0,3325	
	0,2918			0,1133	
	0,2746			-1,362	
3	0,6323	0,6113	0,0310	0,6767	0,6113
	0,6479			1,178	
	0,6090			-0,0716	
	0,5672			-1,420	
	0,6000			-0,3638	
4	1,070	1,018	0,0555	0,9283	1,018
	0,9855			-0,5909	
	0,9783			-0,7215	
	0,9708			-0,8554	
	1,087			1,239	
5	1,583	1,557	0,1209	0,2165	1,557
	1,388			-1,404	
	1,578			0,1675	
	1,516			-0,3368	
	1,721			1,357	
6	5,469	2,723	1,537	1,786	2,037
	2,032			-0,4494	
	1,969			-0,4903	
	1,968			-0,4911	
	2,177			-0,3553	

Figura 17 – Curva de calibração do 2-butanol.

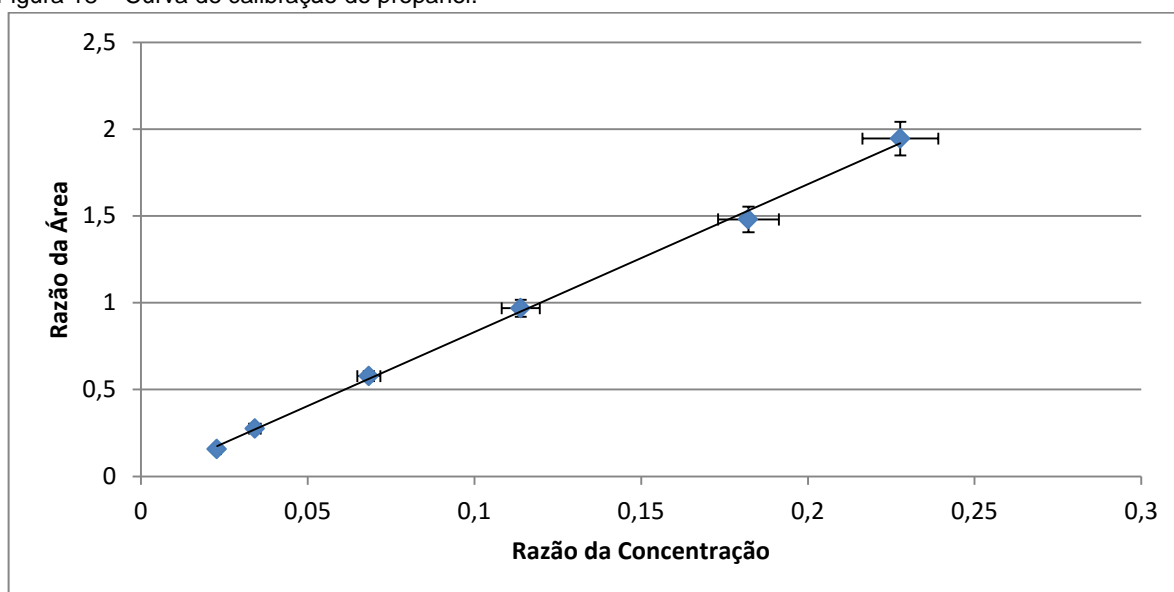


O r^2 da curva foi de 0,9984 e sua equação de reta: $y = 8,890x - 0,0186$.

Tabela 16 – Dados para a curva de calibração do propanol.

Solução	Razão da área	Média	Desvio Padrão	Grubbs (n=5; 1,715)	Média corrigida
1	0,1759	0,1578	0,0158	1,144	0,1578
	0,1343			-1,486	
	0,1597			0,1210	
	0,1521			-0,3598	
	0,1670			0,5815	
2	0,2984	0,2746	0,0212	1,118	0,2746
	0,2693			-0,2486	
	0,2880			0,6311	
	0,2749			0,0132	
	0,2424			-1,513	
3	0,6110	0,5775	0,0433	0,7729	0,5775
	0,6172			0,9178	
	0,5803			0,0640	
	0,5087			-1,590	
	0,5704			-0,1643	
4	1,015	0,9686	0,0709	0,6506	0,9686
	0,9197			-0,6899	
	0,8939			-1,054	
	0,9481			-0,2882	
	1,066			1,381	
5	1,557	1,480	0,1662	0,4649	1,480
	1,218			-1,573	
	1,492			0,0739	
	1,463			-0,1030	
	1,669			1,137	
6	4,938	2,544	1,342	1,784	1,945
	1,964			-0,4320	
	1,872			-0,5005	
	1,846			-0,5202	
	2,099			-0,3314	

Figura 18 – Curva de calibração do propanol.



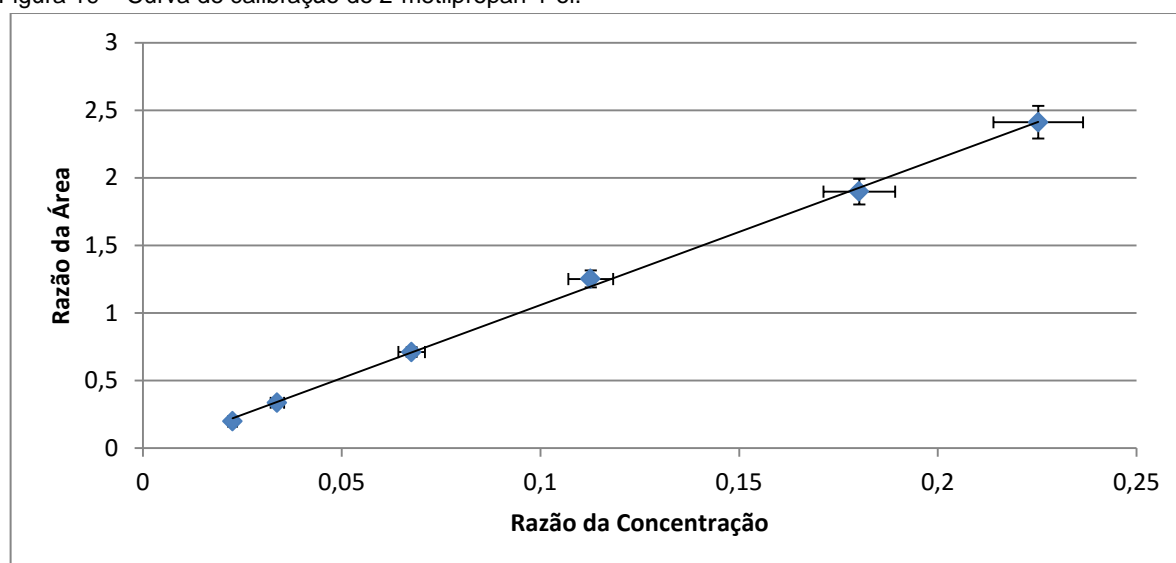
O r^2 da curva foi de 0,9983 e sua equação de reta: $y = 8,513x - 0,0201$.

Tabela 17 – Dados para a curva de calibração do 2-metilpropan-1-ol.

Solução	Razão da área	Média	Desvio Padrão	Grubbs (n=5; 1,715)	Média corrigida
1	0,2057	0,1973	0,0054	1,562	0,1973
	0,1946			-0,5054	
	0,1924			-0,9139	
	0,1944			-0,5504	
	0,1995			0,4076	
2	0,3517	0,3353	0,0119	1,3822	0,3353
	0,3232			-1,008	
	0,3421			0,5765	
	0,3341			-0,0953	
	0,3251			-0,8557	
3	0,7469	0,7107	0,0429	0,8440	0,7107
	0,7614			1,181	
	0,6946			-0,3743	
	0,6563			-1,267	
	0,6942			-0,3834	
4	1,303	1,251	0,0418	1,228	1,251
	1,252			0,0061	
	1,197			-1,306	
	1,227			-0,5891	
	1,279			0,6610	
5	1,850	1,898	0,0929	-0,5203	1,898
	1,911			0,1428	

	1,906			0,0833	
	1,786			-1,205	
	2,037			1,500	
6	6,111	3,151	1,658	1,785	2,411
	2,372			-0,4696	
	2,321			-0,5007	
	2,369			-0,4716	
	2,581			-0,3436	

Figura 19 – Curva de calibração do 2-metilpropan-1-ol.



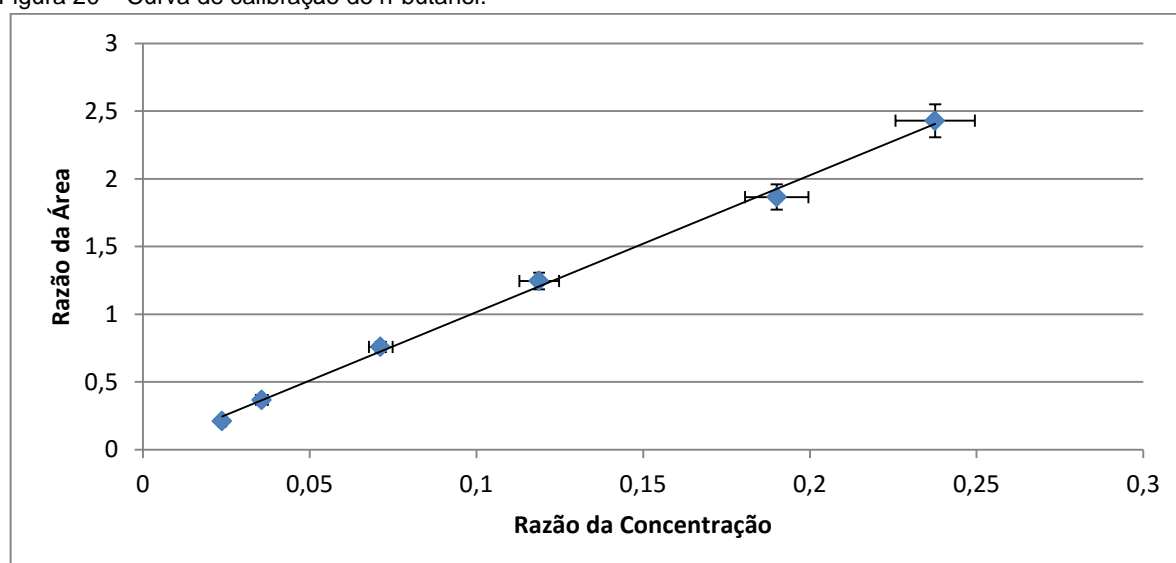
O r^2 da curva foi de 0,9988 e sua equação de reta: $y = 10,82x - 0,0244$.

Tabela 18 – Dados para a curva de calibração do n-butanol.

Solução	Razão da área	Média	Desvio Padrão	Grubbs (n=5; 1,715)	Média corrigida
1	0,2228	0,2099	0,0095	1,364	0,2099
	0,2015			-0,8803	
	0,2112			0,1417	
	0,1997			-1,070	
	0,2141			0,4446	
2	0,3864	0,3663	0,0162	1,241	0,3663
	0,3772			0,6729	
	0,3647			-0,0961	
	0,3583			-0,4949	
	0,3448			-1,323	
3	0,7891	0,7584	0,0369	0,8335	0,7584
	0,7928			0,9336	
	0,7616			0,0881	
	0,7023			-1,52124055	

	0,7461			-0,3340	
4	1,269	1,245	0,0443	0,5360	1,245
	1,208			-0,8456	
	1,187			-1,301	
	1,278			0,7430	
	1,283			0,8676	
5	1,854	1,864	0,0982	-0,1064	1,864
	1,760			-1,062	
	1,888			0,2446	
	1,8023			-0,6281	
	2,017			1,552	
6	5,935	3,130	1,571	1,786	2,429
	2,392			-0,4697	
	2,342			-0,5014	
	2,394			-0,4687	
	2,586			-0,3459	

Figura 20 – Curva de calibração do n-butanol.



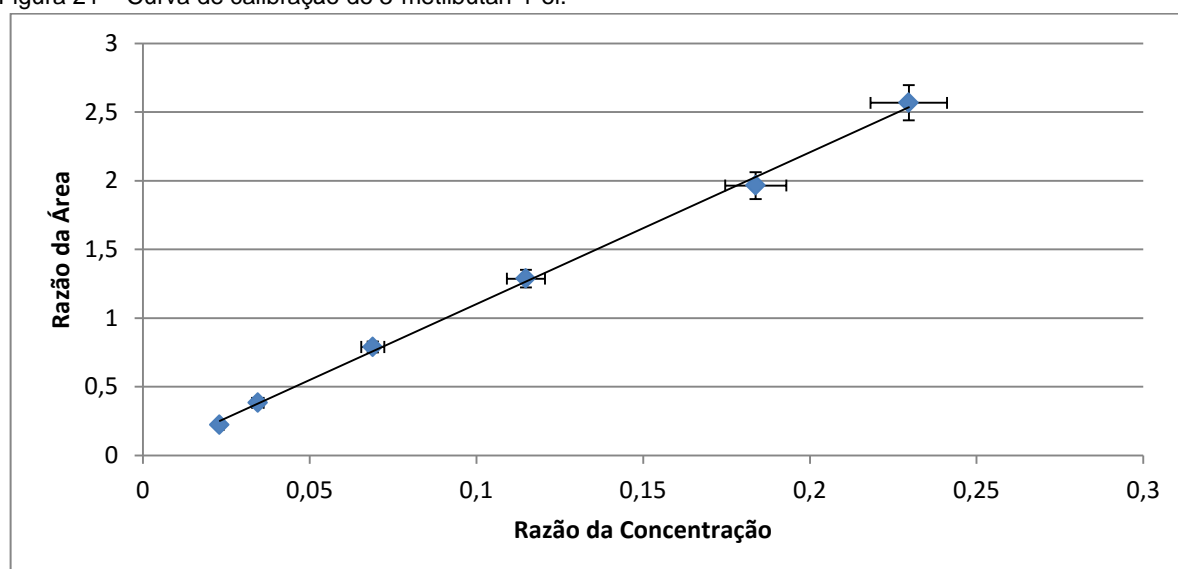
O r^2 da curva foi de 0,9978 e sua equação de reta: $y = 10,11x + 0,0050$.

Tabela 19 – Dados para a curva de calibração do 3-metilbutan-1-ol.

Solução	Razão da área	Média	Desvio Padrão	Grubbs (n=5; 1,715)	Média corrigida
1	0,2324	0,2226	0,0081	1,214	0,2226
	0,2212			-0,1687	
	0,2224			-0,0298	
	0,2104			-1,503	
	0,2266			0,4878	
2	0,3918	0,3831	0,0067	1,308	0,3831

	0,3794			-0,5614	
	0,3820			-0,1630	
	0,3874			0,6507	
	0,3749			-1,234	
3	0,8112	0,7894	0,0268	0,8141	0,7894
	0,8189			1,102	
	0,7870			-0,0904	
	0,7523			-1,386	
	0,7776			-0,4400	
4	1,317	1,287	0,0267	1,121	1,287
	1,289			0,0656	
	1,269			-0,6731	
	1,252			-1,294	
	1,308			0,7805	
5	1,947	1,965	0,0664	-0,2747	1,965
	1,890			-1,124	
	1,996			0,4740	
	1,929			-0,5399	
	2,062			1,464	
6	5,155	3,084	1,158	1,787	2,567
	2,541			-0,4693	
	2,520			-0,4871	
	2,547			-0,4635	
	2,659			-0,3669	

Figura 21 – Curva de calibração do 3-metilbutan-1-ol.



O r^2 da curva foi de 0,9983 e sua equação de reta: $y = 11,05x - 0,0035$.

Com as curvas de calibração para cada analito, fez-se a caracterização do candidato a MRC. As análises foram realizadas em triplicata.

Utilizou-se a equação 2 para se determinar a razão das áreas do candidato a MRC e a equação 1 para se determinar a razão da concentração, depois multiplicou-se esta razão pela concentração do candidato a MRC ($C_{mr} = 511,88$ mg/100mL de etanol anidro), obtendo-se, assim, a concentração de cada analito no candidato a MRC.

Tabela 20 – Concentração (mg/100mL de etanol anidro) de acetaldeído no candidato a MRC.

Rz área	Média	Rz concentração	Concentração
0,1665	0,2404	0,0535	27,4
0,2252			
0,3296			

Tabela 21 – Concentração (mg/100mL de etanol anidro) de acetato de etila no candidato a MRC.

Rz área	Média	Rz concentração	Concentração
1,925	3,215	0,5149	263,5
3,377			
4,343			

Tabela 22 – Concentração (mg/100mL de etanol anidro) de metanol no candidato a MRC.

Rz área	Média	Rz concentração	Concentração
0,3858	0,6543	0,1312	67,1
0,6335			
0,9435			

Tabela 23 – Concentração (mg/100mL de etanol anidro) de 2-butanol no candidato a MRC.

Rz área	Média	Rz concentração	Concentração
0,9992	1,532	0,1744	89,3
1,459			
2,137			

Tabela 24 – Concentração (mg/100mL de etanol anidro) de propanol no candidato a MRC.

Rz área	Média	Rz concentração	Concentração
0,7974	1,168	0,1396	71,5
1,051			
1,657			

Tabela 25 – Concentração (mg/100mL de etanol anidro) de 2-metilpropan-1-ol no candidato a MRC.

Rz área	Média	Rz concentração	Concentração
1,141	1,659	0,1555	79,6
1,667			
2,169			

Tabela 26 – Concentração (mg/100mL de etanol anidro) de n-butanol no candidato a MRC.

Rz área	Média	Rz concentração	Concentração
1,105	1,559	0,1538	78,7
1,411			
2,162			

Tabela 27 – Concentração (mg/100mL de etanol anidro) de 3-metilbutan-1-ol no candidato a MRC.

Rz área	Média	Rz concentração	Concentração
1,700	2,335	0,2115	108,3
2,249			
3,054			

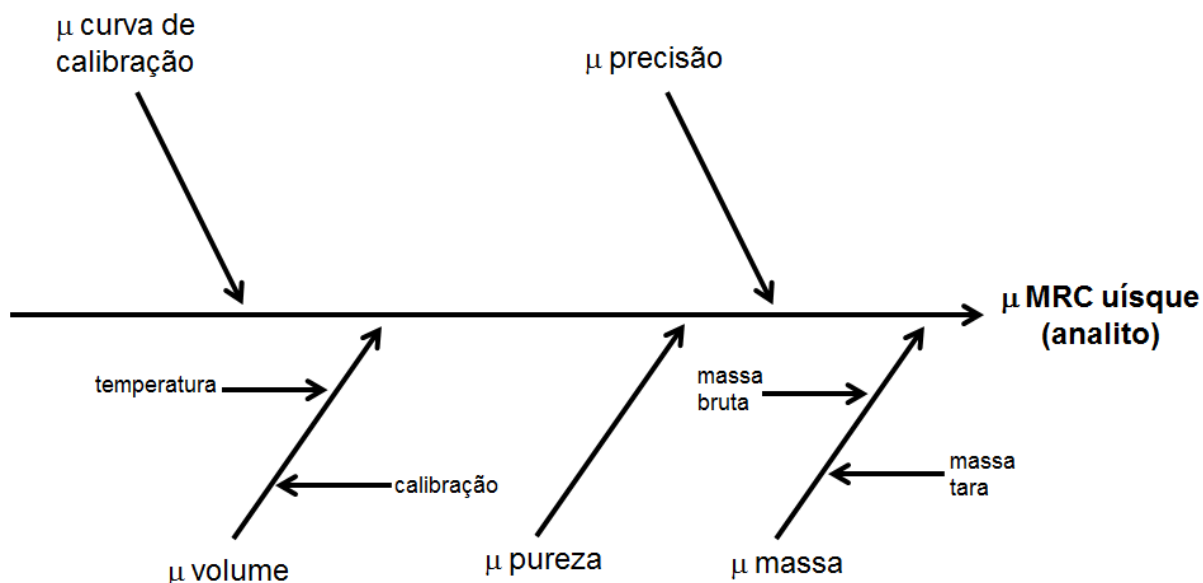
Tabela 28 – Concentração de cada analito no candidato a MRC.

Analito	Concentração	
	(mg/100 mL de etanol anidro)	(mg/mL de solução)
Acetaldeído	27,4	0,0534
Acetato de etila	263,5	0,5149
Metanol	67,1	0,1312
2-butanol	89,3	0,1744
Propanol	71,5	0,1396
2-metilpropan-1-ol	79,6	0,1555
n-butanol	78,7	0,1538
3-metilbutan-1-ol	108,3	0,2115

Para avaliação da incerteza do material foi utilizada a abordagem do Guia Eurachem/Citac.²⁵ Desta maneira foi elaborado um diagrama de causa e efeito para

cada analito presente no candidato a MRC para determinação das incertezas associadas conforme representado pela Figura 22.

Figura 22 – Diagrama geral de Ishikawa (causa e efeito) para os analitos presentes no candidato a MRC de uísque.



Fonte: Autoria própria.

O cálculo da incerteza associada a cada etapa do processo foi dado pelas equações 7-15.

$$\mu \text{ temperatura} = \frac{\Delta T * \text{volume} * 10^{-3}}{\sqrt{3}} \quad (\text{Equação 7})$$

$$\mu \text{ micropipeta} = \frac{\text{tolerância}}{\sqrt{3}} \quad (\text{Equação 8})$$

$$\mu \text{ balança} = \frac{\text{tolerância}}{\sqrt{3}} \quad (\text{Equação 9})$$

$$\mu \text{ pureza} = \frac{\text{incerteza}}{k} \quad (\text{Equação 10})$$

$$\mu \text{ precisão} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (\text{Equação 11})$$

$$\mu \text{ curva de calibração} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} \quad (\text{Equação 12})$$

$$S = \sqrt{\sum_{j=1}^n \frac{[A_j - (B_0 + B_1 * C_j)]^2}{n-2}} \quad (\text{Equação 13})$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2 \quad (\text{Equação 14})$$

Onde,

B_1 = coeficiente angular

B_0 = coeficiente linear

p = número de medições para determinar a concentração dos analitos

n = número de medições para construção da curva de calibração

C_0 = resultado de concentração da amostra analisada

\bar{C} = valor médio dos diferentes níveis de concentração da curva

C_j = concentração do j -ésimo padrão da curva

A_j = j -ésima medição de área do j -ésimo padrão da curva (onde $A_j = C_j \cdot B_1 + B_0$)

$$\mu \text{ padrão} = \sqrt{\left(\frac{\mu \text{ temp}}{v}\right)^2 + \left(\frac{\mu \text{ micro}}{v}\right)^2 + \left(\frac{\mu \text{ balança}}{m \text{ MRC}}\right)^2 + \left(\frac{\mu \text{ precisão}}{rz \text{ área MRC}}\right)^2 + \left(\frac{\mu \text{ curva}}{C_{\text{amostra}}}\right)^2}$$

(Equação 15)

Devido à falta de certificado de alguns padrões, o cálculo da incerteza da pureza foi desconsiderado.

Os dados para o cálculo das incertezas foram retirados da tabela 28 e da curva de calibração para cada analito específico. A variação da temperatura no laboratório foi de 3°C e os dados de tolerância da balança e da micropipeta foram retirados de seu manual e da ISO 8655-2²⁶ respectivamente. A tolerância da balança foi dada pela soma de sua repetibilidade e seu desvio da linearidade.

Como o candidato a MRC foi feito a partir de uma amostra de uísque, alguns de seus analitos não precisaram ser fortificados, logo, a incerteza do volume para esses analitos não foram consideradas. Abaixo são apresentados os cálculos para cada analito estudado:

Estimativa da incerteza para o acetaldeído:

$$\mu \text{ temperatura} = \frac{3 \cdot 1,1 \cdot 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0,0019$$

$$\mu \text{ micropipeta} = \frac{0,05}{\sqrt{3}} = 0,0289$$

$$\mu \text{ volume} = \sqrt{(0,0019)^2 + (0,0289)^2} = 0,0289$$

$$\mu \text{ balança} = \sqrt{\left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,0061$$

Para o cálculo da precisão da análise do candidato a MRC, utilizou-se o desvio padrão das razões das áreas obtidas (0,1665, 0,2252 e 0,3296) e dividiu-se pela raiz do número de análises (n=3).

$$\mu \text{ precisão} = \frac{s}{\sqrt{3}} = 0,0477$$

$$\mu \text{ curva de calibração} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} = 0,0058$$

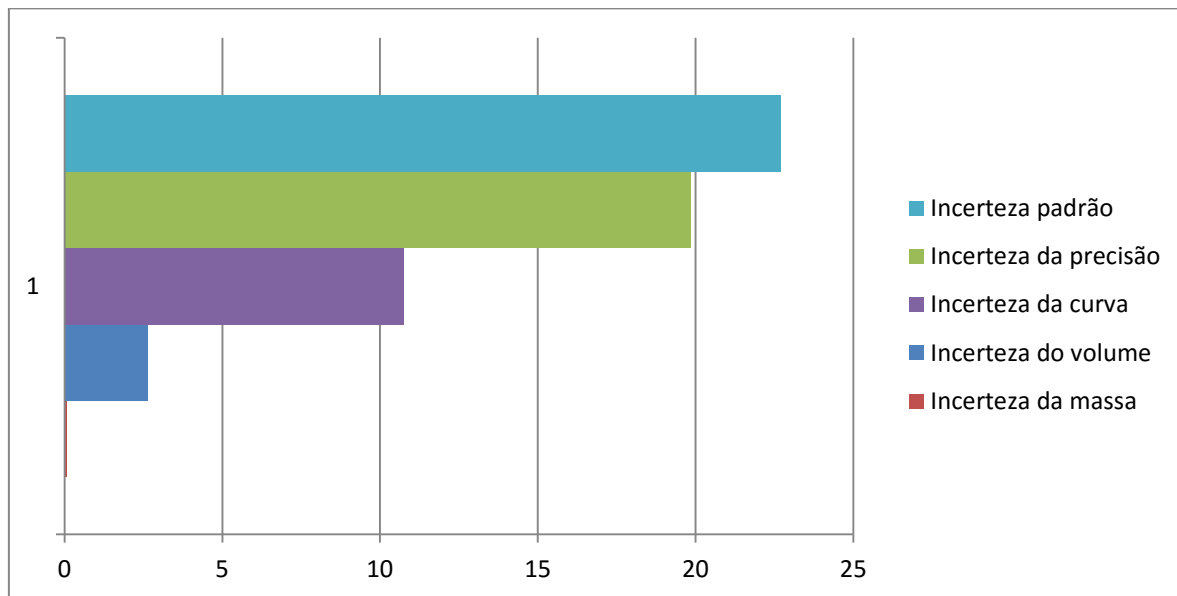
Com estes dados, calculou-se a incerteza padrão através da equação 15.

$$\mu \text{ padrão} = \sqrt{\left(\frac{0,0289}{1,1}\right)^2 + \left(\frac{0,0289}{9,4919}\right)^2 + \left(\frac{0,0477}{0,2404}\right)^2 + \left(\frac{0,0058}{0,0535}\right)^2}$$

$$\mu \text{ padrão} = 0,2272$$

Assim, obteve-se um gráfico com a contribuição de cada incerteza em porcentagem que está representado na Figura 23.

Figura 23 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do acetaldeído presente no candidato a MRC.



Estimativa da incerteza para o acetato de etila:

$$\mu \text{ temperatura} = \frac{3 \cdot 5,1 \cdot 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0,0088$$

$$\mu \text{ micropipeta} = \frac{0,05}{\sqrt{3}} = 0,0289$$

$$\mu \text{ volume} = \sqrt{(0,0088)^2 + (0,0289)^2} = 0,0302$$

$$\mu \text{ balança} = \sqrt{\left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,0061$$

Para o cálculo da precisão da análise do candidato a MRC, utilizou-se o desvio padrão das razões das áreas obtidas (1,925, 3,377 e 4,343) e dividiu-se pela raiz do número de análises (n=3).

$$\mu \text{ precisão} = \frac{s}{\sqrt{3}} = 0,7026$$

$$\mu \text{ curva de calibração} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} = 0,0155$$

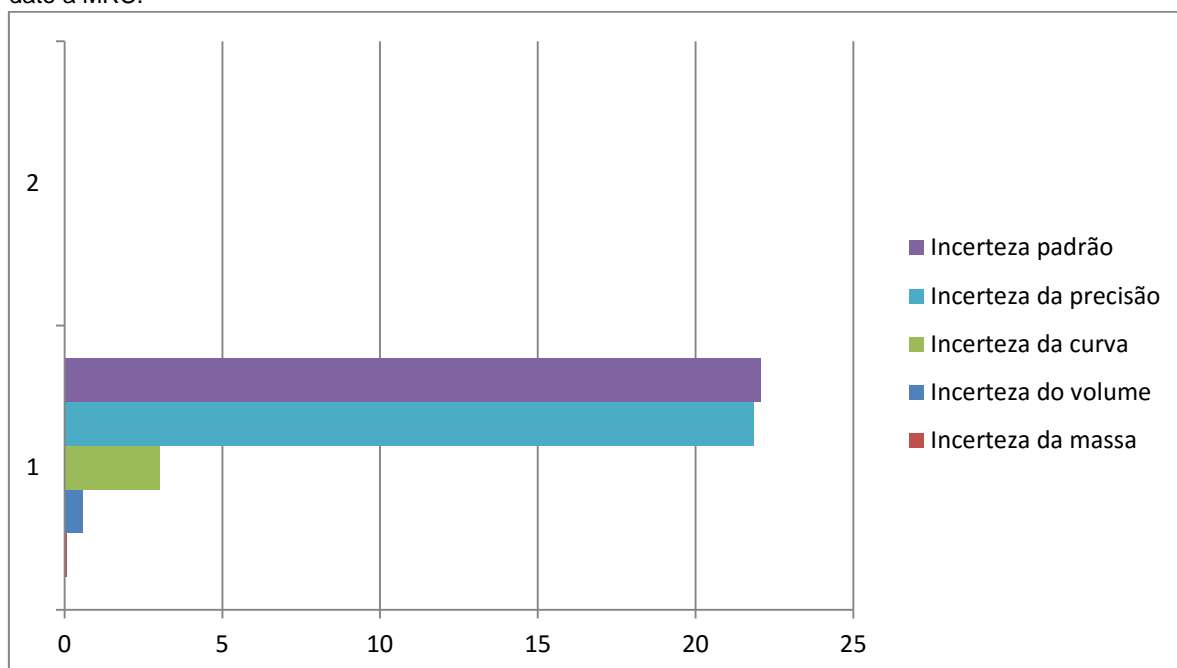
Com estes dados, calculou-se a incerteza padrão através da equação 15.

$$\mu_{\text{padrão}} = \sqrt{\left(\frac{0,0302}{5,1}\right)^2 + \left(\frac{0,0061}{9,4919}\right)^2 + \left(\frac{0,7026}{3,215}\right)^2 + \left(\frac{0,0155}{0,5149}\right)^2}$$

$$\mu_{\text{padrão}} = 0,2207$$

Assim, obteve-se um gráfico com a contribuição de cada incerteza em porcentagem que está representado na Figura 24.

Figura 24 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do acetato de etila presente no candidato a MRC.



Estimativa da incerteza para o metanol:

$$\mu_{\text{temperatura}} = \frac{3 \cdot 1 \cdot 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0,0017$$

$$\mu_{\text{micropipeta}} = \frac{0,05}{\sqrt{3}} = 0,0289$$

$$\mu_{\text{volume}} = \sqrt{(0,0017)^2 + (0,0289)^2} = 0,0289$$

$$\mu_{\text{balança}} = \sqrt{\left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,0061$$

Para o cálculo da precisão da análise do candidato a MRC, utilizou-se o desvio padrão das razões das áreas obtidas (0,3858, 0,6335 e 0,9435) e dividiu-se pela raiz do número de análises (n=3).

$$\mu \text{ precisão} = \frac{s}{\sqrt{3}} = 0,1613$$

$$\mu \text{ curva de calibração} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} = 0,0080$$

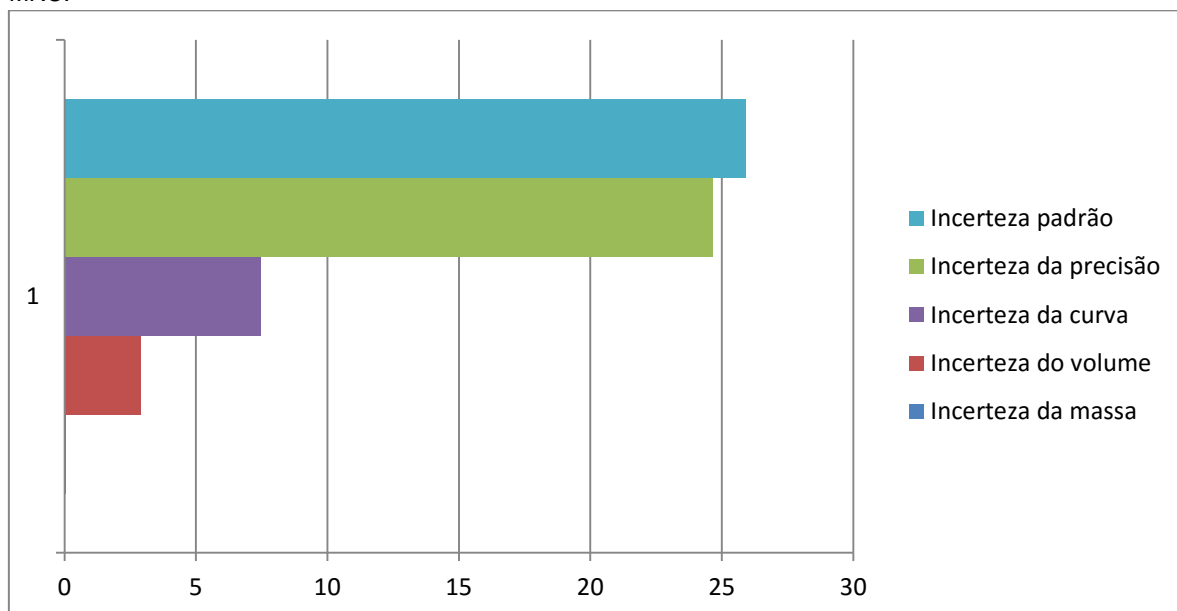
Com estes dados, calculou-se a incerteza padrão através da equação 15.

$$\mu \text{ padrão} = \sqrt{\left(\frac{0,0289}{1}\right)^2 + \left(\frac{0,0061}{9,4919}\right)^2 + \left(\frac{0,1613}{0,6543}\right)^2 + \left(\frac{0,0080}{0,1312}\right)^2}$$

$$\mu \text{ padrão} = 0,2592$$

Assim, obteve-se um gráfico com a contribuição de cada incerteza em porcentagem que está representado na Figura 25.

Figura 25 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do metanol presente no candidato a MRC.



Estimativa da incerteza para o 2-butanol:

$$\mu \text{ temperatura} = \frac{3 \cdot 2,6 \cdot 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0,0045$$

$$\mu \text{ micropipeta} = \frac{0,05}{\sqrt{3}} = 0,0289$$

$$\mu \text{ volume} = \sqrt{(0,0045)^2 + (0,0289)^2} = 0,0292$$

$$\mu \text{ balança} = \sqrt{\left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,0061$$

Para o cálculo da precisão da análise do candidato a MRC, utilizou-se o desvio padrão das razões das áreas obtidas (0,9992, 1,459 e 2,137) e dividiu-se pela raiz do número de análises (n=3).

$$\mu \text{ precisão} = \frac{s}{\sqrt{3}} = 0,3306$$

$$\mu \text{ curva de calibração} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} = 0,0054$$

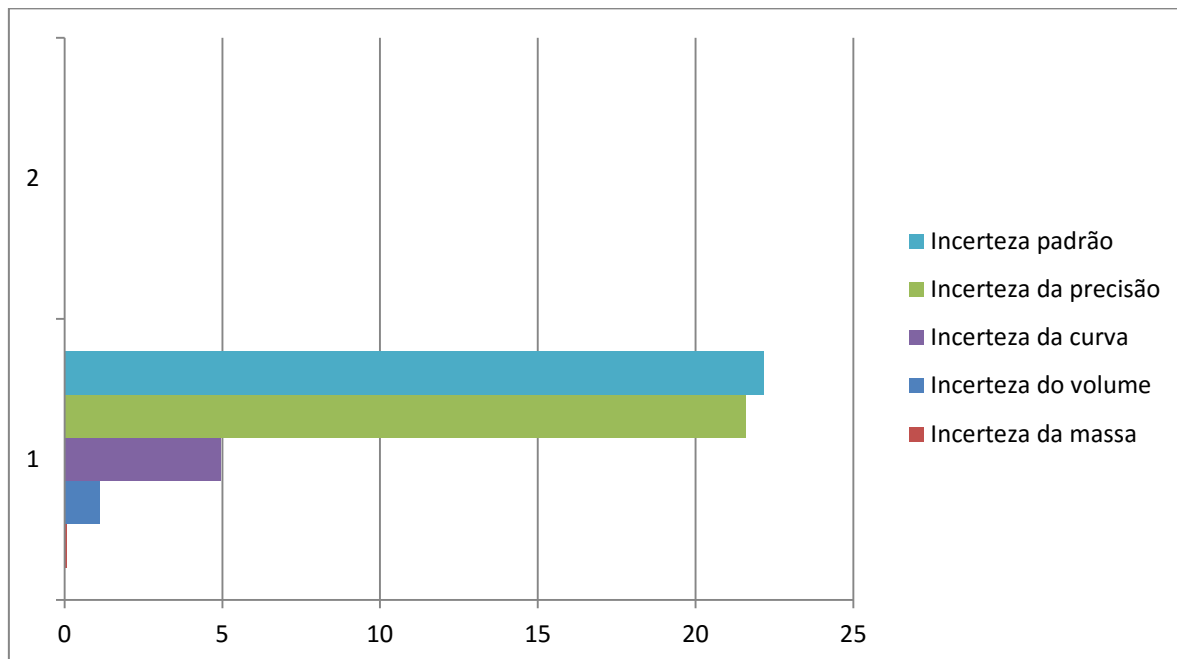
Com estes dados, calculou-se a incerteza padrão através da equação 15.

$$\mu \text{ padrão} = \sqrt{\left(\frac{0,0292}{1}\right)^2 + \left(\frac{0,0061}{9,4919}\right)^2 + \left(\frac{0,3306}{1,532}\right)^2 + \left(\frac{0,0054}{0,1744}\right)^2}$$

$$\mu \text{ padrão} = 0,2217$$

Assim, obteve-se um gráfico com a contribuição de cada incerteza em porcentagem que está representado na Figura 26.

Figura 26 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do 2-butanol presente no candidato a MRC.



Estimativa da incerteza para o propanol:

$$\mu_{\text{balança}} = \sqrt{\left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,0061$$

Para o cálculo da precisão da análise do candidato a MRC, utilizou-se o desvio padrão das razões das áreas obtidas (0,7974, 1,051 e 1,657) e dividiu-se pela raiz do número de análises (n=3).

$$\mu_{\text{precisão}} = \frac{s}{\sqrt{3}} = 0,2551$$

$$\mu_{\text{curva de calibração}} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} = 0,0064$$

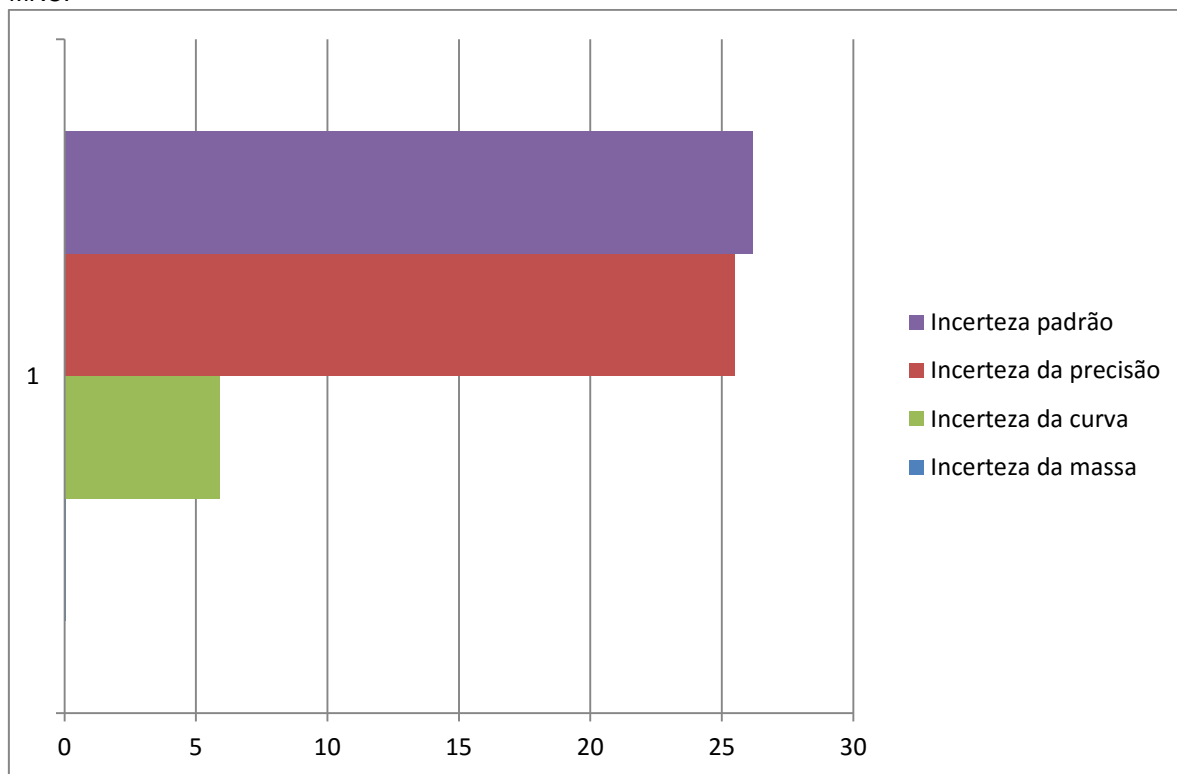
Com estes dados, calculou-se a incerteza padrão através da equação 15.

$$\mu_{\text{padrão}} = \sqrt{\left(\frac{0,0061}{9,4919}\right)^2 + \left(\frac{0,2551}{1,168}\right)^2 + \left(\frac{0,0064}{0,1396}\right)^2}$$

$$\mu_{\text{padrão}} = 0,2618$$

Assim, obteve-se um gráfico com a contribuição de cada incerteza em porcentagem que está representado na Figura 27.

Figura 27 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do propanol presente no candidato a MRC.



Estimativa da incerteza para o 2-metilpropan-1-ol:

$$\mu_{\text{balança}} = \sqrt{\left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,0061$$

Para o cálculo da precisão da análise do candidato a MRC, utilizou-se o desvio padrão das razões das áreas obtidas (1,141, 1,667 e 2,169) e dividiu-se pela raiz do número de análises (n=3).

$$\mu_{\text{precisão}} = \frac{s}{\sqrt{3}} = 0,2969$$

$$\mu_{\text{curva de calibração}} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} = 0,0039$$

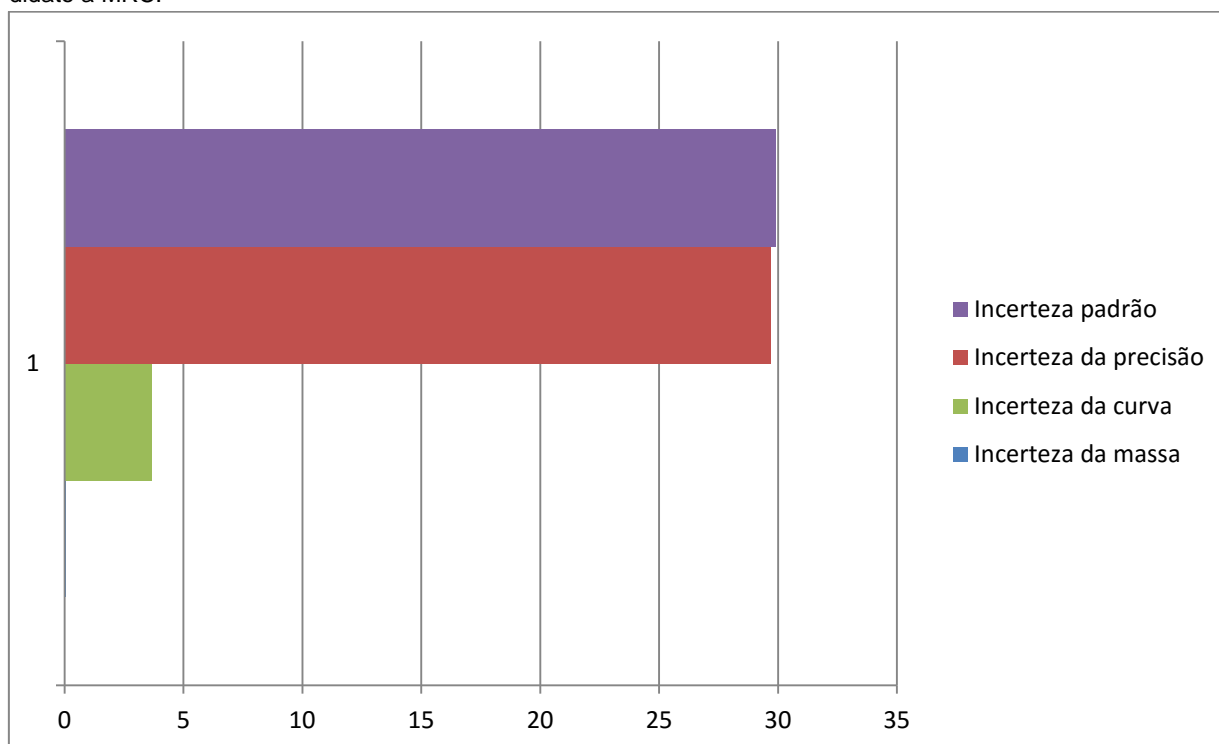
Com estes dados, calculou-se a incerteza padrão através da equação 15.

$$\mu \text{ padrão} = \sqrt{\left(\frac{0,0061}{9,4919}\right)^2 + \left(\frac{0,2969}{1,659}\right)^2 + \left(\frac{0,0039}{0,1555}\right)^2}$$

$$\mu \text{ padrão} = 0,2992$$

Assim, obteve-se um gráfico com a contribuição de cada incerteza em porcentagem que está representado na Figura 28.

Figura 28 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do 2-metilpropan-1-ol presente no candidato a MRC.



Estimativa da incerteza para o n-butanol:

$$\mu \text{ temperatura} = \frac{3 \cdot 2,6 \cdot 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0,0045$$

$$\mu \text{ micropipeta} = \frac{0,05}{\sqrt{3}} = 0,0289$$

$$\mu \text{ volume} = \sqrt{(0,0045)^2 + (0,0289)^2} = 0,0292$$

$$\mu \text{ balança} = \sqrt{\left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,0061$$

Para o cálculo da precisão da análise do candidato a MRC, utilizou-se o desvio padrão das razões das áreas obtidas (0,7974, 1,051 e 1,657) e dividiu-se pela raiz do número de análises (n=3).

$$\mu \text{ precisão} = \frac{s}{\sqrt{3}} = 0,2551$$

$$\mu \text{ curva de calibração} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} = 0,0044$$

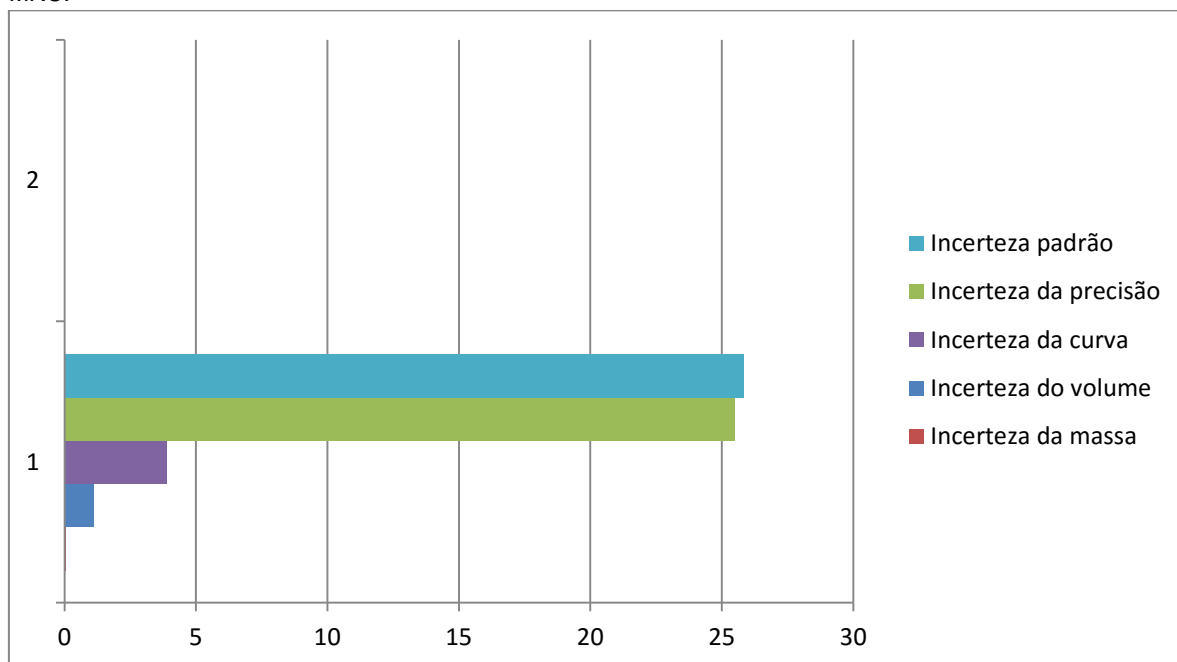
Com estes dados, calculou-se a incerteza padrão através da equação 15.

$$\mu \text{ padrão} = \sqrt{\left(\frac{0,0292}{2,6}\right)^2 + \left(\frac{0,0061}{9,4919}\right)^2 + \left(\frac{0,2551}{1,168}\right)^2 + \left(\frac{0,0044}{0,1128}\right)^2}$$

$$\mu \text{ padrão} = 0,2583$$

Assim, obteve-se um gráfico com a contribuição de cada incerteza em porcentagem que está representado na Figura 29.

Figura 29 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do n-butanol presente no candidato a MRC.



Estimativa da incerteza para o 3-metilbutan-1-ol:

$$\mu_{\text{balança}} = \sqrt{\left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,0061$$

Para o cálculo da precisão da análise do candidato a MRC, utilizou-se o desvio padrão das razões das áreas obtidas (1,700, 2,249 e 3,055) e dividiu-se pela raiz do número de análises (n=3).

$$\mu_{\text{precisão}} = \frac{s}{\sqrt{3}} = 0,3932$$

$$\mu_{\text{curva de calibração}} = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} = 0,0038$$

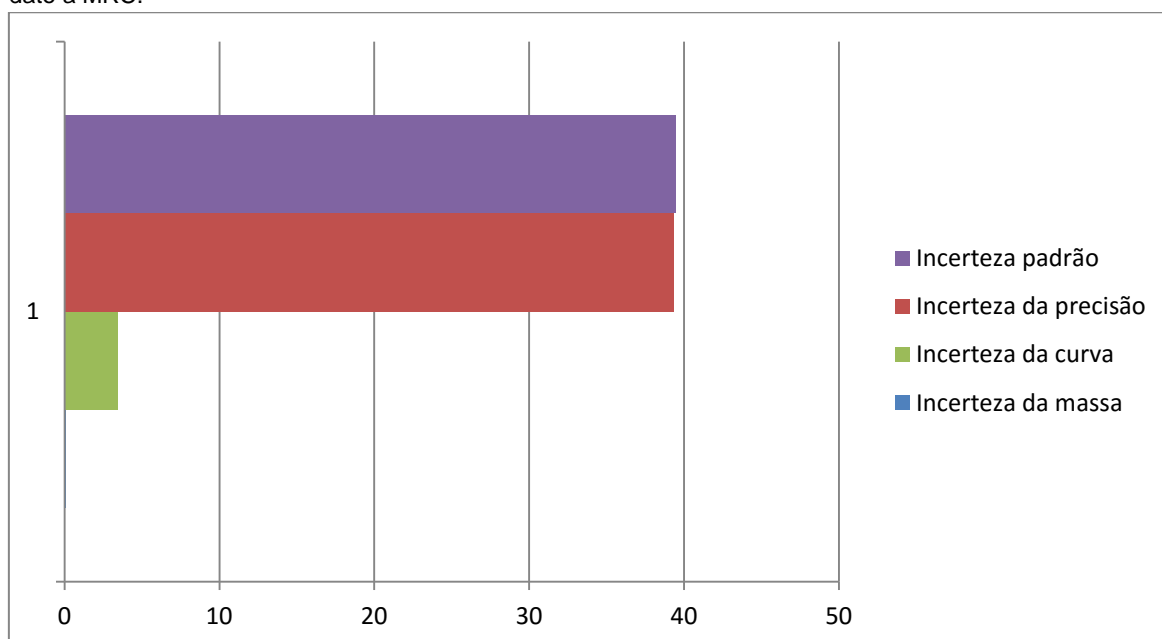
Com estes dados, calculou-se a incerteza padrão através da equação 15.

$$\mu_{\text{padrão}} = \sqrt{\left(\frac{0,0061}{9,4919}\right)^2 + \left(\frac{0,3932}{2,335}\right)^2 + \left(\frac{0,0038}{0,2115}\right)^2}$$

$$\mu_{\text{padrão}} = 0,3948$$

Assim, obteve-se um gráfico com a contribuição de cada incerteza em porcentagem que está representado na Figura 30.

Figura 30 – Contribuição de cada etapa do processo na incerteza padrão do 3-metilbutan-1-ol presente no candidato a MRC.



Como pode ser observado nos gráficos de incerteza padrão, os maiores contribuintes são a precisão da análise do candidato a MRC e a curva analítica. Isto é um indicativo de que o equipamento utilizado apresentou grande variabilidade na avaliação das amostras. Para redução desta incerteza, seria necessário um equipamento de melhor precisão e avaliação do material com um maior número de replicações.

Tabela 29 – Concentração e estimativa de incerteza no MRC.

Analito	Concentração	
	(mg/100 mL de etanol anidro)	Incerteza (%)
Acetaldeído	27,4	45,4
Acetato de etila	263,5	44,1
Metanol	67,1	51,8
2-butanol	89,3	44,3
Propanol	71,5	52,4
2-metilpropan-1-ol	79,6	59,8
n-butanol	78,7	51,7
3-metilbutan-1-ol	108,3	79,0

Na tabela está representada a incerteza expandida em porcentagem de cada analito, ou seja, a incerteza padrão multiplicada pelo fator $k=2$ para um nível de confiança de 95%.

5 Conclusão

Embora o processo de produção de material de referência possua guias claros e aceitos internacionalmente como as normas ISO, isto não o torna um processo menos trabalhoso.

Neste trabalho foi proposta a realização da primeira etapa de produção de material de referência, ou seja, a etapa de caracterização seguindo as normas ISO Guide 34 e 35. Embora não tão trabalhosa como as etapas subsequentes, a etapa de caracterização possui seus empecilhos, visto que se necessita de um ambiente controlado e equipamentos calibrados para que se obtenham resultados confiáveis e com rastreabilidade.

O objetivo proposto neste trabalho foi atingido em parte, visto que se realizou a caracterização pela técnica de cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (CG/DIC), entretanto, devido à indisponibilidade do cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG/EM) não foi possível a comparação dos resultados obtidos para confirmar a caracterização de fato, como é descrita na norma ISO Guide 34 – que solicita a caracterização com duas técnicas diferentes.

Somado a isso, foi realizado o cálculo das incertezas e concluiu-se que o maior contribuinte para a incerteza padrão estava justamente na precisão da análise, que é referente ao equipamento utilizado. Fato fácil de ser compreendido visto que o cromatógrafo utilizado era de uso comum às pessoas do Instituto de Química e estava submetido a curtos prazos de utilização, tornando difícil a manutenção da qualidade das análises.

As próximas etapas do processo para a criação do candidato a MRC, além da caracterização pela CG/EM, devem ser: o estudo de estabilidade, o estudo da homogeneidade e o cálculo da incerteza expandida.

Portanto, este trabalho deve ser visto como a obtenção de um know-how da etapa da caracterização. Ou seja, é um prelúdio de um trabalho maior, no caso, o projeto de mestrado de Danieli Marcki, que será realizado de forma mais controlada e com insumos e equipamentos que seguem *ipsis litteris* o que determina a norma.

6 Referências Bibliográficas

- 1 CARVALHO, M. M. de; PALADINI, E. P.; BOUER, G.; FERREIRA, J. J. do A.; MIGUEL, P. A. C.; SAMOBYL, R. W.; ROTONDARO, R. G. **Gestão da Qualidade: Teoria e Casos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier: ABEPRO, 2012. 430 p.
- 2 MARSHALL JUNIOR, I.; ROCHA, A. V.; MOTA, E. B.; QUINTELLA, O. M. **Gestão da qualidade e processos**. Rio de Janeiro: Editora FGV, 2012. 204 p.
- 3 JURAN, J. M. **Juran's Quality Handbook**. 5 ed. New York: McGraw-Hill, 1999.
- 4 OLIVARES, I. R. B.. **Gestão de Qualidade em Laboratórios**, 3 ed, Campinas: Editora Átomo, 2015. 160 p.
- 5 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC 17025**: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro: ABNT, 2005.
- 6 **NIT-DICLA-035**: Requisitos Gerais para Laboratórios Segundo os Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL. 2 rev. Set. 2011.
- 7 OLIVARES, I. R. B.; LOPES, F. A. Essential steps to providing reliable results using the Analytical Quality Assurance Cycle. **Trends in Analytical Chemistry** (Regular ed.), v.35, p.109 – 121, 2012.
- 8 **ISO Guide 30**: Reference materials – Selected terms and definitions. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, 2015.
- 9 **ISO Guide 31**: Reference materials – Contents of certificates and labels. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, 2000.
- 10 **ISO Guide 33**: Reference materials – Good practice in using reference materials. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, 2015.
- 11 **ISO Guide 34**: General requirements for the competence of reference material producers. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, 2009.
- 12 **ISO Guide 35**: Reference materials – General and statistical principles for certification. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, 2006.

13 PORTARIA Nº 664, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2012. Aprova documento do Inmetro que estabelece o Grupo de Coordenação Transitória (GCT) para a implantação da Rede de Metrologia Química (REMEQ-I) e dá outras providências.

14 Rede de Metrologia Química do Inmetro – Remeq-I. Disponível em: <http://www2.inmetro.gov.br/remeq-i/>. Acesso em: março de 2015.

15 MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria Nº 65, de 23 de Abril de 2008. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/pontofocal/..%5Cpontofocal%5Ctextos%5Cregulamentos%5CBRA_276.pdf>. Acesso em: março de 2015.

16 SCOTCH WHISKY ASSOCIATION. 2012 Statistical Report. Disponível em: <http://www.scotch-whisky.org.uk/media/62024/2012_statisticl.report.pdf?Action=download> Acesso em: março de 2015.

17 INSTITUTO BRASILEIRO DE PESQUISA E ESTATÍSTICA. Brasil em Números. Disponível em: <http://www.biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/monografias/GEBIS%20-%20RJ/brasilnumeros/Brasil_numeros_v20_2012.pdf> . Acesso em : março 2015.

18 MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Planilha dos principais produtos do Departamento de Qualidade em Alimentos e Bebidas. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/TOTAL%20PARA%20PORTAL%2021,JAN,14.rar> . Acesso em: março de 2015.

19 FAPAS. Disponível em: <<http://fapas.com/quality-control-materials/Available-quality-control-materials.cfm>>. Acesso em: março de 2015.

20 Monteiro, T.M.; Rodrigues, J.M.; Rego, E.C.P.; Rocha, W.F.C.; Mattos, J.S.; Nunes, F.F.; Cunha, V.S.; Cruz, M. H. C. de la; Souza, V.. Development of a certified reference material for cachaça: an effective material for quality assurance. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 11 de Maio de 2013.

21 Método 15 do Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº 24, de 8 de Setembro de 2005.

22 MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Planilha dos principais produtos do Departamento de Qualidade em Alimentos e Bebidas. Disponível em: <
http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/TOTAL%20PARA%20PORTAL%2021,JAN,14.rar >. Acesso em: março de 2015.

23 MILLER, J. N.; MILLER, J.C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 4 ed. New York: Prentice Hall, 2000.

24 NÓBREGA, I. C.C.; OLIVIERA, S. P. A.; MONAKHOVA, Y. B.; PEREIRA, E. V. S.; ARAÚJO, A. C. P. ; TELLES, D. L. ; SILVA, M. ; LIMA, V. L. A. G.; LACHENNEIER, D. W. **Chemical composition of whiskies produced in Brazil compared to international products**. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, v. 109, p. 145-149, 2013.

25 Guia EURACHEM / CITAC. Determinando a Incerteza na Medição Analítica. 3 ed, 2012.

26 **ISO 8655-2**: Piston-operated volumetric apparatus -- Part 2: Piston pipetes. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, 2002.