

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

THÁBITA THICIANA BASTOS MARCHEZI

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM CANDIDATO
À MATERIAL DE REFERÊNCIA DE ELEMENTOS TRAÇO
EM PETRÓLEO**

**Preparation and characterization of a candidate to the Reference
Material of trace elements in crude oil**

**VITÓRIA
2019**

THÁBITA THICIANA BASTOS MARCHEZI

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM CANDIDATO À MATERIAL DE
REFERÊNCIA DE ELEMENTOS TRAÇO EM PETRÓLEO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Química, na área de Química Analítica.

Orientador: Profa. Dra. Maria
Tereza Weitzel Dias Carneiro Lima

Coorientador: Dr. Rodrigo Caciano Sena

**VITÓRIA
2019**

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

M316p Marchezi, Thábita Thiciana Bastos, 1981-
Preparação e caracterização de um candidato à material de
referência de elementos traço em petróleo / Thábita Thiciana
Bastos Marchezi. - 2019.
163 f.

Orientadora: Maria Tereza Weitzel Dias Carneiro Lima.
Coorientador: Rodrigo Caciano Sena.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do
Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Material de Referência Certificado. 2. Petróleo. 3.
Elementos Traço. I. Lima, Maria Tereza Weitzel Dias Carneiro.
II. Sena, Rodrigo Caciano. III. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro de Ciências Exatas. IV. Título.

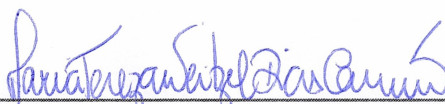
CDU: 54

Preparação e Caracterização de um candidato à Material de Referência de Elementos Traço em Petróleo

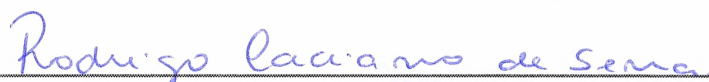
Thábita Thiciana Bastos Marchezi

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Química.

Aprovada em 28/03/2019 por:



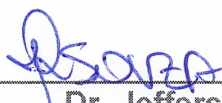
Prof. Dra. Maria Tereza Weitzel Dias Carneiro Lima
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



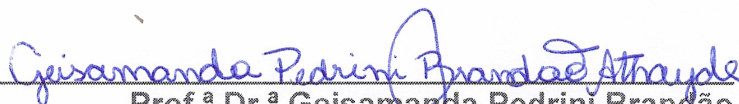
Dr. Rodrigo Caciano Sena
Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
Coorientador



Prof.ª Dr.ª Ana Rita de Araujo Nogueira
Universidade Federal de São Carlos



Dr. Jefferson Rodrigues de Souza
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof.ª Dr.ª Geisamanda Pedrini Brandão
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Paulo Roberto Filgueiras
Universidade Federal do Espírito Santo

Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória, março de 2019

Dedico este trabalho ao meu marido Thiago e aos meus filhos Lucas e Caio, pelo apoio e amor incondicional em todos os momentos. Sem vocês nenhuma conquista valeria a pena.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me mantido fiel ao meu propósito, ter me dado saúde e força para buscar soluções e não ter me deixado abater diante das dificuldades.

Ao meu marido Thiago Marchezi Doellinger, por quem tenho grande admiração, pelo incentivo e por não medir esforços para que esse momento fosse possível. Obrigada por sempre acreditar em mim!

À toda a minha família por todo suporte e incentivo. De forma muito especial à minha mãe Nádia Maria Bastos Vilches e à minha sogra Rita de Cássia Marchezi Doellinger, que se revezaram nos cuidados com o meu caçula, me dando a tranquilidade para que pudesse me dedicar as atividades do Doutorado.

Ao meu pai Tarceli Dimas Ferreira Vilches (In memoriam) e meu sogro Hermman Damázio Doellinger (In memoriam), que mesmo em outro plano estiveram presentes em minha memória.

Ao meu primogênito e futuro químico Lucas Bastos Vilches Paraíso, pela ajuda nos experimentos durante os finais de semana e que junto com o meu caçula Caio Bastos Marchezi Doellinger, são as grandes inspirações da minha vida.

Aos meus irmãos Thiago Thalís Bastos Vilches e Thanira Thammy Bastos Vilches e ao meu cunhado Filipe Marchezi Doellinger, pela torcida e pelos momentos divididos.

À minha orientadora professora Dra Maria Tereza Weitzel Dias Carneiro, primeiro por ter aceito me orientar quando meu ingresso no programa já havia ocorrido e num tema desafiante. Obrigada por toda disponibilidade, amizade, contribuições, incentivo na busca soluções e confiança no trabalho realizado.

Ao meu coorientador Dr. Rodrigo Caciano por toda generosidade em dividir seus conhecimentos comigo, disponibilizando artigos, revisando o meu projeto, a minha qualificação, e esta tese e por todo suporte e orientação durante o doutorado.

Aos professores Dra. Geisamanda Pedrini Brandão Athayde, Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira e Dr. Paulo Roberto Filgueiras, pelas importantes considerações na qualificação.

Ao professor Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega (UFSCar), por disponibilizar a infraestrutura do Gaia para a realização de algumas atividades deste projeto.

À Suzano S/A (ex-Fibria Celulose), representada aqui pela minha grande amiga Msc. Lorena Giacomim Martins, pela disponibilização de recursos e infraestrutura para a realização de algumas atividades deste projeto.

À Tommasi Analítica, representada aqui pelo pesquisador Msc. Otávio Arruda Heringer, pela disponibilização de recursos e infraestrutura para a realização de algumas atividades desse projeto.

Ao professor Dr. Levy de Carvalho Gomes e a técnica Bárbara Chiste da Universidade de Vila Velha (UVV), pela disponibilização de recursos e infraestrutura para a realização de algumas atividades deste projeto.

Ao professor Dr. André Romero da Silva do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) pela disponibilização de recursos e infraestrutura para a realização de algumas atividades deste projeto.

Aos laboratórios participantes do estudo colaborativo: Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA) da Universidade Federal de São Carlos, Elemental Analysis Lab do IFP Energie Nouvelles (França), Labspectro da PUC-RIO, Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA) da Universidade Federal de Santa Maria e do Setor de Elementos Inorgânicos da Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS/Fiocruz .

À equipe do Laboratório de Caracterização Primária de Petróleo do Labpetro (UFES), em especial à Cristina Sad pelos ensaios de caracterização do petróleo e paciência em me ensinar a técnica do Karl Fischer.

Aos amigos do Laboratório de Espectrometria Atômica (LEA) que fiz durante esses 4 anos: Bruna Miurim Dalfior, Kamila Soares do Espírito Santo, Eldis Maria, Fernanda Costa, Larissa Dias Roriz, Maiara Krause, Rayana Alvarenga, Mariana Zanotelli Gomes Fornazier, Tiago Cunha, Vitor Nunes, Igor Cunha pela torcida e pelos momentos de descontração.

À amiga Luiza Valli Vieira pelo auxílio nos experimentos, pela disponibilidade, pela contribuição e parceria nos trabalhos de petróleo.

À amiga Larissa Campos Motta, que além de ter dividido seu convívio diário na UFES, acreditou no meu trabalho e hoje segue comigo em minha nova empreitada.

À amiga Roberta Chechetto por ter tornado a minha jornada mais leve e divertida, pela preciosa ajuda e parceria na parte experimental do projeto, por toda contribuição, empatia e amizade.

À Petrobrás (Petróleo Brasileiro S.A.), ANP (Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis), FAPES (Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), PPGQUI-UFES (Programa de Pós-Graduação em Química), NCQP (Núcleo de Competências em Química do Petróleo) pelo suporte neste estudo.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

“A persistência é menor caminho do êxito”
Charles Chaplin

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diferenças entre Materiais de Referência (MR) e Material de Referência Certificado (MRC).....	26
Figura 2 – Esquema das etapas da produção de um material de referência	30
Figura 3 – Esquema do estudo de homogeneidade entre unidades.....	38
Figura 4 – Planejamentos para o estudo de homogeneidade.....	42
Figura 5 – Esquema do procedimento experimental	54
Figura 6 - Processo de homogeneização do blend (a) agitador tipo “high speed mixer” e (b) esquema de retirada das alíquotas para o teste de homogeneização....	56
Figura 7 - Titulador Automático 809 Titrand (Metrohm, Suíça).....	57
Figura 8 - Envase em ampolas.....	59
Figura 9 - Frasco utilizado para envase do SRM 1634c NIST	59
Figura 10 - Processo de descontaminação dos frascos de vidro	60
Figura 11 – Candidato à material de referência envasado	61
Figura 12 - Representação esquemática dos métodos utilizados	64
Figura 13 – Equipamentos utilizados para o processo de medição	68
Figura 14 - Micro-ondas SpeedWave 4 (a) e frasco do tipo DAP-60 (b).....	71
Figura 15 - Amostra pós centrifugação à 2500 rpm com presença de sedimentação.	78
Figura 16 – Foto da Microscopia do blend preparado 50X (Microscópio ótico polarizado Nikon, modelo LV100POL com lentes objetivas eclipse LV100)	79
Figura 17 - Representação do efeito da ordem de medição na corrida.	84
Figura 18 - Representação do efeito ordem de processamento por elemento determinado (○ valor médio e ● valor individual)	85
Figura 19 – Teor de água emulsionada % m/m em relação a ordem de envase.	87
Figura 20 - Representação gráfica dos frascos no sistema de eixos de PC1 versus PC2: homogeneidade entre unidades (a) Scores (b) Loading	88
Figura 21 - Gráficos de tendência para avaliação da estabilidade em curto prazo...92	
Figura 22 - Gráficos de tendência para avaliação da estabilidade em longo prazo na temperatura de referência.	95

Figura 23 – Correlação entre fração mássica do analito e água emulsionada (KF).	97
Figura 24 – Embalagem enviada com as amostras para o estudo colaborativo.....	99
Figura 25 – Resultados do estudo colaborativo (média $\pm$ desvio-padrão)	101
Figura 26 – Representação do intervalo de confiança no teste de Tukey	104
Figura 27 – Fluxograma das etapas envolvidas no processo de medição	108
Figura 28 – Diagrama Espinha de peixe das fontes de incerteza associadas baseado no modelo matemático do mensurando	109
Figura 29 – Diagrama Espinha de peixe das fontes de incerteza associadas a medição na curva analítica.	109
Figura 30 – Diagrama Espinha de peixe das fontes de incerteza associadas ao preparo dos padrões da curva.....	110
Figura 31 – Rótulo do material de referência produzido.	119
Figura 32 - Diagrama de Pareto dos termos da equação do modelo.	133
Figura 33 - Superfície de resposta Pot, X TAsp.	134
Figura 34 - Superfície de resposta GN x Pot.	135
Figura 35 - Superfície de resposta GN x TAsp.	135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características chave dos materiais de referência.....	27
Tabela 2 – Normas ISO e respectivas versões brasileiras.....	29
Tabela 3 – Quantidade de material amostrado x preparado	32
Tabela 4 – Principais procedimentos utilizados no processamento de materiais de referência.....	35
Tabela 5 – Materiais de referência certificado de petróleo para elementos traço cadastrados no COMAR.	53
Tabela 6 – Características das amostras selecionadas para preparação do blend.....	55
Tabela 7 – Características dos testes preliminares de homogeneidade e estabilidade	57
Tabela 8 - Condições Operacionais do ICP-MS NexION 300.	68
Tabela 9 - Condições Operacionais do F AAS ZEEnit 700	69
Tabela 10 - Condições Operacionais do ICP OES Optima 7000 DV e Optima 7300 DV.	70
Tabela 11 - Programa da decomposição assistida por radiação micro-ondas.	71
Tabela 12 - Instituições e laboratórios participantes no estudo Colaborativo.	74
Tabela 13 - Resumo dos métodos de preparo e técnicas utilizadas pelos laboratórios do estudo colaborativo.....	74
Tabela 14 - Resultados do teor de água pelo método Karl Fischer.....	77
Tabela 15 - Resultados do Teste de Centrifugação	78
Tabela 16 – Avaliação do método de medição ($n_{ai}=3$)	81
Tabela 17 – Frações mássicas obtidas em diferentes massas de amostra.	82
Tabela 18 - <i>Correlação Spearman água emulsionada x elementos</i>	87
Tabela 19 - Análise de variância (ANOVA) fator único para o estudo de homogeneidade...	89
Tabela 20 - Valores de desvio-padrão referentes à não homogeneidade	91
Tabela 21 - Análise de variância do estudo de estabilidade em curto prazo.	94
Tabela 22 - Análise de regressão da estabilidade em longo prazo	96
Tabela 23 – Variação de massa no frasco fechados	98
Tabela 24 - Valores de incerteza-padrão referentes à estabilidade ($t = 12$ meses).....	99
Tabela 25 – Fração mássica ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos analitos Ba, Ca, Mg, Na, Ni, Sr e V e respectivos desvios-padrões ($\pm$ DP) obtidos por diferentes métodos ($n=3$ à 20).....	102
Tabela 26 – Incerteza-padrão dos resultados por método	113
Tabela 27 – Valores atribuídos e incerteza segundo Levenson.....	115
Tabela 28 – Estimativa de todas as fontes de incertezas dos estudos de certificação obtidas para cada elemento	116

Tabela 29 – Comparação dos valores certificados dos materiais de referência para elementos traços em petróleo.....	117
Tabela 30 – Classificação dos valores de propriedades obtidos.....	119
Tabela 31 – Matriz Experimental CCD.	132
Tabela 32 - Análise de Variância (ANOVA) do modelo.....	134
Tabela 33 – Fração Mássica ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos resultados obtidos no estudo colaborativo.	145

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A2LA – American Association for Laboratory Accreditation

API – American Petroleum Institute

ABNT – Associação Brasileira de Norma Técnicas

ANOVA – Análise de Variâncias

ASTM – American Society for Testing and Materials

BAM – Bundesanstalt für Materialforschung und Prüfung

BSW – Basic Sediments and Water

CETEM – Centro de Tecnologia Mineral

CCD – Central Composite Design (Planejamento do Composto Central)

Cgcre – Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro

COMAR – Code d'Indexation des Matériaux de Référence

DDS – Diluição Direta com Solvente

DMS – Diferença Mínima Significativa

EDMO - Eficiência da Decomposição da Matéria Orgânica

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EIQE – Extração Induzida por Quebra de Emulsão

F AAS - Espectrometria de absorção atômica por chama

FIA-CV-AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com sistema de injeção em fluxo e geração de vapor frio

GAIA – Grupo de Análise Instrumental Aplicada

GF AAS - Espectrometria de absorção atômica por Forno de Grafite

HCA - Hierarchical Cluster Analysis

ICP OES - Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente acoplado

ICP-MS - Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente acoplado

IDMS - Diluição Isotópica aplicada a Espectrometria de Massa

IEC – International Electrotechnical Commission

IFES – Instituto Federal do Espírito Santo

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas

IQN - Intervalo Interquartilico Normalizado

ISO – International Organization for Standardization

LAIQA – Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais

LEA – Laboratório de Espectrometria Atômica

MAWD-SRC – Sistema assistido por radiação micro-ondas em câmara única de reação

MCTIC – Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações

MR – Material de Referência

MRC - Material de Referência Certificado

NCPQ – Núcleo de Competências em Química do Petróleo

NIST – National Institute of Standards and Technology

PCA – Principal Component Analysis

SFA - Sistema Fechado Ácido nítrico

SFAP – Sistema Fechado Ácido nítrico/Peróxido

SRM – Standard Reference Material

UFES – Universidade Federal do Espírito Santo

UFSCar – Universidade Federal de São Carlos

USP – Universidade de São Paulo

VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia

LISTA DE SÍMBOLOS

cSt - centistoke (unidade de viscosidade)

δ_{hom} - termo do erro devido à heterogeneidade o qual inclui a variação entre unidades junto com qualquer heterogeneidade dentro da unidade

δ_{lts} - termo do erro que representa os efeitos da estabilidade nas condições de estocagem

MQ_{entre} - média quadrática entre unidades

MQ_{dentro} - média quadrática dentro da unidade

n - o número de replicatas por unidade

n_{al} - número de observações em cada n alíquotas tiradas de cada unidade para medição

s_r – desvio-padrão de repetitividade

U_{CRM} – incerteza expandida do valor de propriedade

U_{char} – incerteza-padrão do valor de propriedade obtido da caracterização do lote ou no caso de uma caracterização de um artefato simples, o valor de propriedade obtido deste artefato

U_{hom} – incerteza-padrão devido à heterogeneidade o qual inclui a variação entre unidades junto com qualquer heterogeneidade dentro da unidade

U_{lts} – incerteza-padrão que representa os efeitos da estabilidade nas condições de estocagem.

U_{trg} – incerteza-padrão alvo para o valor de propriedade

x_{CRM} - valor de propriedade atribuída do MR ou MRC

y_{char} - valor de propriedade obtido da caracterização do lote ou no caso de uma caracterização de um artefato simples, o valor de propriedade obtido deste artefato

RESUMO

Devido à complexidade da matriz do petróleo para determinação de elementos traço, principalmente por técnicas multielementares, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos para otimizar parâmetros instrumentais ou ainda novos métodos para o preparo e introdução de amostras. Para o desenvolvimento desses trabalhos, torna-se necessária a utilização de materiais de referência (MRs) e/ou materiais de referência certificados (MRCs) para verificar o desempenho do novo método proposto. Contudo, a maioria dos materiais de referência na área de petróleo para elementos traço se resume às matrizes de gasolina, óleo diesel, óleo combustível e óleo lubrificante. Neste trabalho foram desenvolvidas todas as etapas necessárias para a preparação, caracterização e certificação de um material de referência nacional de petróleo para elementos traço, seguindo os requisitos aceitos internacionalmente. Para o preparo do material foram utilizados cerca de 3 kg de petróleo bruto que, após homogeneização em condições otimizadas, foi distribuído entre 115 unidades, contendo cerca de 20 g cada. Foi estudada a homogeneidade do material já envasado nas diferentes unidades. Para o estudo de estabilidade a curto prazo realizou-se o estudo em diferentes temperaturas, variando de +4 a +50°C e tempos de armazenamento de 1, 2, 3 e 4 semanas. Já o estudo em longo prazo durou 9 meses e foi realizado na temperatura ambiente do laboratório (+20 a +26 °C). Os resultados obtidos indicaram que o material se mostrou homogêneo e estável nas condições estudadas. A avaliação estatística envolveu técnicas da estatística clássicas, como, os testes de análise de variância e de regressão e técnicas de análise multivariada, como a análise de componentes principais (PCA). Para atribuição dos valores das frações mássicas ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos de interesse, foi utilizada uma abordagem *in house* de multi métodos. A combinação dos resultados obtidos nas etapas de caracterização e dos estudos de homogeneidade e estabilidade possibilitou atribuir valores a 5 elementos com suas respectivas incertezas, sendo 2 valores certificados (Ni, V), 3 valores de referência (Ba, Na e Sr) e 4 valores informativos (Ca, Mg, Co, Fe).

Palavras-chave: MRC, Material de Referência Certificado, Petróleo, Elementos traço.

ABSTRACT

Due to the complexity determination of trace elements in crude oil, mainly by multi-element techniques, many works have been developed to optimize instrumental parameters and new techniques for preparation and introduction of samples, aiming at improving the sensitivity, precision and accuracy in the measurement. In all cases, it is necessary to use reference materials (RMs) and/or certified reference materials (CRMs) to verify the performance of the new proposed method. However, most reference materials for trace elements in the liquid fuels are matrices like gasoline, diesel oil, fuel oil and lubricating oil. In this work it was developed all the necessary steps for the preparation, characterization and certification of a national crude oil reference material for trace elements following the internationally accepted requirements. Three kilos of crude oil were homogenized under optimized conditions and they were distributed among 115 units containing about 20 g each. The homogeneity of the material was studied in the different units produced. For the short-term stability study, a test was performed at different temperatures, ranging from + 4 to + 50 ° C, and storage times of 1, 2, 3 and 4. The long-term study was performed for 9 months at the laboratory room temperature (+20 to +26 °C). The obtained results indicated that the material was homogeneous and stable under the studied conditions. For the statistical evaluation, classical statistical techniques were performed, such as analysis of variance and regression tests and multivariate techniques, as the principal component Analysis (PCA). For the values attributed to the mass fractions ($\mu\text{g g}^{-1}$), a multi-method in-house approach was used. The combination of the results obtained in the characterization and in the studies of homogeneity and stability allowed to assign values to 5 elements with their respective uncertainties: 2 certified values (Ni and V), 3 reference values (Ba, Na and Sr) and 4 values information (Ca, Mg, Co and Fe).

Keyword: Reference material, CRM, homogeneity, stability, crude oil, trace elements

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA.....	20
1.2 JUSTIFICATIVA.....	22
1.3 OBJETIVO DO TRABALHO.....	23
1.3.1 Objetivo geral.....	23
1.3.2 Objetivos específicos.....	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.1 A UTILIZAÇÃO DOS MATERIAIS DE REFERÊNCIA.....	25
2.2 PRODUÇÃO DE MATERIAIS DE REFERÊNCIA.....	28
2.3 AQUISIÇÃO DO MATERIAL DE PARTIDA	31
2.4 PREPARAÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA	32
2.5 ESTUDOS DE HOMOGENEIDADE	37
2.5.1 Planejamentos experimentais para os estudos de homogeneidade	39
2.5.1.1 Planejamento básico – Medições em uma única corrida	39
2.5.1.2 Planejamento do bloco aleatório	40
2.5.1.3 Planejamento balanceado aninhado	41
2.5.1.4 Estratégias alternativas	42
2.6 ESTUDOS DE ESTABILIDADE	43
2.6.1 Classificação de acordo com as condições de medição	44
2.6.1.1 Estudos clássicos (condições intermediárias de medição).....	44
2.6.1.2 Estudos isócronos (condições de repetitividade de medição)	45
2.6.2 Classificação de acordo com a duração e condições.....	45
2.6.2.1 Estudos em tempo real.....	45
2.6.2.2 Estudo de estabilidade acelerada.....	45
2.6.3 Classificação de acordo com o objetivo do estudo	46
2.6.3.1 Estabilidade de curto prazo ou de transporte.....	46
2.6.3.2 Estabilidade de longo prazo.....	47
2.7 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA	48
2.8 ATRIBUIÇÃO DE VALORES DE PROPRIEDADES E SUAS INCERTEZAS	48
2.9 PRODUÇÃO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA NO BRASIL	50
2.10 MATERIAL DE REFERÊNCIA DE ELEMENTOS TRAÇO EM PETRÓLEO	53

3 MATERIAIS E MÉTODOS	54
3.1 Preparo e envase do candidato à material de referência	54
3.1.1 Seleção das amostras	54
3.1.2 Homogeneização das amostras	56
3.1.3 Testes Preliminares de Homogeneidade e Estabilidade	57
3.2 ENVASE DO MATERIAL	58
3.2.1 Frasco para envase do candidato à material de referência	58
3.2.2 Descontaminação dos frascos	60
3.2.3 Distribuição do material	60
3.3 ESTUDOS DE HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE	61
3.3.1 Seleção das amostras para os estudos de homogeneidade e estabilidade 61	
3.3.2 Estudo de homogeneidade	62
3.3.3 Estimativa da massa mínima da amostra	62
3.3.4 Estudo de estabilidade em curto prazo	63
3.3.5 Estudo de estabilidade em longo prazo	63
3.3.6 Softwares utilizados	63
3.4 CARACTERIZAÇÃO DO CANDIDATO À MATERIAL DE REFERÊNCIA	64
3.4.1 Abordagem multi métodos por um único laboratório (Abordagem <i>in</i> <i>house</i>)	64
3.4.1.1 Homogeneização da amostra (todos os métodos)	65
3.4.1.2 Método 1 – Decomposição Assistida por micro-ondas	65
3.4.1.3 Método 2 – Extração induzida por quebra de emulsão (EIQE)	65
3.4.1.4 Método 3 - Nanoemulsão	66
3.4.1.5 Método 4 – Norma técnica da Petrobrás N-2440: Queima e mineralização da amostra (N2440)	66
3.4.1.6 Método 5 – Norma ASTM	67
3.4.1.7 Instrumentação	67
3.4.1.8 Reagente e Soluções	72
3.5 SOFTWARE	73
3.5.1 Abordagem por estudo colaborativo	73
3.6 ATRIBUIÇÃO DE VALORES DE PROPRIEDADE E SUAS INCERTEZAS	75

3.7 ELABORAÇÃO DO RÓTULO E CERTIFICADO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA.....	75
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
4.1 PREPARO E ENVASE DO CANDIDATO À MATERIAL DE REFERÊNCIA	76
4.2 ESCOLHA DO PROCEDIMENTO DE MEDIÇÃO	79
4.3 ESTUDO DE HOMOGENEIDADE.....	82
4.3.1 Estudo de Massa Mínima	82
4.3.2 Inspeção inicial para tendências de medição e valores discrepantes	82
4.4 INSPEÇÃO PARA TENDÊNCIA NO PROCESSAMENTO.....	85
4.5 EFEITO DA DISTRIBUIÇÃO DA ÁGUA NA ORDEM DE PROCESSAMENTO	86
4.6 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA NO ESTUDO DE HOMOGENEIDADE.....	89
4.7 AVALIAÇÃO DA INCERTEZA PROVENIENTE DA HOMOGENEIDADE.....	90
4.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE EM CURTO PRAZO	92
4.8.1 Avaliação de tendências	92
4.8.2 Avaliação estatística	94
4.9 ESTUDO DE ESTABILIDADE EM LONGO PRAZO.....	94
4.10 AVALIAÇÃO DA INCERTEZA PROVENIENTE DA ESTABILIDADE.....	98
4.11 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA	99
4.12 ATRIBUIÇÃO DE VALOR DE PROPRIEDADE E INCERTEZA.....	102
4.13 RASTREABILIDADE METROLÓGICA.....	117
4.14 RÓTULO E CERTIFICADO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA PRODUZIDO	119
4.15 DISTRIBUIÇÃO E MONITORAMENTO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA PRODUZIDO.....	120
5 CONCLUSÃO	121
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	122
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123
APÊNDICE A	131
APÊNDICE B	137
APÊNDICE C	145
APÊNDICE D	148
APÊNDICE E	150
ANEXO 1.....	153

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA

Os elementos traço podem ser encontrados naturalmente no petróleo ou serem adicionados durante o processo de extração, transporte ou estocagem do petróleo (MATAR, 2000; SPEITH, 2001). A natureza e a abundância de alguns desses elementos no petróleo fornecem informações importantes sobre a origem, a migração e até a maturação do petróleo, tendo suas concentrações variáveis, de acordo com as rochas de origem (GILES; MILLS, 2011). A presença desses elementos no petróleo vem sendo investigada desde a década de 50 do século XX (ALL; BUKHARI; SALEEM, 1983; YURICK, 1952) até os dias de hoje (BRANDÃO et al., 2006, 2007; DE OLIVEIRA SOUZA et al., 2015; GOTTIKH; PISOTSKY; ZHURAVLEV, 2008; PESSOA, H. M. et al., 2012; QUADROS et al., 2010; VIEIRA et al., 2016). A determinação desses elementos em refinarias de petróleo faz parte das medições de rotina devido a sua importância na qualidade e consequentemente no valor de mercado do mesmo (PEREIRA et al., 2009).

Embora existam alguns métodos normalizados para a determinação de elementos traço em petróleo usando técnicas de espectrometria atômica, alguns deles usam grandes quantidades de amostras e reagentes ou ainda envolvem várias etapas de processamento, aumentando o tempo de preparação da amostra. Sendo assim, há muitas oportunidades de melhoria e desenvolvimento de novos métodos nessa área. Estes desenvolvimentos têm sido impulsionados pelos princípios da química analítica moderna, mais especificamente no que se refere à química verde (BRANDÃO et al., 2006, 2007; HEILMANN; BOULYGA; HEUMANN, 2009; MELLO et al., 2012; PEREIRA et al., 2010; PESSOA et al., 2012; SARACENO et al., 2006; TREVELIN et al., 2016; VIEIRA et al., 2019). Em todos os estudos citados, foi necessária a utilização

de materiais de referência certificado (MRC) ou materiais de referência (MR) para verificar a precisão e a tendência do novo método proposto.

Segundo a norma ISO/IEC 17034 (ISO, 2016), material de referência (MR) é definido como “material suficientemente homogêneo e estável com respeito a uma ou mais propriedades especificadas, que foi estabelecido como adequado para o seu uso pretendido em um processo de medição”. Porém, muitas vezes não é possível obter ou adquirir um MR ou um material de referência certificado (MRC) com a matriz e os elementos requeridos e nesses casos materiais similares são utilizados em uma situação não ideal. A problemática de se utilizar materiais similares está na possibilidade de ocorrer diferenças no comportamento desse material frente ao método avaliado. As diferenças podem acontecer devido ao método de preparação e da técnica de quantificação utilizada, afetando assim os resultados obtidos (MELLO et al., 2012).

A maioria dos materiais de referência para elementos traço comercialmente disponíveis para matrizes energéticas, estão relacionadas as matrizes de gasolina, óleo diesel, óleo combustível e óleo lubrificante. Para a matriz de petróleo, a maioria dos materiais de referência é certificada para propriedades físico-químicas e para elementos como o enxofre, que possui importância econômica e tecnológica frente aos outros elementos traço. Ainda é possível encontrar alguns materiais de referência para outros elementos como Ni, V, Hg, As, Co e Se (MELLO et al., 2012). Na literatura, os materiais de referência utilizados para avaliação do desempenho de novos métodos para elementos traço em petróleo, frequentemente encontrados, são os materiais de referência provenientes do *National Institute of Standards and Technology* (NIST), tais como, os SRM 1085b, 1084a e 1634c (DREYFUS et al., 2005; DUYCK et al., 2007; MELLO et al., 2012; VIEIRA et al., 2019; YURICK, 1952). Esses materiais correspondem as matrizes de óleo lubrificante e óleo combustível residual, demonstrando que mesmo existindo materiais de referência disponíveis comercialmente para os elementos desejados no petróleo, o acesso a esses materiais ainda é restrito por parte dos centros de pesquisa.

Os trabalhos de desenvolvimento de materiais de referência para petróleo e derivados encontrados na literatura relatam principalmente a produção de materiais de referência de elementos traço para matrizes como a gasolina e cinzas de carvão. Como exemplo, tem-se os estudos de Linsinger e colaboradores (LINSINGER et al., 2007), que certificou diversos teores de enxofre para a matriz de gasolina, e Tanaka e colaboradores (TANAKA et al., 2010) que produziu e certificou elementos de constituição principal (Si, Al, Ca, Mg, Fe, K, Na, P, Sr, Ti, C e S) e traço (As, B, Be, Cd, Co, Cr, Cu, F, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, V e Zn) para a matriz cinzas de carvão. Para elementos traço em matriz petróleo, Shehata e colaboradores (SHEHATA; MOHAMED; GAB-ALLAH, 2017) desenvolveram um material de referência de petróleo para os elementos enxofre, ferro, níquel, vanádio e magnésio. Um fato importante da produção de materiais de referência por parte dos laboratórios de pesquisa é o interesse não comercial no material produzido, sendo este geralmente distribuído a outros laboratórios.

A dificuldade de se obter materiais de referência nas mais diferentes matrizes, vem do fato de que a produção de um MRC, em conformidade com norma ISO 17034 (ISO, 2016) é uma operação longa e onerosa. A produção de um material de referência envolve diversas etapas e além de envolver experiência e recursos especiais, deve levar em conta a demanda do mercado potencial para que os produtores de materiais de referência possam investir seus recursos e tempo nesse tipo de desenvolvimento (ISO, 2016).

1.2 JUSTIFICATIVA

O presente trabalho preencherá uma lacuna no desenvolvimento de materiais de referência no cenário nacional e internacional, com a produção de um material de referência para elementos traço proveniente de petróleo do pré-sal. A principal característica desse material é uma quantidade significativa de contra íons cloreto,

tais como cálcio, magnésio, sódio e estrôncio, em comparação com outros elementos como o vanádio e níquel, sendo um material inédito para alguns desses elementos.

O material produzido poderá ser utilizado como garantia da qualidade em futuros trabalhos de pesquisa e rotina do Laboratório de Espectrometria Atômica (LEA) da Universidade Federal do Espírito Santo, laboratórios de outras universidades e outros laboratórios da área de Petróleo e Gás. O trabalho também ganha relevância por contribuir com o know-how do LEA/UFES na produção de materiais de referência seguindo referências internacionais.

1.3 OBJETIVO DO TRABALHO

1.3.1 Objetivo geral

Preparar e caracterizar um material de referência nacional contendo uma série de elementos traço (V, Ni, Na, Ca, Mg, Mn, Sr, Ba, Co, Fe) em concentrações significativas e com incertezas associadas aos valores certificados bem definidos, dentro dos conceitos e requisitos da norma ISO 17034 e guias *ISO Guide 33* e *35* (ISO, 2015, 2016, 2017).

1.3.2 Objetivos específicos

- Estudar as condições mais adequadas para a produção de MR utilizando uma matriz natural (preparo, tratamento, processamento) visando à preservação das suas propriedades e composição durante o tempo requerido de estabilidade;

- Selecionar procedimentos de medição para os estudos de homogeneidade, estabilidade e caracterização do material de referência;
- Realizar estudos de homogeneidade e estabilidade de curta e longa duração de acordo com o ISO Guia 35 (ISO, 2017);
- Definir as condições para garantia da estabilidade de transporte e armazenamento do material de referência;
- Caracterizar o material de referência produzido;
- Atribuir os valores de propriedades e suas respectivas incertezas associadas ao processo de preparação e caracterização do material de referência;
- Elaborar um certificado com os valores de propriedades atribuídos com as respectivas incertezas associadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A UTILIZAÇÃO DOS MATERIAIS DE REFERÊNCIA

Atualmente, dentre as diferentes estratégias para controle da qualidade analítica, o uso de materiais de referência certificados é destacado pela garantia da rastreabilidade metrológica, validação de novos métodos, ensaios de proficiência, estimativa de incertezas, além da utilização em testes de rotina e medições em laboratórios acreditados (OLIVARES et al., 2018). Porém, a produção de um material de referência certificado constitui um processo lento, meticuloso e dispendioso, o que dificulta o atendimento a demanda de todos os tipos e quantidades de MRC (ISO, 2015).

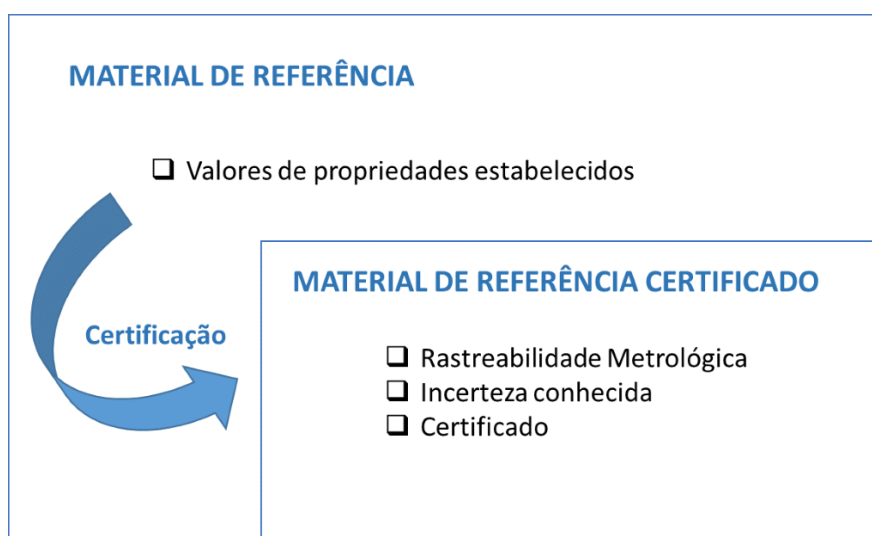
Embora os procedimentos para o desenvolvimento dos materiais de referência e materiais de referência certificados estejam bem estabelecidos por normas e guias internacionais, como a ISO 17034 e a *ISO Guide 35*, a produção e o tratamento estatístico dos dados estão relacionados com o tipo de material, matriz e propriedades específicas, tornando-se uma inesgotável fonte de pesquisa tecnológica e acadêmica (OLIVARES et al., 2018).

O termo Material de Referência Certificado (MRC) é utilizado quando o “material de referência é caracterizado por um procedimento metrologicamente válido para uma ou mais propriedades específicas, acompanhado por um certificado que fornece o valor da propriedade especificada, sua incerteza associada e uma declaração de rastreabilidade metrológica” (ISO, 2016). A principal diferença entre um MR e um MRC é a rastreabilidade metrológica¹. Ela se dá quando o resultado de medição pode ser

¹ Rastreabilidade Metrológica – Segundo o VIM (2012), é a propriedade dum resultado de medição pela qual tal resultado pode ser relacionado a uma referência através duma cadeia ininterrupta e documentada de calibrações, cada uma contribuindo para a incerteza de medição.

relacionado a uma referência. A rastreabilidade metrológica é o principal parâmetro que permite comparar medidas entre diferentes países, através de uma cadeia contínua e documentada de comparações, todas tendo incertezas estabelecidas (INMETRO, 2012). Desta forma, é possível afirmar que 1 g aqui no Brasil é igual a 1 g em qualquer lugar do mundo, e isto se estende a diversas grandezas. A Figura 1 ilustra a relação entre MR e MRC.

Figura 1 - Diferenças entre Materiais de Referência (MR) e Material de Referência Certificado (MRC).



FONTE: Adaptado de Zunger e Colaboradores (ZUNGER et al., 2000).

Os materiais de referência podem ser de diferentes formas, sendo as mais comuns (ISO, 2015):

- a. **Substâncias puras:** são substâncias caracterizadas pela pureza química e outras propriedades como ponto de fusão, viscosidade e entalpia de combustão;
- b. **Soluções padrão e misturas gasosas:** frequentemente preparadas gravimetricamente a partir das substâncias puras;
- c. **Materiais de referência em matriz:** são materiais caracterizados pela composição de propriedades selecionadas como, por exemplo, a quantidade de um componente químico especificado. Alguns materiais podem ser preparados a partir de materiais naturais ou por síntese;

d. **Materiais de referência físico-químicos:** são materiais caracterizados por propriedades tais como, ponto de fusão, viscosidade, índice de octano e absorbância;

e. **Artefatos ou objetos de referência:** são materiais caracterizados pelas propriedades funcionais como, sabor, odor etc. Este tipo também inclui espécies caracterizadas por uma faixa de propriedades desde tipo de fibra até espécies microbiológicas.

As aplicações mais comuns para os materiais de referência incluem: a avaliação da precisão, avaliação da tendência de medição (*bias*)², calibração, atribuição de valores para escalas convencionais (ex. escala de pH, índice de octano) e atribuição de valores a outros materiais (ISO, 2015). Dependendo da aplicação, alguma característica chave do material de referência podem ser dispensada, como por exemplo, para avaliação da precisão o material de referência não é necessária a declaração de rastreabilidade metrológica e nem o prazo de validade. A Tabela 1 mostra a relação das características chaves dos materiais de referência e as diferentes aplicações deles dentro do laboratório.

Tabela 1 - Características chave dos materiais de referência

Características Chave	Avaliação da precisão	Avaliação da tendência	Calibração / Escalas convencionais	Atribuição de valores a outros materiais
Especificação da propriedade de interesse	✓	✓	✓	✓
Valor da propriedade	-	✓	✓	✓
Incerteza		✓	✓	✓
Nível de homogeneidade	✓	a	a	a
Nível de estabilidade	✓	a	a	a
Declaração de rastreabilidade metrológica	-	✓	✓	✓
Instruções para uso	✓	✓	✓	✓
Prazo de validade	-	✓	✓	✓

^a Contribuição da incerteza incluída na incerteza associada com o valor da propriedade

FONTE: Adaptado de (ISO, 2015).

² Tendência de medição (*measurement bias*) - Segundo o VIM (2012), é a estimativa do erro sistemático.

No caso de materiais de referência para a avaliação de composição química, o estabelecimento da rastreabilidade metrológica geralmente envolve muitas etapas. O analito de interesse só é medido após a realização de diversos processos analíticos, como por exemplo: a amostragem, a dissolução ou extração, separação, dentre outros processos de preparo da amostra. Alguns ou todos esses processos podem constituir ligações na cadeia de rastreabilidade metrológica do processo de medição, cada um contribuindo para a incerteza do resultado final (ISO, 2016).

Para os materiais de referência utilizados na avaliação de precisão, avaliação de tendência e até mesmo calibração em análise direta (ONUK et al., 2017), o material de referência deve ser suficientemente semelhante (em matriz) à amostra real a ser analisada, a fim de incluir todos os problemas analíticos que poderiam causar erros nas medições (VAN DER VEEN, 2015). Esses materiais são preparados a partir de amostras naturais, que podem ser fortificadas com o analito de interesse ou até mesmo misturadas com outras para conseguir chegar na concentração desejada (ZUNGER et al., 2000). Para os MRCs produzidos a partir do material amostrado na natureza, não é possível obter a rastreabilidade metrológica diretamente das etapas de preparação, sendo necessário a utilização de técnicas apropriadas para obter o valor designado do analito de interesse no material preparado (STOEPLER, 2000).

2.2 PRODUÇÃO DE MATERIAIS DE REFERÊNCIA

A ISO (*International Organization for Standardization*) publicou um conjunto de normas que traz como tema a preparação e utilização dos materiais de referência. A Tabela 2, mostra os temas abordados das versões vigentes das normas, bem como as respectivas versões brasileiras, disponibilizadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Tabela 2 – Normas ISO e respectivas versões brasileiras.

Normas/Guias ISO	Normas/Guias ABNT ISO
<i>ISO Guide 30:2015 - Reference materials - Selected terms and definitions</i>	ABNT ISO GUIA 30:2016 - Materiais de referência - Termos e definições selecionados
<i>ISO Guide 31:2015 - Reference materials - Contents of certificates, labels and accompanying documentation</i>	ABNT ISO GUIA 31:2017 - Materiais de referência - Conteúdo de certificados, rótulos e documentação associada
<i>ISO Guide 33:2015 - Reference materials - Good practice in using reference materials</i>	ABNT ISO GUIA 33:2019 - Materiais de referência - Boas práticas no uso de materiais de referência
ISO 17034:2016 - General requirements for the competence of reference material producers	ABNT NBR ISO 17034:2017 - Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência
<i>ISO Guide 35:2017 - Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability</i>	ABNT ISO GUIA 35:2012 - Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação (EM TRADUÇÃO)

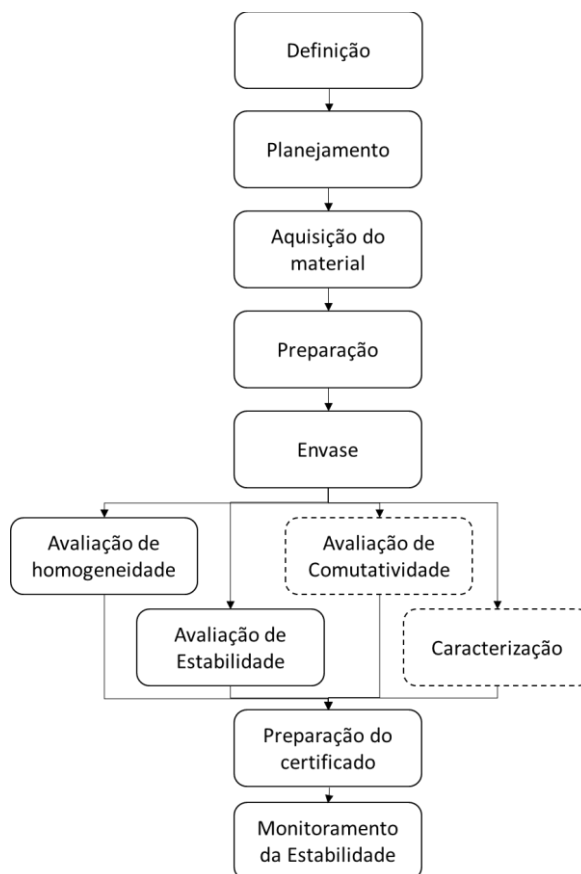
A produção de um MR ou MRC envolve diversas etapas que visam garantir a qualidade do material de referência produzido. Em resumo, as etapas de preparação e certificação de um material de referência seguem os seguintes passos (ISO, 2017; STOEPPLER, 2000):

- a. Definição do material de referência, isto é, a matriz, as propriedades a serem caracterizadas e seus níveis desejados, o uso pretendido do material, e para MRCs, a incerteza alvo;
- b. Concepção de procedimento para obtenção do material;
- c. Concepção de um processo de fabricação e/ou de preparação de material de referência;
- d. Seleção de procedimento de medição apropriado para os estudos de homogeneidade, estabilidade e de caracterização do material de referência;
- e. Considerações sobre a rastreabilidade metrológica de cada propriedade medida, particularmente para MRCs, para qual uma declaração de rastreabilidade metrológica é requerida;
- f. Avaliação de homogeneidade;
- g. Avaliação de estabilidade;

- h. Avaliação de comutabilidade³ (se requerida);
- i. Caracterização do material de referência;
- j. Combinação dos resultados provenientes dos estudos de homogeneidade, estabilidade e para MRCs, avaliação da incerteza de medição dos valores certificados;
- k. Preparação de um certificado ou ficha de informação do produto e, se apropriado, um relatório de produção e preparação e/ou certificação;
- l. Especificação das condições de estocagem e transporte;
- m. Monitoramento da estabilidade pós-produção.

As principais etapas estão mostradas na Figura 2.

Figura 2 – Esquema das etapas da produção de um material de referência



FONTE: Adaptado (ISO, 2017)

³ Comutabilidade – Segundo o VIM (2012), é a propriedade dum material de referência expressa pelo grau de concordância entre, por um lado, a relação entre os resultados de medição obtidos para uma dada grandeza desse material a partir de dois dados procedimentos de medição e, por outro lado, a relação entre os resultados de medição para outros materiais especificados.

2.3 AQUISIÇÃO DO MATERIAL DE PARTIDA

A primeira tarefa em um projeto de produção de material de referência é a aquisição de material de partida com as propriedades desejadas em quantidade suficiente para a produção de um lote (ISO, 2017). Um lote de produção é definido como a quantidade finita de algum material produzido de uma vez pelo produtor, sob condições que são presumidamente uniformes (ISO, 2016).

Na ausência de material suficiente para a produção de um lote, a mistura de duas ou mais amostragens pode ser considerada. Essa mistura também pode ser realizada quando o valor do analito ou propriedade for julgado como muito alto ou muito baixo, para ajuste dos valores na faixa desejada. Para estabelecer o tamanho do lote de produção deve-se levar em conta (ISO, 2017; STOEPLER, 2000):

- Número de unidades do material de referência necessários para distribuição;
- Número de unidades necessárias para o estudo de homogeneidade;
- Número de unidades necessárias para o estudo de estabilidade;
- Número de unidades necessárias para a caracterização do material de referência;
- Número de unidades requeridas para o monitoramento da estabilidade acima da validade esperada do material;
- O tamanho planejado para cada unidade, o qual terá de ser suficiente para pelo menos uma medida;
- A necessidade de realizar um ou mais estudos de viabilidade;
- Opcionalmente, unidades adicionais para cobrir eventuais contingências, como, por exemplo, estudos de acompanhamento para responder questionamentos de clientes, recertificações futuras requeridas por mudança significativa nas condições de estocagem ou extensão do número de propriedades certificadas.

A quantidade do material é essencialmente crítica no desenvolvimento de materiais em matrizes naturais, visto que dependendo do tratamento a ser efetuado no material

adquirido, o rendimento da produção pode variar em torno de 12-15% da quantidade do material amostrado. A Tabela 3, mostra a relação entre a quantidade amostrada, tamanho do lote produzido e número de unidades utilizadas para o estudo de homogeneidade de diferentes tipos de materiais de referência.

Tabela 3 – Quantidade de material amostrado x preparado

Material	Quantidade amostrada	Tamanho do lote (unidades)	Nº de unidades (Homogeneidade)	Referência
Soja	10 kg	208 (10 g)	10	(YARITA et al., 2014)
Ginseng	20 kg	300 (25 g)	16	(WONG; WONG; KAM, 2008)
Chá (pó)	100 kg	732 (20 g)	10	(ZHU et al., 2011)
Água do mar	50 L	350 (120 mL)	24	(MERRICK et al., 2016)
Leite (liofilizado)	20 L	300 (5 g)	12	(HON et al., 2011)

2.4 PREPARAÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA

O material amostrado segue para a etapa de preparação ou processamento, onde deve ser assegurado que o material sofreu um tratamento adequado para o seu uso pretendido. Infelizmente, não existe uma regra ou orientação única sobre o assunto. As técnicas utilizadas nesse caso vão depender do componente principal de interesse no material. Para materiais de referência sintéticos, por exemplo, materiais produzidos a partir de substâncias puras, podem ser utilizadas técnicas de purificação tais como destilação e/ou recristalização (ISO, 2017). Para materiais de referência produzidos a partir de matrizes naturais, isso pode se tornar ainda mais complexo.

Os procedimentos recomendados para o processamento e estabilização do candidato à material de referência devem, sempre que possível, seguir as recomendações

existentes em normas ou se basearem em dados de literatura existente. Caso não existam dados prévios de preservação e preparo de amostra, estudos exploratórios devem ser realizados para determinar as melhores condições de preservação do material e devem ser incluídas no planejamento de produção do material de referência (STOEPLER, 2000).

Como recomendações gerais para o processamento do candidato à material de referência, as normas relacionadas trazem algumas recomendações de abordagem, como (ISO, 2017):

- a. Análise qualitativa para a verificação do tipo de material e/ou identidade;
- b. Síntese, produção ou formulação de um material de referência sintético;
- c. Tratamento adequado (por exemplo, proteção contra contaminação e uso de equipamentos inertes);
- d. Medições para controle de processamento de materiais (por exemplo, distribuição granulométrica, teor de umidade);
- e. Pré-tratamento, de limpeza ou de esterilização dos equipamentos e recipientes de amostra;
- f. Secagem, liofilização, moagem e/ou filtração para materiais naturais; Adição de agentes estabilizantes;
- g. Homogeneização prévia para envase.

Os procedimentos de processamento dependem das particularidades do material e geralmente requerem *expertise* relacionada ao material. Muitas vezes pode ser necessário realizar estudos prévios com o objetivo de identificar pontos críticos no estudo da viabilidade da produção e caracterização de um material de referência suficientemente estável e homogêneo. Os estudos de viabilidade são estudos de curta duração onde questões como, qual o melhor procedimento de preparo ou como garantir estabilidade, podem ser respondidas através de estudo de viabilidade em pequena escala, antes de iniciar o projeto principal (ISO, 2017).

Diversas operações são descritas na literatura com o objetivo de homogeneizar e estabilizar o analito na matriz desejada. A Tabela 4 mostra diferentes tipos de

processamentos utilizados em alguns trabalhos de produção de materiais de referência para diferentes matrizes na área química.

Tabela 4 – Principais procedimentos utilizados no processamento de materiais de referência.

Tipo de processamento	Matriz/analito	Referência
Lavagem	Cabelo humano (Ca, Fe, Mg, Zn, K, Na, Cu, Mn, Ni, Cr, Cd, Ag, Hg)	(OKAMOTO, K. et al., 1985)
	Algas <i>Hizikia fusiforme</i> (Na, K, Mg, Ca, Sr, P, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn, As)	(NARUKAWA et al., 2012)
	Grãos de soja (resíduos de pesticidas)	(YARITA et al., 2014)
Secagem	Cabelo humano (Ca, Fe, Mg, Zn, K, Na, Cu, Mn, Ni, Cr, Cd, Ag, Hg)	(OKAMOTO, K. et al., 1985)
	Algas Sargaço (Ca, Mg, Al, Mn, Zn, Cu, Sr)	(OKAMOTO, Kensaku; FUWA, 1987)
	Poeira de Estrada (Pd, Pt, Rh)	(ZISCHKA et al., 2002)
	Arroz (Cd, Cu, Pb)	(VASSILEVA; QUÉTEL, 2004)
	Tecido de peixe <i>Lutjanus campechanus</i> (Ba, Li, Mg, Na, Sr, Ca)	(STURGEON et al., 2005)
Moagem	Algas Sargaço (Ca, Mg, Al, Mn, Zn, Cu, Sr)	(OKAMOTO, Kensaku; FUWA, 1987)
	Arroz (Cd, Cu, Pb)	(VASSILEVA; QUÉTEL, 2004)
	Tecido de peixe <i>Lutjanus campechanus</i> (Ba, Li, Mg, Na, Sr, Ca)	(STURGEON et al., 2005)
	Esfarelita (ZnS) (V, Mo, Ni, Ti, As, Cr, Co, Ge, In, Ga, Mn, Sn, Cu)	(ONUK et al., 2017)
Moagem Criogênica	Cabelo humano (Ca, Fe, Mg, Zn, K, Na, Cu, Mn, Ni, Cr, Cd, Ag, Hg)	(OKAMOTO, K. et al., 1985)
	Algas <i>Hizikia fusiforme</i> (Na, K, Mg, Ca, Sr, P, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn, As)	(NARUKAWA et al., 2012)
	Grãos de soja (resíduos de pesticidas)	(YARITA et al., 2014)

Tipo de processamento	Matriz/analito	Referência
Peneiramento	Algas Sargaço (Ca, Mg, Al, Mn, Zn, Cu, Sr)	(OKAMOTO, Kensaku; FUWA, 1987)
	Poeira de Estrada (Pd, Pt, Rh)	(ZISCHKA et al., 2002)
Congelamento	Algas <i>Hizikia fusiforme</i> (Na, K, Mg, Ca, Sr, P, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn, As)	(NARUKAWA et al., 2012)
	Fígado Bovino (Co, Cu, Fe, K, Mo, Mn, Na, Se, and Zn)	(BIANCHI et al., 2016)
Autoclavação	Purê de tomate (resíduos de pesticidas)	(ARMISHAW; MILLAR, 2001)
Filtração	Água do mar (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, V)	(MERRICK et al., 2016)
Ajuste de pH	Purê de Tomate (resíduos de pesticidas)	(ARMISHAW; MILLAR, 2001)
Adição de estabilizantes	Mexilhão <i>Mytilus edulis</i> (biotoxinas)	(MCCARRON et al., 2015)
Homogeneização mecânica	Poeira de Estrada (Pd, Pt, Rh)	(ZISCHKA et al., 2002)
	Arroz (Cd, Cu, Pb)	(VASSILEVA; QUÉTEL, 2004)
	Tecido de peixe <i>Lutjanus campechanus</i> (Ba, Li, Mg, Na, Sr, Ca)	(STURGEON et al., 2005)
	Esfarelita (ZnS) (V, Mo, Ni, Ti, As, Cr, Co, Ge, In, Ga, Mn, Sn, Cu)	(ONUK et al., 2017)
Radiação gama	Purê de Tomate (resíduos de pesticidas)	(ARMISHAW; MILLAR, 2001)
	Algas <i>Hizikia fusiforme</i> (Na, K, Mg, Ca, Sr, P, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn, As)	(NARUKAWA et al., 2012)
	Grãos de Soja (resíduos de pesticidas)	(YARITA et al., 2014)
	Mexilhão <i>Mytilus edulis</i> (biotoxinas)	(MCCARRON et al., 2015)
	Fígado Bovino (Co, Cu, Fe, K, Mo, Mn, Na, Se, and Zn)	(BIANCHI et al., 2016)

2.5 ESTUDOS DE HOMOGENEIDADE

A homogeneidade é definida, segundo o *ISO Guide 35* (ISO, 2017), como a “condição de uniformidade de estrutura ou composição com respeito a uma ou mais propriedades específicas. Um material de referência é dito homogêneo com respeito a uma propriedade, determinado por ensaios em amostras de tamanho preestabelecido, se estiver dentro dos limites de incerteza especificados. As amostras para esse tipo de estudo podem ser retiradas de embalagens diferentes (frascos, pacotes) ou de uma única embalagem”.

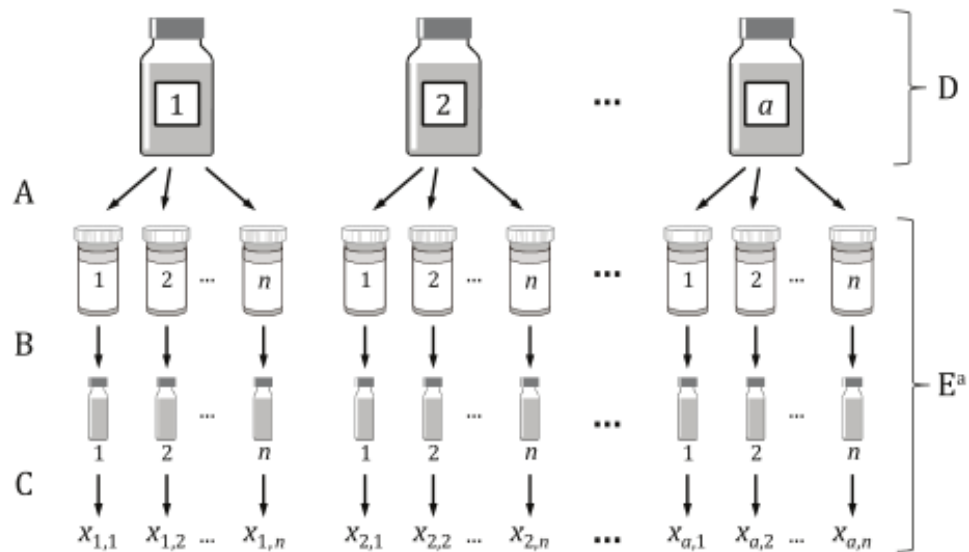
A homogeneidade é um requisito importante para todos os materiais de referência e inclui ambas homogeneidades: dentro e entre unidades de MR produzido. A homogeneidade entre unidades é importante para garantir que cada unidade do MR carregue o mesmo valor de cada propriedade. Já a homogeneidade dentro da unidade é importante quando subamostras são utilizadas para medições pelo usuário do material (ISO, 2017).

Para a homogeneidade dentro da unidade, é possível reduzir consideravelmente o seu impacto por meio do fornecimento de instruções apropriadas de uso. Estas instruções podem incluir remistura da amostra e/ou ainda a utilização de uma quantidade mínima da amostra. A quantidade mínima da amostra é a menor porção para teste que, quando retirada corretamente, pode ser considerada como representante do MR, dentro de uma incerteza certificada. Uma certa não-homogeneidade é tolerada e deve ser incluída na incerteza total do material (ISO, 2017). Quando grandes problemas de não-homogeneidade são encontrados, as amostras não podem ser utilizadas como materiais de referência certificado e em alguns casos é possível fazer a certificação individual por frasco (IAEA, 2003).

Em estudos de homogeneidade é utilizada avaliação estatística (geralmente a análise de variância) para comparar a dispersão das observações em várias unidades do material de referência com a precisão do procedimento de medição. Nesse estudo, é

possível determinar o desvio-padrão entre as unidades produzidas, o qual poderá ser utilizado para determinar a incerteza associada à heterogeneidade. Geralmente esse estudo é realizado analisando um número igual de medidas replicatas de unidades do MR, como ilustrado na Figura 3 (ISO, 2017).

Figura 3 – Esquema do estudo de homogeneidade entre unidades.



LEGENDA: A – Subamostragem; B – Preparação; C – Medições; D – Contribui para a observação da variação entre unidades; E^a – Operações que contribuem para a observação da variação dentro da unidade (x_{ij} – notação de n -ésima alíquota j para a unidade i)

FONTE: Adaptado de (ISO, 2017)

Os estudos de homogeneidade baseados na análise de variância (ANOVA), provêm um componente essencial para determinação de incerteza do valor da propriedade do material de referência e é a abordagem mais utilizada para esse tipo de estudo. Olivares e colaboradores, analisaram mais de 26 artigos de produção de material de referência na área de alimentos, água e solo e verificaram que a maioria dos trabalhos utilizou a abordagem tradicional do *ISO Guide 35* (OLIVARES et al., 2018).

Mesmo com a abordagem tradicional para avaliação dos estudos de homogeneidade, é possível encontrar estudos onde outras ferramentas foram aplicadas em conjunto com a análise de variância, como o estudo de Lima e colaboradores, que aplicaram a análise de componentes principais (*Principal Component Analysis* – PCA) e análise hierárquica de clusters (*Hierarchical Cluster Analysis* – HCA) para avaliação da

homogeneidade de um lote de farinha de trigo para análise inorgânica (Lima et al., 2010). Já Vasconcelos e colaboradores (VASCONCELLOS et al., 2018) utilizaram a PCA para avaliação da estabilidade em curto prazo para um lote de material de referência de rim bovino, onde foram avaliadas as diferentes condições as quais o material foi submetido.

Independente da abordagem escolhida, é necessário separar os efeitos da variância do procedimento de medição da variância associada ao processamento do material. A melhor maneira de fazer isso, é por meio de comparação entre a dispersão das observações em várias unidades do material de referência com a precisão do procedimento de medição, sempre que possível, em condições de repetibilidade. Isto pode ser alcançado conduzindo todas as medições para avaliação da homogeneidade, numa única corrida de medição ou usando um planejamento experimental que permita separar a estimativa da variância dentro da corrida, entre corridas e entre diferentes unidades do MR. A seguir estão descritos alguns planejamentos que podem ser utilizados (ISO, 2017).

2.5.1 Planejamentos experimentais para os estudos de homogeneidade

Para possibilitar a separação dos efeitos relacionados ao procedimento de medição utilizado e o material preparado, três planejamentos experimentais são propostos seguir (ISO, 2017):

2.5.1.1 Planejamento básico – Medições em uma única corrida

Esse planejamento é aplicável, onde o sistema de medição é estável pela duração das medições requeridas e todas as medições podem ser adquiridas em uma única corrida. Os desvios-padrão dentro e entre as unidades podem ser avaliados usando a análise de variância, ANOVA fator único (*one-way*). As medições devem ser realizadas de modo que as tendências no sistema de medição não sejam interpretadas erroneamente como diferenças entre as unidades avaliadas. O

planejamento deve permitir uma separação, se necessário, da tendência nas medições, a partir da tendência total observada para a batelada de amostras. Isto é possível, realizando as medições em uma ordem totalmente aleatória. Por exemplo, supondo um estudo com 10 unidades, realizado em triplicata. Um possível esquema para conduzir medições pode ser:

Replicata nº 1: 1 – 3 – 5 – 7 – 9 – 2 – 4 – 6 – 8 – 10

Replicata nº 2: 10 – 9 – 8 – 7 – 6 – 5 – 4 – 3 – 2 – 1

Replicata nº 3: 2 – 4 – 6 – 8 – 10 – 1 – 3 – 5 – 7 – 9

Após a aleatorização das replicatas, no planejamento básico de uma corrida, a sequência da corrida ficaria como a mostrado a seguir:

Corrida única: 1 – 3 – 5 – 7 – 9 – 2 – 4 – 6 – 8 – 10 – 10 – 9 – 8 – 7 – 6 – 5 – 4 – 3
– 2 – 2 – 4 – 6 – 8 – 10 – 1 – 3 – 5 – 7 – 9

Caso a ordenação aleatória proposta possua correlação óbvia com a sequência de envase ou o grupo de replicatas ficar próximo para a maioria ou todas as unidades, esse esquema deve ser rejeitado e uma nova ordem aleatória deve ser selecionada.

2.5.1.2 Planejamento do bloco aleatório

Considerando o exemplo acima, onde serão realizadas 3 replicatas de cada uma das 10 unidades do material de referência, o planejamento do bloco aleatório mais simples, é realizado através de 3 corridas de medição e cada replicata da unidade do material de referência é medida uma vez em cada corrida, em ordem aleatória. Nesse caso, cada corrida é aleatorizada individualmente. O esquema do bloco aleatório para o exemplo anterior ficaria assim:

Corrida nº 1: 1 – 3 – 5 – 7 – 9 – 2 – 4 – 6 – 8 – 10

Corrida nº 2: 10 – 9 – 8 – 7 – 6 – 5 – 4 – 3 – 2 – 1

Corrida nº 3: 2 – 4 – 6 – 8 – 10 – 1 – 3 – 5 – 7 – 9

O planejamento do bloco aleatório é indicado onde o número requerido de replicatas de todas as unidades não pode ser incluído numa única corrida devido às restrições do tempo ou da instrumentação. Também é aplicável onde o processo de medição é afetado pela deriva⁴ em longas corridas. Nessas circunstâncias, é obtida melhor precisão (medida como desvio-padrão dentro e entre as unidades) utilizando diversas corridas curtas em um planejamento do bloco aleatório do que quando se utiliza uma única corrida.

A avaliação dos resultados é feita por meio da análise de variância ANOVA dois fatores (*two-way*) sem repetição ou outros métodos onde é possível estimar os desvios-padrão dentro e entre unidades, independente do efeito da corrida.

2.5.1.3 Planejamento balanceado aninhado

Para entender o conceito desse planejamento, suponha um planejamento de 12 unidades, onde 3 corridas serão conduzidas, cada uma incluindo o mesmo número de 4 unidades, a qual são medidas 3 replicatas de cada unidade. Nesse caso todas as replicatas são analisadas dentro da mesma corrida, sendo cada corrida aleatorizada individualmente. O esquema é representado a seguir:

Corrida nº 1: 1 – 3 – 5 – 7 – 7 – 5 – 3 – 1 – 1 – 3 – 5 – 7

Corrida nº 2: 2 – 4 – 6 – 8 – 2 – 4 – 6 – 8 – 2 – 4 – 6 – 8

Corrida nº 3: 12 – 11 – 10 – 9 – 9 – 10 – 11 – 12 – 12 – 11 – 10 – 9

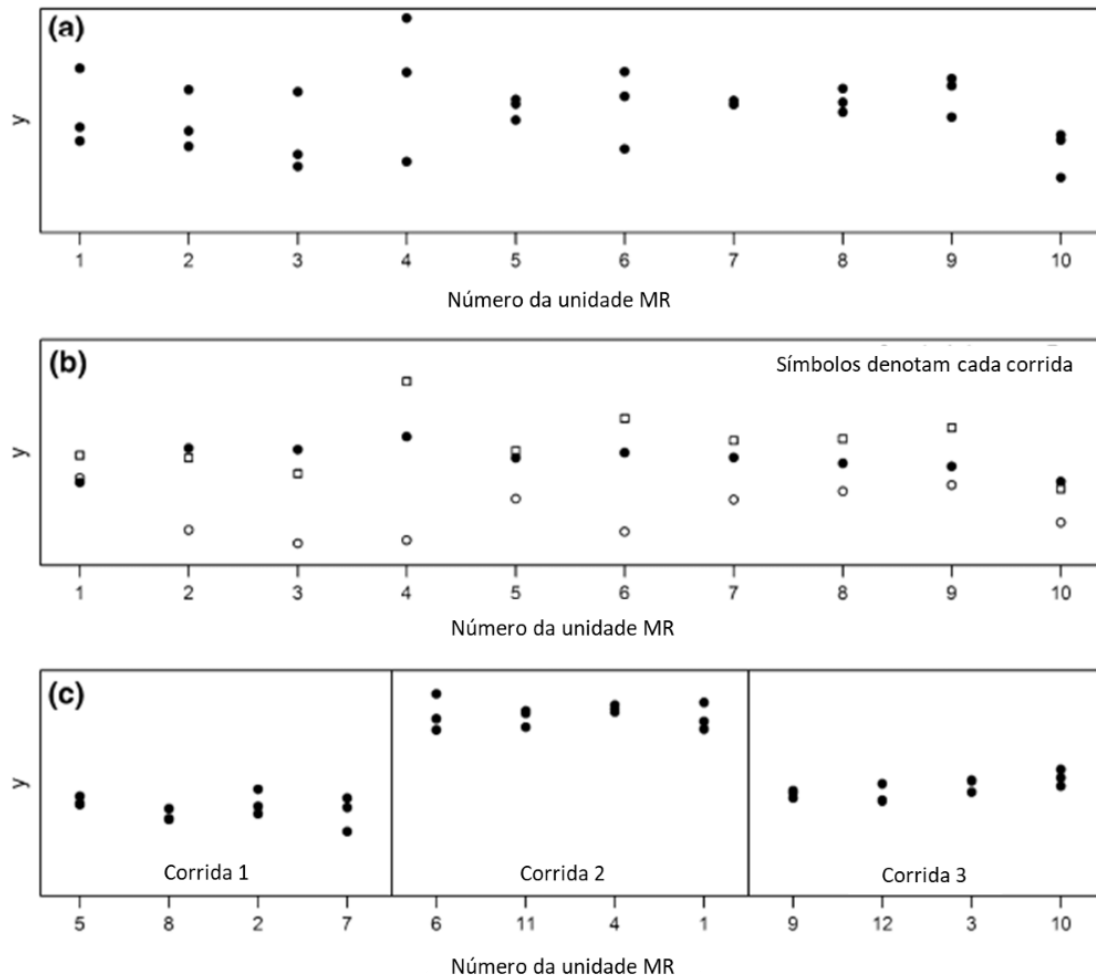
Os planejamentos aninhados reduzem os graus de liberdade associados com o desvio-padrão entre unidades. Para esses planejamentos, o número de unidades estudadas deve ser aumentado para garantir graus de liberdade suficiente. Isto usualmente requer a inclusão de, no mínimo, uma unidade adicional para cada corrida de medições adicional no desenho. Além disso, se o método estatístico a ser utilizado depende no planejamento balanceado, devem ser incluídas unidades de MR

⁴ Deriva Instrumental – Segundo o VIM (2012), é a variação da indicação ao longo do tempo, contínua ou incremental, devida a variações nas propriedades metrológicas dum instrumento de medição.

suficientes para garantir que cada corrida de medição possua o mesmo número de unidades de MR.

Na Figura 4 é mostrado a representação dos planejamentos citados acima.

Figura 4 – Planejamentos para o estudo de homogeneidade



LEGENDA: (a) Planejamento básico em Corrida única (b) Planejamento do bloco aleatório (c) Planejamento balanceado aninhado.

FONTE: Adaptado (ELLISON, 2015)

2.5.1.4 Estratégias alternativas

Nem sempre é possível realizar um dos planejamentos citados acima. As vezes as unidades dos materiais de referência não permitem subdivisão para realização de replicatas, seja porque a quantidade de material provida é suficiente apenas para uma única medição ou porque as unidades possuem estabilidade insuficiente uma vez que

foram abertas ou ainda porque as unidades são indivisíveis (por exemplo, materiais para teste individuais Charpy⁵). Onde não é possível fazer subdivisão, a estratégia mais utilizada comumente é medir cada unidade uma única vez e comparar com o desvio-padrão (ou mais comumente, a variância) dessas medições contra uma estimativa independente da repetibilidade (baseado em outro material ou em estudos de validação do método). A diferença na variância é dada como a estimativa da variância entre unidades do material de referência.

Um outro aspecto importante nos estudos de homogeneidade está relacionado ao procedimento de medição utilizado. Num projeto de produção de material de referência, cada etapa pode requerer procedimentos de medições diferentes, pois a caracterização geralmente requer um procedimento de medição com baixa tendência e incerteza de medição (ISO, 2017).

Já para os estudos de homogeneidade e estabilidade, os procedimentos de medição precisam ter características adequadas tais como uma boa repetibilidade, para estudo da homogeneidade, enquanto para o estudo de estabilidade, a reprodutibilidade é um fator de maior importância. Esses métodos não precisam ser necessariamente os mesmos, desde que se tenha uma referência em comum entre os dois métodos. Essa referência em comum pode ser outro material de referência, por exemplo. É um aspecto de suma importância e deve ser levado em consideração na etapa do projeto (STOEPLER, 2000).

2.6 ESTUDOS DE ESTABILIDADE

A estabilidade em materiais de referência é definida como “a capacidade do material de referência de manter o valor de uma propriedade dentro de limites especificados por um período preestabelecido, quando estocado nas condições especificadas”. Em resumo, o material de referência deve ser suficientemente estável para o seu uso

⁵ O **Pêndulo Charpy**, também conhecido como **teste de impacto Charpy** ou **ensaio Charpy**, é um método padronizado para medida de resistência e impactos e deformação de um material medindo a taxa de destruição e o quanto esse material foi resiliente (LARSON, 2015)

pretendido, para que o usuário final possa confiar no valor atribuído em qualquer período da validade do material de referência (ISO, 2017).

Para os estudos de estabilidade, é importante considerar as condições de estocagem em longo prazo no produtor, condições para transporte e onde aplicável, as condições de estocagem nos laboratórios usuários dos MRs. Dependendo do tipo de material, ainda pode incluir estudo sobre estabilidade após abertura, se o reuso for permitido. Basicamente, o material deve ser avaliado em condições que podem afetar os seus valores de propriedade e/ou a própria composição da matriz do material, como por exemplo: níveis diferentes de umidade, temperatura, luz e campo magnético. Um aspecto importante com relação aos testes de estabilidade, é que estes só devem ser realizados após ter sido demonstrado que o grau de homogeneidade do material de referência, em relação à(s) propriedade(s) de interesse, seja adequado ao propósito (ISO, 2017).

As abordagens para o estudo de estabilidade podem variar significativamente dependendo do tipo de material e uso pretendido. A abordagem mais simples é realizar as medições independentes, em diferentes pontos numa linha do tempo e concluir sobre a estabilidade futura baseada na mudança verificada ao longo do tempo de estudo decorrido. Outros estudos podem incluir abordagens multipontos, na qual o produtor do material de referência utiliza modelos mais complexos de comportamento de estabilidade para concluir sobre a mudança de estabilidade do material (ISO, 2017).

Os estudos de estabilidade podem ser classificados de diferentes formas, dependendo do aspecto avaliado. As classificações mais comuns estão descritas a seguir (ISO, 2017):

2.6.1 Classificação de acordo com as condições de medição

2.6.1.1 Estudos clássicos (condições intermediárias de medição)

No estudo clássico, as amostras são medidas em condições idênticas ao longo do tempo (por exemplo, uma medição imediatamente após o preparo/envase, uma após

três meses, a próxima após 6 meses e assim por diante). Neste modelo, em que as medições são realizadas sobre condições intermediárias (muitas vezes chamada de reprodutibilidade dentro do laboratório), pode deixar a incerteza relativamente alta, quando instabilidades no sistema de medição contribui significativamente para a dispersão dos resultados (ISO, 2017).

2.6.1.2 Estudos isócronos (condições de repetitividade de medição)

O estudo isócrono usa de condições de referência para a estocagem, de forma a permitir que unidades do MR sejam expostas a diferentes condições de degradação num curto período, idealmente em condições de repetitividade. A palavra isócrona enfatiza que as medições são feitas num mesmo momento (ISO, 2017).

2.6.2 Classificação de acordo com a duração e condições

2.6.2.1 Estudos em tempo real

A estabilidade do material é estudada sob condições de estocagem ou transporte que são as pretendidas para o material de referência. Isso significa que uma semana/mês/ano do estudo de estabilidade dá informações reais sobre o comportamento do material. Esse tipo de estudo tem a vantagem de não requerer nenhuma consideração sobre os efeitos em diferentes condições, porque as condições utilizadas nos experimentos são as mesmas pretendidas para o uso no transporte ou estocagem (ISO, 2017).

2.6.2.2 Estudo de estabilidade acelerada

Nos estudos de estabilidade acelerada, múltiplos experimentos são realizados nas condições mais extremas de estocagem e transporte pretendidas, com o objetivo de induzir mais rapidamente a degradação que o material experimentaria nas condições de estocagem normais. A razão da degradação nas condições normais é então estimada, por exemplo, por meio da análise de regressão de várias condições experimentais. O exemplo mais frequente são os experimentos em várias temperaturas e determinação da razão de degradação pela equação de *Arrhenius*.

Esse tipo de estudo tem vantagens de poder reduzir o tempo total requerido de um estudo de estabilidade e o aumento da confiança sobre o uso da informação proveniente de condições de exposição extrema. A maior desvantagem é que o mecanismo de degradação ou razão de degradação determinado, pode mudar com condições diferentes do estudo. Luz, umidade e temperatura são exemplos comuns de fatores estudados que podem acelerar a degradação (ISO, 2017).

Ambos estudos, em tempo real e estudos de estabilidade acelerada, podem ser organizados como clássico ou isócrono.

2.6.3 Classificação de acordo com o objetivo do estudo

2.6.3.1 Estabilidade de curto prazo ou de transporte

É a propriedade do material referente a estabilidade sobre condições de transporte esperada. Para isso, o comportamento do material e seus valores de propriedades são estudados sob as condições pretendidas para empacotamento e transporte. Quando nenhuma experiência anterior está disponível sobre um determinado tipo de material, um estudo de estabilidade de transporte deve ser realizado para obter informação sobre as condições adequadas para o transporte. A duração e condições utilizadas no estudo de estabilidade em curto prazo devem refletir a duração e condições razoavelmente esperadas no transporte de uma unidade do MR até o usuário. A menos que haja razão para não fazer, estas condições devem incluir temperaturas extremas que podem razoavelmente ocorrer durante o transporte internacional para um período que seja pelo menos tão longo quanto o permitido para o transporte do MR. Por exemplo, se o tempo de transporte proposto é restrito a 3 semanas, um estudo de estabilidade de curto prazo para 3 a 4 semanas será suficiente (ISO, 2017).

Se a experiência da estabilidade de materiais similares está disponível e indica que são exigidas condições de transporte estritamente controladas (por exemplo, transporte embalado com gelo seco ou gelo em gel), o estudo pode ser restrito às condições pretendidas de transporte. Outros estudos de curto prazo podem ser necessários, por exemplo, para estabelecer as condições de armazenamento

esperadas nas premissas do usuário final. Estudos para estabelecer a adequação do armazenamento alternativo por curtos períodos nas premissas do usuário final devem refletir as condições permitidas pelas instruções de uso. Não é geralmente necessário explorar condições mais rigorosas para este fim (ISO, 2017)

2.6.3.2 Estabilidade de longo prazo

Estudos de estabilidade de longo prazo são conduzidos para avaliar a estabilidade em condições de armazenamento especificadas para a validade do produto. Quando são realizados em tempo real, tipicamente duram cerca de 12 meses ou mais. Já os estudos de estabilidade acelerada são tipicamente mais curtos e incluem condições mais extremas. O período de validade do certificado também é assegurado pelo monitoramento de estabilidade após a liberação. Em geral, quanto menos dados estiverem disponíveis sobre a estabilidade do valor da propriedade em um material, mais extenso será o estudo de estabilidade em longo prazo e o monitoramento pós-certificação. Quando o tempo de comercialização de novos materiais é crucial, é possível limitar o estudo de estabilidade a longo prazo em menos de 12 meses e realizar o monitoramento frequente para complementação dos dados limitados disponíveis antes da certificação (ISO, 2017).

Como visto acima, as condições e duração dos estudos de estabilidade podem variar dependendo do material e componentes de interesse. Olivares e colaboradores (2018) compilaram em seu estudo as condições e duração dos estudos de estabilidade de mais de 20 materiais de referência na área de alimentos, água, solos e sedimentos. Os estudos de estabilidade desses materiais de referência (incluindo curto e longo prazo) variaram de 5 dias até 36 meses de duração. Dentre as condições testadas, a temperatura foi o fator mais avaliado, variando entre -70 e 80°C.

Para o material de referência de elementos traço em petróleo produzido por Shehata e colaboradores (2017), o estudo de estabilidade envolveu duas condições, 4 e 20°C, pelos períodos de 0, 2, 4 e 6 meses.

2.7 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA

A caracterização do material de referência é uma das últimas etapas da produção do material de referência e é definida como “a determinação de um ou mais valores de propriedades químicas, físicas, biológicas ou tecnológicas relevantes ao uso pretendido”. A caracterização pode ser realizada usando uma ou mais abordagens em um ou mais laboratórios, conforme descrito a seguir(ISO, 2016):

- a. O uso de um único procedimento de medição de referência em um único laboratório;
- b. Caracterização de um mensurando não-operacionalmente definido usando dois ou mais métodos de acurácia demonstrável em um ou mais laboratórios competentes;
- c. Caracterização de um mensurando definido operacionalmente usando uma rede de laboratórios competentes;
- d. Transferência de valor de MR para um candidato de estreita correspondência, realizando um único procedimento de medição por um único laboratório;
- e. Caracterização baseada na massa ou volume dos ingredientes utilizados na preparação do MR.

O guia *ISO Guide 35* (2017) traz um detalhamento de como aplicar algumas das abordagens citadas acima. Para a caracterização a partir de estudos interlaboratoriais, pode ser realizado um estudo de viabilidade para identificar possíveis fontes de erros e permitir que os participantes envolvidos na caracterização possam otimizar seus equipamentos e procedimentos (ISO, 2017).

2.8 ATRIBUIÇÃO DE VALORES DE PROPRIEDADES E SUAS INCERTEZAS

A atribuição de valores é o processo de combinar os resultados provenientes dos estudos de homogeneidade e estabilidade com os resultados da caracterização para determinar o valor do mensurando e suas respectivas incertezas. Esses valores são subsequentemente colocados num certificado ou ficha de informação de produto (ISO, 2017). O certificado de material de referência é “o documento que acompanha o material de referência certificado, declarando um ou mais valores de propriedades

e suas incertezas e confirmando que os procedimentos necessários foram realizados para assegurar sua validade e rastreabilidade” (ISO, 2016).

O valor de propriedade em uma única unidade do material de referência quando entregue ao usuário pode ter seu resultado afetado pelo processo de caracterização, pela real variação entre das unidades individuais (heterogeneidade), mudanças ao longo do tempo e mudanças durante o transporte e estocagem. Uma forma de combinar toda essa variabilidade no valor da propriedade do material de referência é através da incerteza associada ao processo de produção.

Segundo o Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM) (INMETRO, 2012), a incerteza de medição é definida como um “parâmetro associado ao resultado de uma medição que caracteriza a dispersão dos valores que podem se razoavelmente atribuídos ao mensurando”. No caso do material de referência, o mensurando são os constituintes de interesse ou propriedade do material de referência.

O modelo usado para avaliar a incerteza associada com o valor atribuído ao material de referência deve incluir todos esses efeitos onde eles forem significativos. O modelo proposto pelo *ISO Guide 35* inclui:

$$x_{CRM} = y_{char} + \delta_{hom} + \delta_{lts} \quad (1)$$

Onde,

x_{CRM} é o valor de propriedade;

y_{char} é o valor de propriedade obtido da caracterização do lote ou no caso de uma caracterização de um artefato simples, o valor de propriedade obtido deste artefato;

δ_{hom} é o termo do erro devido à heterogeneidade o qual inclui a variação entre unidades junto com qualquer heterogeneidade dentro da unidade;

δ_{lts} é o termo do erro que representa os efeitos da estabilidade nas condições de estocagem.

Usualmente, qualquer estudo de homogeneidade e estabilidade são desenhados para esses erros possam ser assumidos como zero, mas suas incertezas não são zero. Assumindo independência das variáveis, a incerteza associada com o valor de propriedade do material de referência pode ser expressa como (ISO, 2017):

$$u_{CRM} = \sqrt{u_{char}^2 + u_{hom}^2 + u_{lts}^2} \quad (2)$$

Onde:

u_{CRM} é a incerteza-padrão combinada do valor de propriedade;

u_{char} é a incerteza-padrão do valor de propriedade obtido da caracterização do lote ou no caso de uma caracterização de um artefato simples, o valor de propriedade obtido deste artefato;

u_{hom} é a incerteza-padrão devido à heterogeneidade o qual inclui a variação entre unidades junto com qualquer heterogeneidade dentro da unidade;

u_{lts} é a incerteza-padrão que representa os efeitos da estabilidade nas condições de estocagem.

2.9 PRODUÇÃO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA NO BRASIL

Alves e Moraes (2003) afirmaram que a defasagem tecnológica do Brasil, em termos de metrologia aplicada às medições químicas e em relação aos Estados Unidos, era de aproximadamente 100 anos. Isto era evidenciado pelo fato de que o principal órgão metrológico do Estados Unidos, o *National Institute of Standards and Technology* (NIST, antigo NBS), ter iniciado a produção de materiais de referência para atender o setor industrial desde o início do século XX.

Atualmente, no Brasil, os materiais de referência certificados são produzidos pelos laboratórios do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) e, desde 2011, também pelos Produtores de Material de Referência Certificado acreditados através da Coordenação Geral de Acreditação do INMETRO (Cgcre/INMETRO). A acreditação desses produtores possibilitou o

aumento da produção de MRCs brasileiros (INMETRO, 2017). Mesmo com o desenvolvimento desses produtores, o Brasil ainda está longe de atender a atual e crescente demanda de materiais de referência e materiais de referência certificados.

A base de dados do *Code d'Indexation des Matériaux de Référence* (COMAR) mantido pelo Instituto Federal de Pesquisa de Materiais e Ensaio (*Bundesanstalt für Materialforschung und prüfung* - BAM, Alemanha) é um dos principais bancos de dados internacional de materiais de referência. Nesse banco de dados, o Brasil possui apenas 141 dos mais de 8147 MRs e MRCs cadastrados em fevereiro de 2019, o que corresponde à cerca de 1,7% do total de todos os materiais disponíveis no sistema (BAM, 2019). Esses 141 MRCs cadastrados foram produzidos por apenas 4 produtores nacionais, destacando-se o Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) com 83 MRCs, Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) com 17 MRCs, a Visomes Comercial Metrológica com 19 MRCs e o Inmetro, com apenas 22 MRCs cadastrados. No site do Inmetro é também possível encontrar outros materiais produzidos por este instituto e também pelos produtores acreditados pelo mesmo que não estão cadastrados no COMAR. Apesar do COMAR ser um banco confiável para busca de materiais de referência certificados, existe a necessidade do produtor de material de referência solicitar a inclusão do MRC no sistema, o que as vezes acaba não acontecendo (BAM, 2019).

O IPT iniciou sua produção de MRs para análise química a partir de 1980, com a criação do Núcleo de Padrões Analíticos, atualmente chamado de Agrupamento de Materiais de Referência, localizado nas dependências da Universidade de São Paulo (USP). Até hoje, já foram desenvolvidos mais de 130 MRCs, entre eles estão minerais, metais, padrões físicos e de petróleo, constituídos de padrões de aço, ligas metálicas e minérios, entre outros (IPT, 2018).

Outro centro tecnológico também importante para o desenvolvimento de materiais de referência para área industrial no Brasil foi o CETEM, que é a unidade de pesquisa do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC). Hoje o CETEM conta com uma acreditação pela *American Association for Laboratory Accreditation* (A2LA), como produtor de materiais de referência certificados de

minérios e minerais, em conformidade com a ISO 17034 (CETEM, 2018). Outro destaque na produção de materiais de referência é a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), mais especificamente a Embrapa Pecuária Sudeste, que em parceria com outras instituições vêm desenvolvendo materiais de referência para atendimento às demandas da área agropecuária (EMBRAPA, 2018; NOGUEIRA et al., 2016).

Ainda dentro desse contexto, temos os laboratórios de pesquisas das universidades brasileiras como potencializadores do desenvolvimento de novos materiais de referências brasileiros (BIANCHI et al., 2016; BOSSU, 2013; CARDOSO, 2008; DA SILVA; DE SOUZA; NOGUEIRA, 2017; GANDRA, 2013; MOREIRA et al., 2015; MOREIRA et al., 2010; OLIVEIRA JUNIOR, 2006; ULRICH, 2011; VERHALEN, 2014). Um dos motivos deve-se ao fato dessas instituições terem contato com técnicas modernas de análises e terem *expertise* em diversas matrizes de interesse.

Dentre os materiais desenvolvidos pelas universidades brasileiras, destaca-se Moreira (2010), que preparou e caracterizou um material de referência de mexilhão *Perna perna* para metais utilizando ensaios colaborativos com laboratórios nacionais e internacionais para caracterização. Da mesma forma, Ulrich (2011) desenvolveu um material de referência de peixe para mercúrio e metilmercúrio na área ambiental. Dentre as técnicas utilizadas para caracterização por esses autores destaca-se a FIA-CV-AAS (Espectrometria de Absorção Atômica com sistema de injeção em fluxo e geração de vapor frio) e IDMS (Diluição Isotópica aplicada a Espectrometria de Massas) como método primário.

Ainda podemos destacar os trabalhos desenvolvidos em parceria da Universidade Federal de São Carlos e a Embrapa Pecuária Sudeste. Bossu (2013) que produziu e caracterizou o material de referência de forrageira para nutrientes e contaminantes inorgânicos. Verhalen (2014) também trabalhou na produção e caracterização de um material de referência de solo para nutrientes e contaminantes inorgânicos, enquanto Silva (2016) produziu e caracterizou um material de referência de nutrientes e contaminantes inorgânicos em fosfato de rocha para futura distribuição aos

laboratórios do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e outros laboratórios nacionais.

2.10 MATERIAL DE REFERÊNCIA DE ELEMENTOS TRAÇO EM PETRÓLEO

Segundo a base de dados do COMAR, uma pesquisa pelo termo “*Petroleum*” retornou cerca de 94 MRCs cadastrados na base. Desses, apenas 2 MRCs são referentes à elementos traço no petróleo. Para o termo “*Crude Oil*” não foi retornado nenhum material de referência. Na Tabela 5 estão detalhadas as características dos materiais encontrados.

Tabela 5 – Materiais de referência certificado de petróleo para elementos traço cadastrados no COMAR.

Código do MRC	Elementos certificados	Produtor	Ano	País
GBW11201	Fe, Ni, Mn, Mg, Na, e As	NRCCRM	1997	China
GBW11202	Fe, Ni, Co, Ca e V	NRCCRM	1997	China

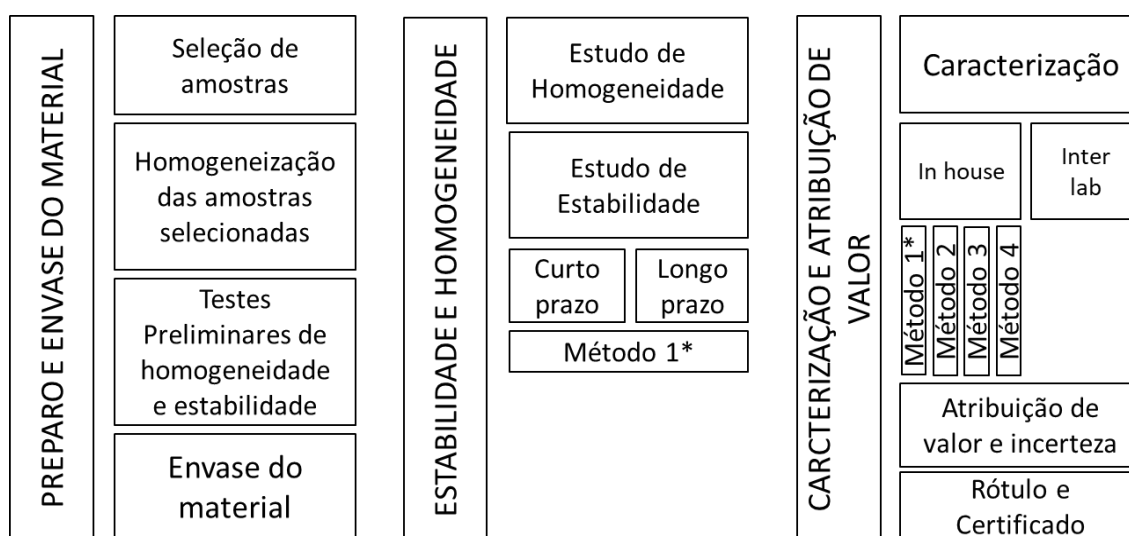
Apesar desses MRCs produzidos em 1997 estarem disponíveis na base de dados da COMAR, não foi encontrado o produto disponível para comercialização no site do produtor (*National Institute of Metrology, China*), o que justifica a utilização de materiais de referência de matrizes correlatas na literatura pesquisada.

Passados 20 anos da produção dos MRCs chinês, Shehata e colaboradores (2017) desenvolveram um material de referência de petróleo para os elementos enxofre, ferro, níquel, vanádio e magnésio. O material foi produzido a partir de uma amostra de petróleo de 26,05° API (American Petroleum Institute), flash point de 22°C e viscosidade cinemática de 39,38 cSt à 40°C, provida por *Gesium oil company* (Golfo de Suez).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Nessa etapa estão descritos os materiais e reagentes utilizados, bem como a instrumentação, softwares e as metodologias utilizadas durante todo o trabalho. O procedimento experimental foi dividido em três etapas principais conforme esquema mostrado na Figura 5:

Figura 5 – Esquema do procedimento experimental



* Para o método 1 foi realizado um trabalho de otimização experimental que se encontra no Apêndice A. O detalhamento da execução está descrito junto com os demais métodos.

3.1 PREPARO E ENVASE DO CANDIDATO À MATERIAL DE REFERÊNCIA

3.1.1 Seleção das amostras

As amostras de petróleo foram obtidas a partir da Petroteca do Labpetro/UFES, as quais foram cedidas pelo Núcleo de Competências em Química do Petróleo/Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Metodologias para Análise de Petróleo. Devido à dificuldade de encontrar amostras em quantidade suficiente para o preparo do lote requerido (cerca de 3 kg) optou-se pelo preparo de uma mistura

(*blend*) de várias amostras. Para a seleção das amostras para o *blend*, além das características necessárias de homogeneidade e estabilidade do petróleo, foi necessário realizar uma pesquisa bibliográfica adicional, a fim de obter informações sobre possíveis incompatibilidades entre as amostras de petróleo. Essa pesquisa foi necessária, visto que as amostras selecionadas seriam misturadas e homogeneizadas de forma a compor um único lote e ainda deveriam possuir as características de salinidade desejadas para o material. A Tabela 6 apresenta a relação entre as principais características das amostras selecionadas e as justificativas que motivaram a sua escolha.

Tabela 6 – Características das amostras selecionadas para preparação do *blend*.

Características	Justificativa da Escolha
Amostras coletadas entre 2011 e 2012 pré-tratadas (SAD et al., 2012)	Obter um material já estabilizado quimicamente e biologicamente
Grau API* entre 28,9 e 31	Obter um material de mais fácil homogeneização pré-envase e diminuição de possíveis incompatibilidades
Salinidade (variando entre 100 e 89260 ppm IST NaCl)	Obter um material com quantidade considerável dos contra íons de cloreto (Ba, Ca, Mg, Na e Sr)

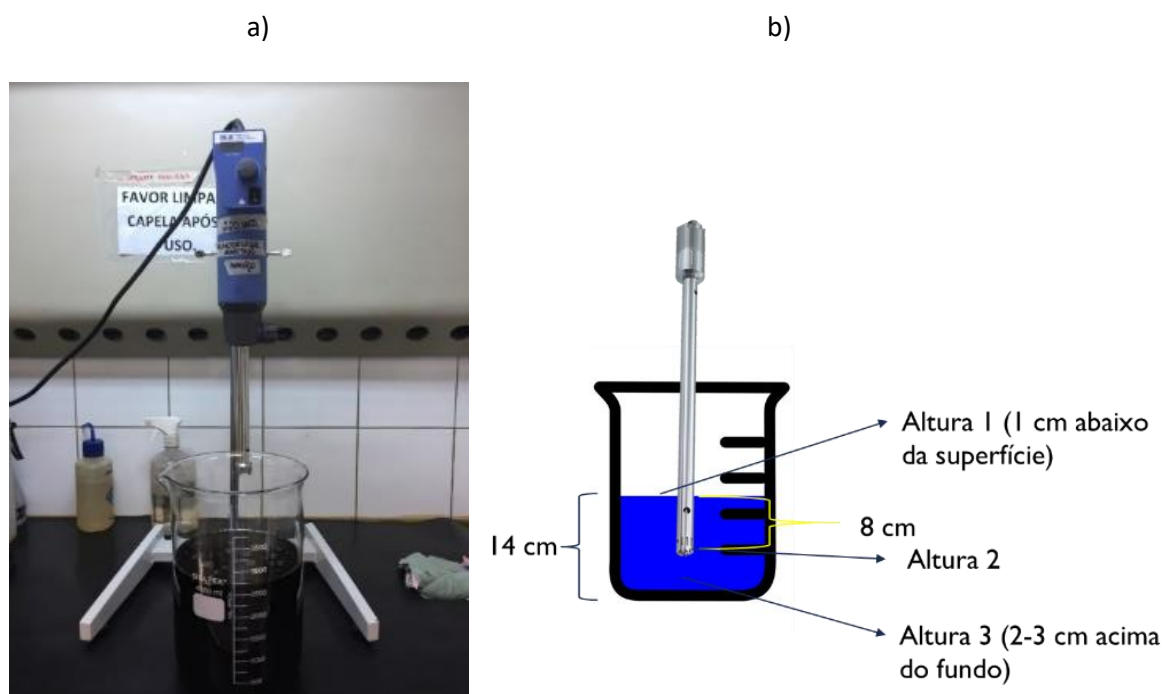
*O Grau API (em inglês, API Gravity) é uma escala arbitrária que mede a densidade dos líquidos derivados do petróleo. Foi criada pelo *American Petroleum Institute* - API, juntamente com a *National Bureau of Standards* e utilizada para medir a densidade relativa de líquidos (MATAR, 2000).

Ao final dessa busca foram selecionadas 5 (cinco) amostras com as características desejadas. Outro fator considerado durante a seleção foi o teor de sedimento e água (BSW). Como as amostras haviam passado previamente por um processo de desidratação, a maioria possuía o teor de BSW menor do que 1%, exceto uma das amostras que apresentava o BSW de 68%. Esta última foi utilizada para o controle do processo de homogeneização, conforme detalhado em tópico posterior.

3.1.2 Homogeneização das amostras

Para obtenção do *blend*, as amostras de petróleo foram pré-aquecidas em estufa à 50 °C por 30 min e misturadas em um béquer de vidro de 4 L utilizando um agitador de alta velocidade (tipo “*high speed mixer*”) modelo T25 (IKA, Alemanha). (Figura 6a). Para garantir a homogeneização satisfatória do *blend*, foi monitorado o teor de água emulsionada de subamostras retiradas da superfície, meio e fundo do béquer (Figura 6b).

Figura 6 - Processo de homogeneização do blend (a) agitador tipo “high speed mixer” e (b) esquema de retirada das alíquotas para o teste de homogeneização.



O monitoramento do teor de água emulsionada ocorreu ao final de cada ciclo de homogeneização até que a diferença entre as medidas fosse estatisticamente não significativa (95% de confiança). Para análise de água emulsionada (Karl Fischer) foi utilizado o titulador automático 809 Titrand (Metrohm, Suíça), Figura 7, Solução Karl Fischer Combititrant (5 mgH₂O/mL) sem piridina (Merck, Alemanha) e uma mistura de solventes sem piridina, preparados conforme a norma ASTM 4377-00 - *Standard Test Method for Water in Crude Oils by Potentiometric Karl Fischer Titration* (2000).

Figura 7 - Titulador Automático 809 Titrando (Metrohm, Suíça).



3.1.3 Testes Preliminares de Homogeneidade e Estabilidade

Após a homogeneização do *blend*, a mistura obtida foi submetida à testes preliminares de homogeneidade e estabilidade, com o objetivo de avaliar antes do envase o processo de homogeneização realizado. Os testes estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Características dos testes preliminares de homogeneidade e estabilidade

Teste Preliminar	Procedimento/ Objetivo
<u>Avaliação Macroscópica</u>	Análise visual, verificando possível separação de fase, presença de sedimentação, coalescência e alterações de cor.
<u>Teste de centrifugação</u>	Centrifugação de aproximadamente 5 g de amostra nos ciclos de 1000, 2500 e 3500 rpm por 15 min cada rotação, com o objetivo de verificar separação de fases e/ou sedimentação. O teste foi realizado em duplicata.

Teste Preliminar	Procedimento/ Objetivo
<u>Análise microscópica</u>	Verificar a distribuição das gotas e tamanho de gota no <i>blend</i> preparado, auxiliando na verificação da homogeneidade do material.

A análise microscópica foi realizada num microscópio ótico polarizado da Nikon (Japão) modelo LV100POL com objetivas Eclipse LV100. Para o teste de centrifugação foi utilizado a centrífuga microprocessada para Tubos (Quimis, Brasil) modelo Q222TM204.

3.2 ENVASE DO MATERIAL

3.2.1 Frasco para envase do candidato à material de referência

De acordo com a norma ASTM D5854 (1996) para estocagens acima de 6 meses e com a finalidade de determinar elementos traço, o vidro é a opção mais adequada para esse fim. Inicialmente, foi enviada uma amostra de petróleo para teste de envase em ampolas de vidro âmbar de 10 mL utilizando uma ampoladora modelo R915 (Adelphi, UK). As amostras foram ampoladas manualmente e o “espaço vazio” (*head space*) foi purgado com argônio antes de selar a ampola.

O processo de envase do candidato à material de referência em ampolas âmbar de 10 mL foi realizado conforme mostrado na Figura 8. Foram encontradas algumas dificuldades operacionais nesse processo, como manter constante a quantidade ampolada devido a viscosidade do material, além do risco de explosão devido ao fechamento da ampola ser realizado com uma chama. O ponto de fulgor do material de referência produzido foi de $-6,7^{\circ}\text{C}$, ou seja, acima dessa temperatura o material já libera vapor em quantidade suficiente para formar uma mistura inflamável se existir uma fonte externa de calor.

Figura 8 - Envase em ampolas



Em face à essa dificuldade, foi estudada outra opção de envase utilizando frasco âmbar de 20 mL, com tampa e batoque. Esse tipo de frasco também já foi utilizado em outros materiais de referência, inclusive do NIST para outros tipos de óleo, como o óleo combustível mostrado na Figura 9. A troca do frasco também possibilitou o envase de uma quantidade maior de material por unidade, cerca de 20 g. Com isso foram adquiridos 120 unidade de frascos de vidro âmbar de 20 mL para o envase do candidato à material de referência.

Figura 9 - Frasco utilizado para envase do SRM 1634c NIST



3.2.2 Descontaminação dos frascos

Todos os frascos e batoques passaram por processo de descontaminação, utilizando uma solução com extran 20% por 24 h e HNO_3 15% (v/v) por mais 24 h, enxaguados com água tipo 1 e deixado secar (Figura 10).

Figura 10 - Processo de descontaminação dos frascos de vidro



Dos 120 frascos, 6 frascos (5% do lote) foram selecionados aleatoriamente para verificar a eficácia do processo de descontaminação. Os frascos selecionados para esse estudo foram preenchidos com uma solução de HNO_3 2% (v/v) por diferentes períodos (1 e 15 dias). A solução obtida foi analisada por ICP OES para identificação de possível lixiviação de contaminantes dos frascos.

3.2.3 Distribuição do material

Para o envase do candidato à material de referência, o material sob agitação magnética foi transferido manualmente para os frascos limpos e secos com o auxílio de uma micropipeta de 10 mL. Cerca de (20 ± 2) gramas foram transferidas para cada frasco fechado com tampa e batoque, obtendo-se 115 unidades (Fig. 11). Foi realizada uma amostragem para confirmação da quantidade transferida

para os frascos. Os frascos foram numerados de acordo com a ordem de envase e armazenados em local protegido de poeira. Nesse momento também já foram separados os frascos que seriam utilizados no estudo de homogeneidade e estabilidade.

Figura 11 – Candidato à material de referência envasado



Após o preparo do *blend*, foi realizada uma nova caracterização pelo Laboratório de Caracterização do Labpetro do material obtido. As características determinadas foram: a densidade, gravidade °API e o ponto de fulgor.

3.3 ESTUDOS DE HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE

3.3.1 Seleção das amostras para os estudos de homogeneidade e estabilidade

Para os estudos de homogeneidade e estabilidade (curta e longa) foi utilizada a ferramenta de números aleatórios do programa da Microsoft Office Excel® para seleção das unidades utilizadas nestes estudos conforme descrito a seguir.

3.3.2 Estudo de homogeneidade

Para o estudo de homogeneidade foram selecionadas 8 unidades, correspondendo à 7% do lote produzido: 18, 38, 44, 71, 78, 87, 93 e 109. Para cada frasco, foram retiradas três subamostras e realizado o processo de determinação dos elementos traço conforme Método 1 (detalhado em 3.4.1.2).

Para as determinações foi utilizado o planejamento básico, onde as medições são realizadas em apenas uma única corrida. A ordenação utilizada foi baseada no *ISO Guide 35* (ISO, 2017) conforme mostrado a seguir:

- **Replicata 1:** 71 – 87 – 93 – 109 – 18 – 38 – 44 – 78
- **Replicata 2:** 109 – 93 – 87 – 71 – 78 – 44 – 38 – 18
- **Replicata 3:** 18 – 38 – 44 – 78 – 71 – 87 – 93 – 109

Corrida única: 71 – 87 – 93 – 109 – 18 – 38 – 44 – 78 – 109 – 93 – 87 – 71 – 78 – 44 – 38 – 18 – 18 – 38 – 44 – 78 – 71 – 87 – 93 – 109

Para avaliação dos resultados da homogeneidade foram utilizados gráficos de tendências, análise de variância (ANOVA) fator único, regressão linear e Análise do Componentes Principais (PCA). Também foi estimada a incerteza relativa à heterogeneidade do material.

3.3.3 Estimativa da massa mínima da amostra

Para o estudo na massa mínima, selecionou-se 1 frasco aleatoriamente, a partir do lote preparado e foi efetuado a determinação dos elementos de interesse utilizando as massas de 50, 100, 150 e 200 mg, em triplicata para cada massa, conforme Método 1. A precisão do método de medição foi avaliada através do desvio padrão relativa (RSD) e análise de variância (ANOVA).

3.3.4 Estudo de estabilidade em curto prazo

Como desenho experimental para a estabilidade em curto prazo, foi utilizado o estudo isócrono, isto é, as amostras são analisadas em condições de repetibilidade. Para isso, as amostras foram mantidas nas seguintes condições de temperatura e tempo: em geladeira (+4 a +6 °C), em temperatura ambiente do laboratório (+20 a +26 °C) e em estufa (+35 à +50 °C), durante tempo de estocagem de 1, 2, 3 e 4 semanas, totalizando 9 ensaios para cada período de estocagem.

Todas as amostras foram ensaiadas ao final do período de 4 semanas utilizando o Método 1. Para avaliação dos resultados da estabilidade em curto prazo, foram utilizados gráficos de tendências, análise de variância (ANOVA) fator único e regressão linear.

3.3.5 Estudo de estabilidade em longo prazo

Para o estudo de estabilidade em longo prazo, 4 frascos do material foram escolhidos aleatoriamente e foram armazenados em temperatura ambiente do laboratório (+20 a +26 °C). O material foi acompanhado nos tempos de 3, 6 e 9 meses. Para cada frasco foram retiradas três subamostras e foi utilizado o Método 1 para determinação dos elementos traço. Para avaliação dos resultados da estabilidade em longo prazo foram utilizados gráficos de tendências, análise de variância (ANOVA) fator único e regressão linear. Também foi estimada a incerteza relativa à estabilidade do material.

3.3.6 Softwares utilizados

Para as avaliações estatísticas, construção de gráficos foram utilizados Microsoft Office 365 Excel®, Minitab 17, Action Stat versão 3.5.152.34 e Statistica versão 10.

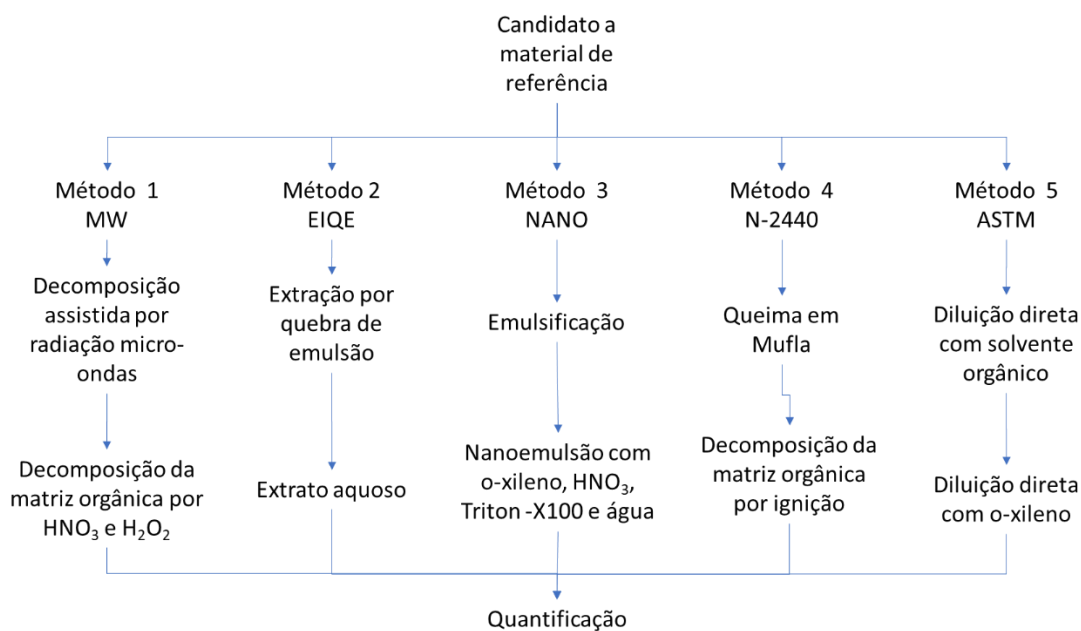
3.4 CARACTERIZAÇÃO DO CANDIDATO À MATERIAL DE REFERÊNCIA

Para a caracterização do material de referência foram utilizadas as duas abordagens descritas a seguir:

3.4.1 Abordagem multi métodos por um único laboratório (Abordagem *in house*)

Para abordagem multi métodos, foram utilizados 5 diferentes métodos (incluindo o método 1 utilizado nos estudos de homogeneidade e estabilidade), com conhecida exatidão na determinação dos analitos Ba, Ca, Mg, Na, Ni, Sr e V. O resumo dos métodos utilizados está esquematizado na Figura 12.

Figura 12 - Representação esquemática dos métodos utilizados



O detalhamento da execução dos métodos está descrito a seguir:

3.4.1.1 Homogeneização da amostra (todos os métodos)

Para retirada das alíquotas, os frascos das unidades a serem testadas, foram colocadas em estufa (50 – 60°C) por cerca de 15 minutos. Após esse tempo, os frascos foram retirados da estufa e agitados manualmente de forma vigorosa por cerca de 5 minutos e retirados as alíquotas conforme especificado em cada método.

3.4.1.2 Método 1 – Decomposição Assistida por micro-ondas

Esse método foi o utilizado nos estudos de homogeneidade e estabilidade do material produzido. O preparo da amostra envolveu a retirada de uma alíquota de aproximadamente 150 mg do material com o auxílio de uma pipeta tipo Pauster para uma barquinha de pesagem. As barquinhas foram colocadas no interior do frasco DAP-60 onde foram adicionados cerca de 5 mL de HNO_3 sub-destilado, 2 mL de água tipo 1 e 2 mL de peróxido 30% v/v. Aguardou-se 5 min para o fechamento dos frascos, antes de colocá-los no sistema de decomposição assistida por radiação micro-ondas.

Após a decomposição, o digerido foi filtrado em papel quantitativo faixa preta para retirada de possíveis resíduos, lavado com água tipo 1 e recolhido em tubos de polietileno de 50 mL (Sarstedt, Alemanha) previamente tarados. O volume foi ajustado para cerca de 20 mL diretamente no tubo e foi realizada a pesagem final da solução obtida. O branco de preparo foi submetido ao mesmo procedimento que as amostras. Para a curva analítica, foi utilizada uma curva aquosa com padrões inorgânicos em meio de HNO_3 8% (v/v) preparadas gravimetricamente.

3.4.1.3 Método 2 – Extração induzida por quebra de emulsão (EIQE)

O método 2 seguiu a metodologia desenvolvida por Trevelin e colaboradores (2016). Para esse método, foi pesado cerca de 200 mg de petróleo em um tubo de polipropileno, com capacidade de 15 mL e adicionou-se 1 mL de xileno. Agitou-se durante 30 segundos em vórtex. Em seguida, adicionou-se 2 mL de solução ácida de Triton X-100 5% m/v (HNO_3 10% v/v), agitou-se por 1 min e manteve-se em banho ultrassônico por 25 min com água gelada. Diluiu-se com água tipo 1 para 10 mL e, novamente mais 2 min de agitação em vórtex. Assim, foi obtida uma emulsão óleo em

água, que foi posteriormente quebrada com aquecimento em banho de água a temperatura $80 \pm 2^\circ\text{C}$ por 10 min. Para melhor separação das fases, utilizou-se a centrifugação durante 5 min a 4000 rpm. Após a separação das duas fases (orgânica, contendo petróleo e solvente, e aquosa ácida, contendo os metais extraídos), um volume de aproximadamente 7 mL da fase aquosa foi retirado com o auxílio de uma micropipeta. Para a curva analítica, foi utilizada uma curva aquosa com padrões inorgânicos em meio de HNO_3 2% v/v.

3.4.1.4 Método 3 - Nanoemulsão

O método 3, seguiu a metodologia desenvolvida por Vieira e colaboradores (2019). Nela, uma alíquota de petróleo, cerca de 200 mg, foi pesada em um tubo de polipropileno, com capacidade de 50 mL, e adicionado 1,0 mL de HNO_3 concentrado. Os frascos foram colocados no banho ultrassônico à temperatura ambiente, por 5 minutos. Logo após, foi adicionado 0,6 mL de xileno e $0,80 \pm 0,01$ g de Triton X-100. Na sequência, foram submetidos ao vórtex durante 5 min. Por fim, foi adicionado o padrão interno (Sc). A água tipo 1 foi adicionada em cada alíquota de 5 mL, sendo realizada a agitação por vórtex por 1 min até completar 20 mL, deixando em banho ultrassônico por 10 minutos. Para a curva analítica, foi utilizado o mesmo procedimento, utilizando o óleo base com viscosidade de 20 cSt no lugar da amostra, adição de padrões aquosos e do padrão interno.

3.4.1.5 Método 4 – Norma técnica da Petrobrás N-2440: Queima e mineralização da amostra (N2440)

O método 4 seguiu a norma da Petrobrás N-2440 (PETROBRAS, 2011). Foi pesado cerca de 10 g de petróleo e adicionado 3 mL de HNO_3 concentrado. Para evitar projeção da amostra utilizou papel de filtro dobrado em formato de cone, com a ponta recortada que foi colocado sobre a amostra. Colocou-se o béquer contendo a amostra coberta com o papel de filtro na chapa em temperatura baixa. Realizou-se o aquecimento de forma gradual e lenta (30 a 500°C por cerca de 30 h). Retirou-se da chapa e iniciou-se a queima em mufla à 550°C até que toda a matéria orgânica fosse eliminada (variando de 4 até 6h). Ao retirar a amostra da mufla, deixou-se resfriar em

dessecador até a temperatura ambiente. Após o resfriamento, adicionou-se 2,5 mL de HNO_3 concentrado e água ultrapura para rinsar as paredes do bquer (o volume final do bquer foi menor que 20 mL). Levou-se para o aquecimento em chapa a 200 °C até observar a decomposição total das cinzas (solução translúcida), não permitindo a secura da solução. Retirou-se do aquecimento aguardando o resfriamento a temperatura ambiente. Após o resfriamento, transferiu-se quantitativamente a solução para um tubo de polipropileno de 50 mL (previamente tarado) completando a solução para cerca de 20 mL e fez-se a pesagem final da solução.

Previamente à análise foi necessário realizar a diluição (1:2) das amostras visando diminuir a acidez residual. O branco de preparo foi submetido ao mesmo procedimento que as amostras. Para a curva analítica, foi utilizada uma curva aquosa com padrões inorgânicos em meio de HNO_3 5% (v/v) preparadas gravimetricamente.

3.4.1.6 Método 5 – Norma ASTM

Seguindo o procedimento ASTM D 7691 (2011) pesou-se cerca de 1 g de petróleo, em tubos de polipropileno com capacidade de 15 mL, e adicionou-se o padrão interno (Sc orgânico diluído em xileno). Após isto, foi adicionado xileno para um volume final de 10 mL. E então, os elementos foram determinados por ICP OES.

Para o preparo da curva analítica foram empregados padrões orgânicos. O branco e as soluções da curva analítica foram preparados mantendo sempre a quantidade de óleo igual ao das amostras (10% m/v), sendo empregado o óleo base com viscosidade de 20 cSt para ajuste da viscosidade. Foi adicionado também o padrão interno (Sc) diluído em xileno.

A seguir tem-se o detalhamento da instrumentação, soluções e reagentes utilizados na execução dos métodos de 1 a 5.

3.4.1.7 Instrumentação

As determinações elementares do candidato à material de referência foram realizadas num espectrômetro de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)

modelo Optima 7000 DV e Optima 7300 DV (PerkinElmer, Alemanha), espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) modelo NexION 300 (PerkinElmer, Alemanha) e espectrômetro de absorção atômica com chama (F AAS) modelo ZEE nit 700 (Analytik Jena, Alemanha) conforme mostrado na Figura 13. Foram utilizados os parâmetros operacionais mostrados nas Tabelas 8, 9 e 10 que variaram de acordo com o método de preparo utilizado.

Figura 13 – Equipamentos utilizados para o processo de medição



(a) ICP OES Optima 7000 DV



(b) ICP-MS NexION 300



(c) F AAS ZEE nit 700

Tabela 8 - Condições Operacionais do ICP-MS NexION 300.

Condições Operacionais	Método 1 e 3
Câmara de nebulização	Ciclônica
Nebulizador	Meinhard Tipo C
Injetor (mm)	Quartzo
Potência de radiofrequência (W)	1500
Fluxo de gás de plasma (L min ⁻¹)	16
Fluxo de gás de nebulização (L min ⁻¹)	1,16

Fluxo de gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,2
Taxa de aspiração da amostra (mL min ⁻¹)	0,5
Isótopos:	V ⁵¹ , Ba ¹³⁸ , Ni ⁶⁰
Padrão Interno	Ir ¹⁹²

Tabela 9 - Condições Operacionais do F AAS ZEE nit 700

Condições Operacionais	Método 1 e 3
Comprimento de onda (nm)	Ca (422,7)
Fenda (nm)	1,2
Corrente da lâmpada (mA)	6,0
Chama	C ₂ H ₂ /N ₂ O
Altura do queimador (mm)	8
Fluxo do combustível (L h ⁻¹)	180
Fluxo do nebulizador (mL min ⁻¹)	5,0

Tabela 10 - Condições Operacionais do ICP OES Optima 7000 DV e Optima 7300 DV.

Condições Operacionais	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	Método 5
Câmara de nebulização	Ciclônica	Ciclônica <i>Twister</i>	Ciclônica	Ciclônica <i>Twister</i>	Ciclônica <i>Twister</i>
Nebulizador	Meinhard Tipo C	MiraMist	Meinhard Tipo C	GenCone Low-Flow	<i>Seaspray</i>
Injetor (mm)	Alumina (2.0)	Alumina (2.0)	Alumina (2.0)	Quartzo (1.0)	Quartzo (1.0)
Tocha de Quartzo	<i>One Slot</i>	<i>One Slot</i>	<i>One Slot</i>	<i>One Slot</i>	<i>One Slot</i>
Vista	Axial (Ca, Mg) / Radial (Sr, Na)	Axial (Ba, Mg) / Radial (Ca, Sr, Na)	Axial (Ba) / Radial (Ca, Mg, Na, Sr)	Radial (Ba, Ca, Mg, Na, Sr)	Radial (Ba, Ca, Mg, Na, Sr)
Potência de radiofrequência (W)	1300*	1250	1100	1450	1400
Fluxo de gás de plasma (L min ⁻¹)	15	15	15	15	15
Fluxo de gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,8*	0,5	0.8	0,4	0,25
Fluxo de gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,2	1,0	0.2	0,5	1,5
Aspiração da amostra (mL min ⁻¹)	1,5	1,3	1.5	1,0	0,3
Linhas espectrais (nm):	C** (193,030); Ca (317,933); Mg (285,213); Na (589,592); Sr (421,552)				
Padrão Interno	Y (371,029)		Sc (361,383)		

*Condições otimizadas neste trabalho / **Utilizado para determinação do carbono residual do processo de decomposição

Para o método 1, as amostras foram decompostas utilizando um forno de radiação micro-ondas, modelo SpeedWave 4 (Berghof, Alemanha) com um rotor de capacidade de 12 frascos do tipo DAP-60 conforme mostrado na Figura 14. Para esse sistema, a temperatura máxima alcançada foi de 230°C e pressão máxima de 100 bar conforme programação mostrada na Tabela 11. A temperatura e pressão dos tubos, durante o programa de digestão, foram monitoradas individualmente por um sensor presente em cada tampa do frasco digestor.

Figura 14 - Micro-ondas SpeedWave 4 (a) e frasco do tipo DAP-60 (b)



(a)



(b)

Tabela 11 - Programa da decomposição assistida por radiação micro-ondas.

Etapa	Temp. (°C)	Pressão Máxima (bar)	Rampa (min)	Permanência (min)	Potência (%)
1	150	70	10	3	65
2	190	80	5	3	75
3	230	90	5	30	90

Para os métodos 2 e 3, foram usados para o preparo das amostras: agitador tipo vórtex (Phoenix, São Paulo, Brasil), modelo AP-56 (130 W), e banho ultrassônico (Unique, São Paulo, Brasil), modelo USC-1400A (40 KHz), com temporizador programável e volume total de 2,0 L. Para o método 3 ainda foi utilizado um banho-maria com controle de temperatura (Fisatom, São Paulo, Brasil), modelo 550 (60 Hz),

para o aquecimento das emulsões, a fim de induzir a sua quebra, uma centrífuga microprocessadora (Quimis, São Paulo, Brasil), modelo Q222TM204, para separação das fases. Para o preparo da amostra pelo método 5 foi utilizada uma chapa aquecedora (Jung, Brasil) modelo 180 (1,8 kW), uma mufla (Jung, Brasil) modelo LF0612 (2,0kW), para a queima do petróleo e béquer de vidro termo resistente (Vycor). As amostras foram pesadas numa balança analítica ED224S (Sartorius, Alemanha) com resolução de 0,0001g.

3.4.1.8 Reagente e Soluções

Foi utilizado como gás de plasma, gás de nebulização e gás auxiliar o argônio 99,9992% (White Martins, Brasil). Para o gás de purga foi utilizado o nitrogênio 99,99% (White Martins, Brasil). Todas as soluções aquosas utilizadas no presente trabalho foram preparadas com água tipo 1 (com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) obtida em um sistema de osmose reversa PURELAB Ultra Mk2 (ELGA, Reino Unido) e Milli-Q® (Millipore, Brasil). Em todos os procedimentos, onde requerido ácido nítrico, foi utilizado ácido nítrico 68% m/v (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) sub-distilado, preparado num sistema destilador de ácido, modelo Distillacid TM BSB-939-IR (Berghof, Alemanha).

Para os métodos de preparo da amostra foram utilizados: peróxido de hidrogênio 30% v/v (Synth, Brasil), xileno (Impex, São Paulo, Brasil), Triton X-100 (Nuclear, São Paulo, Brasil) e papel de filtro (Unifil, Alemanha).

Para a construção das curvas analíticas e fortificação em soluções aquosas, foi utilizada uma solução padrão aquosa multielementar de 1000 mg L^{-1} (Inorganic Ventures, USA). Já os padrões internos foram adicionados a partir de padrões monoelementares 1000 mg L^{-1} (SPC Science, Canadá). Para a curva do carbono residual foi preparada uma solução 5% m/v (C) a partir de ureia P.A. (Neon, Brasil). Para o preparo da curva analítica orgânica foram utilizadas soluções padrão organometálico monoelementar (Conostan, Houston, USA) e para a adição de padrão interno e fortificação com padrão orgânico, foram utilizadas soluções monoelementares dos padrões organometálicos também da Conostan (Houston, USA).

3.5 SOFTWARE

Para o processamento dos resultados obtidos da determinação de elementos traço foram utilizados softwares dos próprios equipamentos como Nexlon Software, versão 1.5 (Perkinelmer, Alemanha), Software WinLab versão 4.0 (Perkinelmer, Alemanha) e o WinAAS versão 4.7.7.0 (Analytik Jena, Alemanha).

3.5.1 Abordagem por estudo colaborativo

Para a caracterização do material candidato a material de referência por estudo colaborativo foram convidados laboratórios localizados no Brasil e no exterior. Os frascos contendo o candidato a material de referência, foram enviados a 11 laboratórios via o serviço de encomendas da Empresa de Correios e Telégrafos (ECT, Brasil). Juntamente com o material, os laboratórios receberam toda documentação pertinente, que continha informações a respeito do preparo e outras características do material, assim como fichas de cadastro do laboratório e envio dos resultados (incluindo dados sobre o preparo, sobre as técnicas analíticas e os resultados obtidos). Aos laboratórios foi sugerida a determinação dos analitos V, Ni, Fe, Co, Mn, Mo, Na, Ca, Mg, Sr, Ba de acordo com os métodos utilizados na rotina de seus próprios laboratórios. Também foi solicitado a realização e envio do resultado individual das três replicatas independentes em condições de repetibilidade. Cada laboratório foi codificado de forma a manter a confidencialidade dos resultados. Dos 11 laboratórios que receberam a amostra, apenas 5 retornaram com os resultados. Os laboratórios que retornaram com os resultados do estudo estão descritos na Tabela 12.

Tabela 12 - Instituições e laboratórios participantes no estudo Colaborativo.

Instituição	Laboratório
Universidade Federal de São Carlos	Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA)
IFP Energie Nouvelles (França)	Elemental Analysis Lab
PUC-RIO	Labspectro
Universidade Federal de Santa Maria	Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS/Fiocruz	Setor de Elementos Inorgânicos

Na Tabela 13, estão relacionados os métodos de preparo e as técnicas analíticas utilizadas pelos laboratórios. Já a massa de amostra utilizada, variou de cerca de 100 até 1000 mg.

Tabela 13 - Resumo dos métodos de preparo e técnicas utilizadas pelos laboratórios do estudo colaborativo.

Analito	Preparo de Amostra	Técnica Analítica
Ba, Ca, Co, Fe, Mg, Mn, Na, Ni e V	DDS, SFAP, SFA, MAWD-SRC	ICP OES, ICP-MS
Sr	SFAP, SFA, MAWD-SRC	ICP OES, ICP-MS

LEGENDA: **SFAP:** Sistema fechado ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$); **SFA:** Sistema fechado (HNO_3); **DDS:** Diluição direta com solvente; **MAWD-SRC** - Sistema assistido por radiação micro-ondas em câmara única de reação.

Devido à grande variabilidade nos resultados dos elementos Ba, Ca, Mg, Na, Sr entre os participantes do estudo colaborativo, optou-se por adotar uma abordagem multi métodos por um único laboratório para esses elementos. Essa abordagem foi necessária, visto que a análise desses elementos alcalinos em amostras de petróleo geralmente requer otimizações nos parâmetros instrumentais e/ou preparo de amostras, os quais possivelmente não fazem parte da rotina de alguns desses laboratórios.

3.6 ATRIBUIÇÃO DE VALORES DE PROPRIEDADE E SUAS INCERTEZAS

Para atribuição de valores das propriedades e suas incertezas associadas foi utilizada a abordagem descrita por Levenson e colaboradores (2000) para combinar resultados proveniente de caracterização por múltiplos métodos, segundo a ISO GUM. Os resultados obtidos pela abordagem multi métodos, foram avaliados pelo teste de Tukey utilizando o software Action Stat. Posteriormente os valores atribuídos de cada elemento foram classificados em três categorias: valores certificados, valores de referência e valores informativos.

3.7 ELABORAÇÃO DO RÓTULO E CERTIFICADO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA

Para elaboração do rótulo e certificado do material de referência foi utilizada a norma ABNT ISO GUIA 31 – Materiais de Referência – Conteúdo de certificados e rótulos (2017). Além do certificado, as unidades do material de referência também foram identificadas com etiqueta contendo informações como o nome do material, lote, código e validade em que os valores de propriedade possam ser garantidos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PREPARO E ENVASE DO CANDIDATO À MATERIAL DE REFERÊNCIA

A preparação do material de referência deve ser feita de forma a minimizar a heterogeneidade e conferir maior estabilidade ao material produzido. Essa preparação ainda pode corrigir ou melhorar as propriedades químicas, físicas ou mecânicas do material (LINSINGER et al., 2000). Especificamente, o petróleo é considerado um material naturalmente heterogêneo, variando drasticamente a cor, odor, composição e propriedades, dependendo da sua origem (SPEITH, 2001). Além disso, o petróleo possui constituintes químicos e biológicos muito instáveis, que durante o seu processamento e armazenamento pode passar por uma variedade de modificações químicas, biológicas e físicas, as quais muitas vezes não são facilmente previsíveis (PEREIRA; MARQUES; IORIO, 2011).

Por conta das questões acima e de forma a obter um material já estabilizado quimicamente e biologicamente, foram selecionadas amostras de petróleo envelhecidas. As amostras selecionadas haviam sido coletadas entre os anos de 2011 e 2012 e já tinham passado por um processo de desidratação (SAD et al., 2012) e por isso apresentavam teor de água e sedimentos (*Basic Sediments and Water* – BSW) < 1% v/v.

As amostras com as características desejadas não estavam disponíveis em quantidade suficiente para a produção do lote planejado, que era de aproximadamente 3 kg de material bruto. Sendo assim, optou-se pela preparação de uma mistura (*blend*) o que demandou um maior cuidado na seleção dos materiais candidatos. Para o preparo do *blend* foram selecionadas amostras de petróleo com o °API variando entre 28,9 e 31,0, com o objetivo de obter uma melhor homogeneização pré-envase e diminuir possíveis incompatibilidades entre as diferentes amostras de petróleo. Uma única amostra com a salinidade substancialmente mais alta foi também utilizada na

preparação do *blend* e teve como objetivo contribuir com maiores teores de Ca, Mg, Na e Sr. Como essa amostra apresentava um maior teor de BSW (68%), ela foi utilizada também para acompanhar o processo de homogeneização pré-envase conforme discutido a seguir.

O processo de homogeneização foi monitorado por meio do teor de água emulsionada em diferentes posições dentro do béquer, utilizando o método Karl Fischer que é um procedimento relativamente rápido e viável de ser realizado. Esse teste da capacidade de homogeneização é utilizado pela norma ASTM D5854 em testes de qualificação de agitadores (ASTM, 1996). Assim, foi avaliada a distribuição da água em diferentes partes dentro do frasco de homogeneização.

O procedimento de monitoramento do teor de água emulsionada foi iniciado após 10 min de homogeneização à 5000 rpm. A determinação do teor de água emulsionada foi realizada em triplicata, visando obter dados para teste de comparação de médias a cada tempo de homogeneização. Após 20 min de homogeneização, a diferença do teor de água emulsionada entre as três alturas medidas já não era mais significativa (ao nível de confiança de 95%, determinado no teste t), indicando o término do processo de homogeneização conforme mostrado na Tabela 14.

Tabela 14 - Resultados do teor de água pelo método Karl Fischer

Altura	Teor de água emulsionada % (m/m)		
	Tempo de homogeneização		
	10 min	15 min	20 min
1	2,36 ± 0,11	2,49 ± 0,04	2,58 ± 0,09
2	2,78 ± 0,10	2,65 ± 0,05	2,61 ± 0,07
3	2,80 ± 0,09	2,68 ± 0,03	2,57 ± 0,03
Análise	Diferença	Diferença	Diferença não
Estatística	significativa	significativa	significativa

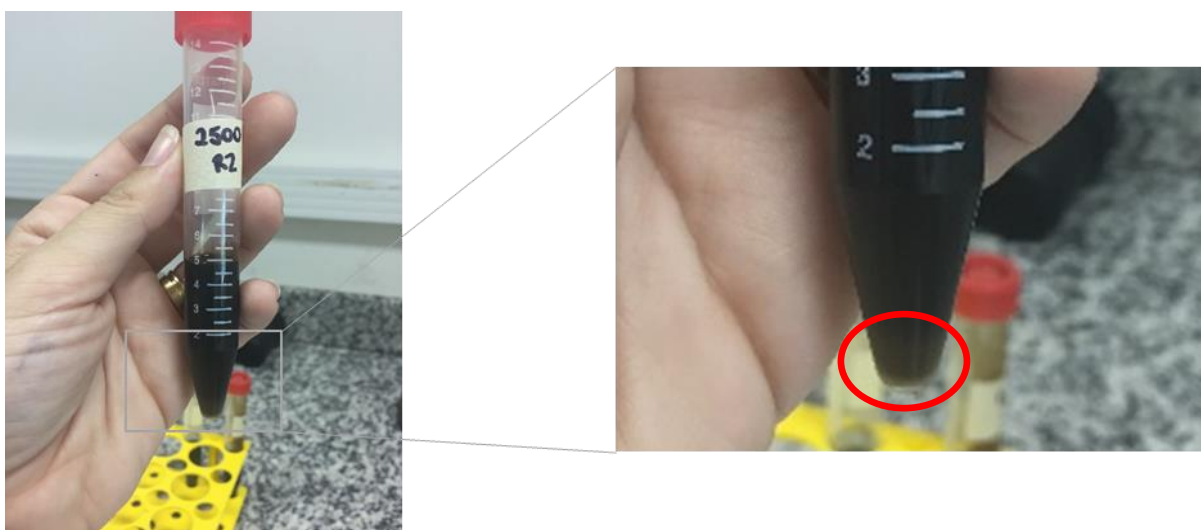
Após a aprovação no teste de homogeneização pelo teor de água emulsionada, o candidato à material de referência foi submetido à alguns testes de homogeneidade e

estabilidade física antes do envase. Na avaliação macroscópica, foi feita uma inspeção visual de alguma possível separação de fase, presença de sedimentação ou qualquer outro aspecto visual que demonstrasse heterogeneidade. A avaliação macroscópica foi realizada antes e depois do teste de centrifugação, onde o material foi submetido aos ciclos de 1000, 2500 e 3500 rpm por 10 min em cada rotação. Foi verificado que a partir de 2500 rotações era possível visualizar a presença de sedimento no tubo falcon de 15 mL na altura de 0,1 mL nas duplicatas (Tabela 15 e Figura 15). A sedimentação observada é devida, provavelmente, à presença de argila ou ainda a precipitação de asfaltenos presentes no candidato à material de referência. Essa sedimentação, a princípio, poderia afetar a homogeneidade dos elementos associados a esses sais, que deve ser minimizada com um bom procedimento de homogeneização do frasco antes da retirada da alíquota da amostra para análise.

Tabela 15 - Resultados do Teste de Centrifugação

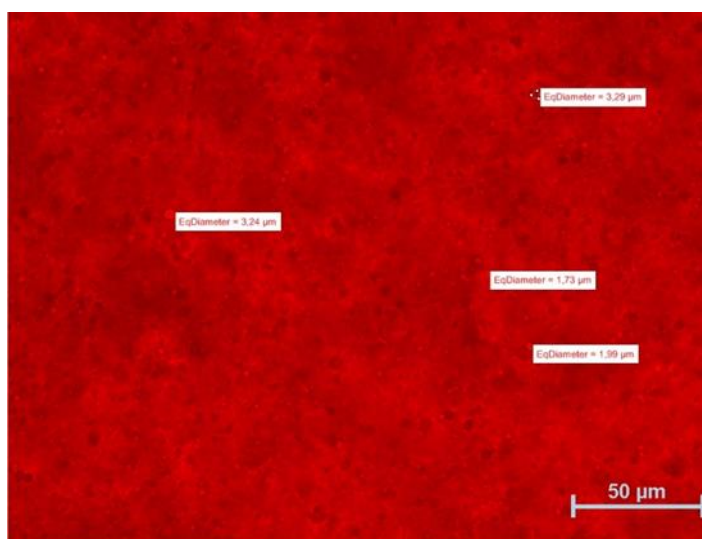
Rotação (rpm)	Presença de sedimentação
1000	< 0,1 mL
2500	0,1 mL
5000	0,1 mL

Figura 15 - Amostra pós centrifugação à 2500 rpm com presença de sedimentação.



A avaliação microscópica foi utilizada para verificar a distribuição e o tamanho de gota da água emulsionada presente no *blend* recém preparado. Na amostra avaliada, as gotas de água presentes mostraram-se uniformemente distribuídas, com tamanho de gota médio em torno de $2,56 \pm 0,81 \mu\text{m}$, mostrando-se uma microemulsão estável, conforme mostrado na Figura 16.

Figura 16 – Foto da Microscopia do *blend* preparado 50X (Microscópio ótico polarizado Nikon, modelo LV100POL com lentes objetivas eclipse LV100)



Com os resultados obtidos, chegou-se à conclusão que o material poderia seguir o processo de envase para as unidades individuais do material de referência para os frascos previamente descontaminados e verificados. O processo de descontaminação foi considerado eficaz visto que todos os resultados ficaram abaixo dos brancos utilizados no preparo da curva.

4.2 ESCOLHA DO PROCEDIMENTO DE MEDIÇÃO

O procedimento utilizado nas medições do estudo de homogeneidade deve possuir uma boa precisão em condições de repetibilidade, ou seja, sem variações das condições utilizadas e em um curto espaço de tempo. O desvio-padrão de

repetibilidade (s_r) deve ser pequeno quando comparado a incerteza alvo do valor de cada propriedade medida. Idealmente, esse desvio-padrão para o procedimento de medição deve ser menor que 1/3 da incerteza-padrão alvo. Essa avaliação pode ser realizada conforme relação a seguir (ISO, 2017):

$$\frac{s_r}{\sqrt{n_{al}}} \leq \frac{u_{trg}}{3} \quad (3)$$

Onde:

s_r é o desvio-padrão de repetibilidade;

n_{al} é número de observações em cada n alíquotas tiradas de cada unidade para medição;

u_{trg} é a incerteza-alvo para o valor de propriedade (expressa como incerteza-padrão).

Para a escolha do procedimento de medição para os estudos de homogeneidade e estabilidade foram avaliados os métodos de 1 a 3. Os métodos 4 (N-2440) e 5 (ASTM) foram descartados para utilização nos estudos de homogeneidade e estabilidade, por limitações deles. O método 4 (N-2440) tinha limitações com relação quantidade de replicatas por batelada, visto que o laboratório não possuía infraestrutura suficiente para realizar mais do que 3 replicatas por batelada (já incluído o branco) e o procedimento ser muito longo (> 30 h). O método 5 (ASTM) foi descartado por não apresentar bom desempenho para os elementos alcalinos e alcalinos terrosos, tais como Na, Ca, Mg e Sr, observado em experimentos anteriores e proveniente de conhecimento prévio do Laboratório de Espectrometria Atômica (LEA).

Para os métodos 1 a 3, foi testada a relação descrita na Equação 2, conforme mostrado na Tabela 16. A incerteza expandida alvo deste material de referência era de 5% e considerando uma distribuição retangular, obteve-se a u_{trg} dividindo-se a incerteza expandida pelo divisor raiz quadrada de 3 (divisor da distribuição retangular), chegando-se ao valor de 1,7%. Os resultados mostraram que os métodos mais adequados para os elementos Ba, Ca, Mg, Na e Sr foram os métodos 1 (MW) e 3 (NANO). Por questões de ordem prática, foi escolhido o método 1 (MW), visto que num mesmo preparo é possível determinar todos os elementos, incluindo Ni e V. O

método escolhido também permite o armazenamento do extrato preparado por um determinado período em comparação com os outros métodos onde as amostras devem ser preparadas no momento do ensaio.

Tabela 16 – Avaliação do método de medição ($n_{al}=3$)

Método	Elemento	$\frac{s_r}{\sqrt{n_{al}}}$ (1)	$\frac{u_{trg}}{3}$ (2)	(1) < (2)
Método 1 (MW)	Ca	0,5%	1,7%	SIM
	Mg	1,6%	1,7%	SIM
	Sr	0,4%	1,7%	SIM
	Na	0,6%	1,7%	SIM
	Ba	1,0%	1,7%	SIM
	Ni	1,1%	1,7%	SIM
	V	1,0%	1,7%	SIM
Método 2 (EIQE)	Ca	0,9%	1,7%	SIM
	Mg	3,5%	1,7%	NÃO
	Sr	2,6%	1,7%	NÃO
	Na	2,6%	1,7%	NÃO
	Ba	8,2%	1,7%	NÃO
Método 3 (NANO)	Ca	0,5%	1,7%	SIM
	Mg	0,8%	1,7%	SIM
	Sr	0,3%	1,7%	SIM
	Na	0,2%	1,7%	SIM
	Ba	0,3%	1,7%	SIM

4.3 ESTUDO DE HOMOGENEIDADE

4.3.1 Estudo de Massa Mínima

Na Tabela 17 são apresentados os resultados da média das frações mássicas obtidos pelo Método 1(MW) a partir de diferentes massas de amostra (50 mg, 100 mg, 150 mg e 200 mg) e seus respectivos coeficientes de variação (%). Observou-se que para a massa de amostra de 50 mg, houve uma perda na recuperação do analito para a maioria dos elementos avaliados e aumento do coeficiente de variação para níveis acima de 5%. Portanto, a massa mínima recomendada para o material produzido é de 100 mg.

Tabela 17 – Frações mássicas obtidas em diferentes massas de amostra.

Elementos	Fração mássica ($\mu\text{g g}^{-1}$)							
	50 mg		100 mg		150 mg		200 mg	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
Ba	2,3	5,5	2,4	3,4	2,37	2,6	2,35	2,9
Ca	172	8,9	207	1,9	231	2,9	233	1,0
Mg	15,6	6,9	21	1,9	26,5	0,9	24,8	1,8
Na	1061	5,9	1134	2,9	1367	3,2	1369	2,1
Ni	1,75	5,2	1,7	1,8	1,71	4,4	1,76	2,9
Sr	23,5	5,4	24	2,7	24,5	2,4	23,7	2,3
V	1,32	5,3	1,72	1,6	1,73	1,8	1,91	2,1

4.3.2 Inspeção inicial para tendências de medição e valores discrepantes

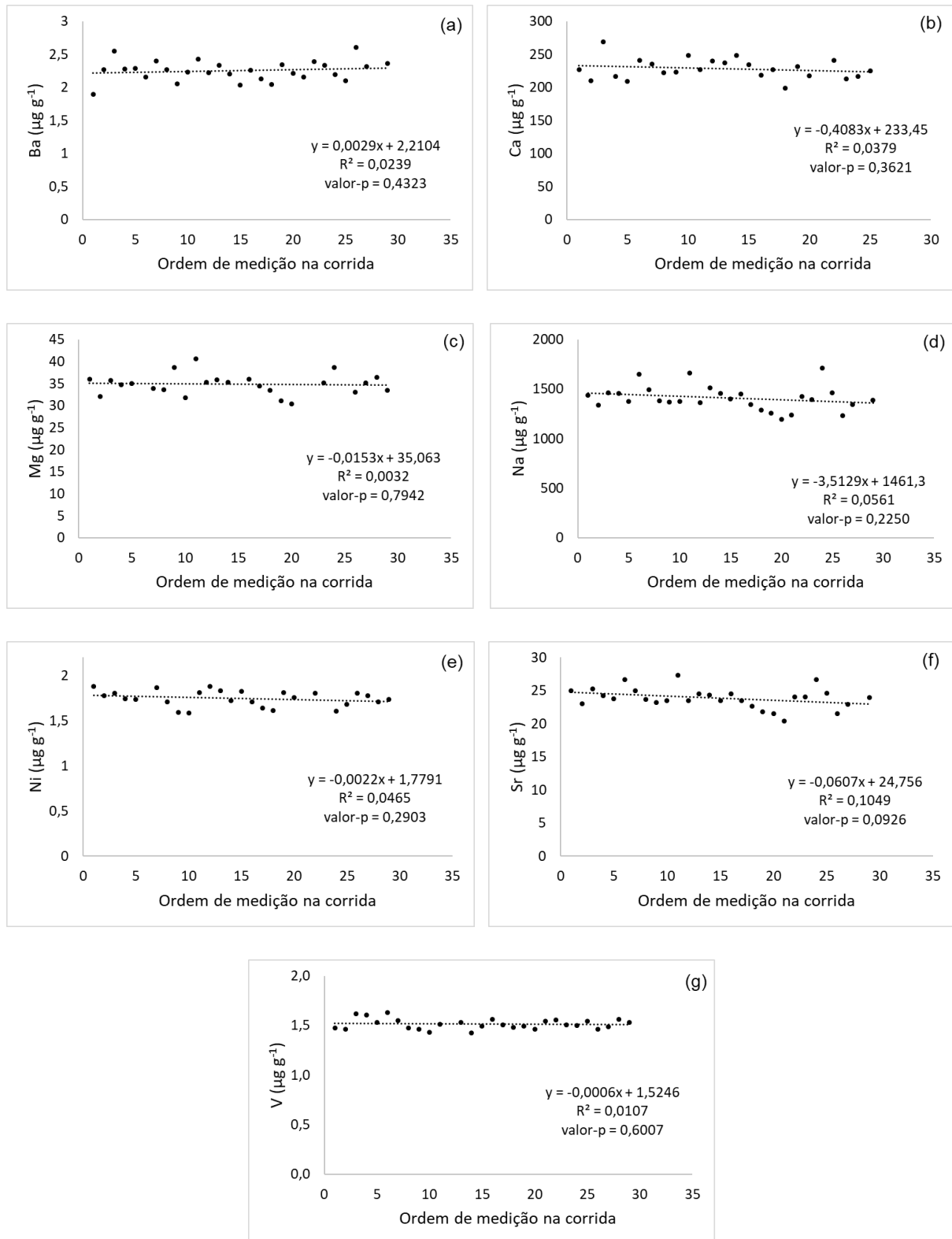
Antes da avaliação da tendência, os dados obtidos do estudo de homogeneidade passaram por uma avaliação de valores discrepantes, também chamados de outliers.

Os outliers são os valores que apresentaram grande divergência entre resultados de uma amostra (GRUBS, 1969). Esta diferença pode resultar de problemas instrumentais ou ainda fontes não controladas de variação relativas ao procedimento analítico.

Para confirmação dos valores discrepantes, foram avaliados a normalidade dos dados pelo teste de Anderson Darling e realizado os testes de outliers de Grubs e em alguns casos, Dixon. Os gráficos de normalidade e resultados dos testes de outliers encontram-se no Apêndice B. Foram confirmados pelo menos um valor discrepante para os elementos Ni, V, Ca e Mg. Para os elementos Ni e V, foi realizada a remoção simples da observação discrepante conforme previsto no guia *ISO Guide 35* (ISO, 2017). Para o elemento Ca, além do outlier, foi observada grande variabilidade dos dados, e foi repetida a corrida utilizando-se a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com chama (F AAS). Para o elemento Mg, foi feito recálculo dos valores utilizando um padrão interno. Mesmo com as tentativas para o Ca e Mg, ainda foi possível observar a presença de outliers para esses elementos, sendo também removidos do conjunto de dados.

Após a avaliação de outliers, os dados foram inspecionados primeiramente para avaliação de tendências no processo de medição. A forma mais efetiva de fazer isso é através da avaliação visual dos dados plotados pela ordem da corrida conforme mostrado na Figura 17. Para testar a significância estatística da tendência foi utilizada a análise de regressão, usando o modelo de regressão linear simples. As regressões mostraram-se não significativas estatisticamente para um nível de confiança de 95% ($p\text{-valor} > 0,05$), indicando ausência tendências relacionada à ordem de medição.

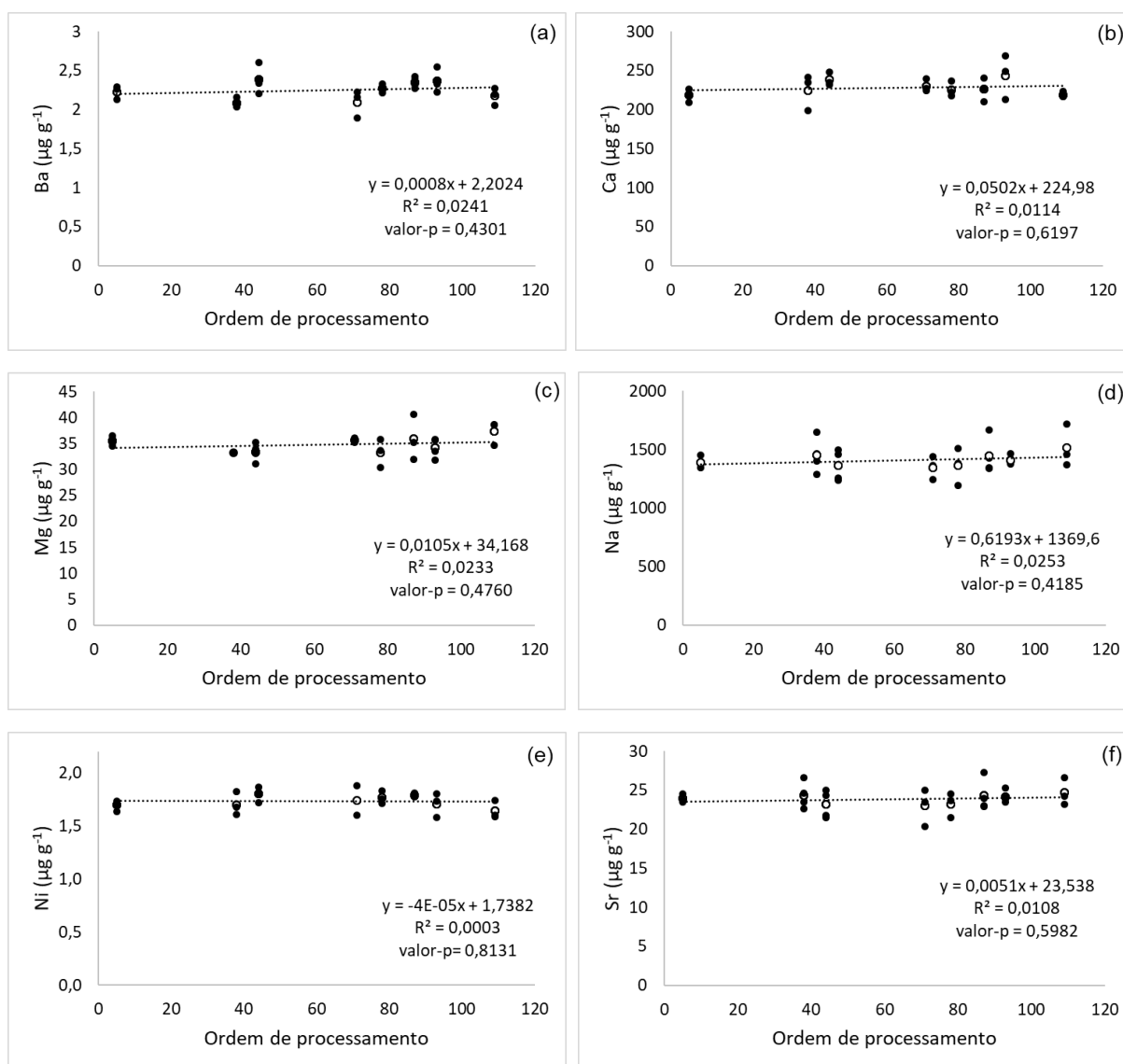
Figura 17 - Representação do efeito da ordem de medição na corrida.

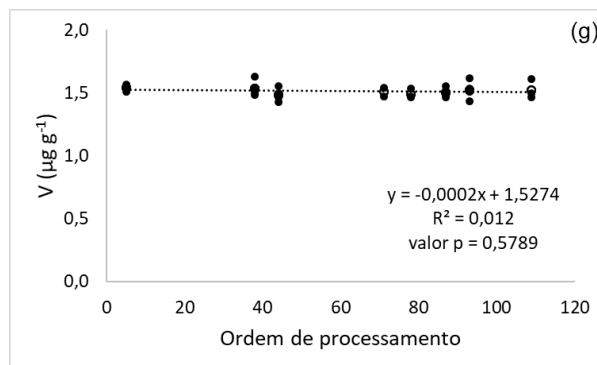


4.4 INSPEÇÃO PARA TENDÊNCIA NO PROCESSAMENTO

Para avaliação de tendência devido o processamento e envase do candidato à material de referência, foram plotados os valores individuais e as médias das unidades na ordem de processamento (Figura 18). Nesse caso, também foi utilizado análise de regressão para confirmar a ausência de tendências. Os resultados mostram-se não significativos estatisticamente para um nível de confiança de 95% (p-valor $>0,05$), indicando ausência de tendências relacionadas ao processamento.

Figura 18 - Representação do efeito ordem de processamento por elemento determinado (○ valor médio e ● valor individual)



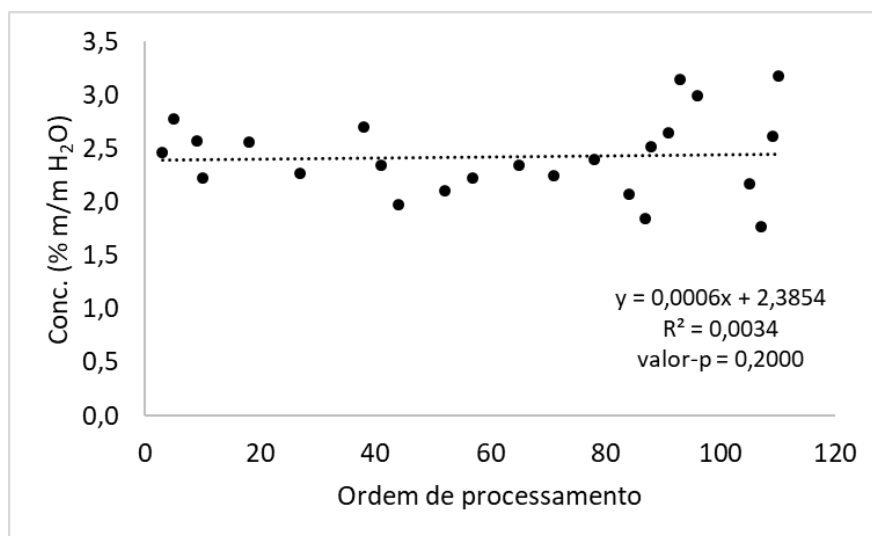


Apesar de não terem sido observadas tendências na medição e no processamento, foi observado que alguns elementos apresentaram maior variabilidade do que outros. Nesse sentido, foi investigado o efeito da distribuição da água no processamento do material, visto que esse foi um dos parâmetros utilizados para aprovação do processo de homogeneização do *blend*. O estudo realizado encontra-se no tópico a seguir.

4.5 EFEITO DA DISTRIBUIÇÃO DA ÁGUA NA ORDEM DE PROCESSAMENTO

Para avaliar o efeito da distribuição da água na ordem de processamento, determinou-se o teor de água emulsionada em todas as unidades utilizadas nos estudos de homogeneidade e estabilidade. O objetivo foi verificar possíveis tendências na distribuição do teor de água emulsionada causada pelo processo de transferência do *blend* para as unidades individuais. Na avaliação de outlier, foi encontrado um resultado anômalo na unidade 18 (confirmado pelo teste de Dixon). Esta unidade foi excluída do estudo, visto que não foram encontradas evidências que outras unidades próximas também tivessem sido afetadas.

Os resultados do teor de água emulsionada após a remoção do outlier foram plotados em função da ordem de processamento como mostrado na Figura 19. Apesar da análise de regressão ter confirmado ausência de tendências (os resultados não mostraram significância estatística ao nível de 95% de confiança - valor $p > 0,05$), foi observado um aumento na variabilidade no teor de água emulsionada a partir do frasco 80. O coeficiente de variação até a unidade 80 foi de 12,8% enquanto para as unidades acima de 80 foi de 16,8%, tendo a variância estatisticamente significativa comprovada através do teste F ($F_{\text{calc}} = 0,4738 > F_{\text{crit.}} = 0,3684$ para um nível de confiança de 95%).

Figura 19 – Teor de água emulsionada % m/m em relação a ordem de envase.

Com o objetivo de avaliar o impacto da variabilidade no teor de água emulsionada nas unidades produzidas no final do processamento, foi estimado o grau de correlação de Spearman entre o teor de água emulsionada e os analitos avaliados (Tabela 18). Somente o Na e Mg mostraram uma correlação direta significativa à 95% de confiança. Os elementos Sr e Ca apresentaram correlações entre eles e com os elementos Na e Mg, indicando uma correlação indireta com teor de água emulsionada. Essas correlações podem ser atribuídas à associação desses elementos como contra-íons do cloreto presente em petróleos do pré-sal.

Tabela 18 - Correlação Spearman água emulsionada x elementos

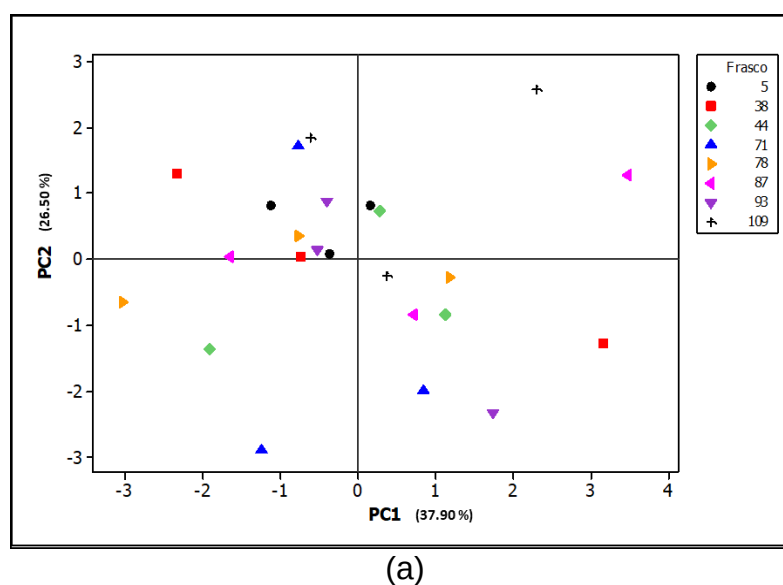
	Sr	Na	Mg	Ca	Ba	Ni	V	Água
Água	0,263	0,438*	0,582*	0,323	0,112	-0,184	-0,161	1
V	0,304	0,334	-0,063	0,250	0,151	0,376	1	
Ni	-0,109	0,015	-0,012	0,200	0,535*	1		
Ba	0,045	0,148	0,213	-0,469*	1			
Ca	0,449*	0,416*	0,373	1				
Mg	0,748*	0,758*	1					
Na	0,923*	1						
Sr	1							

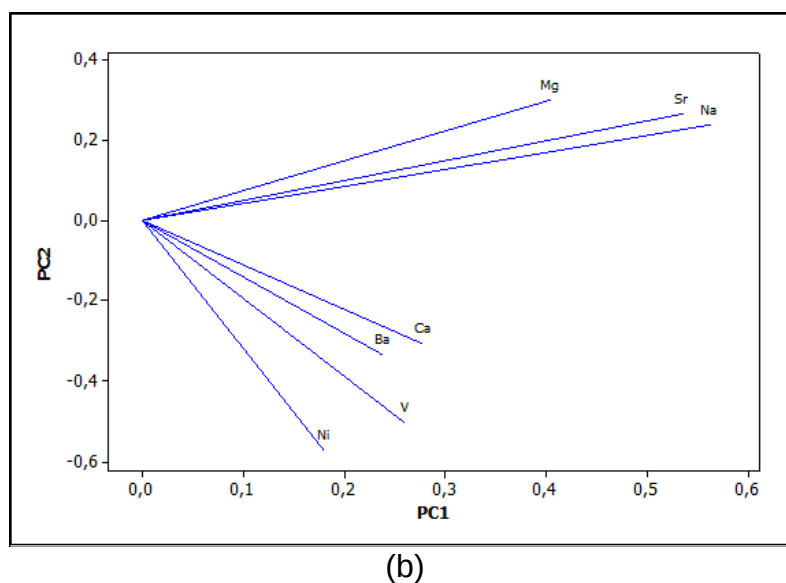
*Correlação significativa a um nível 95% de confiança baseada no valor-p (<0,05)

Ainda dentro da investigação da variabilidade observada e na tentativa de identificar problemas relacionados ao processamento, foi utilizada a Análise de Componentes Principais (PCA) para análise de homogeneidade do lote do candidato a material de referência produzido. Segundo Ferreira (2015), a utilização dessa metodologia permite descobrir, visualizar e interpretar as diferenças existentes entre as variáveis e examinar as relações que podem existir entre as amostras. Essa abordagem foi utilizada por Lima e colaboradores (2010) e Vasconcellos e colaboradores (2018) para avaliação em estudos de homogeneidade e estabilidade em materiais de referência de farinha de trigo e rim bovino, respectivamente.

Para montar o gráfico da PCA, foi construída uma matriz de dados com 8 colunas, correspondentes às variáveis (unidade, Ba, Ca, Mg, Ni, Na, Sr e V) e 25 linhas, correspondente às replicatas dos frascos selecionados para o estudo de homogeneidade. Pelo gráfico de score é possível observar a ausência de agrupamento entre as replicatas de cada unidade (Figura 20), indicando uma boa distribuição do material entre as unidades. É possível observar também, que replicatas mais afastadas do eixo central da PCA (replicatas das unidades 87 e 109), tiveram a sua separação influenciadas pelos elementos Mg, Sr e Na. Estas unidades possuem ordem de processamento superior à 80, conforme efeito constatado na Figura 19.

Figura 20 - Representação gráfica dos frascos no sistema de eixos de PC1 versus PC2: homogeneidade entre unidades (a) Scores (b) Loading





4.6 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA NO ESTUDO DE HOMOGENEIDADE

A partir do estudo de homogeneidade foi confirmado que a variação dentro e entre unidades era aceitável para o uso pretendido do material. No caso deste trabalho, essa confirmação foi realizada por meio da análise variância ANOVA, com os resultados do teste F estatisticamente não significativo para todos os elementos avaliados, considerando 5% de nível de significância. Com esses resultados, todos os elementos foram considerados suficientemente homogêneos. A Tabela 19, mostra os resultados da ANOVA para cada elemento, com os respectivos valores de $F_{\text{calculado}}$, $F_{\text{crítico}}$ e p-valor.

Tabela 19 – Análise de variância (ANOVA) fator único para o estudo de homogeneidade.

Elemento	Fonte de variação	MQ	F calc.	p-valor	F crit.
Ba	Entre unidades	0,04095	2,52667	0,05911	2,6572
	Dentro da unidade	0,01621			
Ca	Entre unidades	940,2054	2,078757	0,106857	2,6572
	Dentro da unidade	452,292			

Mg	Entre unidades	4,421102	0,749068	0,636614	2,7642
	Dentro da unidade	5,902138			
Na	Entre unidades	10361,29	0,617278	0,735498	2,5140
	Dentro da unidade	16785,46			
Ni	Entre unidades	0,00985	1,39662	0,26627	2,5767
	Dentro da unidade	0,00705			
Sr	Entre unidades	1,403452	0,507122	0,818329	2,5140
	Dentro da unidade	2,767484			
V	Entre unidades	0,00158	0,50632	0,81891	2,5140
	Dentro da unidade	0,00312			

4.7 AVALIAÇÃO DA INCERTEZA PROVENIENTE DA HOMOGENEIDADE

Uma outra informação relevante obtida dos estudos de homogeneidade foi o desvio-padrão entre as unidades (s_{bb}), e que neste caso é idêntica à contribuição de incerteza devido à não homogeneidade entre unidades ($s_{bb} = u_{bb}$).

Considerando o planejamento básico com as medições em uma única corrida utilizado na avaliação da homogeneidade neste trabalho, o s_{bb} pode ser calculado a partir da média quadrática entre unidades (MQ_{entre}), a média quadrática dentro da unidade (MQ_{dentro}) e o número de replicatas por unidade (n) utilizada, conforme mostrado na Equação 4 a seguir (ISO, 2017):

$$u_{bb} = s_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{entre} - MQ_{dentro}}{n}} \quad (4)$$

Os valores MQ_{entre} e MQ_{dentro} para cada um dos elementos determinados foram obtidos pela análise de variância (ANOVA) e foram mostrados na Tabela 20. Quanto maior for a variabilidade entre as unidades (MQ_{entre}), mais forte é a evidência de que as médias das unidades são diferentes. E quanto maior for a variabilidade dentro da unidade (MQ_{dentro}), maior será a dificuldade para concluir que as médias das unidades são diferentes.

Esse efeito de maior variabilidade dentro da unidade (MQ_{dentro}) foi observado para os elementos Mg, Na e Sr. Esse comportamento já era esperado para esses elementos visto que eles apresentaram variabilidade maior dentro das replicatas quando comparados aos outros elementos. Apesar do V não se encaixar no caso anterior, pois a variabilidade das replicatas ficaram abaixo dos outros elementos, a mesma não é constante para todas as unidades testadas, apresentando assim também $MQ_{entre} < MQ_{dentro}$. Quando isso acontece, ou seja, quando o termo da média quadrática entre unidades (MQ_{entre}) não é significativo quando comparado à média quadrática dentro da unidade (MQ_{dentro}), não é possível estimar o desvio-padrão utilizando-se a Equação 4. Nestes casos, uma abordagem alternativa é necessária na tentativa de estimar o máximo efeito. Neste caso, a abordagem aplicada por Ellison (2015) foi utilizada, onde é considerada a contribuição da variância dentro da unidade, conforme Equação 5:

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n}} \sqrt[4]{\frac{2}{v_{MQ_{dentro}}}} \quad (5)$$

Onde é v o número de grau de liberdade dentro do grupo.

Os valores de desvio-padrão devido à não homogeneidade calculados, de acordo com as Equações 4 e 5, estão apresentados na Tabela 20.

Tabela 20 - Valores de desvio-padrão referentes à não homogeneidade

Elemento	Resultado	Desvio-padrão
	médio ($\mu\text{g g}^{-1}$)	($S_{bb} = u_{bb} = u_{hom}$) ($\mu\text{g g}^{-1}$) (%)
Ba	2,23	0,0908 (4,1%)
Ca	228	12,8 (5,6%)
Mg	34,1	0,652 (1,9%)
Na	1403	31,6 (2,3%)
Ni	1,772	0,0305 (1,7%)
Sr	24,0	0,367 (1,53%)
V	1,525	0,0123 (0,8%)

Para compor a incerteza total devido a contribuição relacionada a qualquer heterogeneidade identificada (u_{hom}), esta deve considerar tantos aspectos relacionados à incerteza-padrão entre unidades (u_{bb}) quanto dentro das unidades (u_{wb}) conforme dado na Equação 6 a seguir:

$$u_{hom} = \sqrt{u_{bb}^2 + u_{wb}^2} \quad (6)$$

Nesse trabalho, não foram considerados os efeitos da u_{wb} separadamente, visto que para os elementos onde esse efeito foi observado, o cálculo de u_{bb} foi realizado considerando a Equação 5. Além disso, a existência de instruções específicas normatizadas sobre o procedimento de homogeneização para preparo de amostras de petróleo também reforçam que este fator é conhecido e controlado.

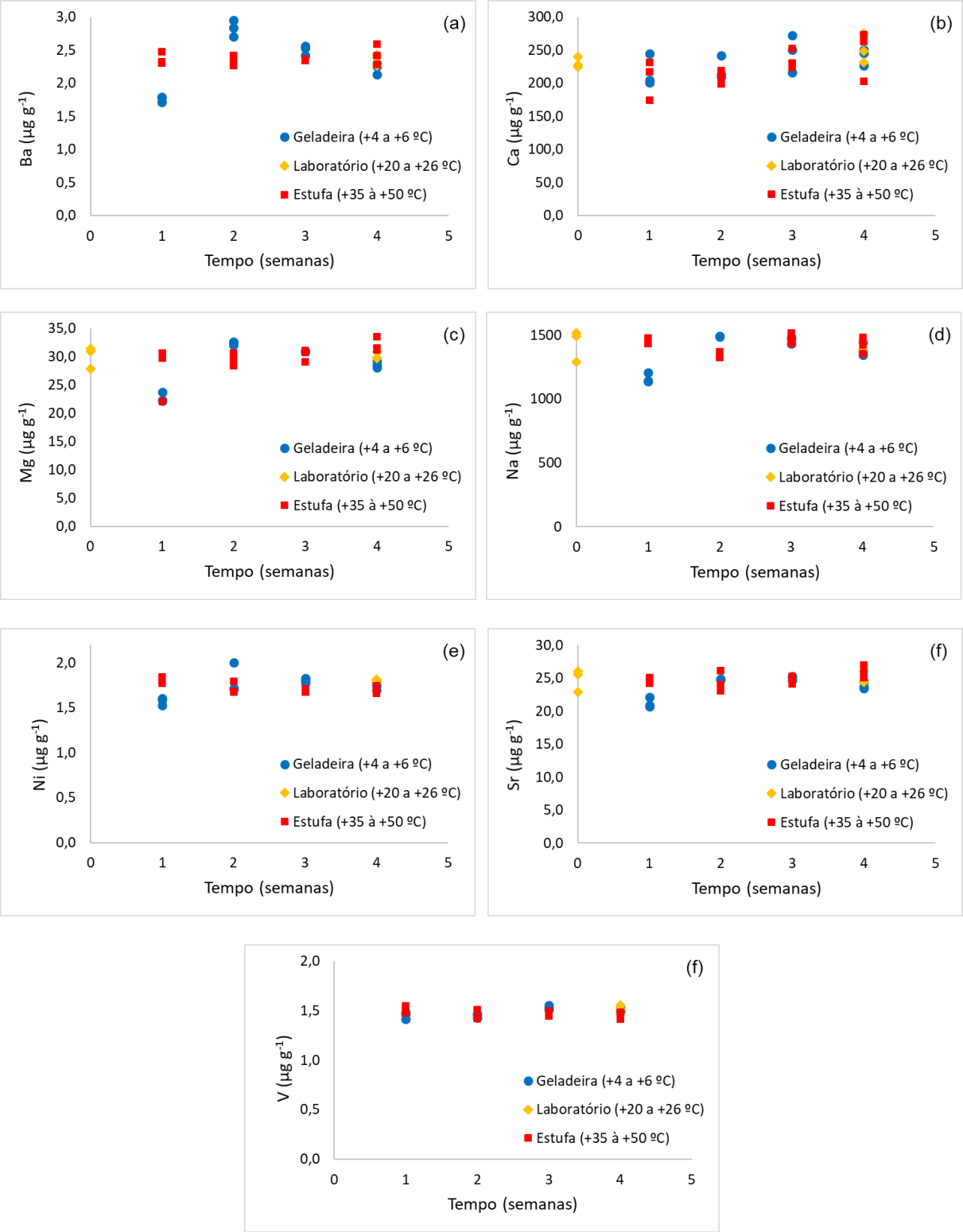
4.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE EM CURTO PRAZO

4.8.1 Avaliação de tendências

O primeiro passo na avaliação dos dados de um estudo de estabilidade consiste em verificar a ausência de tendência nos dados obtidos (ISSO, 2017). Isto pode ser feito graficamente, conforme evidenciado na Figura 21 onde são mostradas as variações nas concentrações dos analitos nas diferentes condições de estocagem pelo tempo. A temperatura considerada como temperatura de referência para o estudo foi a temperatura ambiente, visto que temperaturas negativas poderiam afetar a homogeneidade do material através da separação da água emulsionada conforme reportado na literatura (CHEN; HE, 2003; LIN et al., 2007)

Os elementos Ba e Ca apresentaram maiores amplitudes ao longo das 4 semanas, sendo que essas variações podem estar associadas às questões de homogeneidade entre os frascos, conforme já relatado no estudo de homogeneidade, e não especificamente à estabilidade do material.

Figura 21 – Gráficos de tendência para avaliação da estabilidade em curto prazo.



4.8.2 Avaliação estatística

Também foi realizada a avaliação estatística dos resultados do estudo de estabilidade em curto prazo por meio da análise de variância (ANOVA). Os resultados da ANOVA, para todos os analitos, estão na Tabela 21. O teste mostrou que, no nível de confiança de 95%, não houve diferenças estatisticamente significativa, podendo ser considerados estáveis para o transporte de todos os analitos nas condições avaliadas (4 semanas e temperatura de transporte entre +4° e +50°C). Isso significa que o material é estável o suficiente para ser transportado sem alterações significativas em sua composição química.

Tabela 21 – Análise de variância do estudo de estabilidade em curto prazo.

Elemento	Fonte de variação	MQ	F calc.	p-valor	F crit.
Ba	Entre grupos	0,004947	0,059671	0,942214	3,403
	Dentro do grupo	0,082912			
Ca	Entre grupos	551,3628	0,926846	0,40803	3,354
	Dentro do grupo	594,8809			
Mg	Entre grupos	5,738751	0,600953	0,555458	3,354
	Dentro do grupo	9,549412			
Na	Entre grupos	13561,52	1,197662	0,317435	3,354
	Dentro do grupo	11323,33			
Ni	Entre grupos	0,006425	0,718545	0,497652	3,403
	Dentro do grupo	0,008941			
Sr	Entre grupos	4,580075	2,493152	0,101484	3,354
	Dentro do grupo	1,837062			
V	Entre grupos	0,002181	1,205738	0,316973	3,403
	Dentro do grupo	0,001809			

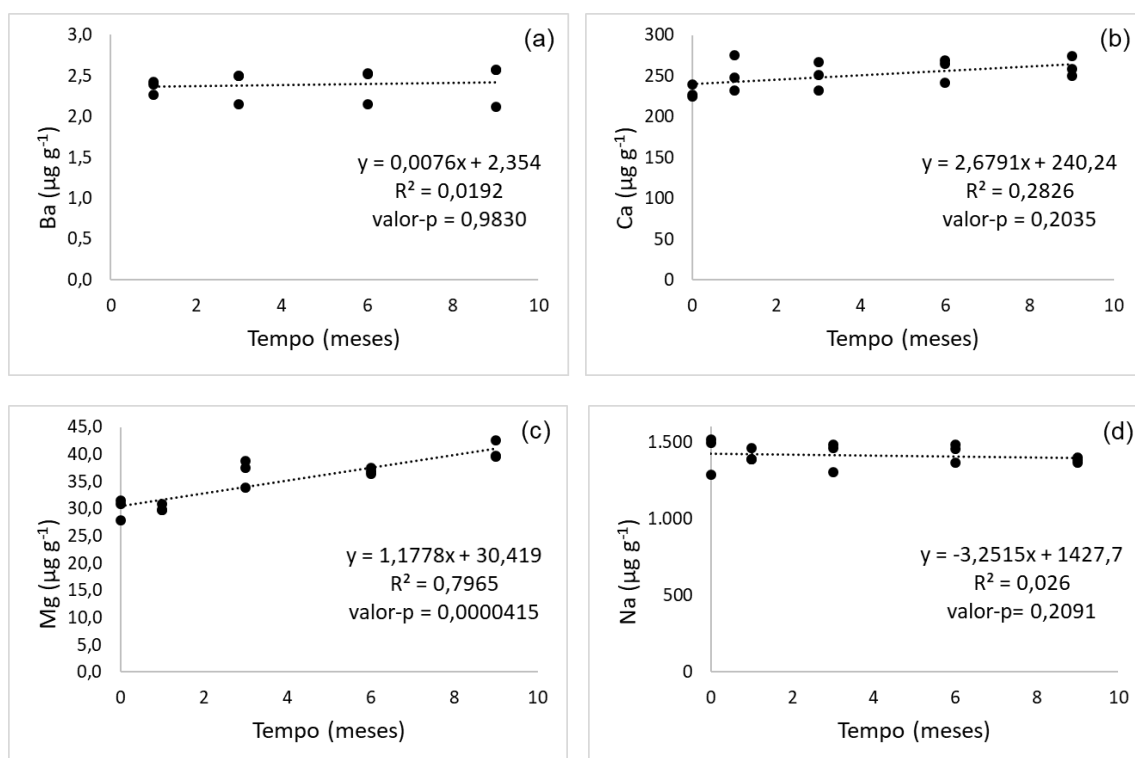
4.9 ESTUDO DE ESTABILIDADE EM LONGO PRAZO

A Figura 22 mostra os valores de concentração para cada elemento ao longo de 9 meses. A partir desses resultados, foi realizada uma análise de regressão linear com o objetivo de identificar qualquer instabilidade nos analitos analisados. De acordo com o guia *ISSO Guide 35* (ISSO, 2017), quando não há nenhum modelo físico/químico que descreva realisticamente o mecanismo de degradação de um material de referência, um modelo linear geralmente é usado como um modelo empírico. Nesse

modelo, espera-se que o intercepto seja (dentro da incerteza) igual ao valor obtido na caracterização, enquanto a inclinação não deve ser significativamente diferente de zero. Para que o analito seja considerado estável, o intervalo de confiança (IC) para a inclinação da curva deve conter 0 (zero) dentro de seu intervalo. Além disso, o valor-p deve ser maior que 0,05 (nível de confiança de 95%), indicando que a regressão não é significativa. O desvio-padrão da inclinação pode ser determinado a partir da análise de regressão, ele é calculado entre os pontos no gráfico e a linha plotada e dá uma estimativa da incerteza associada à estabilidade do material produzido.

A Tabela 22 apresenta os resultados obtidos na análise de regressão. Outra informação importante que pode ser retirada da análise de regressão é o desvio-padrão da inclinação da curva. Esse é o desvio-padrão calculado entre os pontos no gráfico e a linha da reta ajustada e traz uma estimativa da incerteza associada à estabilidade do material produzido.

Figura 22 – Gráficos de tendência para avaliação da estabilidade em longo prazo na temperatura de referência.



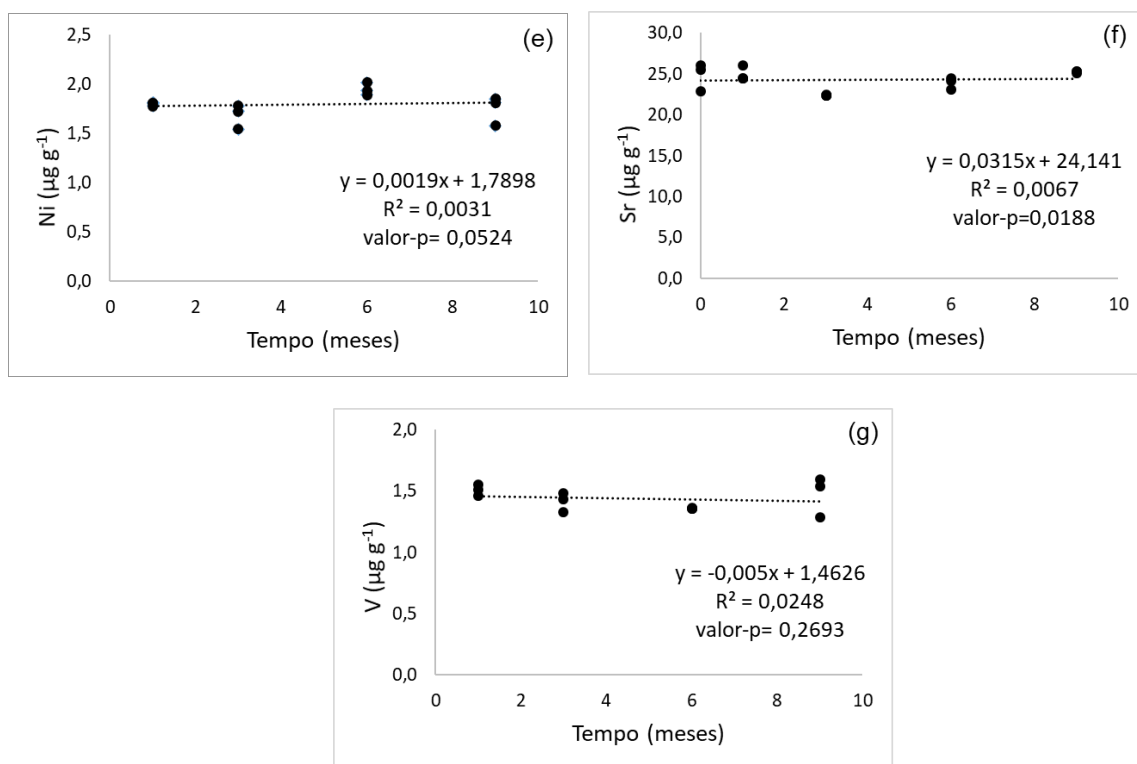


Tabela 22 – Análise de regressão da estabilidade em longo prazo

Elemento	Inclinação ($\pm$ IC)	Intercepção ($\pm$ IC)	Desvio-padrão da inclinação $s(b_1)$	p-valor (95%)
Ba	0,00766 (-0,03083–0,04612)	2,35 (2,14–2,57)	0,017272	0,6674
Ca	2,679 (0,1211–5,23701)	240 (227–253)	1,18402	0,0414*
Na	3,461029 (-9,8290–16,7511)	1410 (1343–1477)	7,512081	0,5833
Mg	1,1778 (0,821124–1,5344)	30,4 (28,6–32,2)	7,13423	0,00001*
Ni	0,005589 (-0,02694–0,03812)	1,77 (1,59–1,95)	0,014603	0,7100
Sr	0,270637 (-0,01706–0,55833)	24,1 (22,6–25,5)	0,162616	0,0631
V	-0,0061 (-0,0305–0,018230)	1,46 (1,32–1,60)	0,010951	0,5895

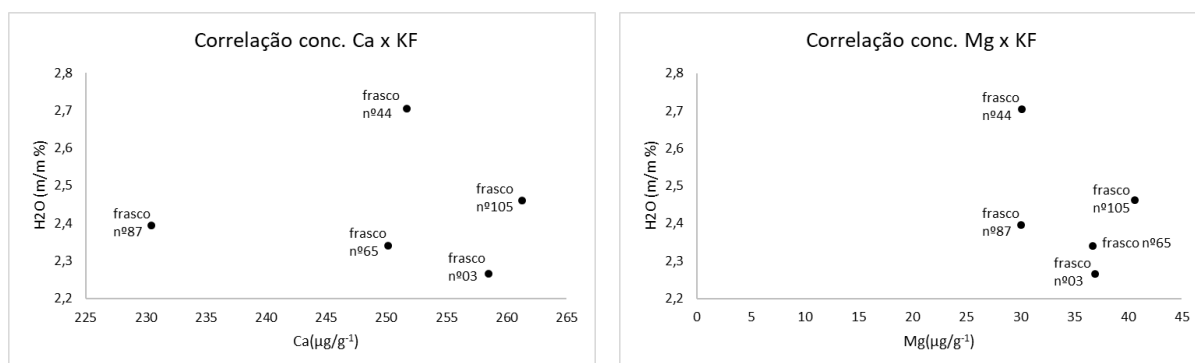
*Significativa a um nível 95% de confiança

Para os parâmetros que não são considerados estáveis, estes não poderão ter seus valores certificados, a menos que a extensão esperada da degradação além do

período avaliado seja convertida em desvio-padrão e acrescida à incerteza do material de referência (ISSO, 2017). No caso dos analitos reprovados neste trabalho (Ca e Mg) em questão, observou-se um efeito contrário, um aumento considerável na concentração, não sendo aplicável então a compensação na incerteza do material.

Na tentativa de explicar o efeito observado para os elementos que não apresentaram estabilidade nas condições estudadas, foi plotado um gráfico da concentração do elemento (Ca e Mg) em relação a água emulsionada (Figura 23) e nele foram identificadas as respectivas unidades. Apesar de ter sido observada uma correlação significativa entre os elementos Ca e Mg com água emulsionada (Tabela 17), neste gráfico não foi possível atribuir o aumento da concentração desses elementos à problemas no processamento, porque foram encontradas unidades com numeração mais baixa que 80 (nº 3 e nº 65) e que apresentaram valores de concentração maiores.

Figura 23 – Correlação entre fração mássica do analito e água emulsionada (KF).



Uma outra hipótese levantada é que a variabilidade observada pode ter ocorrido durante o preparo da amostra. Essa hipótese não pôde ser confirmada, visto que não foi possível refazer o preparo da amostra devido a mesma já ter sido manipulada para a análise de Karl Fischer. Como a manipulação da amostra para Karl Fischer foi realizada em ambiente não controlado para a questão de elementos traço, possíveis contaminações poderiam ter ocorrido durante essa manipulação, não sendo prudente uma nova determinação após a essa manipulação.

Ainda dentro da avaliação da estabilidade do material, foi realizado o acompanhamento da variação de massa ao longo do tempo das unidades utilizadas

nos estudos de estabilidade (9 meses). Para isso, alguns frascos selecionados foram expostos nas mesmas condições de temperatura da estabilidade curto prazo: em geladeira (+4 a +6 °C), em temperatura ambiente do laboratório (+20 a +26 °C) e em estufa (+35 à +50 °C).

Foi observado que quanto maior a temperatura em que a unidade ficou exposta, mais pronunciada foi a perda de massa da mesma, conforme mostrado na Tabela 23. Por ser tratar de um petróleo com grau API maior, essa perda de massa pode ser atribuída a perda de componentes voláteis. Para as unidades mantidas na geladeira, apesar da variação de massa média ter dado negativo, algumas unidades tiveram variação positiva, ou seja, tiveram ganho de massa.

Tabela 23 – Variação de massa no frasco fechados

Temperatura	Perda de massa média (%)
Geladeira (+4 a +6 °C)	-0,006%
Laboratório (+20 a +26 °C)	-0,049%
Estufa (+35 à +50 °C)	-0,308%

4.10 AVALIAÇÃO DA INCERTEZA PROVENIENTE DA ESTABILIDADE

Para a estimativa da incerteza relativa à estabilidade, foi utilizada a Equação 7, considerando-se o desvio-padrão da inclinação da reta $s(b_1)$ e o tempo do estudo realizado (t):

$$u_{lts} = s(b_1).t \quad (7)$$

A Tabela 24 mostra os dados da incerteza-padrão referente à estabilidade em longo prazo. Não foi possível estimar a incerteza-padrão da estabilidade em curto prazo, pois foi utilizado o estudo isócrono e para a temperatura de referência considerada (+20 a +26°C) apenas duas amostras foram analisadas, não sendo possível fazer a análise de regressão.

Tabela 24 – Valores de incerteza-padrão referentes à estabilidade ($t = 12$ meses)

Elemento	Incerteza-padrão ($u_{\text{estab.}}$) / ($\mu\text{g g}^{-1}$) (%)
Ba	0,21 (9,3%)
Na	85 (6,1%)
Ni	0,12 (6,5%)
Sr	1,9 (8,1%)
V	0,09 (5,6%)

4.11 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA

Para o estudo colaborativo, o material enviado foi dividido em 2 blocos de amostras para cada laboratório. O objetivo da divisão das amostras em 2 blocos foi avaliar uma possível influência devido à ordem de processamento e obter um conjunto de dados para avaliação de desempenho dos laboratórios participantes. A diferença na posição de processamento entre as amostras do bloco 1 para o bloco 2 era de, no mínimo, 50 frascos. Por exemplo, se um laboratório recebeu dois frascos do bloco 1, da ordem de processamento numerados como 6 e 7, os dois frascos do bloco 2 foram com numeração de processamento de 85 e 86. Alguns laboratórios receberam apenas 1 bloco devido a quantidade de amostra solicitada por eles.

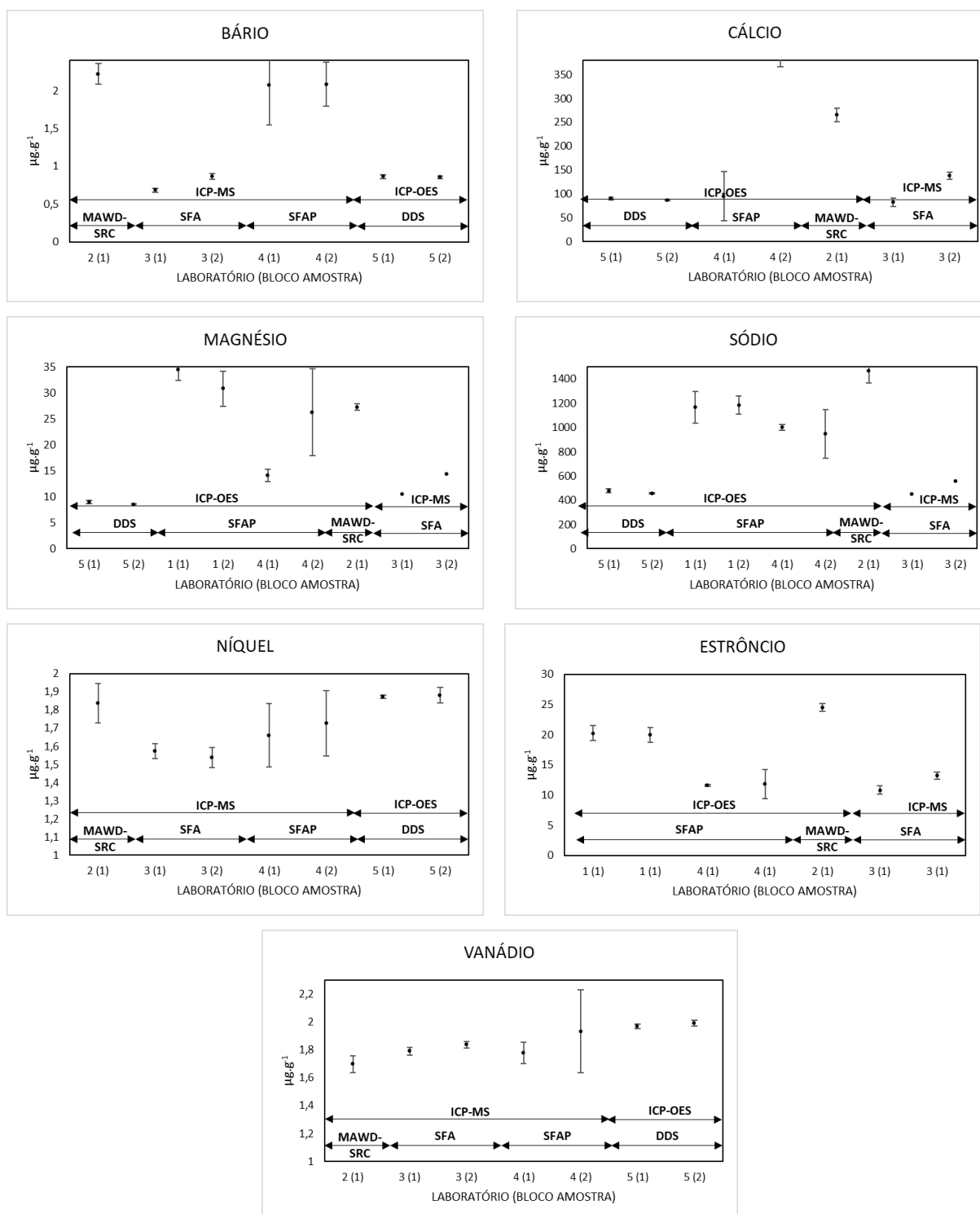
Figura 24 – Embalagem enviada com as amostras para o estudo colaborativo

Os resultados enviados pelos laboratórios estão disponíveis no Apêndice C, onde é possível verificar os valores das replicatas para cada laboratório, separados por bloco (1 e 2), incluindo ainda a média e a amplitude.

Os resultados obtidos para os elementos Ba, Ca, Mg, Na, Ni, Sr e V foram plotados em gráficos na Figura 25, onde é possível visualizar as médias dos resultados com seus respectivos desvios-padrão. Para os elementos Co, Fe, Mo e Mn não foram plotados os gráficos, pois nem todos os laboratórios reportaram os seus resultados desses elementos e outros reportaram como não detectados. Para fins de comparação, os dados foram ordenados por técnicas analíticas e procedimentos de preparo utilizados. Os laboratórios participantes foram identificados de acordo com a numeração recebida (1 a 5). No gráfico ainda foram representados os blocos de amostras por laboratório, representado pelo número entre parênteses Bloco (1) e Bloco (2).

Para os elementos Ba, Ca, Mg, Na e Sr foi observada grande variabilidade nos resultados dos participantes do estudo colaborativo. Essa variabilidade foi atribuída à falta de exatidão nos métodos utilizados, visto que a determinação desses tipos de elementos em amostras de petróleo geralmente requer otimizações nos parâmetros instrumentais e/ou preparo de amostras (TREVELIN et al., 2016; VIEIRA et al., 2019), os quais possivelmente não fazem parte da rotina de alguns desses laboratórios. Com isso, os resultados dos elementos Ba, Ca, Mg, Na, Sr não foram considerados para a caracterização por estudo colaborativo. Sendo assim, apenas o Ni e V foram considerados para fins de caracterização utilizando esta abordagem.

Figura 25 – Resultados do estudo colaborativo (média $\pm$ desvio-padrão)



LEGENDA- SFAP: Sistema fechado ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$); SFA: Sistema fechado (HNO_3); DDS: Diluição direta com solvente; MAWD-SRC - Sistema assistido por radiação micro-ondas em câmara única de reação; ICP-MS: Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado; ICP OES: Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado).

Para a abordagem multi métodos, foram utilizados os métodos 1, 2, 3, 4 e 5, descritos no item 3.7.2. Os métodos 1, 2 e 3 foram desenvolvidos pelo Laboratório de Espectrometria Atômica (LEA) no Núcleo de Competências em Química do Petróleo (NCQP), na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). O método 4 é método desenvolvido pela Petrobrás (N-2440), enquanto o método 5 é o método normalizado da ASTM, porém devido à grande discrepância observada nos resultados o mesmo não foi considerado nessa abordagem. As características de desempenho dos métodos utilizados estão apresentadas no Apêndice D. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 25.

Tabela 25 – Fração mássica ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos analitos Ba, Ca, Mg, Na, Ni, Sr e V e respectivos desvios-padrões ($\pm$ DP) obtidos por diferentes métodos (n=3 à 20).

Parâmetros	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4
	MW	EIQE	NANO	N-2440
Ba	$2,23 \pm 0,15$	$1,22 \pm 0,17$	$2,05 \pm 0,01$	$3,03 \pm 0,12$
Ca	228 ± 15	306 ± 5	261 ± 2	236 ± 37
Mg	$31,4 \pm 2,8$	$31,1 \pm 1,9$	$27,3 \pm 0,4$	-
Na	1403 ± 107	1715 ± 78	1516 ± 6	-
Ni	$1,77 \pm 0,15$	-	-	$1,75 \pm 0,21$
Sr	$24,0 \pm 1,6$	$28,8 \pm 1,3$	$25,2 \pm 0,2$	-
V	$1,56 \pm 0,06$	-	-	$1,66 \pm 0,20$

Os valores obtidos pelo estudo colaborativo e pela abordagem multi métodos foram combinados de acordo com o item 4.7 de forma a obter o valor atribuído e a respectiva incerteza de medição para cada analito.

4.12 ATRIBUIÇÃO DE VALOR DE PROPRIEDADE E INCERTEZA

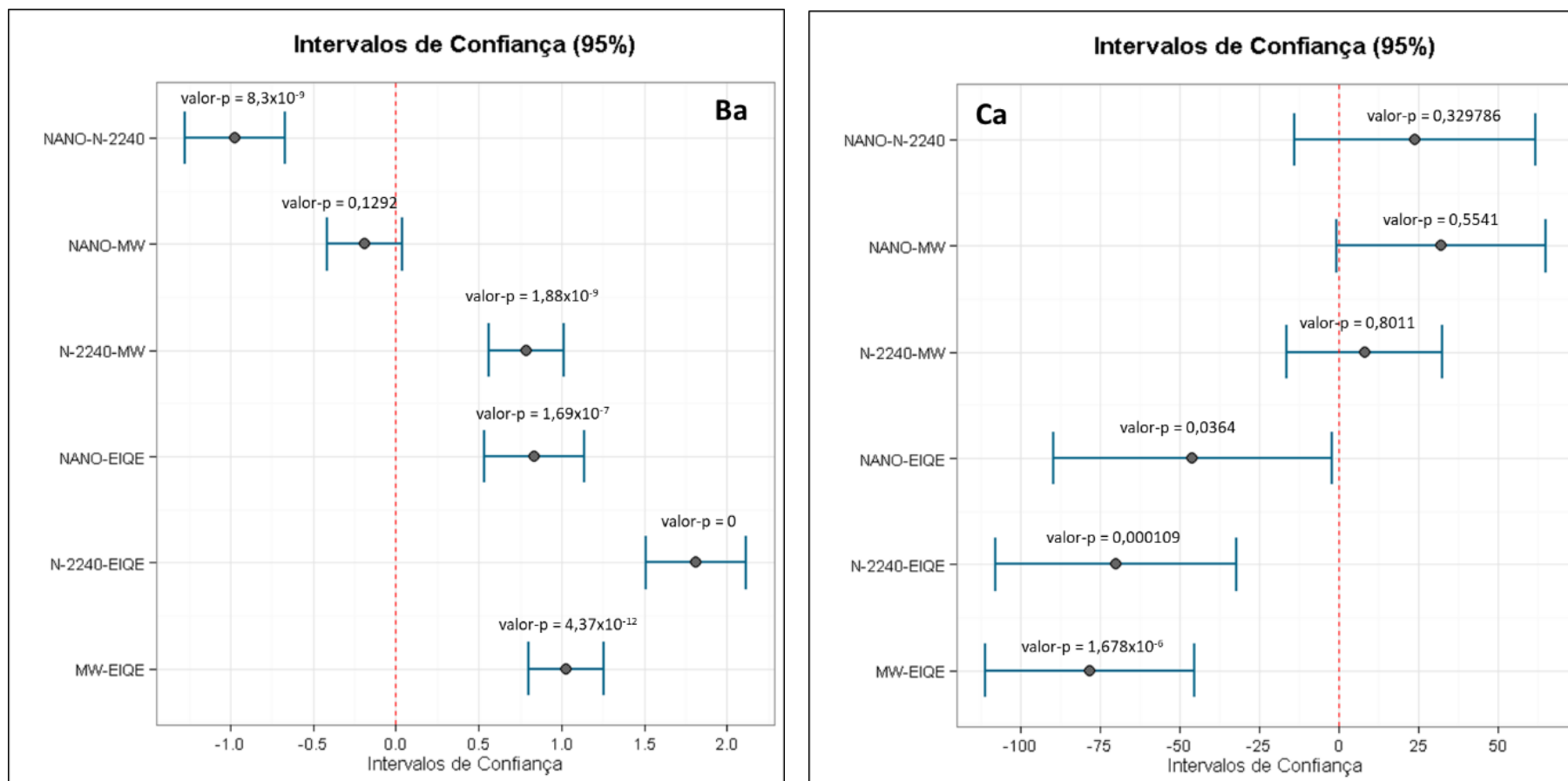
A atribuição de valor de propriedade foi realizada somente pela abordagem *in house* de multi métodos, visto que a quantidade de participantes do estudo colaborativo não foi suficiente para obtenção do valor designado conforme a norma ISO 13528.

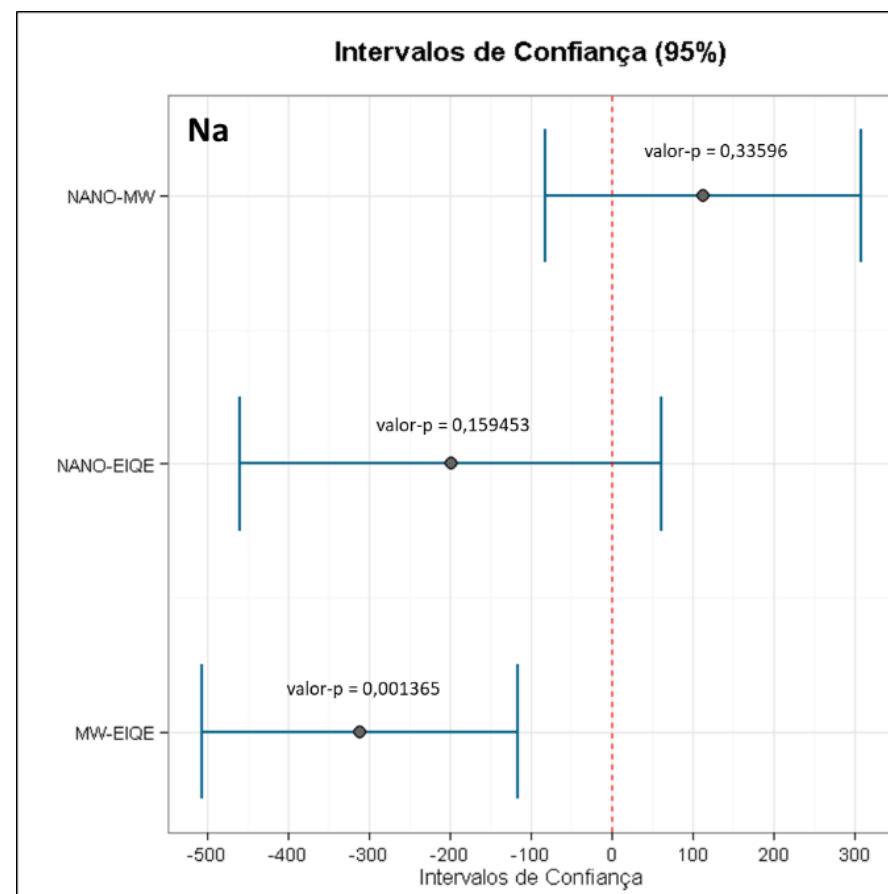
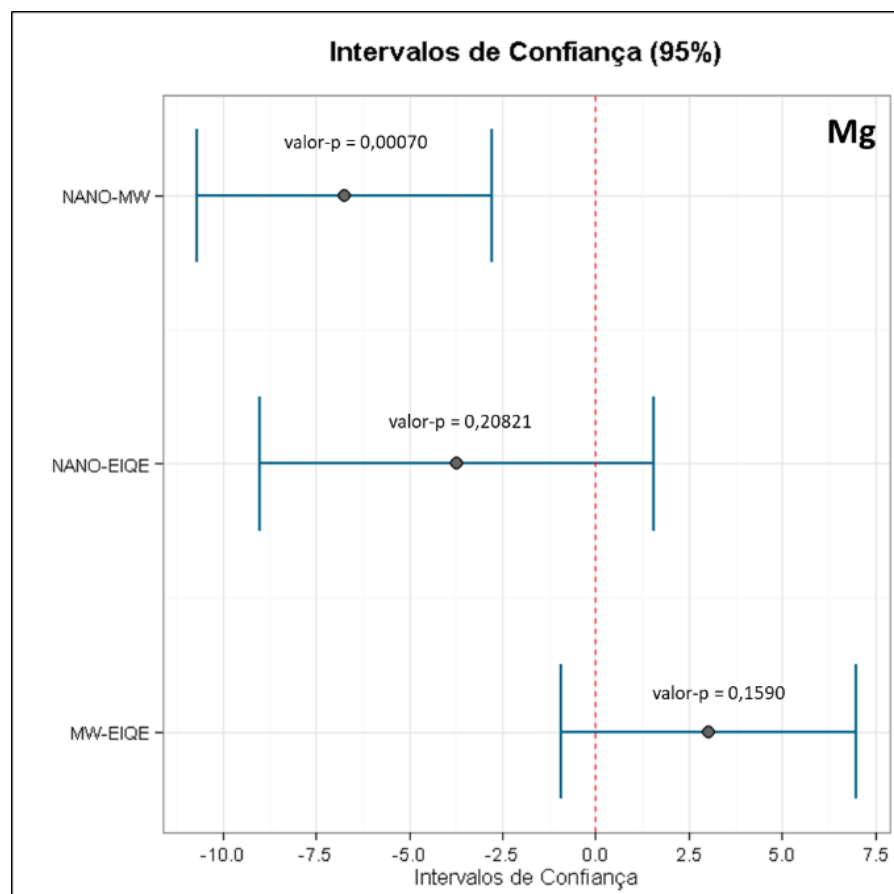
Todos os elementos avaliados pelos métodos *in house* foram combinados utilizando a abordagem descrita por Levenson e colaboradores (2000). Nesse trabalho, os autores apresentam um passo a passo para combinar resultados provenientes da caracterização por múltiplos métodos segundo a ISO GUM. Essa abordagem é indicada quando se tem poucos métodos e os efeitos não são completamente conhecidos. Os autores chamaram essa abordagem de *two-methods problem* (problema de dois métodos), embora a abordagem possa ser utilizada por três ou quatro métodos.

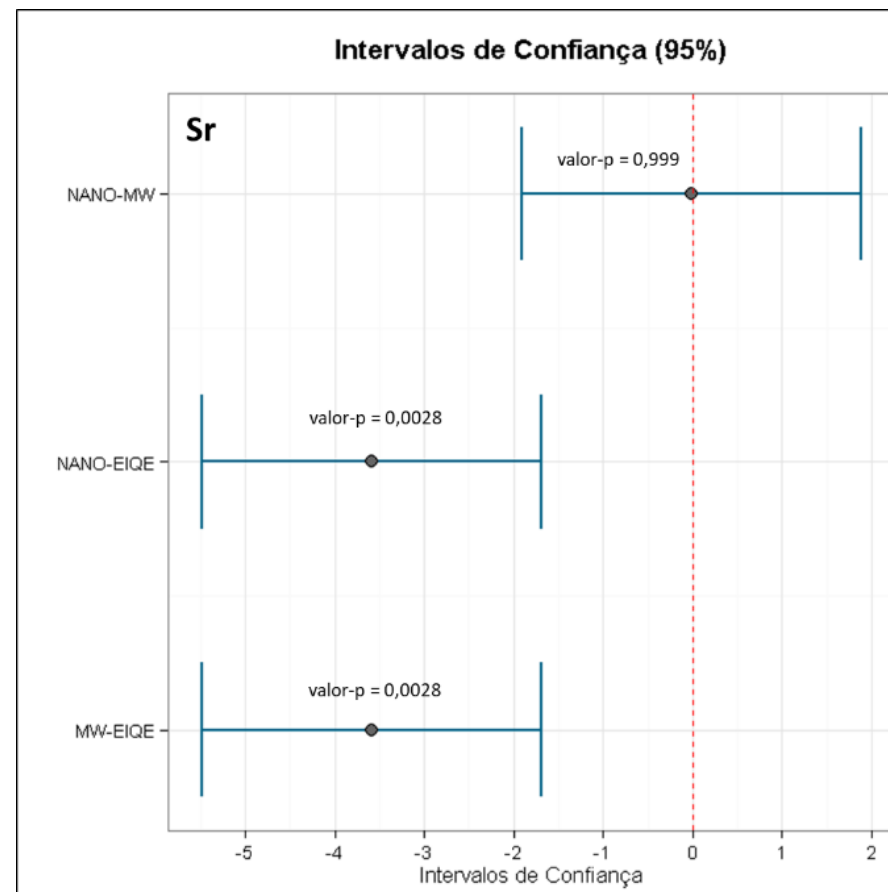
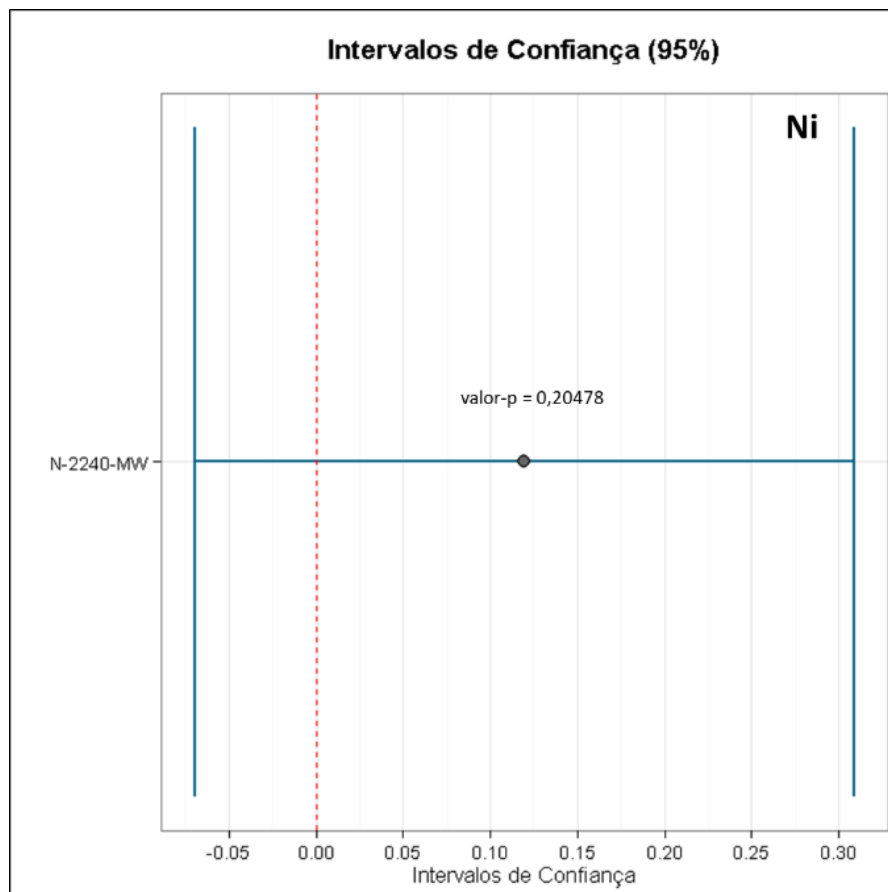
Antes da aplicação da abordagem de Levenson, foi avaliada a equivalência entre os métodos através de testes estatísticos. Em estudos onde se busca comparar a distribuição de três ou mais grupos de amostras independentes, frequentemente se utiliza a análise de variância (ANOVA). Nesse caso, o resultado evidencia que a distribuição de pelo menos um dos grupos se difere das demais, mas não indica entre quais grupos a diferença é significativa. Assim, se faz necessário utilizar testes de comparações múltiplas, onde foi escolhido o teste de Tukey para essa comparação. O teste de Tukey consiste em comparar todos os possíveis pares de médias e se baseia na diferença mínima significativa (D.M.S.), considerando os percentis do grupo. No cálculo da D.M.S. utiliza-se também a distribuição da amplitude total estudentizada (*studentized range*), o quadrado médio dos resíduos da ANOVA e o tamanho amostral dos grupos.

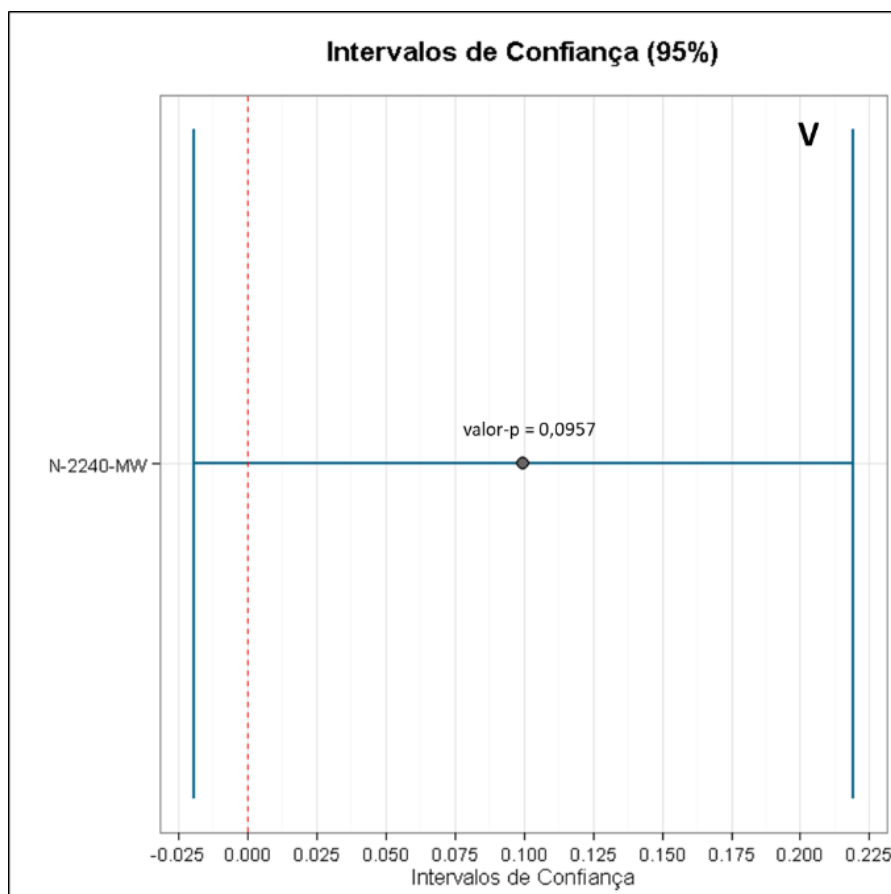
Os resultados por elemento avaliado no teste de Tukey, encontra-se na Figura 26. Para que os métodos possam ser considerados equivalentes, o valor 0 (zero) deve estar contido nos intervalos de confiança e o valor-p, deve ser maior que o nível de significância adotado ($\text{valor-p} > 0,05$). Dessa maneira, para o cálculo do valor atribuído foram considerados somente os métodos que mostraram equivalência entre si. Quando mais de um par de métodos apresentou equivalência foi considerado o par de menor intervalo de confiança.

Figura 26 – Representação do intervalo de confiança no teste de Tukey

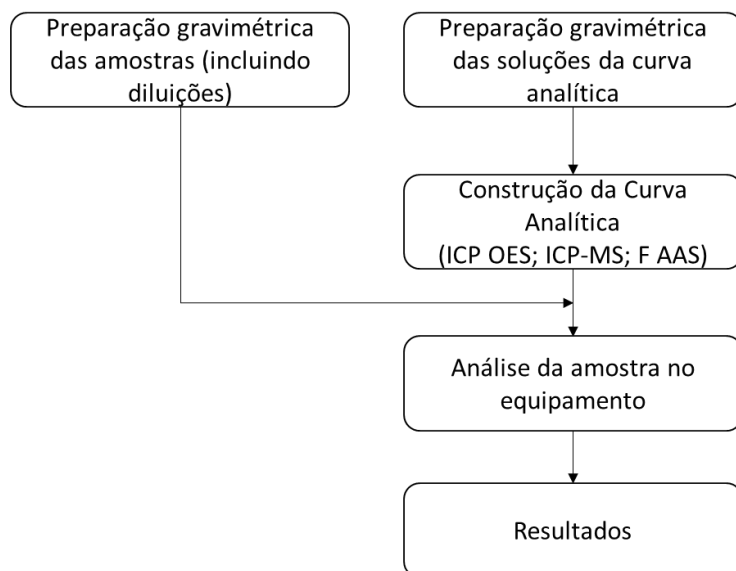








Para os métodos aprovados nos testes estatísticos, foi calculada a incerteza associada à cada processo de medição. Para fins dessa estimativa, basicamente, os métodos utilizados foram separados nas seguintes etapas: preparação da amostra, preparação das soluções da curva analítica, construção da curva analítica e análise das amostras no equipamento. A Figura 27 ilustra a interação entre as etapas:

Figura 27 – Fluxograma das etapas envolvidas no processo de medição

A relação das variáveis de entrada no cálculo do mensurando é demonstrada através da Equação 8.

$$C = \frac{L \cdot m_{sam} \cdot FD}{m_{am}} \quad (8)$$

Onde,

C é a fração mássica do analito na amostra (em $\mu\text{g g}^{-1}$),

L é a fração mássica do analito encontrada na alíquota analisada (em $\mu\text{g g}^{-1}$),

m_{sam} é a massa, em gramas, da solução da amostra digerida

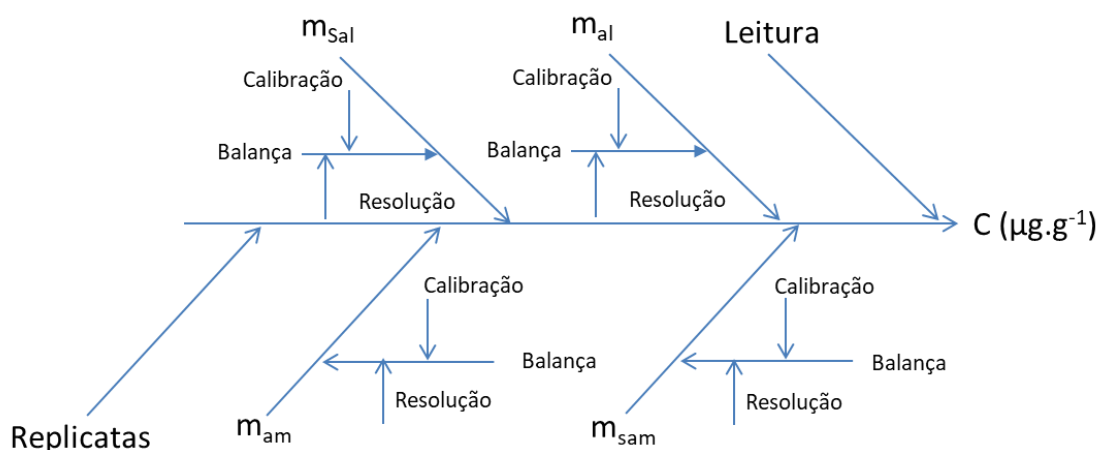
m_{am} é a massa, em gramas, da amostra digerida

FD é o fator de diluição gravimétrico, calculado pela razão da massa, em gramas, da solução da alíquota da amostra analisada (m_{sal}) e massa, em gramas, da alíquota da amostra digerida retirada para diluição (m_{al})

A representação das fontes e componentes de incerteza estão apresentadas no diagrama de espinha de peixe mostrado na Figura 28. A linha horizontal central é o mensurando o qual se deseja obter a estimativa da incerteza, ou seja, é a fração

mássica do mensurando em $\mu\text{g g}^{-1}$. As ramificações da linha principal são fontes e componentes que afetam a incerteza do mensurando.

Figura 28 – Diagrama Espinha de peixe das fontes de incerteza associadas baseado no modelo matemático do mensurando



A medição da amostra diluída também é afetada por fontes e componentes de incerteza, associadas à replicatas das leituras, ajuste da regressão linear e dos padrões utilizados na construção da curva analítica (Figura 29). Os padrões por sua vez, também trazem incertezas herdadas do processo de preparo e da solução padrão estoque (Figura 30). Muitas vezes ainda, dentro do processo de preparo dos padrões, deve ser incluído soluções intermediárias utilizadas.

Figura 29 – Diagrama Espinha de peixe das fontes de incerteza associadas a medição na curva analítica

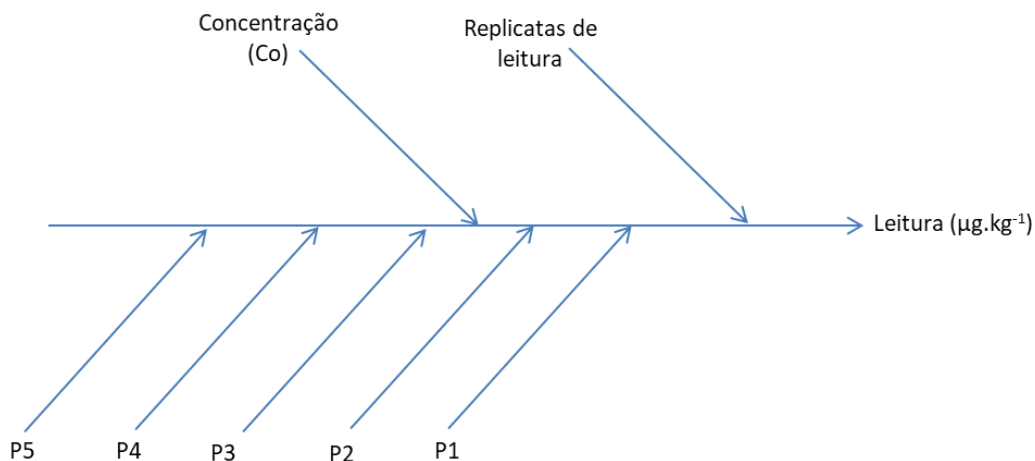
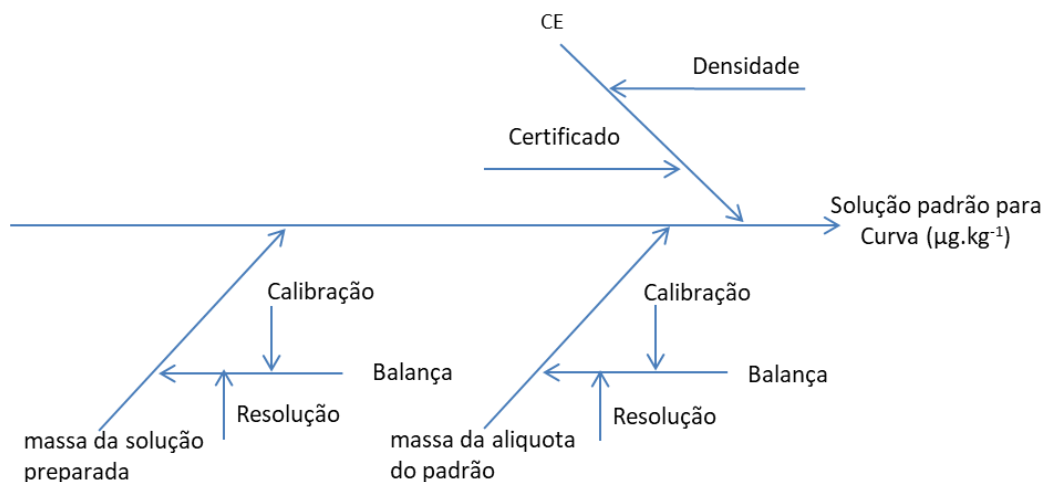


Figura 30 – Diagrama Espinha de peixe das fontes de incerteza associadas ao preparo dos padrões da curva



A seguir segue o detalhamento de cada fonte:

a) Incerteza associada à pesagem (válido para todas as pesagens)

Como todo o preparo das soluções padrão e amostras (incluindo diluições para leitura) foram realizadas, de forma gravimétrica, a estimativa da incerteza associada à pesagem descrita a seguir se aplica a todos os preparos citados. Nesta operação contribuíram na avaliação das incertezas associadas a incerteza herdada da calibração da balança e a resolução dela.

Para incerteza proveniente de certificados de calibração dos instrumentos, a incerteza expandida U informada no certificado deve ser transformada em incerteza-padrão conforme a Equação 9.

$$u_{cert} = \frac{U}{k} \quad (9)$$

Onde U é a incerteza expandida apresentada no certificado e k é o fator de abrangência utilizado pelo laboratório de calibração, também descrita no certificado de calibração da balança.

A resolução é definida como a menor variação da grandeza que causa uma variação perceptível na indicação correspondente (VIM, 2012). Para instrumentos digitais, a incerteza-padrão pode ser estimada a partir do último dígito significativo (uds), de acordo com a Equação 10.

$$u_{res} = \frac{uds}{2\sqrt{3}} \quad (10)$$

A incerteza associada à pesagem combina as duas componentes acima, gerando uma única incerteza associada à pesagem, representada pela Equação 11.

$$u_m = \sqrt{u_{cert}^2 + u_{res}^2} \quad (11)$$

b) Incerteza associada à variabilidade / precisão / dispersão do método de ensaio (válido para replicatas de leitura e replicatas de preparo)

A incerteza-padrão associada à execução de replicatas pode ser estimada a partir do desvio padrão da média de um conjunto de N medições repetidas conforme Equação 12.

$$u_{rep} = \frac{s}{\sqrt{N}} \quad (12)$$

Onde s é o desvio-padrão da média e N é o número de medições repetidas.

c) Incerteza-padrão associada à fração mássica de um mensurando em uma amostra

Para o cálculo da incerteza-padrão associada à fração mássica do analito na amostra, foram consideradas as seguintes fontes:

- Incerteza-padrão associada à interpolação da leitura da amostra na curva de calibração;
- Incerteza-padrão associada à preparação dos padrões de trabalho e/ou incertezas associadas a padrões comerciais com certificado:

Para a estimativa da incerteza associada à interpolação na curva analítica ajustada pelo Método dos Mínimos Quadrados (MMQ) foi utilizada a Equação 13.

$$u_{Co} = \frac{S}{B} \times \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_o - \bar{c})^2}{S_{xx}}} \quad (13)$$

Onde B é a inclinação da curva analítica; p é o número de replicatas para determinar Co; n é o número de medidas da curva; Co é a concentração da amostra; C é a média das concentrações dos padrões e S e S_{xx} são definidos pelas Equações 14 e 15.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (y - y_{calc})^2}{n - 2}} \quad (14)$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C - \bar{C})^2 \quad (15)$$

A incerteza-padrão associada aos padrões de trabalho foi obtida a partir da Lei de Propagação das incertezas baseadas nas diluições gravimétricas a partir de uma solução padrão comercial. Para a solução comercial, foi considerada a incerteza descrita no certificado, sendo calculada a incerteza-padrão conforme Equação 9.

Para as soluções preparadas para a construção da curva, a incerteza de cada padrão foi calculada baseada na incerteza-padrão da solução estoque e da incerteza da pesagem, visto que a diluição realizada foi gravimétrica. A incerteza total associada as soluções padrão foi obtida conforme Equação 16.

$$u_{padrões} = \sqrt{u_{p1}^2 + u_{p2}^2 + \dots + u_{pn}^2} \quad (16)$$

Onde u_{p1}, u_{p2}, ..., u_{pn} são as incertezas-padrão de cada padrão utilizado.

A Tabela 26 mostra o resumo da incerteza-padrão combinada referente a cada método de medição associada do elemento avaliado.

Tabela 26 – Incerteza-padrão dos resultados por método

Elemento	Parâmetros	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4
		MW	EIQE	NANO	N-2440
Ba	$\bar{X}_t$	2,23	-	2,05	-
	$u(X_i)$	0,49	-	0,36	-
	n	24	-	3	-
Ca	$\bar{X}_t$	228	-	-	236
	$u(X_i)$	72	-	-	37
	n	24	-	-	6
Mg	$\bar{X}_t$	-	31,1	27,2	-
	$u(X_i)$	-	1,9	0,5	-
	n	-	3	3	-
Na	$\bar{X}_t$	1403	-	1516	-
	$u(X_i)$	67	-	16	-
	n	24	-	3	-
Ni	$\bar{X}_t$	1,77	-	-	1,75
	$u(X_i)$	0,04	-	-	0,09
	n	24	-	-	6
Sr	$\bar{X}_t$	24,0	-	25,2	-
	$u(X_i)$	2,9	-	2,1	-
	n	24	-	3	-
V	$\bar{X}_t$	1,56	-	-	1,66
	$u(X_i)$	0,03	-	-	0,08
	n	24	-	-	6

Onde $\bar{X}_t$ é a média dos resultados obtidos por analito, $u(X_i)$ é a incerteza-padrão combinada da média e n é o número de replicatas utilizadas na estimativa da média e da incerteza.

A partir dos dados da Tabela 26, foi realizada a combinação dos resultados conforme abordagem de Levenson. Nessa abordagem, a incerteza “dentro do método” (*within-method*) é combinada com a incerteza “entre os métodos” (*between-method*). Para a

incerteza “dentro do método”, foram consideradas as incertezas determinadas na Tabela 25. Para a incerteza “entre os métodos”, a mesma foi calculada a partir da tendência entre os métodos, *bias*, sendo modelado através de uma distribuição B (LEVENSON et al., 2000). Essa incerteza também é chamada de BOB, ou seja, *Type B On Bias* e foi estimada conforme Equação 17.

$$u(B) = \frac{|\overline{X_1} - \overline{X_2}|}{2\sqrt{3}} \quad (17)$$

E a incerteza final da caracterização é calculada pela Equação 18, onde $u(X)$ é a incerteza-padrão combinada dos dois métodos e $u(B)$ é a incerteza entre os métodos:

$$u(Y) = \sqrt{u^2(X) + u^2(B)} \quad (18)$$

Para o cálculo da incerteza-padrão combinada dos dois métodos, foi utilizada a Equação 19, que leva em consideração a contribuição de cada método no valor final atribuído, que foi calculado a partir da média:

$$u(X) = \sqrt{\left(\frac{1}{2}\right)^2 U^2(X_1) + \left(\frac{1}{2}\right)^2 U^2(X_2)} \quad (19)$$

Os graus de liberdades efetivos para cada etapa foram calculados utilizando a fórmula de Welch-Satterthwaite conforme descrito na Equação 20:

$$\nu_{eff} = \frac{u_c^4}{\sum_i^n \frac{(u_i \cdot C_i)^4}{\nu_i}} \quad (20)$$

Onde ν_{eff} são os graus de liberdade efetivos, u_c é a incerteza-padrão combinada, $u_i \cdot C_i$ é a contribuição de incerteza de cada fonte e ν_i são os graus de liberdade de cada fonte.

A Tabela 27 mostra os valores atribuídos e as respectivas incertezas utilizando a abordagem de Levenson.

Tabela 27 – Valores atribuídos e incerteza segundo Levenson

Parâmetro	Valor atribuído	Incerteza-padrão
		combinada u_c (%)
Ba ($\mu\text{g g}^{-1}$)	2,14	0,31 (14,4%)
Ca ($\mu\text{g g}^{-1}$)	232	41 (17,5%)
Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	29,2	1,5 (5,1%)
Na ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1460	47 (3,3%)
Ni ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1,76	0,05 (2,8%)
Sr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	24,6	1,8 (7,4%)
V ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1,61	0,05 (3,2%)

Com os valores atribuídos e incertezas estimadas, foi calculada a incerteza-padrão combinada do material de referência usando a Equação 21:

$$u_{RM} = \sqrt{u_{char}^2 + u_{hom}^2 + u_{lts}^2} \quad (21)$$

A Tabela 28 mostra a contribuição de cada uma das fontes na incerteza final do material de referência e a incerteza expandida calculada conforme Equação 22:

$$U_{RM} = u_{RM} \cdot k \quad (22)$$

Onde U_{RM} é a incerteza expandida, u_{RM} é a incerteza-padrão combinada e k é o fator de abrangência, calculado a um nível de significância de 95,45%.

Tabela 28 – Estimativa de todas as fontes de incertezas dos estudos de certificação obtidas para cada elemento

Elemento	U_{char} (%)	U_{hom} (%)	U_{lts} (%)	U_{RM} ($\mu\text{g g}^{-1}$) (%)	$U_{RM} (k=2)$ ($\mu\text{g g}^{-1}$) (%)
Ba	14,4%	8,2%	9,3%	0,40 (19,0)	0,81 (38%)
Ca	17,5%	11,2%	n.c.	n.c.	n.c.
Mg	5,1%	3,8%	n.c.	n.c.	n.c.
Na	3,3%	4,5%	6,1%	120 (8,3%)	240 (16,5%)
Ni	2,8%	3,5%	6,5%	0,14 (7,9%)	0,28 (16%)
Sr	7,4%	3,1%	8,1%	2,8 (11,4%)	5,6 (22,8%)
V	3,2%	1,6%	5,6%	0,11 (6,6%)	0,21 (13%)

n.c. – Não calculado

Comparando os valores obtidos do MRC produzido com os materiais GBW11201 e GBW11202 (China) e o material produzido por Shehata e colaboradores (2017), é possível verificar que trata-se de um material com características diferentes e que vem complementar os desenvolvimentos já realizados até o momento, conforme mostrado na Tabela 29. O material se difere tanto pela presença dos elementos contra íons do cloreto e Ni e V em níveis mais baixos, e vem representar a classe dos petróleos brasileiros.

Tabela 29 – Comparação dos valores certificados dos materiais de referência para elementos traços em petróleo

Analito	**MRC	GBW11201	GBW11201	(SHEHATA; MOHAMED; GAB-ALLAH, 2017) (U%)
As ($\mu\text{g g}^{-1}$)	-	0,06	-	-
Ba ($\mu\text{g g}^{-1}$)	2,14	15,4	-	-
Ca ($\mu\text{g g}^{-1}$)	232	-	2,57	-
Co ($\mu\text{g g}^{-1}$)	-	-	4,87	-
Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	-	7,7	19,5	9,21 (8,3%)
K ($\mu\text{g g}^{-1}$)	-	0,72*	-	-
Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	29,2	-	-	0,97 (20,6%)
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	-	2,69	-	-
Na ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1460	11,2	-	-
Ni ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1,76	-	99	50,69 (5,8%)
S (%)	-	-	-	2,30 (6,5%)
Sr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	24,6	-	-	-
V ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1,61	-	2,28	61,26 (4,6%)

*Valor indicativo, **Presente estudo

Apesar de não ter sido alcançado a incerteza pretendida de 5%, ao comparar as incertezas obtidas neste trabalho com as obtidas por Shehata e colaboradores (2017), observa-se que as mesmas são compatíveis, considerando o nível de fração mássica em que alguns elementos se encontravam, e que o material produzido foi proveniente de uma única amostra de petróleo. Foi considerado que as incertezas obtidas para o material de referência não inviabilizam o seu uso, considerando a heterogeneidade inerente da matriz e as características de desempenho dos procedimentos de medição existentes.

4.13 RASTREABILIDADE METROLÓGICA

Com relação à rastreabilidade metrológica, o material de referência tem todos os resultados expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$, que é uma unidade derivada do sistema internacional

de unidades (SI). A rastreabilidade metrológica dos valores atribuídos aos elementos certificados depende diretamente da cadeia de rastreabilidade de cada um dos valores utilizados no cálculo da incerteza de medição.

Como nem todos os laboratórios participantes do estudo colaborativo possuíam a rastreabilidade metrológica declarada, os resultados válidos obtidos deste estudo foram utilizados apenas como confirmação dos resultados obtidos pelos métodos *in house*. Para os métodos *in house*, apenas os métodos 1(MW) e 4 (N-2440) apresentaram rastreabilidade metrológica para todas as medições, contando com todas as preparações gravimétricas em balança devidamente calibrada por laboratório da Rede Brasileira de Calibração (RBC) e soluções padrão de produtores de materiais de referência acreditados na ISO/IEC 17034. Os certificados de calibração e dos materiais de referência utilizados na calibração encontram-se em Anexo 1.

Com base na qualidade dos resultados obtidos, os valores de propriedade atribuídos neste trabalho foram classificados como:

- **Valores certificados** – valores atribuídos com suas respectivas incertezas de medição e que apresentam rastreabilidade metrológica para todas as medições realizadas.
- **Valores de referência** – valores atribuídos com suas respectivas incertezas de medição, porém não apresentam rastreabilidade metrológica.
- **Valores informativos** – valores de propriedade que não puderam ser atribuídos estatisticamente.

A Tabela 30 apresenta a avaliação e classificação para os analitos avaliados.

Tabela 30 – Classificação dos valores de propriedades obtidos

Elemento	p*	Técnicas	Classificação
Ba	27	ICP OES; ICP MS	Valor de referência
Ca	30	F AAS; ICP OES	Valor informativo
Co**	5	ICP OES; ICP MS	Valor informativo
Fe**	7	ICP OES; ICP MS	Valor informativo
Mg	6	ICP OES	Valor informativo
Na	27	ICP OES	Valor de referência
Ni	30	ICP OES; ICP MS	Valor Certificado
Sr	27	ICP OES	Valor de referência
V	30	ICP OES; ICP MS	Valor Certificado

*p é a quantidade de dados utilizados para atribuição do valor

**Valores obtidos do estudo colaborativo

4.14 RÓTULO E CERTIFICADO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA PRODUZIDO

Para a confecção do rótulo e o do certificado, foi utilizada as orientações do guia ABNT ISO Guia 31 (ABNT, 2017) onde a mesma traz o conteúdo mínimo que deve ser disponibilizado ao usuário do material de referência. A Figura 31 mostra o rótulo do material produzido. Já o certificado, está disponibilizado no Apêndice E.

Figura 31 – Rótulo do material de referência produzido.

4.15 DISTRIBUIÇÃO E MONITORAMENTO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA PRODUZIDO

O material certificado produzido será distribuído gratuitamente pelo Laboratório de Espectrometria Atômica (LEA) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Para obter o material, o laboratório deve solicitar ao LEA a quantidade de material desejado. O LEA também fará o monitoramento da estabilidade do material produzido anualmente e qualquer alteração será informada aos laboratórios que receberam o material.

5 CONCLUSÃO

O material preparado se mostrou homogêneo para todos os elementos estudados e os valores para componente de incerteza devido a homogeneidade não afetaram significativamente a incerteza final do material. Neste estudo também foi possível aplicar além das técnicas estatísticas univariadas clássicas como os testes de ANOVA e regressão, as técnicas de análise multivariada como a análise de componentes principais (PCA). A utilização destas técnicas para esse tipo de estudo não está muito difundida, mas já é possível encontrar trabalhos que se utilizaram das mesmas.

Um outro aspecto importante dos materiais de referência é a sua estabilidade. O material produzido foi testado em diferentes temperaturas e tempos, simulando as condições as quais o material poderia estar normalmente exposto. O estudo de estabilidade em curto prazo mostrou que o material de referência pode ser transportado sob condições usuais de transporte. Já no estudo de estabilidade em longo prazo, os resultados foram satisfatórios para todos os elementos estudados, exceto para o Ca e Mg.

Os resultados satisfatórios nos estudos de homogeneidade e estabilidade, demonstraram que o candidato à material de referência era apto a ser caracterizado sendo enviado a diferentes laboratórios nacionais e internacionais para sua caracterização. Da avaliação conjunta dos resultados do estudo colaborativo, caracterização *in house* e os estudos de homogeneidade e estabilidade realizados, conseguiu-se atribuir valores a 5 elementos e com suas respectivas incertezas, (2 valores certificados e 3 valores de referência) e ainda 5 valores informativos.

Conclui-se, portanto, que a produção do material atingiu o seu uso pretendido, podendo ser distribuído aos principais laboratórios de análise do setor, para utilização, na garantia de qualidade das medições feita em petróleos brasileiros.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como considerações finais, ressalto que neste trabalho foram desenvolvidas todas as etapas necessárias para a preparação e caracterização de um material de referência segundo os requisitos das normas internacionais. Um dos grandes desafios deste estudo foi a etapa de preparação, em que foi necessário obter amostras com as características e níveis desejados, além de propor um processo de homogeneização que pudesse ser monitorado antes do envase do mesmo.

Embora existam protocolos claros e descritos na literatura sobre as etapas da produção do material de referência, a execução dessas etapas não é uma tarefa trivial. Cada material selecionado possui características específicas, as quais exigem do produtor conhecimentos e capacitação técnica, para correções, adequações ou mesmo desenvolvimento de novos protocolos. A capacitação e a experiência adquirida no processo de preparo e caracterização do material de referência em petróleo foram um passo importante no desenvolvimento metrológico nacional.

Futuros trabalhos em materiais de referência em petróleo com outras características poderão atribuir valores certificado a estes e outros elementos devido sua grande importância.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. ISO Guia 31 - Materiais de referência — Conteúdo de certificados, rótulos e documentação associada. 2017.

ALL, M. F.; BUKHARI, A.; SALEEM, M. Trace Metals in Crude Oils from Saudi Arabia. **Industrial and Engineering Chemistry Product Research and Development**, v. 22, n. 4, p. 691–694, 1983.

ARMISHAW, P.; MILLAR, R. A natural matrix (pureed tomato) candidate reference material containing residue concentrations of pesticide chemicals. **Fresenius J Anal Chem**, v. 370, p. 291–296, 2001.

ASTM. **D5854 - Standard Practice for Mixing and Handling of liquids samples of Petroleum and Petroleum Products**. . [S.l: s.n.]. , 1996

BAM. **COMAR DATABASE**. Disponível em:

<<https://www.comar.bam.de/home/login.php>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

BIANCHI, S. R. et al. Production and characterization of a bovine liver candidate reference material. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 733, p. 012006, 2016.

BOSSU, C. M. **Produção e Caracterização de Material de Referência de Forrageira para nutrientes e contaminantes inorgânicos**. 2013. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2013.

BRANDÃO, G. P. et al. Determination of copper, iron and vanadium in petroleum by direct sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 9, p. 962–969, 2007.

_____. Direct determination of nickel in petroleum by solid sampling-graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 7–8, p. 2249–2253, 2006.

CARDOSO, M. H. W. M. **Produção de material de referência certificado para controle de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros**. . [S.l.]: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. , 2008

CHEN, G.; HE, G. Separation of water and oil from water-in-oil emulsion by freeze/thaw method. **Separation and Purification Technology**, v. 31, n. 1, p. 83–89, 2003.

DA SILVA, C. S.; DE SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. Preparation and characterization of phosphate rock as quality control material. **Accreditation and Quality Assurance**, p. 1–7, 2017.

DE OLIVEIRA SOUZA, M. et al. Evaluation and determination of chloride in crude oil based on the counterions Na, Ca, Mg, Sr and Fe, quantified via ICP-OES in the crude oil aqueous extract. **Fuel**, v. 154, p. 181–187, 2015.

DREYFUS, S. et al. Direct Trace and Ultra-Trace Metals Determination in Crude Oil and Fractions by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Journal of ASTM International**, v. 2, n. 9, p. 12969, 2005. Disponível em: <<http://www.astm.org/doiLink.cgi?JAI12969>>.

DUYCK, C. et al. The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 9, p. 939–951, 2007.

ELLISON, S. L. R. Homogeneity studies and *ISO Guide 35* : 2006. **Accreditation and Quality Assurance**, 2015.

EMBRAPA. **Soluções Tecnológicas**.

GANDRA, R. L. P. **Produção de Material de Referência para o escopo de umidade, cinzas, gordura total e acidez titulável em leite em pó integral**. . [S.l.]: Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. , 2013

GILES, H. N.; MILLS, C. O. **Crude Oils: Their Sampling, Analysis, and Evaluation**. [S.l.]: ASTM International, 2011.

GOTTIKH, R. P.; PISOTSKY, B. I.; ZHURAVLEV, D. Z. Geochemical properties of oils in different regions and potential source metals contained in oil. **Doklady Earth Sciences**, v. 422, n. 1, p. 1084–1088, 2008.

GRUBS, F. E. Procedures for detecting outlying observations in samples.

Technometrics, v. 11, n. 1, p. 1–21, 1969.

HEILMANN, J.; BOULYGA, S. F.; HEUMANN, K. G. Development of an isotope dilution laser ablation ICP-MS method for multi-element determination in crude and fuel oil samples. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, n. 4, p. 385–390, 2009.

HON, P. Y. T. et al. Development of melamine certified reference material in milk using two different isotope dilution mass spectrometry techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 39, p. 6907–6913, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2011.08.021>>.

IAEA. **Development and use of reference materials and quality control materials**. [S.l: s.n.], 2003.

INMETRO, INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, Q. e T. **Acreditação de Produtores de Materiais de Referência**.

INMETRO. **Vocabulário Internacional de Termos de Metrologia - VIM**. [S.l: s.n.], 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, Q. e T. I. **DOQ-CGCRE-008 - Orientação sobre validação de métodos analíticos**. . [S.l.]: Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br>>. Acesso em: 02 dez 2017. , 2017

IPT. **Linha do Tempo IPT**. Disponível em: <http://www.ipt.br/hotsites/linha_digital/index.html>. Acesso em: 1 mar. 2018.

ISO. **17034 - General Requirements for the competence of reference material producers**. . [S.l.]: ISO. , 2016

_____. **Guide 33 - Uses of certified reference materials**. . [S.l: s.n.], , 2015

_____. **Guide 35 - Reference materials: Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability**. . [S.l: s.n.], , 2017

LARSON, E. R. **Material Selection Based on Performance**. [S.l: s.n.], 2015.

- LEVENSON, M. S. et al. An Approach to Combining Results from Multiple Methods Motivated by the ISO GUM. **J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol**, v. 105, n. 4, p. 571–579, 2000.
- LIN, C. et al. Freeze/thaw induced demulsification of water-in-oil emulsions with loosely packed droplets. **Separation and Purification Technology**, v. 56, n. 2, p. 175–183, 2007.
- LINSINGER, T. et al. Production of Three Certified Reference Materials for the Sulfur Content in Gasoline (Petrol). **Energy and Fuels**, p. 2240–2244, 2007.
- LINSINGER, T. P. J. et al. Homogeneity and stability of reference materials. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 6, n. DECEMBER, p. 20–25, 2000.
- MATAR, S. **Chemistry of Petrochemical Process**. 2 ed ed. Houston: Gulf Published Company, 2000.
- MCCARRON, P. et al. A mussel (*Mytilus edulis*) tissue certified reference material for the marine biotoxins azaspiracids. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 11, p. 2985–2996, 2015.
- MELLO, P. A. et al. Sample preparation methods for subsequent determination of metals and non-metals in crude oil-A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 746, p. 15–36, 2012.
- MERRICK, J. P. et al. Production of trace elements in coastal sea water certified reference material NMIA MX014. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 16, p. 4413–4424, 2016.
- MOREIRA, E G et al. Element content and particle size characterization of a mussel candidate reference material. p. 783–788, 2015.
- MOREIRA, Edson Gonçalves. Autarquia associada à Universidade de São Paulo
PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE UM MATERIAL DE REFERÊNCIA DE
MEXILHÃO *Perna perna* (Linnaeus , 1758). 2010.
- NARUKAWA, T. et al. Preparation and certification of Hijiki reference material, NMIJ CRM 7405-a, from the edible marine algae hijiki (*Hizikia fusiforme*). **Analytical and**

Bioanalytical Chemistry, v. 402, n. 4, p. 1713–1722, 2012.

NOGUEIRA, A. R. A. et al. Embrapa's experience in the production and development of agriculture reference materials. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 733, n. 1, p. 0–5, 2016.

OKAMOTO, K. et al. Preparation and certification of human hair powder reference material. **Clinical Chemistry**, v. 31, n. 10, p. 1592–1597, 1985.

OKAMOTO, Kensaku; FUWA, K. Preparation and certification of sargasso seaweed reference material. **Fresenius Z Anal. Chem**, v. 326, p. 622–626, 1987.

OLIVARES, I. R. B. et al. Trends in developments of certified reference materials for chemical analysis - Focus on food, water, soil, and sediment matrices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, p. 53–64, 2018.

OLIVEIRA JUNIOR, O. P. Preparação , caracterização e certificação de materiais de referência isotópicos de urânio Olívio Pereira de Oliveira Junior. 2006.

ONUK, P. et al. Development of a Matrix-Matched Sphalerite Reference Material (MUL-ZnS-1) for Calibration of In Situ Trace Element Measurements by Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. **Geostandards and Geoanalytical Research**, v. 41, n. 2, p. 263–272, 2017.

PEREIRA et al. Chlorine and sulfur determination in extra-heavy crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after microwave-induced combustion. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 64, n. 6, p. 554–558, 2009.

_____. Determination of metals and metalloids in light and heavy crude oil by ICP-MS after digestion by microwave-induced combustion. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 4–11, 2010. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2009.12.016>>.

PEREIRA, K. S.; MARQUES, M. L. S. P.; IORIO, S. M. B. M. the Importance of Subsample Preparation Practices in the Analysis of Crude Oils. **Brazilian Journal of Petroleum and Gas**, v. 5, n. 1, p. 033–043, 2011.

PESSOA, H. M. et al. Comparison of different pre-treatment procedures for the determination of chromium in crude oil samples by GF AAS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 8, p. 1421–1428, 2012.

PESSOA, Helen Moura et al. Determination of Ca, Mg, Sr and Ba in crude oil samples by atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, n. 9, p. 1568–1573, 2012.

PETROBRAS, C. N-2440 Petróleo e Derivados - Determinação de Metais e Silício pelas Técnicas de AAS e ICP - AES N-2440. 2011.

QUADROS, D. P. C. et al. Evaluation of brazilian and venezuelan crude oil samples by means of the simultaneous determination of ni and v as their total and non-volatile fractions using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Energy and Fuels**, v. 24, n. 11, p. 5907–5911, 2010.

SAD, C. M. S. et al. **Desidratação de Petróleos utilizando Desemulsificantes comerciais e centrifugação**. . Montevideo: 5º Congresso Ibero Americano de Química Analítica e 2º Congresso Uruguaio de Química Analítica. , 2012

SARACENO, L. et al. Determination of trace elements in crude oil by ICP-OES using ultrasound-assisted acid extraction. p. 1345–1349, 2006.

SHEHATA, A. B.; MOHAMED, G. G.; GAB-ALLAH, M. A. Development of Crude Oil Reference Material Certified for the Concentrations of Sulfur, Iron, Nickel, Vanadium and Magnesium. **Mapan - Journal of Metrology Society of India**, v. 32, n. 2, p. 101–112, 2017.

SPEITH, J. **Handbook of Petroleum Analysis**. 1 ed ed. New Jersey: John Wiley and Sons Inc, 2001.

STOEPLER, M. **References Materials for Chemical Analysis**. [S.l: s.n.], 2000.

STURGEON, R. E. et al. Certification of a fish otolith reference material in support of quality assurance for trace element analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 20, n. 10, p. 1067–1071, 2005.

TANAKA, T. et al. Development of Coal Ash Certified Reference Materials JSAC

0521 and 0522 for determination of inorganic constituents,. **Bunseki Kagaku**, n. 59, p. 137–150, 2010.

TREVELIN, A. M. et al. Extraction induced by emulsion breaking for determination of Ba, Ca, Mg and Na in crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 338–343, 2016.

ULRICH, J. C. **Preparação e Caracterização de um material de referência de peixe**. . São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. , 2011

VAN DER VEEN, A. M. H. Revision of *ISO Guide 33*: good practice in using reference materials. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 20, n. 6, p. 529–532, 2015.

VASCONCELLOS, M. B. A. et al. Stability assessment of a bovine kidney reference-material candidate. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 317, n. 2, p. 1133–1139, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10967-018-5928-8>>.

VASSILEVA, E.; QUÉTEL, C. R. Certification measurement of the cadmium, copper and lead contents in rice using isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 519, n. 1, p. 79–86, 2004.

VERHALEN, T. R. **Preparo e caracterização de material de referência de solo para nutrientes e contaminantes inorgânicos**. . São Carlos - SP: Universidade Federal de São Carlos. , 2014

VIEIRA et al. Exploratory data analysis using API gravity and V and Ni contents to determine the origins of crude oil samples from petroleum fields in the Espírito Santo Basin (Brazil). **Microchemical Journal**, v. 124, p. 26–30, 2016.

VIEIRA, L. V. et al. Metals determination in crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry using nanoemulsification as sample preparation. **Fuel**, v. 244, n. October 2018, p. 352–358, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.01.176>>.

WONG, Y. C.; WONG, S. K.; KAM, T. T. Preparation of reference material for organochlorine pesticides in a herbal matrix. **Analytical and Bioanalytical**

Chemistry, v. 392, n. 7–8, p. 1507–1513, 2008.

YARITA, T. et al. Development of soybean certified reference material for pesticide residue analysis. **Talanta**, v. 119, p. 255–261, 2014. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.011>>.

YURICK, O. I. M. J. R. G. J. P. K. A. N. Determination of Trace Metals in Crude and Others Petroleum Oils. v. 24, n. 11, p. 1728–1732, 1952.

ZHU, Y. et al. Development of a Certified Reference Material (NMIJ CRM 7505-a) for the Determination of Trace Elements in Tea Leaves. **Analytical Sciences**, v. 27, p. 1149–1155, 2011. Disponível em:

<<http://japanlinkcenter.org/DN/JST.JSTAGE/analsci/29.247?lang=en&from=CrossRef&type=abstract>>.

ZISCHKA, M. et al. A new certified reference material for the quality control of palladium, platinum and rhodium in road dust, BCR-723. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 851–868, 2002.

ZUNGER, A. et al. **Reference Materials in Analytical Chemistry**. [S.l: s.n.], 2000. v. 40.

APÊNDICE A

Otimização das condições operacionais do ICP OES utilizado no Método 1

a) Eficiência da Decomposição

A decomposição de uma amostra se dá pela reação do ácido nítrico com a matéria orgânica, formando como produtos o dióxido de carbono, o óxido nítrico e a água. Durante esse processo, há um consumo de ácido e, portanto, a acidez residual nos digeridos pode auxiliar no seu entendimento. Tal fato pode ser explicado pela regeneração do ácido nítrico, que ocorre devido ao óxido nítrico reagir com o oxigênio presente na coluna de gases do frasco de digestão, produzindo o dióxido de nitrogênio. Em seguida, o dióxido de nitrogênio ao interagir com a água regenera parte do ácido nítrico, garantindo a continuidade do processo. Para avaliação da eficiência de decomposição foram utilizadas diferentes amostras de petróleo, sendo determinado a acidez residual e a eficiência da decomposição da matéria orgânica (EDMO). A acidez residual média dos digeridos ficou em torno de 94%, mostrando que praticamente todo ácido utilizado na decomposição foi regenerado.

$$EDMO = \frac{TCC - RCC}{TCC} \times 100 \quad (23)$$

Onde TCC é o teor de carbono total da amostra e RCC é o teor de carbono residual calculado a partir do carbono orgânico dissolvido (DOC).

A EDMO variou de aproximadamente 83% a 91%, de acordo com o tipo de amostra, massa digerida e quantidade de água presente na mesma. Esses resultados evidenciam uma decomposição efetiva da matéria orgânica presente na amostra, quando a digestão foi realizada com o ácido nítrico (7 mol L⁻¹).

b) Otimização dos parâmetros espectrais do ICP OES

Otimizar um experimento significa encontrar os valores das variáveis que irão produzir a melhor resposta desejada, ou seja, encontrar a região ótima na superfície definida

pelos fatores. O planejamento composto central (CCD) é a classe de planejamento mais utilizada para ajustar modelos quadráticos, A matriz experimental juntamente com as intensidades normalizadas está apresentada na Tabela 31.

Tabela 31 – Matriz Experimental CCD.

Experimentos	Pot	TAsp	GN	Intensidade	
				Normalizada	Pontos
1	-1	-1	-1	2,954717	Planejamento Fatorial
2	-1	-1	+1	0,80929	
3	-1	+1	-1	3,686856	
4	-1	+1	+1	1,046305	
5	+1	-1	-1	3,485137	
6	+1	-1	+1	0,998698	
7	+1	+1	-1	4,355415	
8	+1	+1	+1	1,233734	
9	-1,68	0	0	1,600373	Pontos Axiais
10	+1,68	0	0	2,306586	
11	0	-1,68	0	1,563975	
12	0	+1,68	0	2,218902	
13	0	0	-1,68	4,571414	
14	0	0	+1,68	0,932366	
15	0	0	0	2,094024	Ponto Central + Repetições
16	0	0	0	2,040377	
17	0	0	0	2,10911	

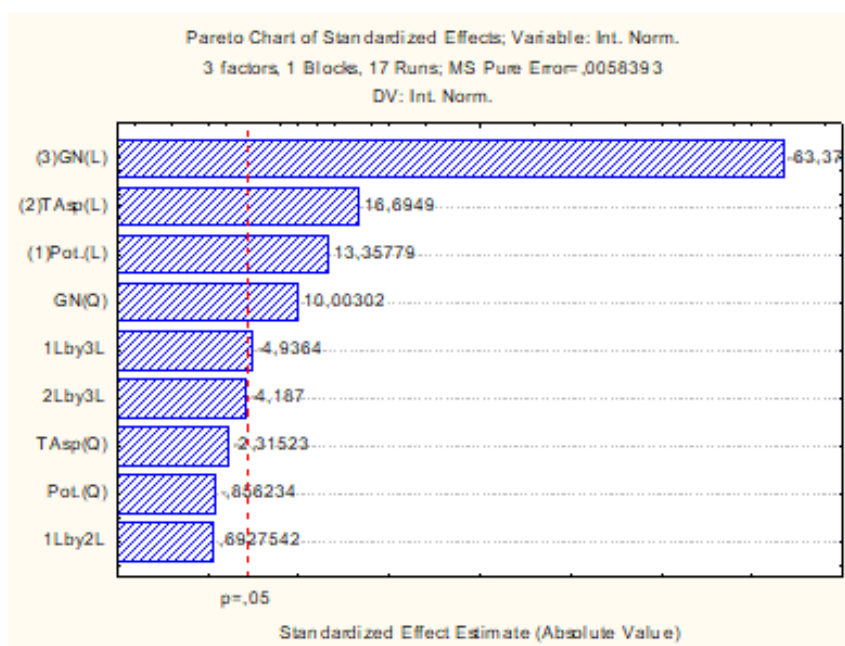
A intensidade normalizada foi a maneira encontrada de agrupar as diferentes respostas de cada analito em uma resposta única que representasse cada experimento. A normalização das intensidades avaliadas é feita dividindo-se o valor de intensidade de cada elemento em determinado experimento pelo maior valor obtido nas intensidades do mesmo elemento. O valor deve estar compreendido entre 0 e 1. Após realizar esse procedimento para todas os elementos avaliados, faz-se o somatório dos valores por experimento. A partir das intensidades normalizadas, foi

calculado os coeficientes da equação para descrever o modelo. A Equação 24 mostra o modelo ajustado para a otimização já com os termos significativos:

$$\begin{aligned} \text{Int. Norm.} = & 3,446 + 0,552 \times (\text{Pot}) + 0,690 \times (\text{TAsp}) - 2,620 \times (\text{GN}) + 0,488 \times (\text{GN})^2 + \\ & \pm 0,025 \quad \pm 0,041 \quad \pm 0,041 \quad \pm 0,041 \quad \pm 0,042 \\ & - 0,267 \times (\text{Pot}) \times (\text{GN}) \quad (24) \\ & \pm 0,054 \end{aligned}$$

Os parâmetros significativos do modelo estão representados no diagrama de Pareto (Figura 32) obtido pelo software *Statistica*. A linha tracejada, corresponde ao efeito mínimo que uma variável, ou interação entre elas, deve produzir para causar variação significativa no sinal analítico com uma confiança de 95%. Para os termos lineares todos os três fatores estudados foram significativos e apenas ao fluxo do gás de nebulização (GN) foi significativo no termo quadrático.

Figura 32 - Diagrama de Pareto dos termos da equação do modelo.



Para a validação do ajuste do modelo foi realizada a análise de variância (ANOVA) conforme mostrado na Tabela 32.

Tabela 32 - Análise de Variância (ANOVA) do modelo.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	p-value
Pot (L)	1,042	1	1,042	178,431	0,005588*
TAsp (L)	1,628	1	1,628	278,720	0,003569*
GN (L)	23,451	1	23,451	4016,054	0,000249*
GN (Q)	0,77643	1	0,77643	132,968	0,007437*
Pot x GN	0,14229	1	0,14229	24,368	0,038673*
Falta de Ajuste	0,5691	9	0,06232	10,673	0,088561
Erro Puro	0,01168	2	0,00584		
Total	27,61150	16			

$R^2 = 0,9726$ / R^2 ajustado = 0,9698

* Significativo para $p < 0,05$

Para a falta de ajuste o p-value foi não significativo ($> 0,05$) aceitando-se a hipótese de que a equação do modelo é adequada para descrever os dados, permitindo gerar as superfícies de resposta (Figura 33, 34 e 35):

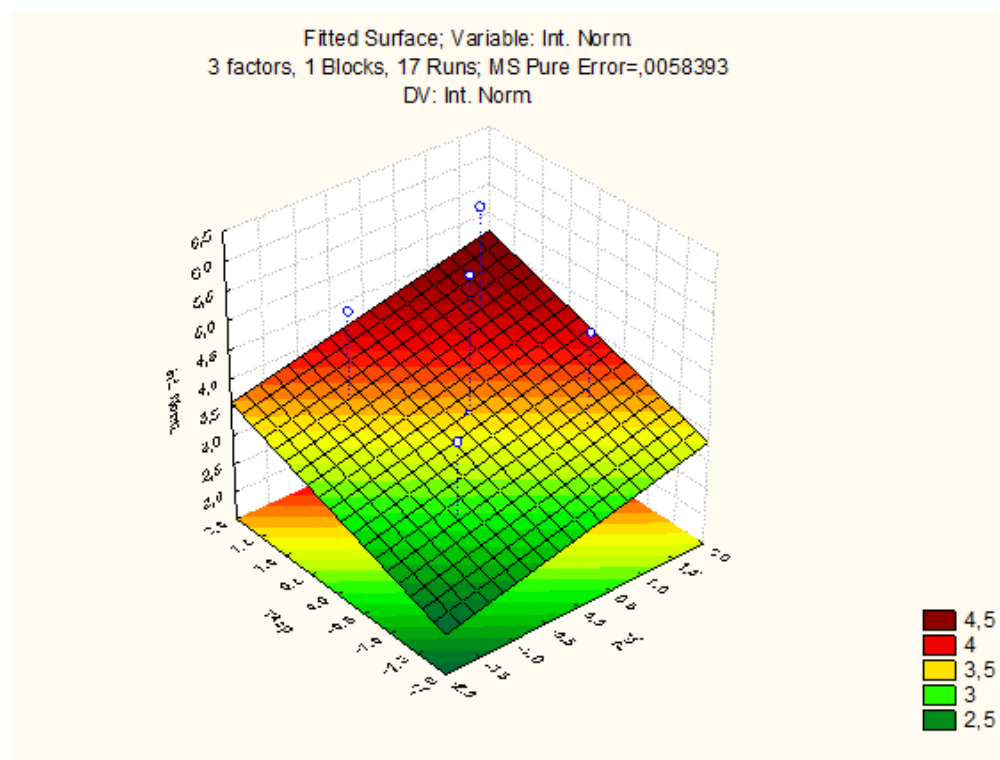
Figura 33 - Superfície de resposta Pot, X TAsp.

Figura 34 - Superfície de resposta GN x Pot.

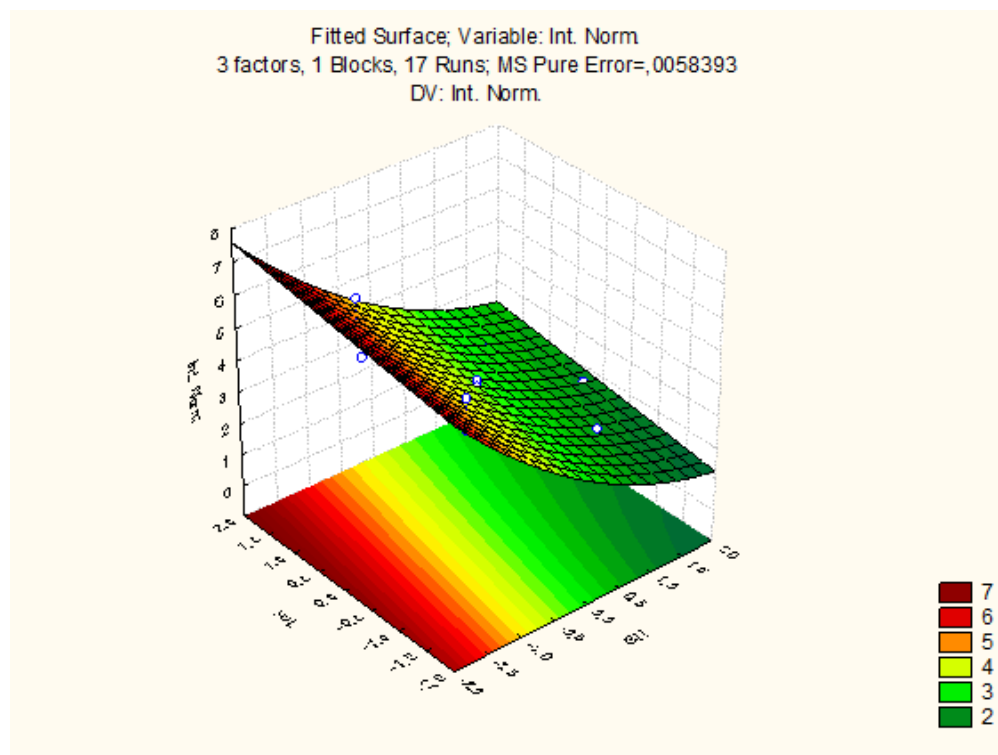
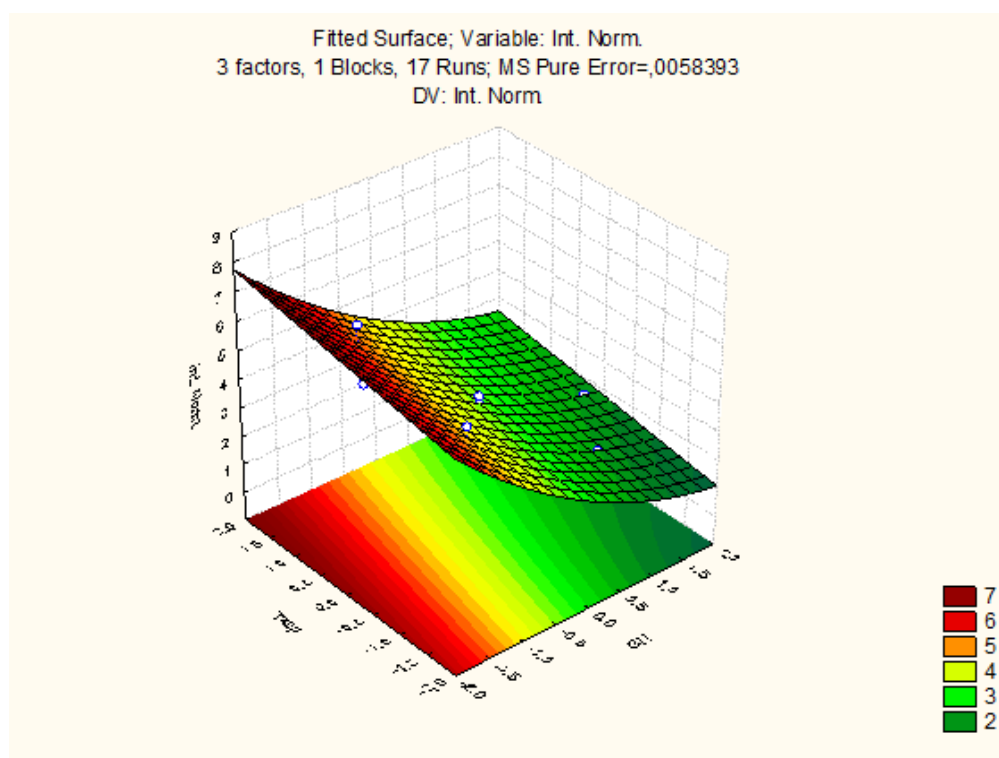


Figura 35 - Superfície de resposta GN x TAsp.



Analisando as superfícies de respostas foi possível perceber que o acréscimo do sinal analítico (intensidade normalizada) é representado pela região de cor vermelha intensa. Isto ocorre em baixos fluxos do gás de nebulização, alta potência de RF e alta taxa de aspiração.

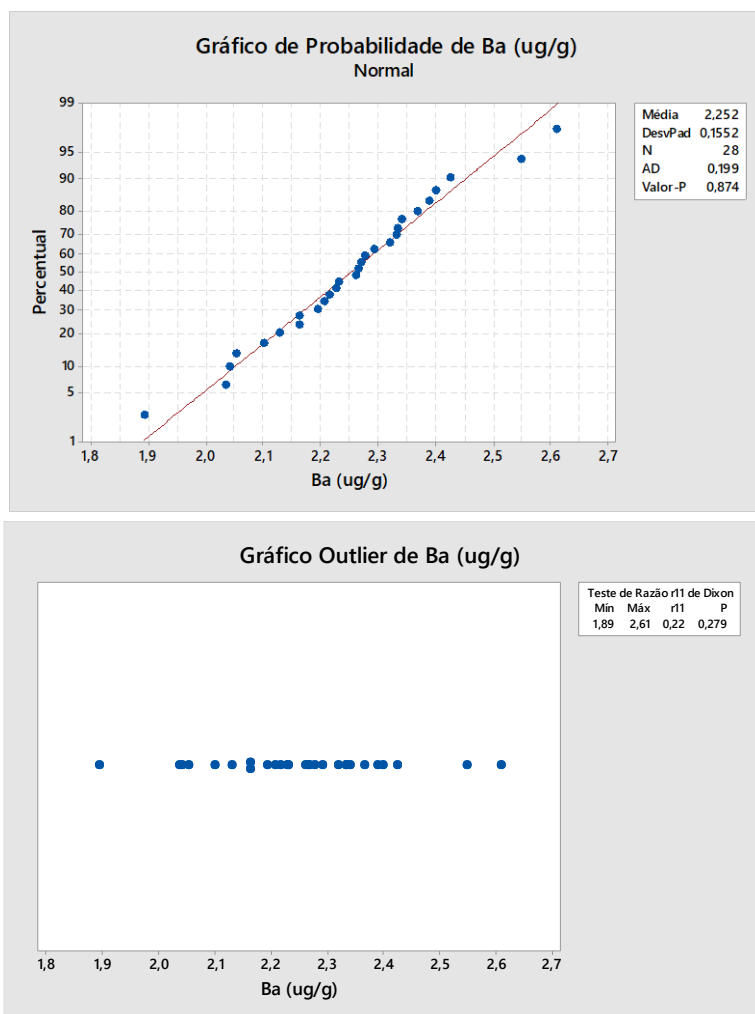
O efeito do GN pode ser explicado pelo fato do fluxo de gás mais alto diminuir o tempo de residência dos analitos no plasma, ocasionando o esfriamento do plasma, e reduzindo assim, a quantidade de átomos e espécies ionizadas e por consequência o sinal analítico. Em relação à potência, o seu aumento ocasiona um acréscimo do sinal analítico, visto que o plasma se torna mais energético e quente, resultando em maiores quantidades de átomos ou íons ionizados, provocando o aumento da emissão de radiação e da intensidade do sinal. Já a TAsp controla a quantidade de massa do analito que entra na câmara de nebulização, então, quanto mais amostra por unidade de tempo chega à câmara, maior é a quantidade de átomos que chegará ao plasma, resultando em maiores quantidades de átomos e íons ionizados e com isso aumentando a emissão de radiação.

Com o intuito de obter os valores para os pontos ótimos de cada parâmetro, foi realizada a derivada parcial do modelo em relação aos fatores avaliados obtendo as melhores condições de 1300 W para a potência de RF, 0,8 L min⁻¹ para o fluxo de gás de nebulização e 1,5 mL min⁻¹ para a taxa de aspiração.

APÊNDICE B

Testes de Normalidade e Outliers das replicatas do estudo de homogeneidade

- **Bário**



Teste de Outlier: Ba (ug/g)

Método

Hipótese nula Todos os valores de dados são provenientes da mesma população normal
 Hipótese alternativa O menor ou o maior valor dos dados é um outlier
 Nível de significância $\alpha = 0,05$

Teste de Razão r11 de Dixon

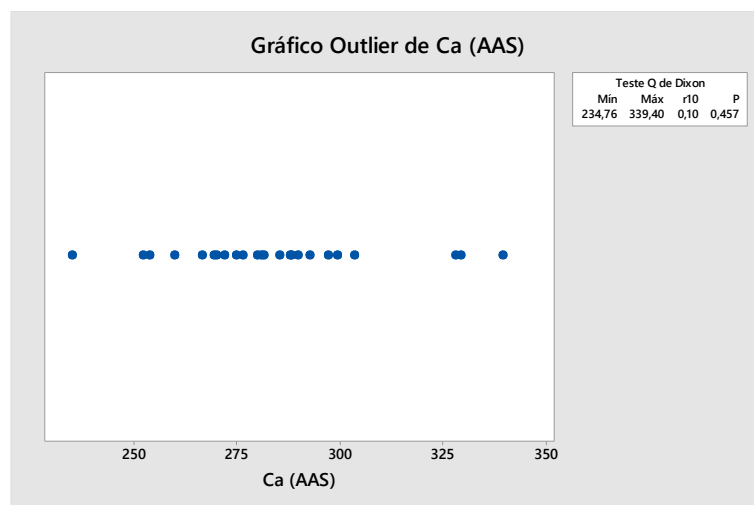
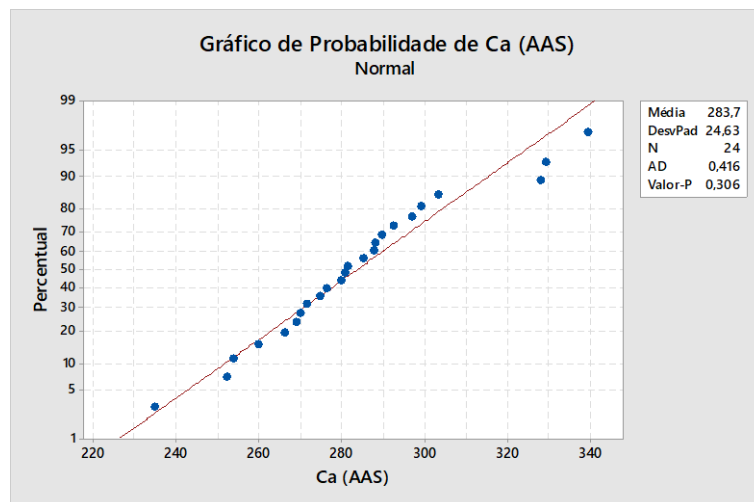
Variável	N	Mín	x[2]	x[N-1]	Máx	r11	P
Ba (ug/g)	28	1,8925	2,0352	2,5481	2,6098	0,22	0,279

x[i] denota a i-ésima menor observação.

* NOTA * Nenhum outlier no nível de significância 5%

Gráfico Outlier de Ba (ug/g)

• Cálcio



Teste de Outlier: Ca (AAS)

Método

Hipótese nula Todos os valores de dados são provenientes da mesma população normal
 Hipótese alternativa O maior valor dos dados é um outlier
 Nível de significância $\alpha = 0,05$

Teste Q de Dixon

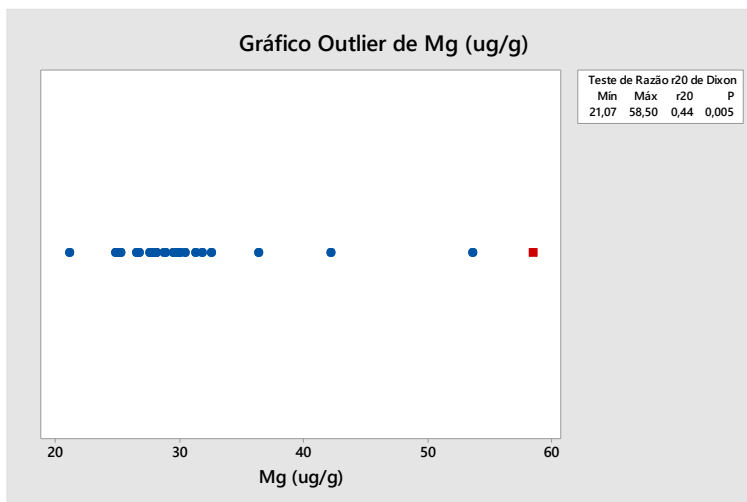
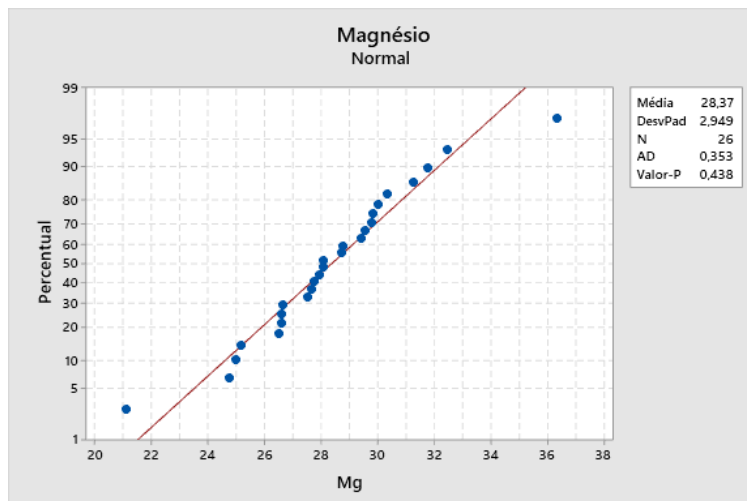
Variável	N	Mín	x[2]	x[N-1]	Máx	r10	P
Ca (AAS)	24	234,76	252,14	329,06	339,40	0,10	0,457

$x[i]$ denota a i -ésima menor observação.

* NOTA * Nenhum outlier no nível de significância 5%

Gráfico Outlier de Ca (AAS)

• Magnésio



Teste de Outlier: Mg (ug/g)

Método

Hipótese nula Todos os valores de dados são provenientes da mesma população normal
 Hipótese alternativa O maior valor dos dados é um outlier
 Nível de significância $\alpha = 0,05$

Teste de Razão r20 de Dixon

Variável	N	Min	x[2]	x[3]	x[N-2]	x[N-1]	Máx	r20	P
Mg (ug/g)	29	21,07	24,72	24,98	42,18	53,64	58,50	0,44	0,005

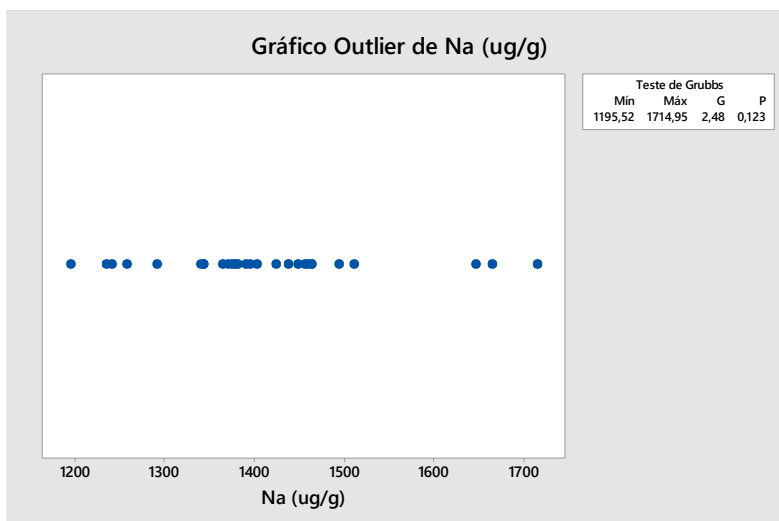
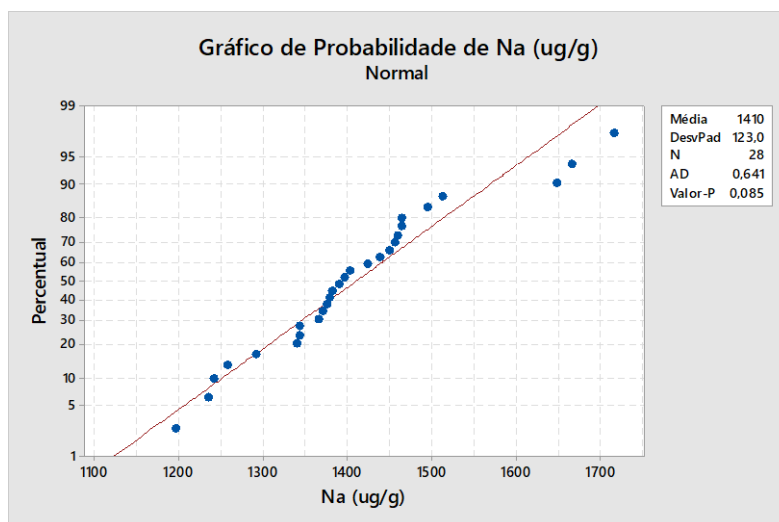
$x[i]$ denota a i-ésima menor observação.

Outlier

Variável	Linha	Outlier
Mg (ug/g)	5	58,4976

Gráfico Outlier de Mg (ug/g)

• Sódio



Teste de Outlier: Na (ug/g)

Método

Hipótese nula Todos os valores de dados são provenientes da mesma população normal
 Hipótese alternativa O maior valor dos dados é um outlier
 Nível de significância $\alpha = 0,05$

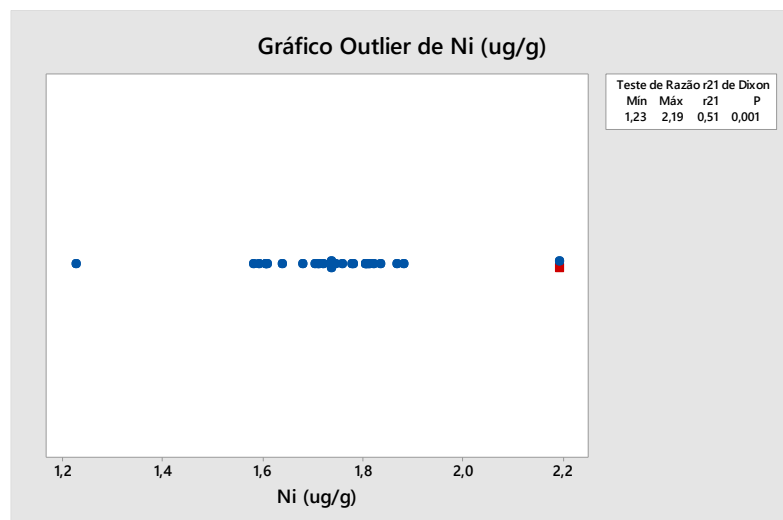
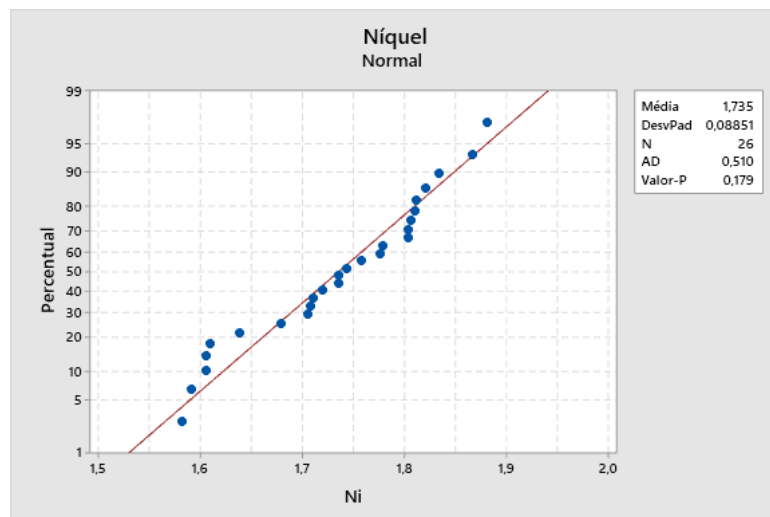
Teste de Grubbs

Variável	N	Média	DesvPad	Mín	Máx	G	P
Na (ug/g)	28	1410,2	123,0	1195,5	1715,0	2,48	0,123

* NOTA * Nenhum outlier no nível de significância 5%

Gráfico Outlier de Na (ug/g)

• Níquel



Teste de Outlier: Ni (ug/g)

Método

Hipótese nula Todos os valores de dados são provenientes da mesma população normal
Hipótese alternativa O maior valor dos dados é um outlier
Nível de significância $\alpha = 0,05$

Teste de Razão r21 de Dixon

Variável	N	Mín	x[2]	x[3]	x[N-2]	x[N-1]	Máx	r21	P
Ni (ug/g)	29	1,2260	1,5814	1,5908	1,8819	2,1922	2,1922	0,51	0,001

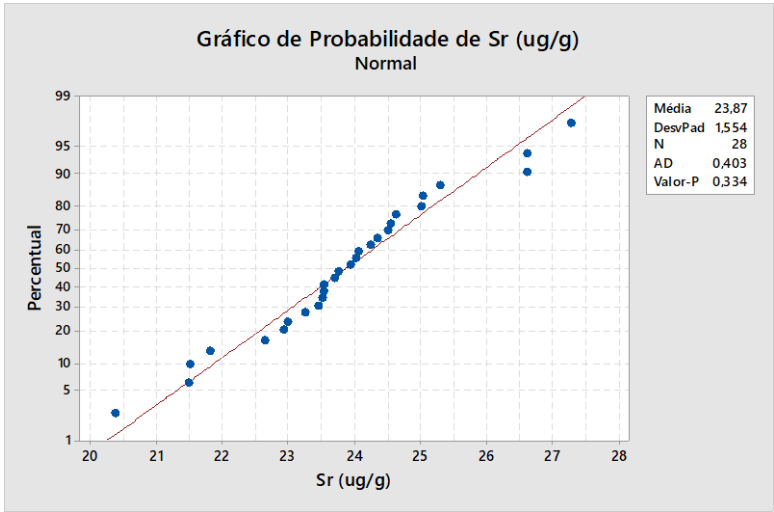
x[i] denota a i-ésima menor observação.

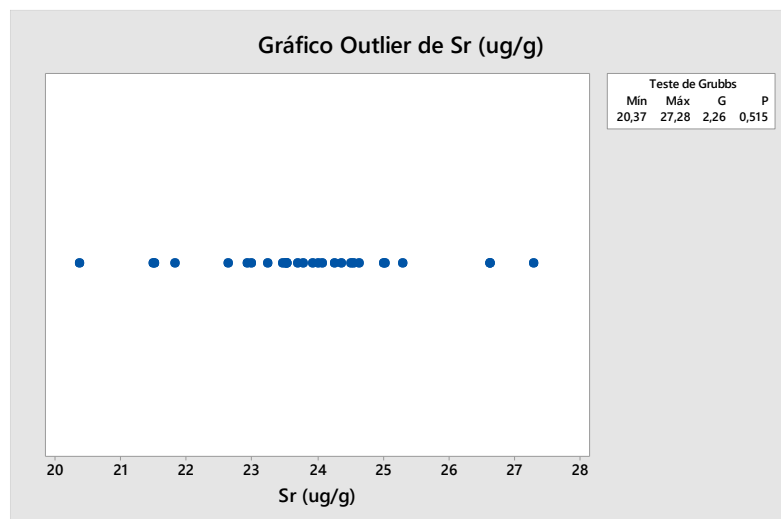
Outlier

Variável	Linha	Outlier
Ni (ug/g)	15	2,19223

Gráfico Outlier de Ni (ug/g)

• Estrôncio





Teste de Outlier: Sr (ug/g)

Método

Hipótese nula: Todos os valores de dados são provenientes da mesma população normal
 Hipótese alternativa: O menor ou o maior valor dos dados é um outlier
 Nível de significância: $\alpha = 0,05$

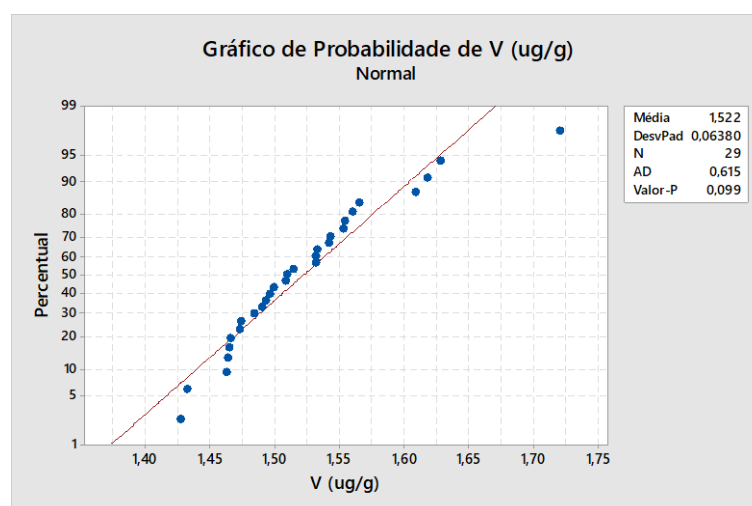
Teste de Grubbs

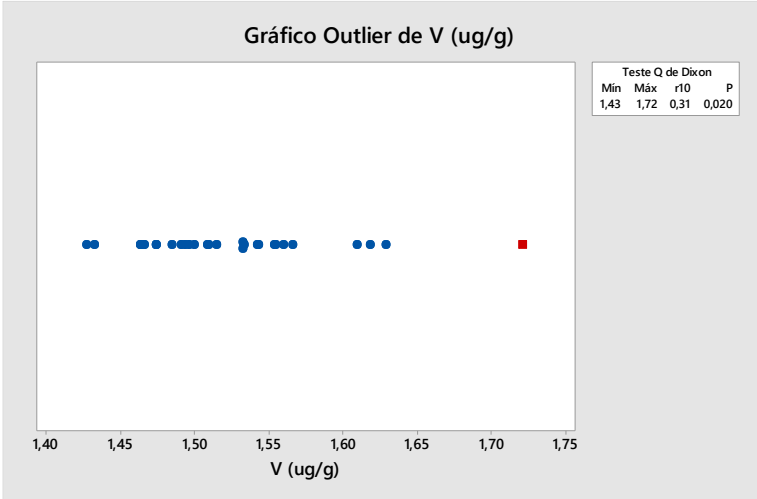
Variável	N	Média	DesvPad	Min	Máx	G	P
Sr (ug/g)	28	23,874	1,554	20,366	27,276	2,26	0,515

* NOTA * Nenhum outlier no nível de significância 5%

Gráfico Outlier de Sr (ug/g)

• Vanádio





Teste de Outlier: V (ug/g)

Método

Hipótese nula Todos os valores de dados são provenientes da mesma população normal
Hipótese alternativa O maior valor dos dados é um outlier
Nível de significância $\alpha = 0,05$

Teste Q de Dixon

Variável	N	Min	$x[2]$	$x[N-1]$	Máx	r10	P
V (ug/g)	29	1,4268	1,4321	1,6282	1,7202	0,31	0,020

$x[i]$ denota a i -ésima menor observação.

Outlier

Variável	Linha	Outlier
V (ug/g)	14	1,72023

Gráfico Outlier de V (ug/g)

APÊNDICE C

Tabela 33 – Fração Mássica ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos resultados obtidos no estudo colaborativo.

Parâmetro	Laboratório	Bloco Amostra	Resultados ($\mu\text{g g}^{-1}$)			Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Amplitude ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ba	2	1	2,35	2,08	2,24	2,22	0,16
Ba	3	1	0,71	0,68	0,66	0,68	0,02
Ba	3	2	0,82	0,9	0,88	0,87	0,03
Ba	4	1	2,68	1,72	1,83	2,08	0,36
Ba	4	2	2,41	1,84	2,02	2,09	0,25
Ba	5	1	0,876	0,88	0,837	0,86	0,04
Ca	2	1	254	260	281	265	21
Ca	3	1	91,2	73,4	83,7	82,8	10,3
Ca	3	2	132	146	135	138	11
Ca	4	1	139	109	38,1	95,	70,5
Ca	4	2	430	745	452	542	293
Ca	5	1	90,6	91,8	87,2	89,9	4,6
Ca	5	2	87,2	85,7	85,6	86,1	0,74
Co	2	1	0,129	0,115	0,119	0,121	0,14
Co	3	1	0,99	0,96	0,96	0,97	0,03
Co	3	2	0,99	0,97	0,97	0,97	0,02
Co	4	1	0,9	0,6	0,8	0,7	0,03
Co	4	2	0,7	0,5	0,7	0,6	0,03
Co	5	1	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Co	5	2	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Fe	2	1	2,05	1,95	1,87	1,95	0,18
Fe	3	1	5,23	4,17	3,72	4,37	1,51
Fe	3	2	6,62	8,19	5,91	6,90	2,28
Fe	4	1	10,13	6,87	6,79	7,9	3,33
Fe	4	2	8,86	8,95	7,38	8,39	1,57
Fe	5	1	1,206	1,172	1,164	1,18	0,042
Fe	5	2	1,163	1,216	1,176	1,18	0,053
Mg	1	1	36,63	34,22	32,58	34,5	1,9

Parâmetro	Laboratório	Bloco Amostra	Resultados ($\mu\text{g g}^{-1}$)			Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Amplitude ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Mg	1	2	34,6	28,16	29,68	30,8	2,7
Mg	2	1	27,8	26,6	27,4	27,3	0,8
Mg	3	1	10,4	10,4	1,08	1,05	0,04
Mg	3	2	12,6	16,5	1,41	1,44	0,24
Mg	4	1	15,3	14,0	13,0	14,1	1,16
Mg	4	2	21,2	36,0	21,7	26,3	14,3
Mg	5	1	9,26	9,13	8,67	9,02	0,45
Mg	5	2	8,67	8,50	8,58	8,58	0,08
Mo	3	1	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Mo	3	2	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Mo	4	1	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Mo	4	2	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Mo	5	1	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Mo	5	2	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Mn	2	1	0,103	0,100	0,092	0,098	0,011
Mn	3	1	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Mn	3	2	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Mn	4	1	0,67	0,11	0,11	0,30	0,56
Mn	4	2	0,67	0,12	0,12	0,30	0,55
Mn	5	1	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Mn	5	2	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Na	1	1	1020	1216	1270	1169	101
Na	1	2	1153	1131	1274	1186	142
Na	2	1	1576	1390	1435	1467	77
Na	3	1	438	487	423	449	64
Na	3	2	516	574	581	557	24
Na	4	1	977	994	1024	999	30
Na	4	2	832	1180	834	949	346
Na	5	1	484	490	460	478	30
Na	5	2	464	454	454	457	3
Ni	2	1	1,75	1,80	1,96	1,84	0,16
Ni	3	1	1,62	1,54	1,56	1,57	0,03

Parâmetro	Laboratório	Bloco Amostra	Resultados ($\mu\text{g g}^{-1}$)			Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Amplitude ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ni	3	2	1,5	1,6	1,51	1,54	0,09
Ni	4	1	1,86	1,54	1,58	1,66	0,12
Ni	4	2	1,66	1,59	1,93	1,73	0,34
Ni	5	1	1,884	1,871	1,865	1,870	0,008
Ni	5	2	1,835	1,917	1,893	1,882	0,035
Sr	1	1	20,4	19,0	21,4	20,3	2,4
Sr	1	2	19,0	19,6	21,3	20,0	1,77
Sr	2	1	25	23,8	24,8	25	1
Sr	3	1	11,3	11,2	10,0	10,8	0,12
Sr	3	2	12,6	13,7	13,3	13,2	0,05
Sr	4	1	11,48	11,53	11,74	11,58	0,21
Sr	4	2	10,29	14,61	10,51	11,80	4,1
V	2	1	1,71	1,63	1,75	1,70	0,06
V	3	1	1,81	1,76	1,8	1,79	0,03
V	3	2	1,85	1,85	1,81	1,84	0,02
V	4	1	1,78	1,85	1,7	1,78	0,07
V	4	2	2,13	1,59	2,08	1,93	0,30
V	5	1	1,983	1,964	1,951	1,97	0,02
V	5	2	1,97	1,991	2,011	1,99	0,02

n.d. – não detectado

APÊNDICE D

Desempenho dos métodos *in house*

3.1) Limites de detecção e Quantificação

Tabela 3.1 - LD do método e LQ na amostra

Procedimentos	Parâmetros	Ba	Ca	Mg	Na	Ni	Sr	V
Método 1 MW¹	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,81	1,13	0,641	2,16	0,705	0,004	0,753
	LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1,21	2,75	2,57	2,89	0,470	0,97	0,500
Método 2 EIQE²	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,12	1,2	0,14	5,8	-	-	-
	LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,019	0,21	0,023	0,97	-	-	-
Método 3 NANO³	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	-	5,6	3,9	9,8	-	0,12	-
	LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	-	1,9	1,3	3,3	-	0,039	-
Método 4 N2440^{4,1}	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,0	1,0	1,2	1,1	-	2,0	-
	LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,014	0,014	0,016	0,14	-	0,027	-
	LO ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,28	0,49	0,15	15	-	0,020	-

¹Deste estudo; ²Trevelin e colaboradores; ³Vieira e colaboradores; ⁴Vieira

3.2) Tendência/Recuperação

Tabela 3.2.1 – Análise de Material de referência

Materiais de Referência	Analitos	Valor de referência	Método 1 MW	Método 2 EIQE	Método 3 NANO	Método 4 N2440
NIST 1085b	Ca	298 ^a	-	-	245,0 ± 11,8	-
	Mg	297,3 ± 4,1	-	-	294,4 ± 5,2	-
NIST 1634c	Ni	17,54 ± 0,21	15,01 ± 0,63	-	-	-
	V	28,19 ± 0,40	31,4 ± 1,3	-	-	-
	Ba	1,8 ^a	1,69 ± 0,07	1,8 ± 0,18	-	-
	Na	37 ^a	33 ± 5	36,7 ± 2,2	38,6 ± 0,6	-

^aValor informativoTabela 3.2.2 – Fortificação e recuperação analítica¹ (%)

Analitos	Método 1 MW	Método 2 EIQE	Método 3 NANO	Método 4 N2440
Ba	97	96	90	76
Ca	96	102	90	74
Mg	95	104	90	68
Na	93	102	98	76
Sr	96	107	91	76

¹Vieira (2017)

APÊNDICE E - Certificado do Material de Referência



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

LABORATÓRIO DE ESPECTROMETRIA ATÔMICA (LEA)
CERTIFICADO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA N°: PC-1

Elementos traço em Petróleo

Dados do produtor

Laboratório de Espectrometria Atômica (LEA)/ LABPETRO/ UFES
Av. Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, Vitória, Espírito Santo, Brasil, CEP 29075-710
Tel: (27) 3145-4517 / e-mail: lea.labpetro@gmail.com

Uso pretendido

Este material de referência destina-se ao uso em controle de qualidade analítica ou verificação de desempenho de métodos de ensaios de elementos traço para amostras de petróleo.

Valores atribuídos

- **Valores certificados** - valores atribuídos com suas respectivas incertezas de medição e que apresentam rastreabilidade metrológica adequada para todas as medições realizadas. Os valores certificados reportados em fração mássica e suas respectivas incertezas estão listados na Tabela 1.
- **Valores de referência** - valores atribuídos com suas respectivas incertezas de medição, porém não apresentam rastreabilidade metrológica adequada. Os valores de referência reportados em fração mássica e suas respectivas incertezas estão listados na Tabela 2.
- **Valores informativos** - valores de propriedade que não puderam ser atribuídos estatisticamente. São fornecidos para auxiliar os usuários nas análises de elementos de interesse em desenvolvimento de métodos e outras aplicações. Os valores informativos em fração mássica estão listados na Tabela 3.

As técnicas de medição utilizadas estão mostradas na Tabela 4.

Tabela 1- Valores certificados em fração mássica ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Elemento	Valor atribuído $\pm$	$U_{RM} (k=2^*)$
	$U_{RM} (k=2^*) (\mu\text{g g}^{-1})$	(%)
Ni	$1,76 \pm 0,28$	16%
V	$1,61 \pm 0,21$	13%

*Intervalo a 95% de confiança.

Tabela 2 - Valores de referência em fração mássica ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Elemento	Valor atribuído $\pm$ $U_{RM} (k=2^*) (\mu\text{g g}^{-1})$	$U_{RM} (k=2^*)$ (%)
Ba	$2,14 \pm 0,81$	38%
Na	1460 ± 240	16,5%
Sr	$24,6 \pm 5,6$	22,8%

*Intervalo a 95% de confiança.

Tabela 3 - Valores informativos em fração mássica ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Elemento	Valor atribuído ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ca	232
Co	0,8
Fe	4,2
Mg	29,2

Tabela 3 - Valores informativos em fração mássica ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Elemento	Técnicas	Classificação
Ba	ICP OES; ICP MS	Valor de referência
Ca	F AAS; ICP OES	Valor informativo
Co	ICP OES; ICP MS	Valor informativo
Fe	ICP OES; ICP MS	Valor informativo
Mg	ICP OES	Valor informativo
Na	ICP OES	Valor de referência
Ni	ICP OES; ICP MS	Valor Certificado
Sr	ICP OES	Valor de referência
V	ICP OES; ICP MS	Valor Certificado

Técnicas:

F AAS – Espectrometria de Absorção Atômica por chama

ICP OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente

ICP-MS Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente

**Obtenção do material**

Para o preparo do material de referência de petróleo, foi utilizado cerca de 3 kg de petróleo provenientes da Petroteca do Labpetro da Universidade Federal do Espírito Santo, as quais foram cedidas pelo Núcleo de Competências em Química do Petróleo/Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Metodologias para Análise de Petróleo (Vitória/ES).

Preparação do material de referência

Para o preparo do material de referência, as amostras de petróleo selecionadas foram pré-aquecidas em estufa à 50°C por 30 minutos e misturadas em um béquer de vidro de 4 L utilizando um homogeneizador tipo “*high speed mixer*”. Para garantir a homogeneização satisfatória do *blend*, foi monitorado o teor de água emulsionada de subamostras retiradas da superfície, meio e fundo do béquer. Esse monitoramento ocorreu ao final de cada ciclo de homogeneização até que a diferença entre as medidas fosse estatisticamente não significativa (95% de confiança). O teor de água emulsionada foi determinado conforme a norma ASTM 4377-00 - *Standard Test Method for Water in Crude Oils by Potentiometric Karl Fischer Titration*. Após a homogeneização, a amostra foi envasada em frascos de vidro âmbar de 20 mL previamente descontaminados. Foram produzidas 115 unidades. Todas as etapas de preparo seguiram as normas ISO GUIA 30, 31, 33, 34 e 35.

Instruções para uso

A massa mínima recomendada para a análise é de 100 mg. Para retirada das alíquotas, colocar o frasco fechado em estufa (50 – 60°C) por cerca de 15 minutos. Após esse tempo, retirar da estufa e agitar manualmente de forma vigorosa por cerca de 5 minutos. Deve-se ainda tomar as devidas precauções para evitar a contaminação do material restante no frasco.

Transporte e Armazenamento

O material pode ser transportado até a temperatura de +50 °C sem danos na qualidade do material. Para armazenamento dentro do laboratório, o material deve ser mantido fechado no frasco original e armazenado no escuro em temperatura ambiente do laboratório (20 à 26°C). Não é necessário refrigerar. É assegurada a integridade deste material até a abertura de sua embalagem.

Prazo de validade

O prazo de validade do material é de 2 anos a partir da data de certificação (ago/18). É possível que o material seja estável por tempo maior que o definido e será monitorado anualmente. Qualquer alteração será informada. O certificado não terá validade caso o MRC seja danificado, contaminado, alterado ou ainda armazenado inadequadamente.

Comutatividade

Não foi avaliada a comutatividade do presente material.

ANEXO 1 - Rastreabilidade Metrológica



Certificado de Calibração

004727/16

Data da Calibração: 26/07/2016

Laboratório de Calibração Acreditado pela CGCRE de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005, sob nº CAL 0462.



1. Dados do Solicitante

Ciente: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA E I. DO ESPÍRITO SANTO - FAPES
Endereço: AV FERNANDO FERRARI - Mata da Praia - Vitória-ES
Solicitante: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA E I. DO ESPÍRITO SANTO - FAPES
Endereço: AV FERNANDO FERRARI - Mata da Praia - Vitória-ES

2. Dados do Instrumento Calibrado

Instrumento:	Balança	Localização:	
Identificação:	27406704	Faixa de Indicação:	0,0000 a 220,0000 g
Número de Série:	27406704	Resolução:	0,0001 g / 0,0001 g
Modelo:	ED224S	Faixa de Calibração:	0,1000 a 210,0000 g / 0,1000 a 220,0000 g
Fabricante:	Sartorius	Ordem de Serviço:	3001/16
Classe:	I	Data da Calibração:	26/07/2016
e:	0,001		

3. Dados do Ambiente

Temperatura: 23°C ± 2°C **Pressão Barométrica:** 1.019,35 hPa ± 2,00 hPa **Umidade Rel.:** 68,5% ± 15,0%

4. Padrões Utilizados

Código	Descrição	Certificado	Rastreabilidade	Validade
M011	Peso Padrão (13 Peças)	MA 016_04_16	Padrão Tecnologia em Balanças e Comercio Ltda ME	07/04/2018
M008	Peso Padrão (9 peças)	MA 311_08_15	Padrão Tecnologia em Balanças e Comercio Ltda ME	14/09/2017

5. Procedimento

A calibração foi realizada conforme procedimento PTM-025 - onde a balança foi submetida a medições sendo utilizados pesos padrão. Foram realizadas 5 series de medições.

6. Resultados da Calibração

Antes do Ajuste

(g)

Valor Nominal	Média Leituras	Erro	Incerteza	k	Veff
0,1000	0,0999	-0,0001	0,0003	2,00	∞
50,0000	50,0400	0,0400	0,0004	2,01	∞
100,0000	100,0792	0,0792	0,0004	2,00	∞
160,0000	160,1273	0,1273	0,0005	2,00	∞
210,0000	210,1686	0,1686	0,0006	2,00	∞

Após o Ajuste

(g)

Valor Nominal	Média Leituras	Erro	Incerteza	k	Veff
0,1000	0,1000	0,0000	0,0003	2,00	∞



Filipe Aderne Maia
"Signatário Autorizado"

Este certificado é válido exclusivamente para o objeto calibrado descrito nas condições específicas, não sendo extensivo a quaisquer lotes, mesmo que similares. Não é permitida a reprodução deste certificado, somente original. Certificado conferido e assinado eletronicamente. Este certificado atende aos requisitos de acreditação pela CGCRE que avaliou a competência do laboratório e comprovou sua rastreabilidade a padrões nacionais de medidas (ou ao Sistema Internacional de Unidades - SI).

METROLOGY MEDIÇÕES & TECNOLOGIA Eireli EPP
 Av. Paulino Muller, 161 - Ilha de Santa Maria - CEP: 29.051-030 - Vitória - ES - Tel / Fax.: (27) 3222-4820 / 3026-4823

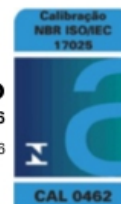


Certificado de Calibração

004727/16

Data da Calibração: 26/07/2016

Laboratório de Calibração Acreditado pela CGCRE de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005, sob nº CAL 0462.



50,0000	50,0003	0,0003	0,0003	2,00	∞
100,0000	99,9999	-0,0001	0,0004	2,00	∞
160,0000	160,0004	0,0004	0,0005	2,00	∞
220,0000	220,0017	0,0017	0,0006	2,00	∞

6.1 Excentricidade e Repetição

Teste de Excentricidade					
Posição	1	2	3	4	5
Valores (g)	60,0002	60,0003	60,0002	60,0008	60,0007
Teste de Repetição					
Repetições	1	2	3	4	5
Valores (g)	60,0004	60,0003	60,0004	60,0002	60,0002

7. Observações

A Incerteza expandida de medição relatada é declarada como a incerteza padrão da medição multiplicada pelo fator de abrangência k, que para uma distribuição normal corresponde a uma probabilidade de abrangência de aproximadamente 95,45%. O fator (K) e um multiplicativo tabelado. A incerteza de medição foi determinada de acordo com a publicação EA-4/02.

O serviço de ajuste não faz parte do escopo de acreditação.



Filipe Aderne Maia
"Signatário Autorizado"

Este certificado é válido exclusivamente para o objeto calibrado descrito nas condições específicas, não sendo extensivo a quaisquer lotes, mesmo que similares. Não é permitida a reprodução deste certificado, somente original. Certificado conferido e assinado eletronicamente. Este certificado atende aos requisitos de acreditação pela CGCRE que avaliou a competência do laboratório e comprovou sua rastreabilidade a padrões nacionais de medidas (ou ao Sistema Internacional de Unidades - SI).

METROLOGY MEDIÇÕES & TECNOLOGIA Eireli EPP
Av. Paulino Muller, 161 - Ilha de Santa Maria - CEP: 29.051-030 - Vitória - ES - Tel / Fax.: (27) 3222-4820 / 3026-4823

Pág. 2/2



300 Technology Drive
Christiansburg, VA 24073 - USA
info@inorganicventures.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

tel: 800.669.6799 • 540.585.3030
fax: 540.585.3012
info@inorganicventures.com

1.0 ACCREDITATION / REGISTRATION

INORGANIC VENTURES is accredited to ISO Guide 34, "General Requirements for the Competence of Reference Material Producers" and ISO/IEC 17025, "General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories". Inorganic Ventures is also an ISO 9001 registered manufacturer (QSR Certificate Number QSR-1034).



2.0 PRODUCT DESCRIPTION

Product Code: Multi Analyte Custom Grade Solution

Catalog Number: IV-STOCK-4

Lot Number: K2-MEB650328

Matrix: 5% (v/v) HNO₃

Value / Analyte(s): 1 000 µg/mL ea:

Silver,	Aluminum,	Boron,
Barium,	Bismuth,	Calcium,
Cadmium,	Cobalt,	Chromium+3,
Copper,	Iron,	Gallium,
Indium,	Potassium,	Lithium,
Magnesium,	Manganese,	Sodium,
Nickel,	Lead,	Strontium,
Thallium,	Zinc	

3.0 CERTIFIED VALUES AND UNCERTAINTIES

ANALYTE	CERTIFIED VALUE	ANALYTE	CERTIFIED VALUE
Aluminum, Al	998 ± 5 µg/mL	Barium, Ba	998 ± 4 µg/mL
Bismuth, Bi	998 ± 6 µg/mL	Boron, B	998 ± 6 µg/mL
Cadmium, Cd	998 ± 4 µg/mL	Calcium, Ca	998 ± 4 µg/mL
Chromium+3, Cr3	998 ± 5 µg/mL	Cobalt, Co	998 ± 4 µg/mL
Copper, Cu	998 ± 4 µg/mL	Gallium, Ga	998 ± 4 µg/mL
Indium, In	998 ± 4 µg/mL	Iron, Fe	998 ± 4 µg/mL
Lead, Pb	998 ± 4 µg/mL	Lithium, Li	998 ± 6 µg/mL
Magnesium, Mg	998 ± 4 µg/mL	Manganese, Mn	998 ± 4 µg/mL
Nickel, Ni	998 ± 4 µg/mL	Potassium, K	998 ± 4 µg/mL
Silver, Ag	998 ± 5 µg/mL	Sodium, Na	998 ± 4 µg/mL
Strontium, Sr	998 ± 4 µg/mL	Thallium, Tl	998 ± 6 µg/mL
Zinc, Zn	998 ± 4 µg/mL		

Certified Density: 1.094 g/mL (measured at 20 ± 1 °C)

Assay Information:

ANALYTE	METHOD	NIST SRM#	SRM LOT#
Ag	ICP Assay	3151	992212
Ag	Volhard	999b	999b
Al	ICP Assay	3101a	060502
Al	EDTA	928	928
B	ICP Assay	3107	110830
Ba	ICP Assay	3104a	070222
Ba	Gravimetric		See Sec. 4.2
Bi	ICP Assay	3106	991212
Bi	Calculated		See Sec. 4.2
Ca	ICP Assay	3109a	050825
Ca	EDTA	928	928
Cd	ICP Assay	3108	060531
Cd	EDTA	928	928
Co	ICP Assay	3113	000630 Co
Co	EDTA	928	928
Cr3	ICP Assay	3112a	030730
Cr3	Calculated		See Sec. 4.2
Cu	ICP Assay	3114	121207
Cu	EDTA	928	928
Fe	ICP Assay	3126a	140812
Fe	EDTA	928	928
Ga	ICP Assay	3119a	140124
Ga	EDTA	928	928
In	ICP Assay	3124a	110516
In	EDTA	928	928
K	ICP Assay	3141a	051220
K	Gravimetric		See Sec. 4.2
Li	ICP Assay	3129a	100714
Li	Gravimetric		See Sec. 4.2
Mg	ICP Assay	3131a	050302
Mg	EDTA	928	928
Mn	ICP Assay	3132	050429
Mn	EDTA	928	928
Na	ICP Assay	3152a	120715
Na	Gravimetric		See Sec. 4.2
Ni	ICP Assay	3136	120619
Ni	EDTA	928	928
Pb	ICP Assay	3128	101026
Pb	EDTA	928	928
Sr	EDTA	928	928
Sr	ICP Assay	3153a	990906
Ti	ICP Assay	3158	993012
Zn	ICP Assay	3168a	120629
Zn	EDTA	928	928

The following equations are used in the calculation of the certified value and the uncertainty. Reported uncertainties represent expanded uncertainties expressed at approximately the 95% confidence level using a coverage factor of $k = 2$.

Characterization of CRM by two independent methods

Characterization of CRM by one method

Characterization of CRM/RM by Two Methods

Certified Value, $X_{\text{CRM/RM}}$, where two methods of characterization are used is the weighted mean of the two results:

$$X_{\text{CRM/RM}} = [(w_a)(X_a) + (w_b)(X_b)]$$

X_a = mean of Assay Method A with standard uncertainty $u_{\text{char a}}$

X_b = mean of Assay Method B with standard uncertainty $u_{\text{char b}}$

w_a and w_b = the weighting factors for each method calculated using the inverse square of the variance:

$$w_a = (1/u_{\text{char a}})^2 / ((1/u_{\text{char a}})^2 + (1/u_{\text{char b}})^2)$$

$$w_b = (1/u_{\text{char b}})^2 / ((1/u_{\text{char a}})^2 + (1/u_{\text{char b}})^2)$$

$$\text{CRM/RM Expanded Uncertainty } (\pm) = U_{\text{CRM/RM}} = k (u_{\text{char a}}^2 + u_{\text{char b}}^2 + u_{\text{bb}}^2 + u_{\text{ts}}^2)^{1/2}$$

k = coverage factor = 2 in all cases at Inorganic Ventures

$u_{\text{char a \& b}} = [(w_a)^2 (u_{\text{char a}})^2 + (w_b)^2 (u_{\text{char b}})^2]^{1/2}$ where $u_{\text{char a}}$ and $u_{\text{char b}}$ are the square root of the sum of the squares of errors from characterization which include instrument measurement, density, NIST SRM uncertainty, weighing, and volume

u_{bb} = bottle to bottle homogeneity standard uncertainty

u_{ts} = long term stability standard uncertainty (storage)

u_{ts} = transport stability standard uncertainty

Characterization of CRM/RM by One Method

Certified Value, $X_{\text{CRM/RM}}$, where one method of characterization is used is the mean of individual results:

$$X_{\text{CRM/RM}} = \text{mean of Assay Method A with standard uncertainty } u_{\text{char a}}$$

$$\text{CRM/RM Expanded Uncertainty } (\pm) = U_{\text{CRM/RM}} = k (u_{\text{char a}}^2 + u_{\text{bb}}^2 + u_{\text{ts}}^2)^{1/2}$$

k = coverage factor = 2 in all cases at Inorganic Ventures

$u_{\text{char a}} = \text{square root of the sum of the squares of the errors from characterization which include instrumental measurement, density, NIST SRM uncertainty, weighing, and volume}$

u_{bb} = bottle to bottle homogeneity standard uncertainty

u_{ts} = long term stability standard uncertainty (storage)

u_{ts} = transport stability standard uncertainty

4.0 TRACEABILITY TO NIST

- This product is traceable to NIST via an unbroken chain of comparisons. The uncertainties for each certified value are reported, taking into account the SRM/RM uncertainty error and the measurement, weighing and volume dilution errors. In rare cases where no NIST SRM/RM are available, the term 'in-house std.' is specified.

4.1 Thermometer Calibration

- All thermometers are NIST traceable through thermometers that are calibrated by an accredited calibration laboratory.

4.2 Balance Calibration

- All analytical balances are calibrated by an accredited calibration laboratory and procedure. The weights used for testing are annually compared to master weights and are traceable to NIST.

4.3 Glassware Calibration

- An in-house procedure is used to calibrate all Class A glassware used in the manufacturing and quality control of CRM/RMs.

5.0 TRACE METALLIC IMPURITIES (TMI) DETERMINED BY ICP-MS AND ICP-OES (µg/mL)

N/A

6.0 INTENDED USE

- For the calibration of analytical instruments and validation of analytical methods as appropriate.

7.0 INSTRUCTIONS FOR THE CORRECT USE OF THIS REFERENCE MATERIAL

7.1 Storage and Handling Recommendations

- Store between approximately 4° - 30° C while in sealed TCT bag.

- While stored in the sealed TCT bag, transpiration of this CRM/RM is negligible. After opening the sealed TCT bag transpiration of the CRM/RM will occur, resulting in a gradual increase in the analyte concentration(s). It is the responsibility of the user to account for this effect. When the bottle is weighed both before and after being placed in storage, the mass difference observed will be a measure of transpiration mass loss.

- After opening the sealed TCT bag keep cap tightly sealed when not in use. Store and use at 20° ± 4° C. Do not pipette from the container. Do not return removed aliquots to container.

- For more information, visit www.inorganicventures.com

8.0 HAZARDOUS INFORMATION

- Please refer to the Safety Data Sheet for information regarding this CRM/RM.

9.0 HOMOGENEITY

- This solution was mixed according to an in-house procedure and is guaranteed to be homogeneous. Homogeneity data indicate that the end user should take a minimum sample size of 0.2 mL to assure homogeneity.

10.0 QUALITY STANDARD DOCUMENTATION

10.1 10CFR50 Appendix B - Nuclear Regulatory Commission

- Domestic Licensing of Production and Utilization Facilities

10.2 10CFR21 - Nuclear Regulatory Commission

- Reporting defects and Non-Compliance

10.3 ISO 9001 Quality Management System Registration

- QSR Certificate Number QSR-1034

10.4 ISO/IEC 17025 "General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories"

- Chemical Testing - Accredited / A2LA Certificate Number 883.01

10.5 ISO Guide 34 "General Requirements for the Competence of Reference Material Producers"

- Reference Material Producer - Accredited / A2LA Certificate Number 883.02

Isorganic Ventures, 300 Technology Drive, Christiansburg, Va. 24073, USA, Telephone: 800.868.8789; 540.585.3830, Fax: 540.585.3012, info@isorganicventures.com

11.0 CERTIFICATION, LOT EXPIRATION AND PERIOD OF VALIDITY

11.1 Certification Issue Date

July 15, 2016

- The certification is valid within the measurement uncertainty specified provided the CRM/RM is stored and handled in accordance with instructions given in Sec 7.1. This certification is nullified if instructions in Sec 7.1 are not followed or if the CRM/RM is damaged, contaminated, or otherwise modified.

11.2 Lot Expiration Date

- July 15, 2020

- The date after which this CRM/RM should not be used.
- The lot expiration date reflects the period of time that the stability of a CRM/RM can be supported by long term stability studies conducted on properly stored and handled CRM/RMs. Lot expiration is limited primarily by transpiration (loss of water from the solution) and infrequently by chemical stability.

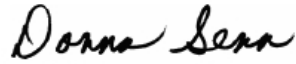
11.3 Period of Validity

- Sealed TCT Bag Open Date: _____

- This CRM/RM should not be used longer than one year from the date of removal from the aluminized bag or after the date given in Sec. 11.2, whichever comes first. This is contingent upon the CRM/RM being handled and stored in accordance with the instructions given in Sec 7.1.

12.0 NAMES AND SIGNATURES OF CERTIFYING OFFICERS**Certificate Prepared By:**

Donna Senn
Product Documentation Technician

**Certificate Approved By:**

Michael Booth
Supervisor, Quality Control

**Certifying Officer:**

Paul Gaines
CEO, Senior Technical Director





300 Technology Drive
Christiansburg, VA 24073 - USA
info@inorganicventures.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

tel: 800.669.6799 • 540.585.3030
fax: 540.585.3012
info@inorganicventures.com

1.0 ACCREDITATION / REGISTRATION

INORGANIC VENTURES is accredited to ISO Guide 34, "General Requirements for the Competence of Reference Material Producers" and ISO/IEC 17025, "General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories". Inorganic Ventures is also an ISO 9001 registered manufacturer (QSR Certificate Number QSR-1034).



2.0 PRODUCT DESCRIPTION

Product Code: Single Analyte Mass Spec Solution
Catalog Number: MSV-10PPM
Lot Number: N2-V666627
Matrix: 2% (v/v) HNO₃
Value / Analyte(s): 10 µg/mL ea:
Vanadium
Starting Material: V₂O₅
Starting Material Lot#: 1782
Starting Material Purity: 99.9947%

3.0 CERTIFIED VALUES AND UNCERTAINTIES

Certified Value: 9.997 ± 0.062 µg/mL
Density: 1.009 g/mL (measured at 20 ± 4 °C)

Assay Information:

ANALYTE	METHOD	NIST SRM#	SRM LOT#
V	EDTA	928	928
V	ICP Assay	3165	992706

The following equations are used in the calculation of the certified value and the uncertainty. Reported uncertainties represent expanded uncertainties expressed at approximately the 95% confidence level using a coverage factor of k = 2.

Characterization of CRM by two independent methods Characterization of CRM by one method

Characterization of CRM/RM by Two Methods

Certified Value, $X_{CRM/RM}$, where two methods of characterization are used is the weighted mean of the two results:

$$X_{CRM/RM} = [(w_a)(X_a) + (w_b)(X_b)]$$

X_a = mean of Assay Method A with standard uncertainty $u_{char a}$

X_b = mean of Assay Method B with standard uncertainty $u_{char b}$

w_a and w_b = the weighting factors for each method calculated using the inverse square of the variance:

$$w_a = (1/u_{char a})^2 / ((1/u_{char a})^2 + (1/u_{char b})^2)$$

$$w_b = (1/u_{char b})^2 / ((1/u_{char a})^2 + (1/u_{char b})^2)$$

$$CRM/RM \text{ Expanded Uncertainty } (z) = U_{CRM/RM} = k (u_{char a}^2 + u_{char b}^2 + u_{bb}^2 + u_{ts}^2 + u_{ts}^2)^{1/2}$$

k = coverage factor = 2 in all cases at Inorganic Ventures

$u_{char a \& b} = [(w_a)^2 (u_{char a})^2 + (w_b)^2 (u_{char b})^2]^{1/2}$ where $u_{char a}$ and $u_{char b}$ are the square root of the sum of the squares of errors from characterization which include instrument measurement, density, NIST SRM uncertainty, weighing, and volume

u_{bb} = bottle to bottle homogeneity standard uncertainty

u_{ts} = long term stability standard uncertainty (storage)

u_{ts} = transport stability standard uncertainty

Characterization of CRM/RM by One Method

Certified Value, $X_{CRM/RM}$, where one method of characterization is used is the mean of individual results:

$$X_{CRM/RM} = \text{mean of Assay Method A with standard uncertainty } u_{char a}$$

$$CRM/RM \text{ Expanded Uncertainty } (z) = U_{CRM/RM} = k (u_{char a}^2 + u_{bb}^2 + u_{ts}^2 + u_{ts}^2)^{1/2}$$

k = coverage factor = 2 in all cases at Inorganic Ventures

$u_{char a}$ = square root of the sum of the squares of the errors from characterization which include instrumental measurement, density, NIST SRM uncertainty, weighing, and volume

u_{bb} = bottle to bottle homogeneity standard uncertainty

u_{ts} = long term stability standard uncertainty (storage)

u_{ts} = transport stability standard uncertainty

4.0 TRACEABILITY TO NIST

- This product is traceable to NIST via an unbroken chain of comparisons. The uncertainties for each certified value are reported, taking into account the SRM/RM uncertainty error and the measurement, weighing and volume dilution errors. In rare cases where no NIST SRM/RM are available, the term 'in-house std.' is specified.

4.1 Thermometer Calibration

- All thermometers are NIST traceable through thermometers that are calibrated by an accredited calibration laboratory.

4.2 Balance Calibration

- All analytical balances are calibrated by an accredited calibration laboratory and procedure. The weights used for testing are annually compared to master weights and are traceable to NIST.

4.3 Glassware Calibration

- An in-house procedure is used to calibrate all Class A glassware used in the manufacturing and quality control of CRM/RMs.

5.0 TRACE METALLIC IMPURITIES (TMI) DETERMINED BY ICP-MS AND ICP-OES (µg/mL)

CRM/RMs are tested for trace metallic impurities by Axial ICP-OES and ICP-MS. The result from the most sensitive method for each element, is reported below. Solutions tested by ICP-MS were analyzed in an ULPA-Filtered Clean Room. An ULPA-Filter is 99.9985% efficient for the removal of particles down to 0.3 µm.

M	Ag	<	0.000199	M	Eu	<	0.000099	O	Na	0.000079	M	Se	<	0.006683	O	Zn	<	0.006624
M	Al	0.000094	O	Fe	0.000338	M	Nb	0.000011	O	Si	0.000026	M	Zr	<	0.001995			
M	As	<	0.001596	M	Ga	0.000004	M	Nd	<	0.000399	M	Sm	<	0.000099				
M	Au	<	0.000300	M	Gd	<	0.000099	M	Ni	<	0.006982	M	Sn	<	0.001396			
M	B	<	0.016458	M	Ge	<	0.000399	M	Os	<	0.000100	O	Sr	0.000001				
M	Ba	0.000001	M	Hf	<	0.000099	O	P	<	0.055200	M	Ta	<	0.000099				
M	Be	<	0.000498	M	Hg	<	0.008001	M	Pb	0.000002	M	Tb	<	0.000099				
M	Bi	<	0.000399	M	Ho	<	0.000099	M	Pd	<	0.000099	M	Te	<	0.001197			
O	Ca	0.000120	M	In	<	0.000099	M	Pr	<	0.000099	M	Th	<	0.000199				
M	Cd	<	0.000099	M	Ir	<	0.000100	M	Pt	<	0.000199	M	Ti	0.000014				
M	Ce	<	0.000399	O	K	<	0.110400	M	Rb	<	0.000598	M	Tl	<	0.001396			
M	Co	<	0.000099	M	La	<	0.000199	M	Re	<	0.000099	M	Tm	<	0.000099			
O	Cr	0.000164	O	Li	<	0.003312	M	Rh	<	0.000399	M	U	<	0.000199				
M	Cs	<	0.006184	M	Lu	<	0.000099	M	Ru	<	0.000100	s	V	<				
M	Cu	<	0.002793	O	Mg	<	0.033120	n	S	<		M	W	0.000003				
M	Dy	<	0.000099	M	Mn	0.000006	M	Sb	0.000094	M	Y	<	0.000099					
M	Er	<	0.000099	M	Mo	0.000110	M	Sc	<	0.000498	M	Yb	<	0.000099				

M - Checked by ICP-MS O - Checked by ICP-OES i - Spectral Interference
n - Not Checked For s - Solution Standard Element

6.0 INTENDED USE

- For the calibration of analytical instruments and validation of analytical methods as appropriate.

7.0 INSTRUCTIONS FOR THE CORRECT USE OF THIS REFERENCE MATERIAL

7.1 Storage and Handling Recommendations

- Store between approximately 4° - 30° C while in sealed TCT bag.

- While stored in the sealed TCT bag, transpiration of this CRM/RM is negligible. After opening the sealed TCT bag transpiration of the CRM/RM will occur, resulting in a gradual increase in the analyte concentration(s). It is the responsibility of the user to account for this effect. When the bottle is weighed both before and after being placed in storage, the mass difference observed will be a measure of transpiration mass loss.

- After opening the sealed TCT bag, keep cap tightly sealed when not in use and store between 4° - 24° C to minimize the effects of transpiration. Use at 20° ± 4° C to minimize volumetric dilution error when using the reported density. Do not pipette from the container. Do not return removed aliquots to container.

- For more information, visit [www.nist.gov](#)

Atomic Weight; Valence; Coordination Number; Chemical Form in Solution - 50.94 +5 6 H₂V₁₀O₂₈-

Chemical Compatibility -Soluble in HCl, HNO₃, H₂SO₄, HF, H₃PO₄ and strong basic media. Stable with most metals and inorganic anions in acidic media.

Stability - 2-100 ppb levels stable for months in 1% HNO₃ / LDPE container. 1-10,000 ppm solutions chemically stable for years in 1-5% HNO₃ / LDPE container.

V Containing Samples (Preparation and Solution) -Metal (Fusion with NaOH or KOH in NiO or Na₂CO₃ / KNO₃); Oxides (V₂O₃ - use HCl, V₂O₄ - use HCl or HNO₃, V₂O₅ - use concentrated acids); Ores (Na₂CO₃ / KNO₃ in PtO caution - nitrates attack PtO followed by water extraction of fuseate); Organic Matrices (Ash at 450 EC followed by dissolving according to V₂O₅ above) .

Atomic Spectroscopic Information (ICP-OES D.L.s are given as radial/axial view):

Technique/Line	Estimated D.L.	Order	Interferences (underlined indicates severe)
ICP-MS 51 amu	4 ppt	N/A	34S16O1H, 35Cl16O, 38Ar13C, 36Ar15N, 36Ar14N1H, 37Cl14N,36S15N, 33S18O, 34S17O, 102Ru+2,02Pd+2
ICP-OES 290.882 nm	0.008 / 0.0008 µg/mL	1	Hf, Nb
ICP-OES 292.402 nm	0.006 / 0.001 µg/mL	1	Th
ICP-OES 309.311 nm	0.005 / 0.001 µg/mL	1	Mg, U, Th

8.0 HAZARDOUS INFORMATION

- Please refer to the Safety Data Sheet for information regarding this CRM/RM.

9.0 HOMOGENEITY

- This solution was mixed according to an in-house procedure and is guaranteed to be homogeneous. Homogeneity data indicate that the end user should take a minimum sample size of 0.2 mL to assure homogeneity.

10.0 QUALITY STANDARD DOCUMENTATION**10.1 10CFR50 Appendix B - Nuclear Regulatory Commission**

- Domestic Licensing of Production and Utilization Facilities

10.2 10CFR21 - Nuclear Regulatory Commission

- Reporting defects and Non-Compliance

10.3 ISO 9001 Quality Management System Registration

- QSR Certificate Number QSR-1034

10.4 ISO/IEC 17025 "General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories"

- Chemical Testing - Accredited / A2LA Certificate Number 883.01

10.5 ISO Guide 34 "General Requirements for the Competence of Reference Material Producers"

- Reference Material Producer - Accredited / A2LA Certificate Number 883.02

Inorganic Ventures, 300 Technology Drive, Christiansburg, Va. 24073, USA; Telephone: 800.669.6799; 540.585.3030; Fax: 540.585.3012; inorganicventures.com; info@inorganicventures.com

11.0 CERTIFICATION, LOT EXPIRATION AND PERIOD OF VALIDITY**11.1 Certification Issue Date**

March 28, 2018

- The certification is valid within the measurement uncertainty specified provided the CRM/RM is stored and handled in accordance with instructions given in Sec 7.1. This certification is nullified if instructions in Sec 7.1 are not followed or if the CRM/RM is damaged, contaminated, or otherwise modified.

11.2 Lot Expiration Date

- **March 28, 2022**

- The date after which this CRM/RM should not be used.

- The lot expiration date reflects the period of time that the stability of a CRM/RM can be supported by long term stability studies conducted on properly stored and handled CRM/RMs. Lot expiration is limited primarily by transpiration (loss of water from the solution) and infrequently by chemical stability.

11.3 Period of Validity

- Sealed TCT Bag Open Date: _____

- This CRM/RM should not be used longer than one year (or six months in the case of a 30 mL bottle) from the date of opening the aluminized bag or after the date given in Sec. 11.2, whichever comes first. This is contingent upon the CRM/RM being stored and handled in accordance with the instructions given in Sec. 7.1.

12.0 NAMES AND SIGNATURES OF CERTIFYING OFFICERS**Certificate Approved By:**

Michael Booth
Supervisor, Quality Control


Certifying Officer:

Paul Gaines
CEO, Senior Technical Director

