UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

MANOEL DE JESUS DE AQUINO LIMA

Estratégias em fluxo para a determinação de acidez, sulfato e cloreto em etanol hidratado combustível

Piracicaba

2019

MANOEL DE JESUS DE AQUINO LIMA

Estratégias em fluxo para a determinação de acidez, sulfato e cloreto em etanol hidratado combustível

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis

Piracicaba

2019

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Lima, Manoel de Jesus de Aquino
Estratégias em fluxo para a determinação de acidez, sulfato e cloreto em etanol hidratado combustível / Manoel de Jesus de Aquino Lima; orientador Boaventura Freire dos Reis. - - Piracicaba, 2019.
110 p. : il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Análise em fluxo 2. Biocombustíveis 3. Bioetanol 4. Espectrofotometria 5. Multicomutação em análise em fluxo 6. Química analítica instrumental 7. Química verde 8. Titulação espectrofotométrica I. Título

CDU (543.422 + 543.48) : 62-631.4

Elaborada por:
Marilia Ribeiro Garcia Henyei
CRB-8/3631
Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

Dedico aos meus pais (Rosilene R. Aquino e Manoel J. Lima) por sempre me incentivarem a estudar, por todo amor, sacrifícios e pelas incontáveis orações.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me abençoar todos os dias;

Aos meus pais pelo apoio e orações;

À minha Tia Joana por toda ajuda;

À minha amada Tayane, por ser essa pessoa maravilhosa em minha vida;

Ao Brito e a Leni, por me hospedarem em sua casa em várias oportunidades;

A Dona Ilma Mondego e Mayara Mondego, por sempre me receberem tão bem em Sanca;

Aos eternos moradores do AP-6, Canudos (Antônio), Asa-Δ (André) e Talaco (Jofre), por tudo;

Ao professor Boaventura, por toda confiança, apoio e discussões;

Aos Professores Marcos Kamogawa e Fábio Rocha, por sempre estarem dispostos a ajudar e pelas parcerias;

Aos professores do Laboratório de Química Analítica: Boaventura, Fábio Rocha, Zagatto, Francisco Krug, Maria Fernanda e Zé Santista, pelo compartilhamento das suas experiências e histórias durante várias doses de café bem forte;

Aos técnicos do Laboratório de Química Analítica Prof. “Henrique Bergamin Filho”: Sheila, Fátima, Dona Cláudia Marcia, Milão, Liz e Otávio, pelo auxilio nas atividades acadêmicas;

Ao Milton e Oziel por estarem sempre dispostos a ajudar e escutar minhas bobagens;

Aos contemporâneos de pós-graduação: Pedro, Samara, Andressa, Ana Flávia, Claudineia, Lidiane, Felisberto, Thiago, Tuane, Mariana, Renata, Izabella, Carina, Geovani e Gabriela;

Ao João Geraldo por sempre estar disposto a desenhar e corrigir minhas figuras;

À Marília pela paciência e atenção em corrigir a tese;

Aos funcionários das demais sessões do CENA: Sonia, Silvana, Gilson, Fábio, Marcos, Cleide, Rodrigo, Eduardo, Ana Paula e Pingin, pela colaboração;

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura e à Universidade de São Paulo, pela infraestrutura e apoio institucional;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela bolsa e auxílio durante o doutorado (Processo: 165478/2015-2);

Finalmente, agradeço aos brasileiros que fomentaram minhas bolsas de IC, mestrado e doutorado.

Muito obrigado a todos!

RESUMO

LIMA, M. J. A. **Estratégias em fluxo para a determinação de acidez, sulfato e cloreto em etanol hidratado combustível**. 2019. 110 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

Acidez, sulfato e cloreto são constantemente relacionados ao potencial corrosivo do etanol hidratado combustível (EHC), pois mesmo em baixas concentrações podem induzir processos que danificam dutos de transporte e peças dos veículos. Em vista dessa problemática, as agências reguladoras estabeleceram limites máximos para estes constituintes a serem determinados por titulação, no caso da acidez, e por cromatografia de íons para cloreto e sulfato. Os procedimentos propostos no presente trabalho tiveram como objetivo apresentar alternativas de baixo custo, instrumentação simples, pouca influência do analista (automação das etapas) e baixa geração de efluentes. Para a avaliação da acidez, foi construído um titulador automático, explorando um algoritmo de procura binária em um sistema de análises químicas em fluxo baseado em multicomutação. Sob condições otimizadas, o sistema foi capaz de titular amostras de etanol diluídas a 50% (v/v), gerando cerca de 11,5 mL de efluente por determinação, com coeficiente de variação < 1,0% e frequência de análises > 10 h^{-1}. Além disso, o sistema não necessitou de calibração, fazendo com que todas as etapas fossem realizadas automaticamente. Para as determinações de sulfato e de cloreto, foram montados módulos de análises baseados em fluxo-batelada com detecção espectrofotométrica. Os analitos foram determinados sem etapas de preparo de amostra. Para realizar a determinação indireta do sulfato, foi empregada a reação de deslocamento dos íons bário do complexo dimetilsulfonazo III de bário (DMS-Ba^{+}), promovido pelos íons sulfato; para a determinação de cloreto, foi explorado o efeito dos íons cloreto na fotogeração (UV) de nanopartículas de prata (Ag-NPs). Para sulfato e cloreto, as faixas lineares de resposta, limites de detecção (95%) e coeficientes de variação foram: 0,1 - 1,5 mg L^{-1} e 0,05 – 0,8 mg L^{-1}; 48 e 12 µg L^{-1} e 1,0% e 2,2%, respectivamente. Na determinação de sulfato e cloreto, as frequências de análises foram de 35 e 30 h^{-1}, respectivamente; com geração de efluentes < 5 mL por determinação em ambos os procedimentos. Todos os procedimentos desenvolvidos atendem aos limites estabelecidos pela agência reguladora brasileira, e os

resultados obtidos foram comparados com os procedimentos oficiais, não havendo diferença significativa entre métodos, ao nível de 95% de probabilidade.

Palavras-chave: Bioetanol. Espectrofotometria. Fluxo-batelada. Análises em fluxo. Instrumentação analítica. Química verde.

ABSTRACT

LIMA, M. J. A. **Flow-based strategies for the determination of acidity, sulfate and chloride in hydrous ethanol fuel**. 2019. 110 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

Acidity, sulfate and chloride are often related to the hydrous ethanol fuel (HEF) corrosive potential, as even at low concentrations they may induce processes deleterious to transportation ducts and vehycle components. Thus, the regulatory agencies established maximum limits for these constituents to be determined by titration in the case of acidity and by chromatography of ions for chloride and sulfate. The procedures herein proposed aimed at to present alternatives of low cost, simple instrumentation, little influence of the analyst (automation of the stages) and low generation of effluents. For acidity evaluation, an automatic titrator exploiting a binary search algorithm in a analytical flow system based on multicommutation was built up. Under optimized conditions, the system was able of titrating ethanol samples diluted to 50% (v/v), generating about 11.5 mL of effluent per determination, with coefficient of variation <1.0% and sample throughput > 10 h^{-1}. Moreover, the flow system did not require calibration, and all steps were automatically performed. For sulfate and chloride determinations, flow-batch analytical systems with spectrophotometric detection were set up, allowing the analytes to be determined without sample preparation steps. For the indirect determination of sulfate, the reaction of displacement of the barium ions from its dimethylsulfonazo III complex (DMS-Ba^{+}) promoted by the sulfate ions was used; for the determination of chloride, the effect of this analyte on the photo-generation (UV) of silver nanoparticles (Ag-NPs) was exploited. For sulfate and chloride, linear response ranges, detection limits (95% confidence level) and coefficients of variation were: 0.1 - 1.5 and 0.05 – 0.8 mg L^{-1}; 48 and 12 µg L^{-1}, and 1.0 and 2.2%, respectively. In the sulfate and chloride determinations, the analytical frequency were 35 and 30 h^{-1}, respectively, with effluents generation of < 5 mL per determination for both procedures. The developed procedures meet the limits established by the Brazilian regulatory agency, and results obtained were compared with the official procedures, and no significant differences between methods at the 95% probability level were found.

Keywords: Bioethanol. Spectrophotometry. Flow-batch. Flow analysis. Analytical instrumentation. Green chemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Esquema de produção de etanol a partir de diferentes matérias-primas.....19
Figura 1.2. Diagrama de um módulo de análises convencional baseado em multicomutação em análises em fluxo explorando diferentes estratégias.....22
Figura 1.3. Diagrama de um módulo de análises convencional baseado em sistema fluxo-batelada.....23
Figura 1.4. Resumo do sistema em fluxo contínuo proposto por Blaedel e Laessing.....26
Figura 1.5. Representação do sistema de titulação baseado em análise por injeção em fluxo (FIA) proposto por Ruzicka e colaboradores 27
Figura 1.6. Esquema do sistema FIA proposto por Marcos et al.....28
Figura 1.7. Esquema do sistema de titulação baseado em procura binária proposto por Korn e colaboradores.....29
Figura 3.1. Sistema de detecção do fotômetro.....39
Figura 3.2. Diagrama do sistema em fluxo para titulação fotométrica..... 39
Figura 3.3. Espectros de absorção dos indicadores e espectros de emissão dos LEDs 42
Figura 3.4. Avaliação da exatidão das vazões fornecidas pela bomba de seringa ...43
Figura 3.5. Registros dos sinais obtidos pelo procedimento de titulação por procura binária 47
Figura 4.1. Suporte feito em 3D para hifenar a câmara com os sistemas de detecção e agitação.....56
Figura 4.2. Configuração eletrônica do sistema de manipulação de fluidos com base na placa Arduino Due e interfaces periféricas.....57
Figura 4.3. Diagrama do módulo em fluxo-batelada para determinação espectrofotométrica de sulfato em etanol combustível.....58
Figura 4.4. Reação entre íons sulfato e o complexo Ba^{2+}-DMS(III).....59
Figura 4.5 Espectros de absorção do DMS-Ba em etanol 60
Figura 4.6. Efeito da concentração de etanol na resposta analítica. 62
Figura 4.7. Efeito do volume de bário na resposta analítica.....64
Figura 4.8. Efeito dos surfactantes na determinação de sulfato em etanol 66

Figura 4.9. Efeito do tempo de reação na resposta do sistema 68
Figura 4.10. Registros típicos dos sinais gerados pelo sistema de detecção 69
Figura 5.1. Diagrama do módulo de análises para a determinação de cloreto em etanol combustível 80
Figura 5.2. Espectro de absorção das NPs formadas 82
Figura 5.3. Caracterização das NPs 83
Figura 5.4. Efeito do tempo de irradiação UV na formação das NPs 84
Figura 5.5. Efeito do volume de nitrato de prata 85
Figura 5.6. Efeito do volume de PVP 86
Figura 5.7. Demonstração do efeito da irradiação UV e do PVP. 88
Figura 5.8. Curva analítica para a determinação de cloreto em etanol combustível 90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Principais microcontroladores da família Arduino.....31
Tabela 3.1. Resultados da titulação de padrões de ácido acético em 50% (v/v) de etanol 45
Tabela 3.2 Valores atribuídos às variáveis do sistema durante a execução de uma titulação automática 46
Tabela 3.3. Resultados da determinação de acidez em etanol hidratado combustível 49
Tabela 3.4. Comparação de desempenho dos procedimentos existentes para determinação de acidez em etanol combustível.....50
Tabela 4.1. Efeito da acidez nas figuras de mérito.....65
Tabela 4.2. Resultados para determinação de sulfato em etanol combustível.....70
Tabela 4.3. Comparação do desempenho dos procedimentos para a determinação do sulfato em amostras de etanol combustível 72
Tabela 5.1. Sequência do procedimento para a determinação de cloreto explorando geração de AgNPs 80
Tabela 5.2. Avaliação do efeito do PVP na linearidade do sistema 87
Tabela 5.3. Resultados da recuperação de cloreto em amostras EHC. 91
Tabela 5.4. Desempenho analítico de procedimentos para determinação de cloreto em etanol combustível 92

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 19

1.1. Biocombustíveis: Etanol 19

1.2. Sistemas com multicomutação em análises em fluxo (MCFA) 21

1.3. Sistema fluxo-batelada 22

1.4. Titulação em fluxo 24

1.5. Arduino em instrumentação analítica 31

2. OBJETIVO 33

3. Procedimento analítico para determinação de acidez em EHC empregando multicomutação em fluxo e procura binária 35

Resumo 35

Abstract 35

3.1. Introdução 36

3.2. Experimental 37

3.2.1. Reagentes e soluções 37

3.2.2. Equipamentos e acessórios 38

3.2.3. Descrição do procedimento proposto 39

3.2.4. Procedimentos oficiais 41

3.3. Resultados e Discussão 41

3.3.1. Otimização das variáveis experimentais 43

3.3.2. Resposta do sistema de detecção com o uso de meio etanólico 45

3.3.3. Determinação da acidez em amostras de etanol combustível 48

3.3.4. Desempenho do sistema proposto 49

3.4. Conclusão 51

4. Procedimento analítico sem preparo de amostra para determinação de sulfato em EHC empregando estratégia fluxo-batelada 53

Resumo 53

Abstract 53

4.1. Introdução 54

4.2. Experimental 55

4.2.1. Reagentes e soluções 55

4.2.2. Equipamentos e acessórios 56

4.2.3. Procedimento de análises em fluxo-batelada 57

4.3. Resultados e Discussão 59

4.3.1. Aspectos gerais 59

4.3.2. Efeito da concentração de etanol 61

4.3.3. Efeito do volume de reagente 62

4.3.4. Efeito da acidez 64

4.3.5. Efeito da adição de surfactante e nitrato de potássio 65

4.3.6. Efeito do tempo de reação 67

4.3.7. Efeito de potenciais interferentes 68

4.3.8. Características analíticas e aplicação 69

4.3.9. Comparação do desempenho analítico 70

4.4. Conclusões 73

5. Determinação de cloreto em EHC explorando a fotogeração de AgNPs *in situ* em um sistema fluxo-batelada 75

Resumo 75

Abstract 75

5.1. Introdução 76

5.2. Experimental 78

5.2.1. Reagentes e soluções 78

5.2.2. Equipamentos e acessórios....78
5.2.3. Procedimento de análises em fluxo-batelada para determinação de cloreto....79
5.3. Resultados e Discussão....81
5.3.1. Aspectos gerais....81
5.3.2. Caracterização das NPs....82
5.3.4. Otimização do volume dos reagentes....84
5.3.5. Avaliação de potenciais interferentes....89
5.3.6. Características analíticas e aplicação....89
5.3.7. Comparação do desempenho analítico....91
5.4. Conclusões....93

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS....95

REFERÊNCIAS....97

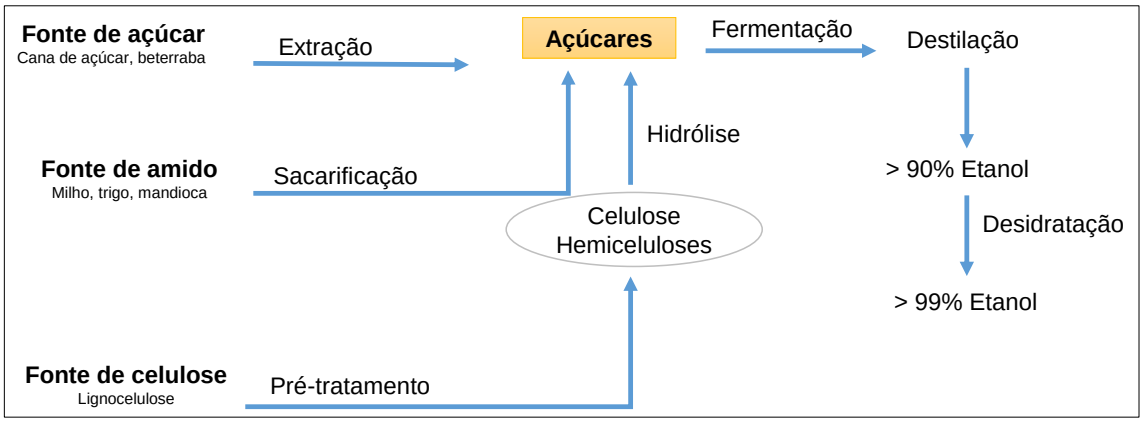
1. INTRODUÇÃO

1.1. Biocombustíveis: Etanol

Podemos definir os biocombustíveis como combustíveis provenientes de matérias-primas renováveis. Os principais biocombustíveis são: a biomassa, o bioetanol, o biodiesel e o biogás. As fontes vegetais são as principais fornecedoras de matérias-primas, pois, durante o processo de fotossíntese, garantem o reaproveitamento (absorção) do CO_2 gerado na produção e queima dos biocombustíveis, tornando o processo altamente atrativo, considerando as atuais demandas ambientais [1].

Biocombustíveis estão inseridos entre as matrizes energéticas alternativas à utilização de fontes não renováveis (*i.e.* petróleo, carvão mineral e gás natural). Um dos biocombustíveis mais comuns é o bioetanol (etanol), podendo ser produzido utilizando várias matérias-primas (*i.e.* milho, cana-de-açúcar, trigo, beterraba e mandioca) e tecnologias de conversão [2]. Os processos para produção de etanol são sucintamente descritos no esquema da Figura 1.1. A partir de diferentes processos, são produzidas misturas etanólicas utilizadas na indústria alimentícia, farmacêutica e de energia.

Figura 1.1. Esquema de produção de etanol a partir de diferentes matérias-primas (adaptado de Cheng e Timilsina (2010) [2])



O etanol participa da matriz energética do Brasil desde os anos 1920, no entanto, somente em 1975, com o lançamento do Proálcool (Programa Nacional do Álcool), ocorreu o maior crescimento e estabilidade de sua produção pelo setor

privado. Após os anos 2000, devido à oscilação do preço do petróleo e do pouco incentivo do governo, a produção passou por altos e baixos, mas manteve-se razoavelmente competitiva devido à obrigatoriedade da adição de etanol anidro na gasolina e graças ao advento dos veículos com motores flexíveis ao combustível (FFV – *Flex Fuel Vehicle*) [3].

O etanol utilizado no mundo é predominantemente produzido a partir de milho e cana-de-açúcar. Os dois principais produtores são Estados Unidos (> 54,3 bilhões de litros/ano) [4] e Brasil (33 bilhões de litros em 2018) [5], equivalente a aproximadamente 70% da produção mundial. Nos Estados Unidos, o etanol é produzido a partir do milho, enquanto que no Brasil a produção é a partir da cana-de-açúcar. A produção brasileira de etanol a partir da cana-de-açúcar apresenta como principais vantagens a eficiência no processo de produção, alta produtividade por hectare, menor tempo de fermentação e subprodutos com maior valor agregado. Além disso, a produção de biocombustível não compete com a produção de alimentos, fato presente nos Estados Unidos.

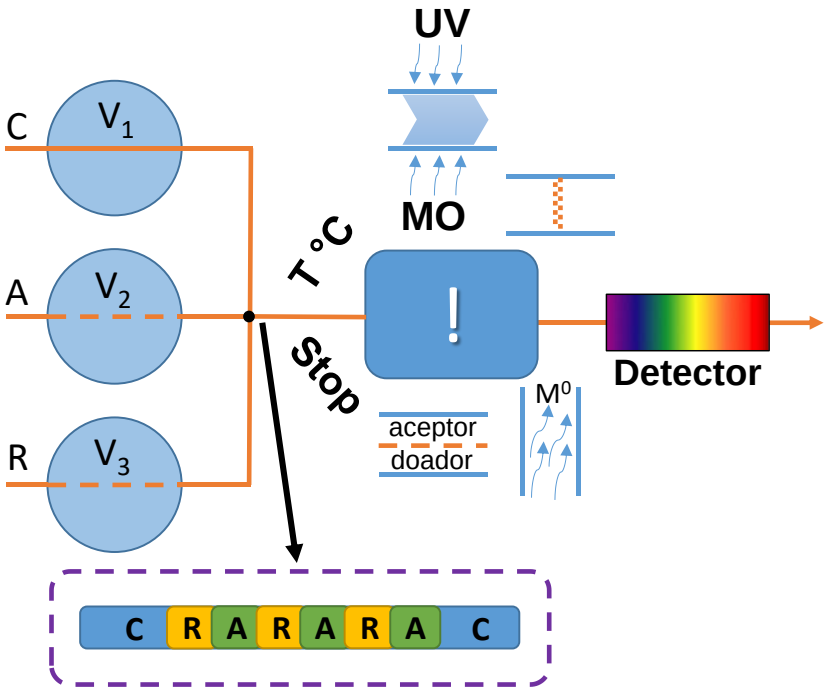
Diversos países têm adotado a adição de álcool anidro na gasolina, a maioria utiliza um teor de álcool de 10 % (v/v). No Brasil a proporção é de 27% (v/v) para gasolina comum, além do uso do álcool hidratado (95% (v/v) etanol, 5% (v/v) água) como combustível veicular. Além do seu elevado calor de vaporização e índice de octano, o etanol apresenta vantagens ambientais consideráveis em relação aos combustíveis de fontes não renováveis (fósseis).

Apesar da quantidade significativa de biocombustíveis (e.g. bioetanol e biodiesel) produzidos em todo mundo, o consumo não ultrapassa os 4% do total de combustíveis. Estudos apontam que, apesar dos benefícios já mencionados acima, a produção de etanol em larga escala pode competir com a produção de alimentos e rações, tornando-se inviável utilizar terras férteis para produção de fontes de combustíveis [6]. Neste sentido, novas tecnologias de processamento descrevem a produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos, matéria-prima orgânica mais abundante do mundo, comumente chamado de etanol de segunda geração. Atualmente o custo para produção do etanol de segunda geração, na maioria dos casos, ainda é maior que o da gasolina e do etanol de primeira geração [7,8].

1.2. Sistemas com multicomutação em análises em fluxo (MCFA)

A multicomutação é uma modalidade dos processos de análises em fluxo, em que pequenas alíquotas das soluções dos reagentes e da amostra são inseridas alternadamente dentro de tubos, normalmente com 0,8 (d.i.) e, em seguida, essa zona contendo as soluções pode ser submetida a diversos processos (*i.e.* resfriamento, aquecimento, irradiação, pré-concentração, entre outros) e enfim, atingir um sistema de detecção adequado. As inserções das alíquotas são, geralmente, feitas com dispositivos eletrônicos operados discretamente (*e.g.* válvulas solenoide e mini-bombas solenoide). Estes dispositivos são acionados via computador, através de uma interface de potência adequada, seguindo uma rotina estabelecida por *software*. A alta versatilidade do processo permite a montagem de sistemas capazes de solucionar problemas normalmente encontrados em outros procedimentos em fluxo. A partir de sua proposição, por Reis e colocadores em 1994 [9], um número expressivo de trabalhos foram publicados, buscando solucionar importantes desafios em química analítica, como a especiação química [10,11], determinação sequencial ou simultânea [12-15], extração em fase sólida ou líquida [16-19], difusão gasosa [20,21], diluição da amostra em linha [22] entre outras aplicações [23]. Na Figura 1.2 é apresentada uma configuração clássica de um módulo de análises empregando a multicomutação em análises em fluxo, juntamente com diferentes possibilidades disponíveis ao usuário, como aquecimento ou resfriamento, irradiação UV ou micro-ondas, filtração, parada de fluxo, difusão gasosa, por exemplo.

Figura 1.2. Diagrama de um módulo de análises convencional baseado em multicomutação em análises em fluxo explorando diferentes estratégias. C: solução transportadora, A: amostra, R: reagente. V_1, V_2 e V_3 são dispositivos que fazem a manipulação das soluções; UV e MO representam radiação ultravioleta e micro-ondas, respectivamente



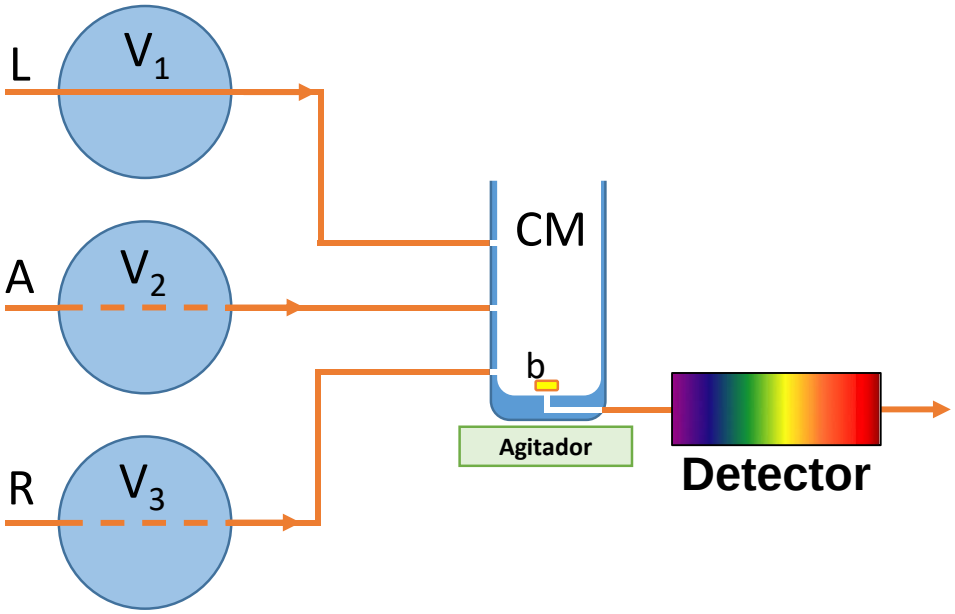
Os procedimentos empregando a multicomutação em análises em fluxo foram revisados por diferentes autores [23-26], e os principais destaques desses procedimentos estão associados à versatilidade, automação das etapas e baixo consumo de reagentes, podendo gerar cerca de 95 e 75% menos resíduos que os processos FIA (do inglês *Flow injection analysis*) e SIA (do inglês *Sequential injection analysis*), respectivamente [27]. Portanto, os processos baseados em MCFA são reconhecidos por atenderem aos princípios da química verde [28].

1.3. Sistema fluxo-batelada

O sistema em fluxo-batelada é classificado como uma das vertentes dos processos baseados em análises em fluxo, que combina as características intrínsecas das análises em batelada e em fluxo [29,30]. Basicamente, o processo mostrado na Figura 1.3 é composto por três unidades, que são o (i) sistema de manipulação dos fluidos, geralmente uma bomba peristáltica ou de seringa

combinada com válvulas solenoide, ou mini-bombas solenoide; (ii) câmara de mistura/reação, que é a principal unidade do sistema, acoplada a um sistema de agitação mecânica e feita com material quimicamente inerte (*e.g.* Teflon ou vidro) e (iii) sistema de detecção apropriado [31]. Assim como na multicomutação em fluxo, todas as unidades são operadas através de um *software* que tem a função de sincronizar as ações e, em alguns casos, atua com mecanismos de *feedback*. É comum a descrição de módulos em que o sistema de detecção esteja acoplado à câmara de mistura [32,33], ou até mesmo a câmara de mistura tenha seu próprio sistema de propulsão dos fluídos, como é o caso dos sistemas com bomba de pistão [34,35].

Figura 1.3. Diagrama de um módulo de análises convencional baseado em sistema fluxo-batelada. L: solução de limpeza, A: amostra, R: reagente. CM: câmara de mistura, b: barra magnética; V_1, V_2 e V_3 são válvulas acopladas a um sistema de propulsão que fazem a manipulação das soluções



Neste de tipo de configuração, o processamento da amostra é executado diretamente dentro da câmara de reação, onde os equilíbrios físicos e químicos inerentes ao processo analítico são alcançados sem dispersão ou diluição da amostra [31]. Diferentes estratégias podem ser aplicadas após a inserção da amostra e dos reagentes dentro da câmara, como diluição das soluções padrão e/ou amostras, adição de padrão interno, titulação, entre outros [36-38]. Destacam-se

aplicações recentes que empregam câmara de aquecimento construída em aço inox para acelerar reações lentas [39], além de um procedimento que realiza extração em fase sólida, usando partículas magnéticas dentro da câmara [40].

As técnicas de detecção acopladas (hifenadas) aos sistemas de fluxo-batelada são as mais variadas possíveis, entre elas destaca-se a espectrofotometria UV-vis [41,42], a quimiluminescência [43,44], espectrofluorimetria [45,46] e imagens digitais [47]. Este último tem ganhado bastante atenção nos últimos anos, por apresentar baixo custo e versatilidade instrumental [48].

Os sistemas em fluxo-batelada têm sido empregados para a análise de diferentes matrizes, sendo que os trabalhos recentes têm demonstrado uma forte tendência à miniaturização. Novamente, assim como no desenvolvimento dos primeiros sistemas em fluxo-batelada, o grupo da Universidade Federal da Paraíba, liderado pelo professor Mário C. U. Araújo desenvolveu o primeiro micro analisador em fluxo-batelada (do inglês, *micro-flow-batch analyzer*, μFBA), que se destaca pelo uso de volumes da ordem de microlitros, além de sistema de detecção e agitação diretamente incorporado à microcâmara de reação [49]. Os autores relatam que apesar da miniaturização do sistema, os resultados analíticos são comparáveis aos obtidos com os procedimentos convencionais de fluxo-batelada.

1.4. Titulação em fluxo

A Titulação é, ainda hoje, um dos procedimentos analíticos mais utilizados em laboratórios com poucos recursos ou que requerem análises com baixo custo e facilidade instrumental. No entanto, a identificação visual do ponto final em titulações colorimétricas é, muitas vezes, apontada como fonte de erros, além da baixa produtividade para análises de rotina. Em vista disso, esforços têm sido feitos na para automatização dos procedimentos titulométricos que, geralmente, são conduzidos em regime de batelada.

Desde o primeiro sistema automático para titulação descrito na literatura em 1914 por Ziegel [50], em que uma bureta controlada por dispositivos eletromagnéticos foi usada para realizar uma titulação com detecção potenciométrica, vários procedimentos titulométricos automatizados foram publicados e muitos deles foram chamados de métodos automáticos

de titulação [51-54]. Entretanto, em alguns casos, envolviam apenas a mecanização de etapas para monitorar pH e/ou acidez. A discussão sobre os termos mecanizado, automático e/ou automatizado, muitas das vezes foram desprezadas pelos autores, pois as definições de nomenclatura dadas pela IUPAC foram publicadas posteriormente [55].

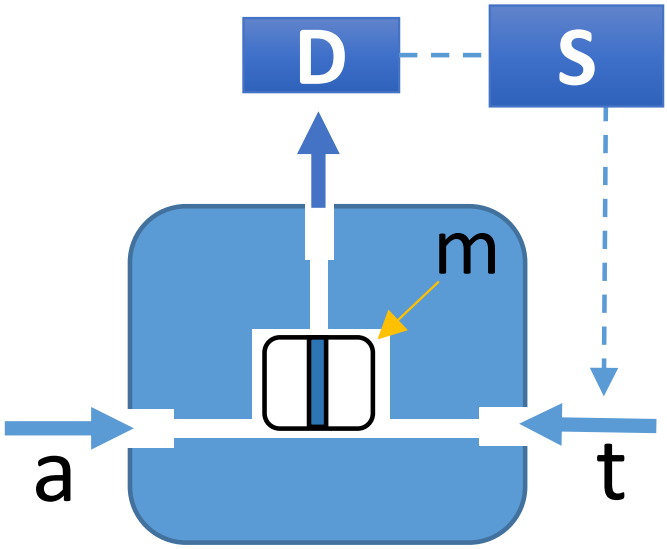
Após os anos 50, novos conceitos como re-amostragem e mecanismo de *feedback* nos processos de titulação automática foram inseridos com o advento das primeiras reações em fluxo e o emprego de detectores mais sofisticados. As principais contribuições para titulações automáticas ou automatizadas, envolvendo estratégias em fluxo, são abordadas a seguir.

O primeiro procedimento explorando titulações em fluxo foi desenvolvido por Hallikainen e Pompeo, em 1952 [56]. Duas bombas, uma com motor síncrono para a amostra e outra acionada por motor de duas fases para solução do titulante, promoviam o transporte das soluções que se misturavam antes de chegar à câmara de reação (béquer) que foi equipada com eletrodos (detecção potenciométrica). A vazão da bomba da amostra foi mantida constante e a vazão da bomba do titulante foi variada até chegar ao ponto final da titulação. Conhecendo as vazões das bombas, foi possível determinar a concentração de mercaptanas em amostras de gasolina.

Em 1957, Skeggs [57] desenvolveu um engenhoso sistema capaz de determinar glicose e ureia em amostras de sangue ou soro. O sistema baseado em análise em fluxo contínuo (segmentado por bolhas de ar) foi transformado em um robusto equipamento empregado em rotinas laboratoriais. Nos anos seguintes, houveram publicações de procedimentos voltados para automação dos processos de titulação utilizando fluxo contínuo, contudo o mais famoso foi descrito por Blaedel e Laessing [58] em 1964. Esse procedimento titulométrico, baseado em fluxo contínuo e detecção potenciométrica, é considerado pioneiro. No sistema citado, foram utilizadas duas bombas peristálticas que direcionavam as soluções da amostra e do titulante em direção à câmara de mistura (Figura 1.4). Mantendo constante a vazão da bomba da amostra (a) e variando a vazão da bomba da solução titulante (t), o ponto de equivalência foi obtido pelo detector potenciométrico que, através de um sistema de controle, interrompia a ação da bomba do titulante

quando um potencial preestabelecido era alcançado. O sistema necessitava de etapa de calibração com solução de concentração conhecida.

Figura 1.4. Resumo do sistema em fluxo contínuo proposto por Blaedel e Laessing. a e t representam a atuação das bombas peristálticas que transportavam a solução da amostra e do titulante, respectivamente. D é o sistema de detecção potenciométrico, S é o sistema de controle da vazão da bomba do titulante e m é a barra magnética para agitação (Teflon)

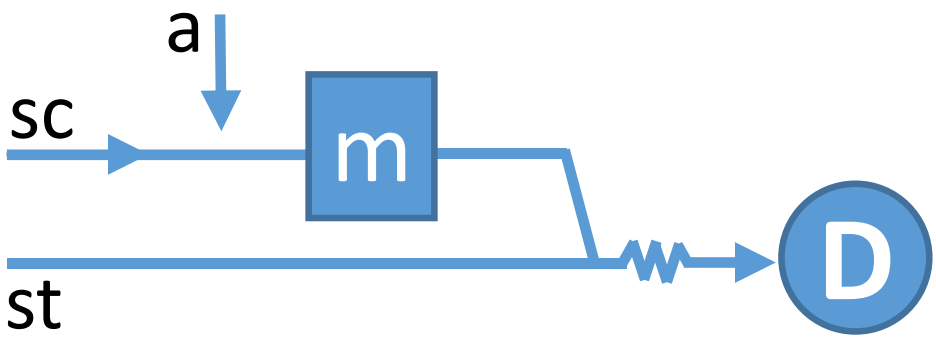


Alguns anos mais tarde, ocorreu a introdução dos métodos em fluxo não segmentado. Inicialmente, por Nagy e colaboradores em 1970 [59], que desenvolveram o primeiro procedimento em fluxo contínuo sem segmentação por bolhas. No entanto, os métodos em fluxo apenas obtiveram real sucesso e adesão científica, devido às publicações de Ruzicka e colaboradores, a partir de 1975 [60]. Este autor popularizou o termo FIA e abriu novas perspectivas em relação às reações químicas em fluxo.

Dentre as dez primeiras publicações no tema de Ruzicka e colaboradores, a nona publicação (1977) apresentou uma titulação empregando a metodologia FIA [61]. Uma bomba peristáltica escoava as soluções do transportador e do titulante, e a alíquota da amostra (titulado) era inserida, com auxílio de uma válvula rotativa manual (*rotary valve*), no fluído transportador que seguia em direção à câmara de mistura; posteriormente, ocorria a adição do titulante por confluência, após a câmara

de mistura, e a reação se completava durante o transporte para o detector. (Figura 1.5). O procedimento foi baseado na construção de uma curva de calibração, tendo como parâmetros o intervalo de tempo medido à meia altura dos registros dos sinais e o logaritmo da concentração de uma solução padrão (titulando). As amostras eram processadas em condições semelhantes, e as concentrações encontradas apresentavam valores próximos aos obtidos pelo método tradicional (manual). A frequência de amostragem foi de 30 determinações por hora. Esse valor é significativo para titulação até os dias de hoje. Mais tarde, em 1981, os mesmos autores publicaram um trabalho no qual um sistema de titulação por FIA foi implementado sem a câmara de mistura. O sistema de titulação foi aplicado em reações ácido-base, redox e complexométrica, com detecção colorimétrica. As reações ocorriam dentro de reatores construídos com tubos de diâmetro da ordem de 1 mm, em substituição à câmara de mistura, e dessa forma, contornavam os seus inconvenientes [62]. Clark e colaboradores também aprimoraram o sistema FIA para titulação. Segundo os autores, a eliminação da câmara de mistura juntamente com a estratégia de reversão de fluxo, aumentam a dispersão e a extensão da mistura axial, levando a uma maior sensibilidade das titulações por FIA [63].

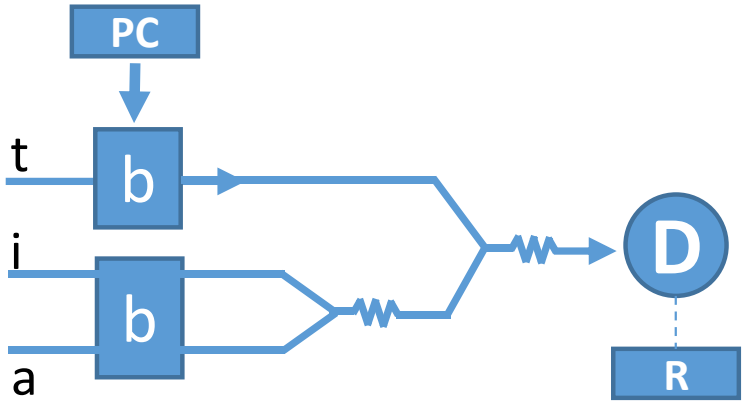
Figura 1.5. Representação do sistema de titulação baseado em análise por injeção em fluxo (FIA) proposto por Ruzicka e colaboradores. a, sc e st representam a amostra, solução carregadora e solução do titulante, respectivamente; m é a câmara de mistura e D o sistema de detecção



Após a popularização da metodologia FIA, diversos trabalhos foram relatados na literatura. Dentre estes, destacam-se dois artigos publicados por Marcos e colaboradores em 1992 [64,65]. Em síntese, uma bomba peristáltica transportava as

soluções da amostra e do indicador, à vazões constantes, enquanto outra bomba, com vazão programável por computador, transportava a solução titulante até a confluência onde acontecia a reação, e após a passagem por um reator tubular, a mistura era monitorada com um espectrofotômetro (Figura 1.6). As concentrações foram determinadas com auxílio de curvas de calibração. Os autores relataram que a estratégia foi utilizada, com sucesso, para reações ácido-base, redox e complexométricas com indicador colorimétrico em diferentes tipos de amostras (*i.e.* vinho tinto, vinagre, fármacos e solução sintética de íons metálicos).

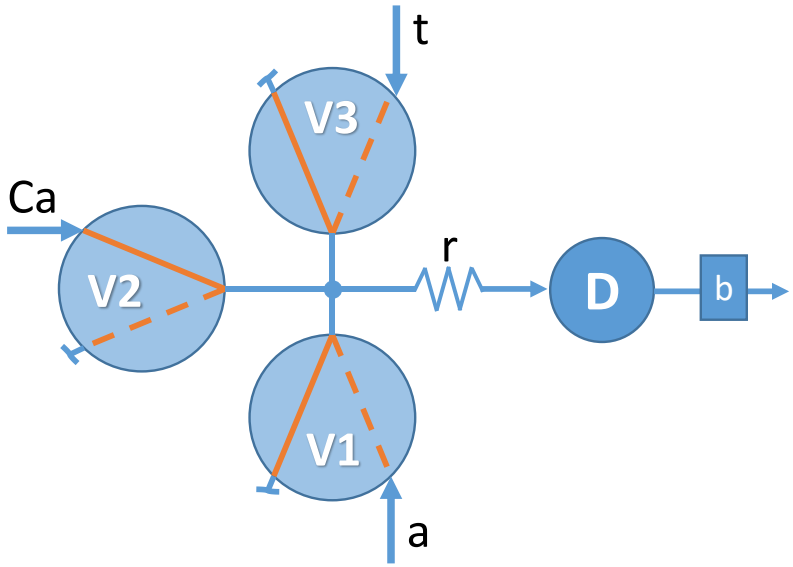
Figura 1.6. Esquema do sistema FIA proposto por Marcos et al. a, i e t representam a amostra, solução indicadora e solução do titulante, respectivamente; b são bombas peristáltica, D é o sistema de detecção, PC é um computador e R é um sistema de registro (*plotter*)



A partir de 1994, Reis e colaborares publicaram uma série de artigos que apresentaram uma nova estratégia para o ramo das análises em fluxo, chamada de multicomutação em análises em fluxo (do inglês *Multicommutation in flow analysis*) [9]. Um ano depois de sua concepção, Korn e colaboradores desenvolveram o primeiro sistema de titulação por procura binária, empregando o conceito de MCFA [66]. O procedimento foi considerado, segundo os autores, a primeira titulação verdadeira em sistemas em fluxo, pois não precisava de curva de calibração, nem de calibração prévia. Nesse sistema, alíquotas de amostra e solução titulante foram inseridas em um reator tubular helicoidal, através do acionamento de válvulas solenoide (Figura 1.7). O detector e as válvulas foram acopladas em um

computador, que era responsável por incrementar ou decrementar o intervalo de tempo de acionamento das válvulas, em função do sinal gerado pelo fotômetro. Altos valores do sinal indicavam excesso de titulante, enquanto baixos valores indicavam o contrário. Os intervalos de tempo de acionamento das válvulas eram proporcionalmente aumentado e diminuído simultaneamente, para que o volume da zona da amostra permanecesse constante. O processo seguia sem intervenção do usuário, até atingir a menor variação de tempo, portanto a menor variação dos volumes das alíquotas da amostra e do titulante, a qual gerava um sinal dentro de uma faixa de valores previamente definidos, correspondendo ao ponto final da titulação. Podemos, portanto, considerar esse procedimento como sendo uma titulação por aproximação. Os autores validaram o procedimento com a titulação clássica de neutralização, usando ácido clorídrico, hidróxido de sódio e indicador colorimétrico, alcançando uma precisão de 99,99%. Posteriormente, titulações potenciométrica foram realizadas empregando os conceitos de amostragem binária para determinação de cloreto em leite [67] e acidez em diferentes tipos de amostras [68].

Figura 1.7. Esquema do sistema de titulação baseado em procura binária proposto por Korn e colaboradores. a, t e Ca representam a amostra, a solução do titulante, e a solução transportadora, respectivamente; V1, V2 e V3 são válvulas solenoide de três vias, r é um reator helicoidal, D é o sistema de detecção e b é uma bomba peristáltica



Em 2000, Almeida e colaboradores desenvolveram um sistema automático de titulação em fluxo, baseado no aumento do volume do titulante e diminuição do volume da amostra [69]. As soluções eram inseridas em uma câmara de mistura e posteriormente era realizada a leitura potenciométrica. Os autores relatam que a estratégia permitia obter curvas de titulação semelhantes às obtidas por titulação convencional. O modelo teórico para a determinação da concentração da amostra sem necessidade de qualquer processo de calibração foi apresentado. A estratégia foi aplicada com sucesso à determinação de acidez de amostras de vinagre, obtendo-se resultados com coeficientes de variação menores que 5%.

Recentemente, foi relatado, por pesquisadores brasileiros, o emprego de imagens digitais, aliadas à estratégia de fluxo-batelada para a determinação automática do ponto final em titulação colorimétrica com e sem indicador químico [70-72]. Outros autores relataram a exploração de traçadores químicos para realização de titulações em fluxo, sem a necessidade da construção de curvas de calibração. Em condições otimizadas, a frequência de amostragem foi de até 30 amostras por hora com consumo de amostra < 1 mL e coeficiente de variação < 6% [73].

Os procedimentos descritos acima foram propostos para substituir os métodos manuais titulométricos de análises e todos são enfáticos em afirmar que as titulações manuais consomem muito tempo e recursos, e que a precisão dos resultados obtidos depende, em grande parte, da habilidade do operador. Os primeiros esforços para mecanização dos procedimentos titulométricos até 1959, foram extensivamente discutidos no livro Automatic Titrators [74] e, recentemente, os métodos baseados em análises em fluxo foram discutidos no capítulo 2 do livro *Titration: Theory, Types, Techniques and Uses* [75], onde são relatadas as principais nuances das estratégias em fluxo voltadas para titulações, assim como as tendências na visão dos autores.

Finalmente, análises titulométricas vêm sendo aprimoradas e focadas na diminuição da geração de efluentes e, logicamente, aliadas à velocidade analítica. Para isso, equipamentos cada vez mais modernos e com alto nível de automação, vêm sendo lançados anualmente. Ainda assim, cerca de 17% dos métodos descritos pela AOAC (*Asssociation of Official Analytical Chemists*) são baseados em titulações volumétricas clássicas [76].

1.5. Arduino em instrumentação analítica

O desenvolvimento de instrumentação para montar protótipos e ferramentas científicas para solucionar problemas experimentais específicos, além de apoiar o trabalho de pesquisa diário, é inerente aos laboratórios de pesquisa, principalmente os de química analítica. Geralmente, busca-se otimizar as condições de trabalho com custo reduzido e em menor tempo. A personalização de instrumentos científicos é atualmente facilitada por módulos eletrônicos que operam com código aberto. Dentre estes, os microcontroladores da família Arduino destacam-se pela compatibilidade com os atuais sistemas operacionais, por seu tamanho reduzido (podendo chegar a versões do tamanho de um *pendrive*), preço acessível (menos de R$150), elevado número de portas de comunicação e a possibilidade do acoplamento de *shields*, os quais podem incorporar funções especiais ao sistema, como módulos *bluetooth*, *Wifi* e outros [77,78]. Estas facilidades transformam estes dispositivos em ferramentas apropriadas ao desenvolvimento de protótipos em laboratórios de pesquisa.

A grande versatilidade dos microcontroladores Arduino se dá pelo grande número de entradas e saídas, analógicas e digitais, além da possibilidade da montagem de circuitos sem a necessidade de soldas ou conhecimentos mais aprofundados sobre eletrônica. Na Tabela 1.1 são apresentadas algumas placas Arduino e suas características fundamentais.

Tabela 1.1. Principais microcontroladores da família Arduino

Nome	CPU (bits)	Velocidade (MHz)	Portas digitais	Portas analógicas
Arduino Uno	8	16	14	6
Arduino Leonardo	8	16	14 (20)	6 (12)
Arduino Yún	8, 32	16, 400	14 (20)	6 (12)
Arduino Duemilanove	8	16	14	6
Arduino Due	32	84	54	12
Arduino Mega 2560	8	16	54	16
Arduino Mini	8	16	14	8
Arduino Micro	8	16	14 (20)	6 (12)
Arduino Nano	8	16	14	8

CPU: unidade central de processamento. Adaptada da referência [78].

Nos módulos voltados para estratégias em fluxo, basicamente utiliza-se as entradas e saídas digitais, que funcionam nos estados de potencial baixo ou alto (desligado (*off*) ou ligado (*on*)). As entradas digitais são geralmente utilizadas para ler sinais simples das chaves nos estados (*on/off*), e as saídas digitais são empregadas para acionar relés ou outros dispositivos de potência que, por sua vez, acionam diretamente válvulas, motores, bombas, eletroímãs e outros. As entradas analógicas das placas Arduino são frequentemente usadas para medir potenciais elétricos das saídas de circuitos de sensores. A mesma porta digital pode ser usada como entrada ou saída, definida por *software*. Esta propriedade aumenta a versatilidade do Arduino para controle de instrumentos analíticos.

Além disso, dispositivos como bombas, que funcionam com um motor de corrente contínua, podem ter sua vazão determinada pelo controle da duração dos sinais alto e baixo das saídas digitais que funcionam com modulação da largura de pulso (do inglês: *Pulse Width Modulation*, PWM). As bombas que usam motor de passo podem ser controladas, usando um conjunto de linhas de saída, configuradas de acordo com a estrutura do equipamento a ser controlado. A resolução desse tipo de controle é diferente para cada tipo de placa, por exemplo, no Arduino UNO (PWM 8 bits) 256 níveis discretos podem ser selecionados, enquanto que o Arduino DUE (PWM 12 bits) pode chegar a 4096 níveis discretos (Tabela 1.1) [78].

Devido ao fácil acesso a esse tipo de tecnologia, vários trabalhos voltados para química analítica vêm sendo propostos empregando as placas Arduino para o desenvolvimento de sistemas de detecção de baixo custo [79,80] e automação de processos, principalmente associados aos procedimentos em fluxo [81].

2. OBJETIVO

Desenvolver procedimentos analíticos, alternativos aos procedimentos oficiais, para a determinação de espécies químicas que afetam a qualidade do etanol hidratado combustível (EHC) usando estratégias em fluxo, tendo como foco a redução da geração de efluentes e automação dos processos.

3. Procedimento analítico para determinação de acidez em EHC empregando multicomutação em fluxo e procura binária

Resumo

Um procedimento automático de titulação fotométrica foi desenvolvido para determinar a acidez do etanol combustível. O procedimento foi implementado usando um algoritmo de busca binária em um sistema baseado em multicomutação em análises em fluxo. O sistema de manipulação das soluções foi constituído por uma bomba de seringa construída em laboratório e um conjunto de válvulas solenoide, que foram arranjadas de modo a manipular as soluções através de acionamento controlado temporalmente por um microcomputador. O sistema de detecção empregado foi um fotômetro de LED. Para avaliação da exatidão, as amostras foram analisadas empregando as metodologias recomendadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e pela Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM), e os resultados foram comparados com os do procedimento proposto. Aplicando o teste-t de *Student* para amostras pareadas ao nível de confiança de 95% (n = 4), não houve diferença significativa entre os procedimentos. Além disso, o sistema apresentou desvio padrão relativo < 1% e o volume de efluente por determinação foi dez vezes menor que os produzidos pelos métodos ANP e ASTM.

Palavras-chave: Etanol combustível, Bomba de seringa, Multicomutação em análises em fluxo, Titulação espectrofotométrica, Fotômetro de LED.

Abstract

An automatic photometric titration procedure was developed to determine the acidity of fuel ethanol. The procedure was implemented by using a binary search algorithm and a multicommuted flow analysis system. Solution-handling setup included a homemade syringe pump and a set of solenoid valves, which were assembled to treat the solution-handling as a time function controlled by a microcomputer. Photometric detection was performed using a compact homemade LED-based photometer. Aiming at to evaluation accuracy, samples were analyzed employing the methodologies recommended by the Brazilian Association of Technical Standards (ABNT) and the American Society for Testing and Materials (ASTM). Accuracy was assessed by applying the Student's t-test for paired samples at the 95% confidence level (n = 4), which shown that there is no significant difference between results. Other useful features included relative standard deviation <1% and ten times lower waste generation than those produced by ANP and ASTM methods.

Keywords: Fuel ethanol, Syringe pump, Multicommuted flow analysis, Spectrophotometric titration, LED-based photometer

3.1. Introdução

Apesar das vantagens do uso de etanol em substituição total ou parcial de combustíveis fósseis, o alto potencial corrosivo associado ao etanol é considerado como um dos principais problemas. O etanol hidratado combustível (EHC) pode conter contaminantes inorgânicos devido aos processos de produção, armazenamento e transporte, e estes contaminantes podem causar corrosão no motor e no sistema de injeção [82-84]. A acidez e a presença de espécies inorgânicas (*e.g.* Cl^-, Cu^{2+}, Fe^{3+} e SO_4^{2-}), combinadas com oxigênio livre e água, são responsáveis pela indução dos principais processos corrosivos causados pelo etanol combustível.

A acidez presente no EHC é proveniente de diferentes fontes, como no processo de fermentação onde são adicionados ácidos minerais a fim de prevenir a evolução de microrganismos, e também no processo de oxidação espontânea do etanol em seu correspondente ácido orgânico (ácido acético) [85]. A elevação da acidez do etanol influencia o aumento da condutividade elétrica, e com isso pode provocar processos corrosivos (corrosão galvânica) em peças dos veículos onde há contato direto com o combustível [86].

Considerando seu potencial de induzir a corrosão, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) estabeleceu que o etanol combustível não deve apresentar acidez maior que 30 mg de ácido acético por litro de etanol. As amostras podem ser analisadas empregando titulações volumétricas, de acordo com a resolução NBR 9866 (2012) [87] e ASTM D1613-17 [88]. O método da NBR baseia-se na titulação de neutralização com observação do ponto final visual utilizando α-naftolftaleína como indicador, enquanto que o da ASTM utiliza a fenolftaleína como indicador.

Como é característico das titulações colorimétricas, diversas etapas exigem o manuseio das soluções envolvidas no processo e, geralmente, são feitas de forma manual, consumindo grandes volumes de soluções e exigindo muito tempo para realização. A detecção visual do ponto final da titulação pode se tornar uma fonte de erro, que pode ser minimizado empregando um procedimento automatizado para manipular as soluções e detectar o ponto final da titulação. Pensando nisso, alguns procedimentos alternativos foram propostos com detecção por condutimetria [89,90]

e coulometria [91], com destaque ao trabalho desenvolvido empregando análises em fluxo e detecção condutimétrica [89].

O presente trabalho propõe um procedimento analítico totalmente automático para a determinação fotométrica da acidez total em etanol combustível. O procedimento foi implementado empregando um algoritmo de procura binária [92] e um sistema baseado em multicomutação em análises em fluxo e detecção fotométrica com cela de longo caminho óptico [93].

3.2. Experimental

3.2.1. Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água desionizada, com resistividade específica > 18,2 MΩ cm a 25 °C. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico (Merck, Germany).

Todas as soluções abaixo foram preparadas utilizando água livre de CO_2, obtida por ebulição durante 5 minutos e posterior resfriamento à temperatura ambiente. Soluções-estoque de ácido clorídrico (HCl) e ácido acético (CH_3COOH) (0,5 mol L^{-1}) foram preparadas por diluição dos ácidos concentrados em água e armazenadas em frasco âmbar. Uma solução estoque de hidróxido de sódio (NaOH) (1,0 mol L^{-1}) foi preparada por dissolução do sólido em água. As soluções de trabalho de NaOH foram diariamente preparadas e padronizadas por titulação com hidrogenoftalato de potássio ($KHC_8H_4O_4$) (previamente seco em estufa e armazenado em dessecador), usando fenolftaleína como indicador. As soluções estoque dos indicadores fenolftaleína ($C_{20}H_{16}O_4$) e α-naftolftaleína ($C_{28}H_{18}O_4$) 1,0% (m/v) foram preparadas por dissolução em solução alcoólica 70% (v/v) e armazenadas em frascos de vidro âmbar. As soluções de trabalho foram preparadas diariamente por diluição em solução alcoólica 50% (v/v).

As amostras de etanol foram coletadas em postos de combustíveis na cidade de Piracicaba - SP. As amostras foram coletadas em frascos de 1 L (vidro âmbar) e analisadas o mais rápido possível. Previamente ao processo de análise, 5,0 mL de água livre de CO_2 e 10 µL de NaOH (10,0 mmol L^{-1}) foram adicionados a um balão volumétrico de 10 mL e, em seguida, foram adicionados 5,0 mL da amostra de

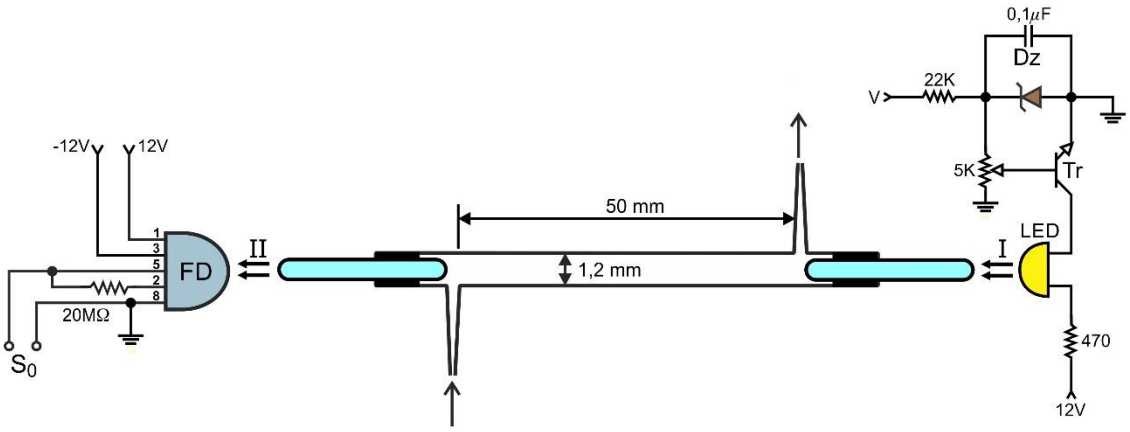
etanol combustível; então, esta solução foi homogeneizada e levada para análise no sistema em fluxo.

3.2.2. Equipamentos e acessórios

As titulações em batelada foram realizadas usando uma bureta com capacidade volumétrica de 5,00 mL e graduação de 10 µL. Um agitador magnético (Fisatom), com uma barra de agitação magnética, foi usado para facilitar o processo de agitação durante a titulação. Vidrarias de classe A foram usadas nos experimentos.

O sistema em fluxo foi montado em duas partes distintas: um sistema para manipulação de soluções e um sistema para detecção fotométrica. Um protótipo de bomba de seringa, como anteriormente descrito [94], foi construído com bases em acrílico usando duas seringas de vidro (Arti Glass, 5 mL), duas válvulas solenoide de três vias (HP225T031, 100 PSI, NResearch) e quatro válvulas solenoide normalmente fechadas de duas vias (161T011, 30 PSI, NResearch). As linhas de fluxo e a alça de amostragem foram feitas usando tubos de politetrafluoroetileno (PTFE) com 0,8 mm de diâmetro interno. O controle da bomba de seringa e do módulo de análises foi realizado utilizando um microcomputador equipado com uma interface PCL711 (Advantech) e um *software* escrito em Quick BASIC 4.5. Como sistema de detecção, foi construído um fotômetro de LED utilizando um fotodetector OPT301 (Texas Instruments) e LEDs de alta intensidade de emissão (≈ 647 ou 530 nm). A cela em fluxo foi construída em vidro, com 50 mm de percurso óptico e diâmetro interno de 1,2 mm, totalizando ≈ 55 µL de volume interno (Figura 3.1).

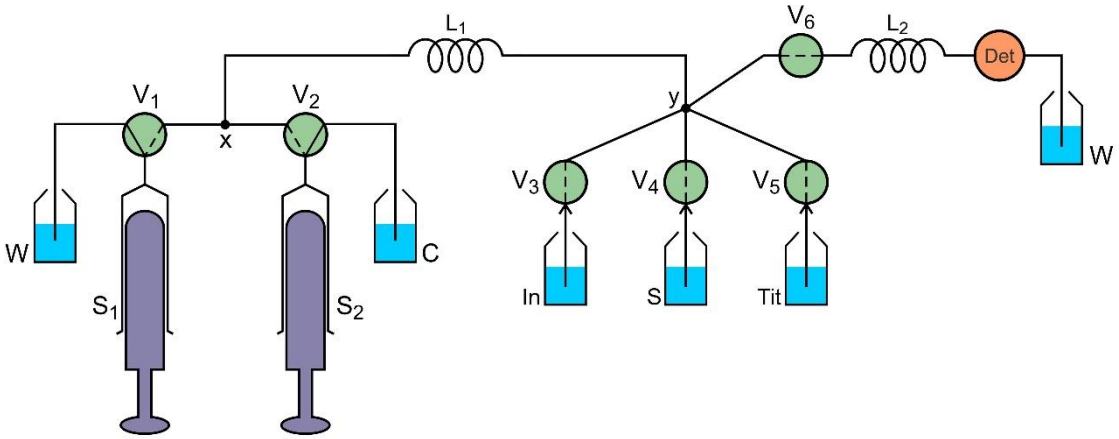
Figura 3.1. Sistema de detecção do fotômetro. FD e LED são o fotodetector e a fonte de radiação, respectivamente



3.2.3. Descrição do procedimento proposto

O módulo de análises compreendeu uma bomba de seringa para propulsão dos fluidos, um conjunto de válvulas solenoide para direcionamento das soluções e um sistema de detecção fotométrico. O diagrama do sistema em fluxo é mostrado na Figura 3.2 na condição de espera.

Figura 3.2. Diagrama do sistema em fluxo para titulação fotométrica. S_1 e S_2 são seringas de vidro; x e y são as confluências em Teflon; V_1 e V_2 são válvulas solenoide de 3 vias (100 psi); V_3, V_4, V_5 e V_6 são válvulas solenoide de 2 vias (normalmente fechadas, 30 psi); L_1 e L_2 são alças de amostragem/reator e a linha de transmissão com 50 e 10 cm de comprimento, respectivamente; W são frascos para efluentes; S, In e Tit são frascos contendo a amostra, indicador e titulante; C é o fluido transportador (água) e DET é o sistema de detecção fotométrico



O *software* de controle foi escrito para realizar o procedimento de titulação fotométrica empregando o algoritmo de procura binária [66,68]. Quando o *software* inicia a primeira operação de titulação, a bomba de seringa é colocada em funcionamento no modo de aspiração e a válvula solenoide V_1 é mantida ligada, enquanto as válvulas solenoide V_3, V_4 e V_5 são acionadas individual e sequencialmente. Nestas condições, o reator de amostragem (L_1) é preenchido com uma sequência de alíquotas da amostra e das soluções do titulante e indicador.

A vazão foi fixada em 25,0 µL s^{-1} e os intervalos de acionamento das válvulas solenoide V_4 e V_5, para a primeira tentativa, foram ajustadas em 1,0 s; assim, o volume da alíquota da solução da amostra (Vs_1) foi igual ao volume da alíquota da solução de titulante (Vt_1) (25,0 µL). O volume interno da alça de amostragem (L_1) foi de 250 µL, então seis ciclos de amostragem foram programados para assegurar que o reator de amostragem fosse preenchido com a mistura amostra-titulante. O intervalo de tempo para acionamento da válvula solenoide V_3 foi de 0,05 s; portanto, seis alíquotas de 1,25 µL foram distribuídas por toda a zona da amostra. Na próxima etapa, as válvulas solenoide V_1, V_3, V_4 e V_5 foram desligadas, e a bomba continuou no modo de aspiração e a vazão foi aumentada para preenchimento da seringa (S_2) com o fluído transportador. Em seguida, a direção de bombeamento foi invertida e as válvulas solenoide V_2 e V_6 foram ligadas. Nestas condições, a zona da amostra foi deslocada do reator de amostragem pelo fluido transportador (C) em direção ao fotômetro (Det).

Antes de iniciar o processo de titulação, o sinal gerado pelo fotômetro com a cela de fluxo preenchida com o fluido transportador (C) foi ajustado para ≈ 2000 mV (V_0). O sinal gerado com a cela de fluxo preenchida com a amostra deve ser menor que o valor medido, V_0. O microcomputador monitorava o sinal (V_i) gerado pelo fotômetro, subtraia do valor de referência (V_0) e analisava sua magnitude para determinar o curso da titulação de acordo com os seguintes critérios: (i) se a diferença entre as medidas ($\Delta mV = V_0 - V_i$) era inferior a 150 mV, havia um excesso da solução de titulado (meio ácido) na zona amostral; (ii) se ΔmV era superior a 400 mV, existia um excesso da solução de titulante (meio alcalino). Se nenhuma destas condições era satisfeita, a titulação tinha alcançado a condição estequiométrica e era finalizada. Nos dois casos, onde o sinal gerado não atingia o intervalo definido como ponto final da titulação, ou seja, entre 150 e 400 mV, o sistema iniciava um processo de tentativas baseado no incremento e decremento

dos volumes da amostra e da solução titulante. Sendo o tempo inicial da amostra Vs_1 e a primeira variação de volume definida como ($\Delta V_1 = Vs_1 / 2$); caso (i) $\Delta mV < 150$ mV, o próximo volume de amostra será $Vs_2 = Vs_1 - \Delta V_1$ e o próximo volume da solução titulante será $Vt_2 = Vt_1 + \Delta V_1$; caso (ii) $\Delta mV > 400$ mV, então $Vs_2 = Vs_1 + \Delta V_1$ e $Vt_2 = Vt_1 - \Delta V_1$. Para as tentativas subsequentes de titulação, a variação de volume foi calculada da seguinte forma: $\Delta V_2 = \Delta V_1 / 2$ e $\Delta V_3 = \Delta V_2 / 2$ e assim por diante até encontrar o ponto final da titulação.

3.2.4. Procedimentos oficiais

Método ABNT (NBR 9866-2012)

Os ensaios empregando o método ABNT foram realizados da seguinte forma: 50 mL de água e 100 µL do indicador α-naftolftaleína (1%, m/v) foram adicionados a um Erlenmeyer de 250 mL. A solução foi neutralizada sob agitação constante utilizando uma solução padronizada de NaOH (10,0 mmol L^{-1}). Posteriormente, uma alíquota de 50 mL da amostra foi adicionada ao Erlenmeyer. O titulante foi adicionado ao recipiente de titulação até o aparecimento da cor azul [87].

Método ASTM (D1613-17)

Os ensaios empregando o método ASTM foram realizados da seguinte maneira: 50 mL de água e 0,5 mL do indicador fenolftaleína (1%, m/v) foram adicionados a um Erlenmeyer de 250 mL e foram neutralizados usando uma solução padrão de NaOH (10,0 mmol L^{-1}). Posteriormente, uma alíquota de amostra (50 mL) foi adicionada ao Erlenmeyer. O titulante (NaOH, 10,0 mmol L^{-1}) foi adicionado ao recipiente de titulação até aparecer uma cor rosa. Antes de iniciar a titulação, gás nitrogênio foi borbulhado na amostra para remoção de CO_2, como descrito no procedimento oficial [88].

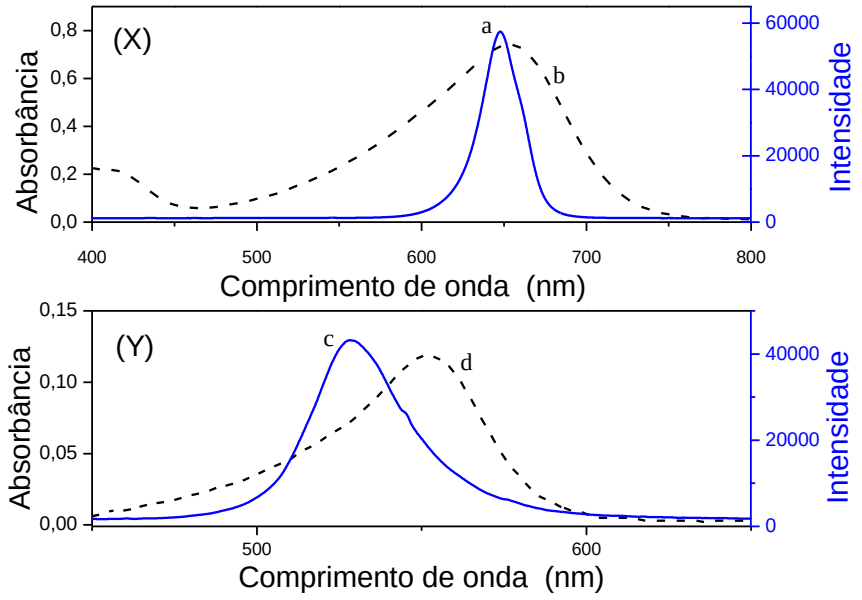
3.3. Resultados e Discussão

O sistema em fluxo baseado em procura binária foi utilizado para automatizar os procedimentos descritos pela ANP e ASTM para determinação de acidez em etanol combustível por titulação volumétrica com ponto final visual. Os indicadores colorimétricos empregados foram a α-naftolftaleína (ANP) e a fenolftaleína (ASTM). A acidez presente no etanol é majoritariamente proveniente da sua oxidação a ácido

acético e, por isso, as normas preconizam o uso de indicadores apropriados para uma titulação de base forte (NaOH) com ácido fraco (ácido acético, pK_a 4,75).

Os indicadores químicos apresentam acentuada e distinta mudança de coloração ao atingir a faixa de transição, partindo de incolor até a cor rosa ou azul esverdeado. Portanto, devido à diferença de coloração entre os indicadores e também o uso de um fotômetro de LED, foi necessário avaliar LEDs com faixas de emissão apropriadas. Para isso, foi obtido um espectro de absorção dos respectivos indicadores em meio alcalino com teor alcoólico de 50% v/v, e então comparados com os espectros de emissão dos LEDs de cor verde e vermelha (Figura 3.3). É possível observar na Figura 3.3(X) a total sobreposição dos espectros de absorção da α-naftolftaleína ($\lambda_{máx}$ = 653 nm) e o LED vermelho com emissão máxima em 647 nm. Para a fenolftaleína ($\lambda_{máx}$ = 550 nm), o LED mais apropriado disponível foi o verde com emissão máxima em 530 nm (Figura 3.3(Y)), embora neste último caso os espectros não apresentassem coincidência em seus máximos, os espectros se sobrepõem em uma região considerável, tornando o LED adequado como fonte de radiação.

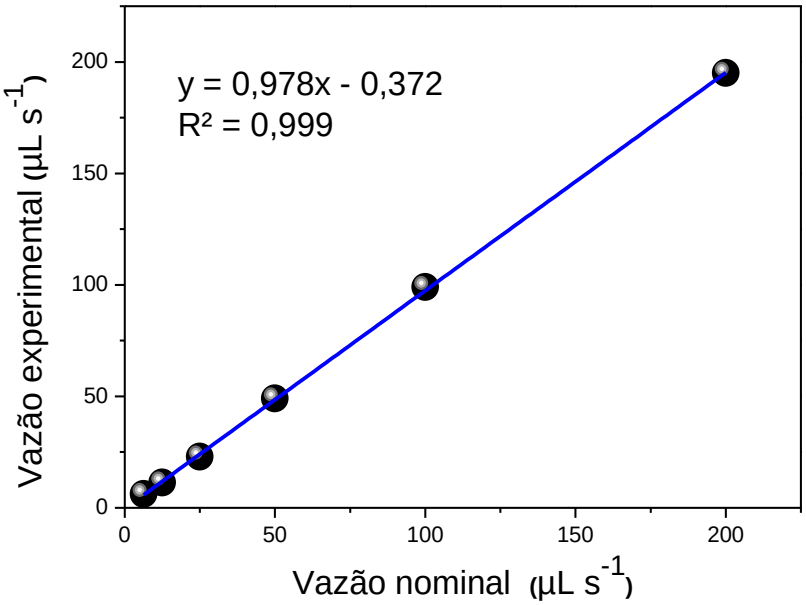
Figura 3.3. Espectros de absorção dos indicadores e espectros de emissão dos LEDs. b e d são os espectros de absorção da α-naftolftaleína e fenolftaleína em meio alcalino, respectivamente (50% etanol/água); a e c são os espectros de emissão dos LEDs vermelho e verde, respectivamente. Espectros obtidos com um espectrofotômetro multicanal Ocean Optics (USB4000-UV-Vis)



3.3.1. Otimização das variáveis experimentais

O procedimento de titulação proposto explorou o algoritmo de amostragem binária, no qual a vazão na etapa de amostragem deve ser exata e reprodutível. A bomba de seringa teve as vazões ajustadas através da frequência (Hz) de acionamento da mesma, o que permitiu o uso de vazões de bombeamento na faixa de 3,2 a 200,0 µL s^{-1}. O ajuste das vazões foi realizado através de pesagens de massas de água que eram propelidas pela bomba. Na Figura 3.4 é apresentado um gráfico da correlação linear (R^2 > 0,999) entre as vazões nominal e experimental. Empregando a vazão de 25 µL s^{-1}, vários ensaios foram repetidos (n = 10) em dias diferentes, e a vazão média foi de 25,01 ± 0,26 µL s^{-1}. Estes resultados comprovaram a robustez do sistema de propulsão construído. Ainda assim, o sistema foi extensamente explorado para um conjunto de titulações ácido base em meio aquoso, com a finalidade de avaliar a robustez dos outros componentes do módulo de análises, como as válvulas solenoide e o sistema de detecção. Amostras de sucos, vinhos e vinagres foram tituladas, obtendo-se desvios padrão relativo menor que 1% [95].

Figura 3.4. Avaliação da exatidão das vazões fornecidas pela bomba de seringa



O reator de amostragem (L_1) (Figura 3.2) foi montando com 50 cm de comprimento, o que corresponde a *c.a.* 250 µL, e a linha de transmissão (L_2) até cela de fluxo foi a menor possível (10 cm, correspondendo a *c.a.* 50 µL). Considerando que a cela de detecção tem o volume interno de ≈ 55 µL, foi utilizado o conceito de volume infinito visando suprimir o efeito da dispersão no sistema. Isso foi conseguido pela inserção de um volume de soluções (amostra, indicador e titulante) maior que o do reator de amostragem. O volume do reator (250 µL) supera o volume associado às outras partes que, juntas, somam 105 µL. Nesta condição, havia um excesso de 100 µL da zona da amostra livre dos efeitos preponderantes nas fronteiras da zona da amostra, como acidez residual e formação excessiva de gradientes de concentração.

As soluções dos indicadores (fenolftaleína 0,05% (m/v) e α-naftolftaleína 0,01% (m/v)) foram inseridas por V_3 e o tempo de inserção por ciclo de amostragem foi fixado em 0,05 s, totalizando 1,25 µL por ciclo de amostragem.

Como exposto acima, o número de ciclos de amostragem deveria ser suficiente para obter um preenchimento completo do reator de amostragem (L_1). Portanto, considerando a vazão de amostragem de 25,0 µL s^{-1} e que a primeira tentativa da titulação foi fixada em 1,0 s de intervalo de tempo para ligar as válvulas solenoide (V_4, V_5) e 0,05 s (tempo constante) para válvula V_3, a cada ciclo de amostragem foi inserido no reator (L_1) 25,0 µL de cada solução (titulado e titulante) e mais 1,25 µL do indicador, totalizando 51,25 µL por ciclo. Para garantir o preenchimento completo do reator de amostragem (250 µL), o número de ciclos de amostragem foi otimizado em pelo menos seis ciclos (≈ 307 µL).

Os resultados foram obtidos usando uma vazão de amostragem de 25,0 µL s^{-1}, pois vazões menores deixavam o sistema mais lento e não promoviam ganho analítico, e em vazões superiores, a mistura não foi eficiente devido ao grande volume das alíquotas, além da diminuição na eficiência de vedação das válvulas solenoide de duas vias, que suportam pressão máxima de 30 psi. Portanto, esta vazão (25,0 µL s^{-1}) foi selecionada na etapa de amostragem do procedimento. Nas etapas de preenchimento da seringa e leitura do sinal, foram empregadas vazões de bombeamento de 200,0 e 100,0 µL s^{-1}, respectivamente, pois além de agilizar as análises, estas etapas não influenciaram diretamente nos resultados.

3.3.2. Resposta do sistema de detecção com o uso de meio etanólico

Em sistemas em fluxo com detecção fotométrica, o efeito *Schlieren* pode ocorrer pela mistura de líquidos com diferentes índices de refração, viscosidade, concentração, polaridade e temperatura. Na mistura água-etanol, esse efeito é acentuado e foi vastamente explorado para a determinação de etanol em amostras de bebidas destiladas. No presente trabalho, o efeito *Schlieren* provocado pela mistura de água com etanol (≈ 95% v/v) causou intensa interferência nas medidas, o que impediu a correta identificação do ponto final da titulação. Este efeito foi minimizado pela diluição das amostras de etanol combustível com água na proporção de 1:1.

Como a acidez é estimada em termos de ácido acético, um conjunto de padrões de etanol (50% v/v) foram fortificados com ácido acético e tiveram sua concentração determinada pelo sistema proposto e pelas metodologias oficiais de titulação em batelada, e os resultados são apresentados na Tabela 3.1. Os valores obtidos com os procedimentos oficiais foram usados para estimar a recuperação do sistema proposto. Podemos observar que bons valores de recuperação foram obtidos, comprovando a aplicabilidade do procedimento e a mitigação dos erros decorrentes do efeito *Schlieren*.

Tabela 3.1. Resultados da titulação de padrões de ácido acético em 50% (v/v) de etanol

Ácido acético adicionado (mmol L^{-1})	ANP	MCFA	Recuperação	
	mmol L^{-1}		(%)	
10,0	10,5 ± 0,2	10,7 ± 0,9	105	107
50,0	50,7 ± 0,2	46,8 ± 1,5	101	94
	ASTM	MCFA		
5,0	5,3 ± 0,2	5,3 ± 0,4	106	106
15,0	15,7 ± 0,2	14,2 ± 0,6	105	95

Resultados médios de três medidas consecutivas ± desvio padrão.

Com a finalidade de identificar o ponto final da titulação, o sistema realizava uma busca da proporção volumétrica entre a amostra e o titulante, capaz de

promover um sinal analítico com magnitude dentro de uma faixa predefinida, ou seja, ao atingir o intervalo definido, a titulação chegava ao fim. Os ensaios preliminares mostraram que, para contornar o efeito *Schlieren*, o limiar inferior deveria ser maior que 150 mV, enquanto o limite superior deveria ser menor ou igual a 400 mV. De acordo com este critério, a corrida de titulação era terminada quando o sinal gerado pelo fotômetro foi maior que 150 mV e menor que 400 mV. Um terceiro argumento de saída foi inserido na lógica do procedimento, que consistia em verificar se o incremento de tempo estava abaixo de 5 ms (≈ 0,12 µL). Neste caso, o sistema também finalizava a titulação, pois a alteração nos volumes inseridos pelas válvulas solenoide era desprezível e não afetava significativamente o processo. Para melhor entendimento da estratégia, utilizou-se como modelo uma solução de etanol (50% v/v) enriquecida com 5,05 mmol L^{-1} de ácido acético e solução 10,0 mmol L^{-1} de NaOH, como titulante. As variáveis do sistema são detalhadas na Tabela 3.2 e registro típico obtido pelo procedimento é apresentado na Figura 3.5. Esse registro demonstra que, para a primeira titulação, nove tentativas (a, b, ... i) foram realizadas até obter uma medida dentro da faixa estabelecida (150 mV < ΔmV < 400 mV). Além disso, o valor da acidez determinado pelo sistema em fluxo foi de 5,19 mmol L^{-1}, diferindo em 3% da concentração real.

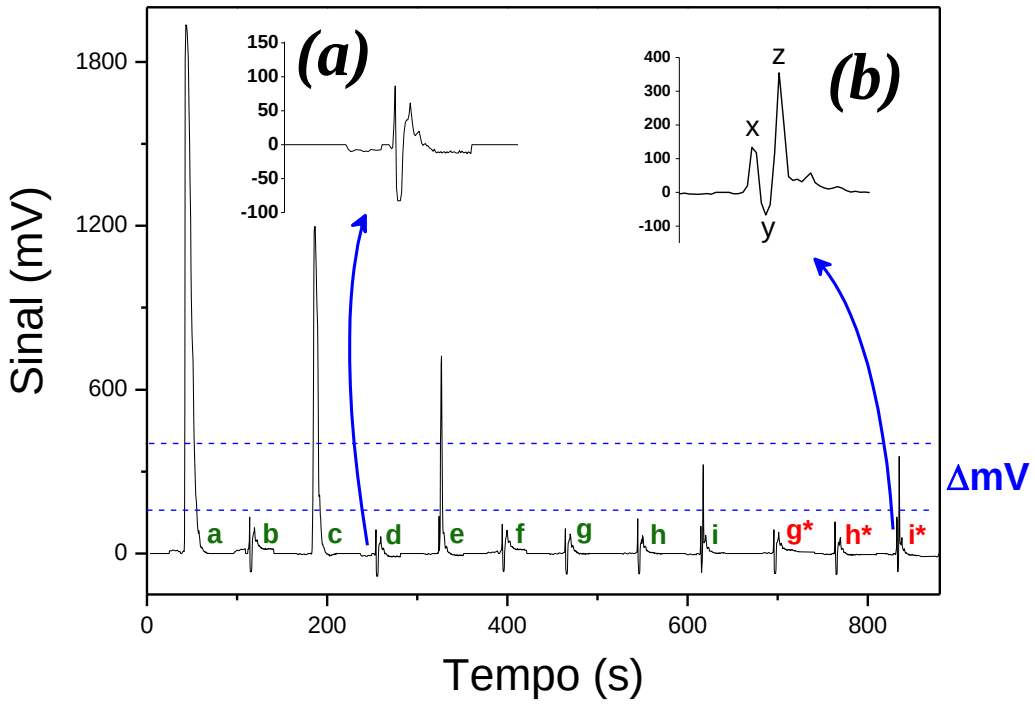
Tabela 2.2. Valores atribuídos às variáveis do sistema durante a execução de uma titulação automática

Tentativa	T. titulado (s)	T. titulante (s)	Variação (s)	Titulado (µL)	Titulante (µL)	Sinal (mV)	[Á.acético] mmol L^{-1}
a	1,0	1,0	-	150,00	150,00	> ΔmV	10,00
b	1,5	0,5	0,50	225,00	75,00	< ΔmV	3,33
c	1,25	0,75	0,250	187,50	112,50	> ΔmV	6,00
d	1,375	0,625	0,1250	206,25	93,75	< ΔmV	4,55
e	1,312	0,688	0,0625	196,88	103,13	> ΔmV	5,24
f	1,344	0,656	0,0313	201,56	98,44	< ΔmV	4,88
g	1,328	0,672	0,0156	199,22	100,78	< ΔmV	5,06
h	1,320	0,680	0,0078	198,05	101,95	< ΔmV	5,15
i	1,316	0,684	0,0039	197,46	102,54	ΔmV	5,19

Os valores descrevem as etapas da Figura 3.5; ΔmV é o sinal gerado pelo fotômetro.

Após o término da primeira titulação, o microcomputador analisava se o número de tentativas foi maior que três e, quando isso acontecia, a próxima titulação começava a partir da antepenúltima tentativa (Figura 3.5) e, com isso, apenas três tentativas ('g *', 'h *' e 'i *') foram feitas para atingir o ponto final da titulação. Esses resultados mostraram que a estratégia pode ser usada para acelerar o procedimento de titulação, além de reduzir o consumo de amostra e de titulante.

Figura 3.5. Registros dos sinais obtidos pelo procedimento de titulação por procura binária. Condições experimentais: solução de etanol a 50% (v/v) com 5,05 mmol L^{-1} de ácido acético; solução NaOH 10,0 mmol L^{-1}; seis ciclos de amostragem; e intervalo de saída (150 < ΔmV < 400 mV). As letras de 'a' à 'i' indicam os registros dos sinais gerados pela primeira titulação usando α-naftolftaleína, enquanto 'g *', 'h *' e 'i *' são registros da segunda titulação (com atalho). A inserção (a) mostra o efeito *Schlieren* em meio ácido e (b) em meio alcalino



No registro apresentado na Figura 3.5 é possível notar que a magnitude dos sinais relacionados ao efeito *Schlieren* são reprodutíveis e abaixo do limiar pré-configurado de 150 mV. No entanto, para uma titulação com frações volumétricas próximas ao ponto final da titulação, como na inserção (b), que mostrou que o sinal

analítico (z) é precedido por um sinal negativo, que ocorreu para todas as tentativas de titulação com sinal inferior a 400 mV. Portanto, a detecção de sinais com polaridade negativa foi incluída no *software* de controle como um parâmetro para ajudar na detecção do ponto final de titulação.

Outro ponto crítico do sistema é a diferença de concentração entre o titulado e o titulante. Considerando uma estequiometria 1:1, a diferença teórica de concentração entre as duas soluções, baseado na rotina do sistema, poderia ser maior que 60 vezes. Ou seja, o sistema seria capaz de titular soluções com diferenças de concentração maiores que 60 vezes. No entanto, experimentalmente foi verificado que essa diferença não poderia ser maior que 28 vezes, pois a concentração encontrada apresentava diferença maior que 10% em relação à concentração real. Este efeito deve estar relacionado com as condições de mistura e também com a diminuição da precisão das válvulas para tempos de acionamento muito curtos. Nas amostras de etanol, o valor máximo permitido para acidez (30 mg de ácido acético por litro de etanol) corresponde à 0,5 mmol L^{-1} de ácido acético, portanto, esperava-se que as amostras apresentassem concentração adequada para titulações com NaOH 1,0 mmol L^{-1}.

A interferência causada pela presença de CO_2 foi contornada usando água previamente fervida e resfriada. Devido à titulação ser realizada em ambiente fechado (dentro dos tubos), o uso de gases como o nitrogênio (N_2) não foi necessário.

3.3.3. Determinação da acidez em amostras de etanol combustível

A eficácia do procedimento proposto para determinar a acidez do etanol combustível foi avaliada através da análise de um conjunto de amostras adquiridas diretamente em postos de combustíveis. Para a avaliação da acurácia, as amostras também foram analisadas empregando as metodologias de referência ANP e ASTM [87,88] e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3.3. Aplicando o teste t de *Student* para amostras pareadas, com nível de confiança de 95% (n = 4), os valores obtidos de t foram 1,58 e 1,32 para as metodologias ANP e ASTM, respectivamente. O valor t-crítico é de 2,78, indicando que não houve diferença significativa entre os procedimentos.

Tabela 3.3. Resultados da determinação de acidez em etanol hidratado combustível.

Amostra	MCFA*	Procedimento ANP [87]*	MCFA**	Procedimento ASTM [88]**
A	9,92 ± 0,28	10,08 ± 0,58	9,52 ± 0,09	10,82 ± 0,72
B	6,6 ± 0,9	6,9 ± 0,3	9,1 ± 0,1	8,98 ± 0,45
C	20,2 ± 0,1	17,2 ± 0,3	20,10 ± 0,05	21,32 ± 0,27
D	18,98 ± 0,41	16,58 ± 0,25	20,01 ± 0,05	19,29 ± 0,63
E	9,6 ± 0,1	9,1 ± 0,3	9,81 ± 0,09	10,76 ± 0,51

Resultados médios de três medidas consecutivas ± desvio padrão. Os valores são expressos como “mg de ácido acético por litro de etanol”. * e ** indicam o uso de α-naftolftaleína e fenolftaleína como indicadores de cor, respectivamente, 1,0 mmol L^{-1} de NaOH foi usado na titulação pelo sistema automático (MCFA).

Apesar da boa aplicabilidade do sistema, parte das amostras coletadas não puderam ser analisadas no sistema fotométrico devido à turvação das mesmas quando submetidas à diluição 1:1 (v/v) com água. Este efeito está associado ao excesso de hidrocarbonetos no etanol, que podem ser provenientes da passagem do etanol nos mesmos dutos por onde passam gasolina, ou pela adição de substâncias que reajam com a água para a fácil identificação de adulteração. Para contornar essa turvação, alguns testes foram realizados como, submeter a amostra à aquecimento ou resfriamento, e também a adição dos tensoativos Triton X-114 e X-100, SDS e CTAB (1% m/v), no entanto, o efeito persistiu tornando as análises inviáveis para as amostras que apresentaram turvação.

3.3.4. Desempenho do sistema proposto

O sistema de gerenciamento dos fluidos (bomba de seringa e conjunto de válvulas) foi automaticamente controlado pelo microcomputador, permitindo a manipulação de pequenos volumes de solução em uma ampla faixa, sem prejudicar a precisão das alíquotas, fator essencial para as metodologias de titulação. O fotômetro baseado em LED apresentou um baixo nível de ruído e uma boa estabilidade das leituras a longo prazo.

Empregando uma amostra de etanol combustível com 0,34 mmol L^{-1} de ácido acético, o desvio padrão relativo obtido foi menor que 1% (n = 6), comprovando a boa precisão das medidas obtidas com o fotômetro. Titulações realizadas em cinco

dias diferentes em amostras recém-dopadas com ácido acético (0,40 mmol L^{-1}) apresentaram coeficiente de variação menor que 4% (n = 5), comprovando a robustez do sistema (reprodutibilidade). No exemplo mostrado na Figura 3.5, o sistema automático levou 10,8 min para realizar uma titulação com nove tentativas, embora em alguns casos a condição de saída pôde ser obtida com menos tentativas. Considerando que a análise da amostra é realizada em triplicata, e usando a estratégia do atalho, descrita anteriormente, o sistema pode realizar uma análise em proximamente 18,0 min, com volume de efluente gerado em torno de 11,5 mL por determinação, o que é aproximadamente dez vezes menor do que os volumes gerados pelos procedimentos oficiais. Portanto, podemos apontar como vantagens inerentes do procedimento proposto, o baixo consumo dos reagentes e a alta taxa de amostragem (≥ 10 determinações por hora), comparados com as titulações em batelada.

Na Tabela 3.4 é apresentado o desempenho dos procedimentos existentes para determinação de acidez em etanol combustível em comparação com o presente procedimento. Podemos observar que o MCFA apresenta níveis de recuperação e coeficiente de variação similares aos demais procedimentos, e menor geração de efluentes por determinação. Quanto à frequência analítica, um dos trabalhos descreve a realização de 120 determinações por hora, mas foi implementado usando um registrador gráfico para registrar o perfil do sinal, portanto, medidas adicionais de altura de foram obrigatórias antes de se obter os resultados finais. No procedimento proposto, ao final de cada titulação automática, o computador exibia na tela os volumes das soluções de titulante e titulado utilizados no ponto final, bem como a concentração de ácido da amostra.

Tabela 3.4. Comparação de desempenho dos procedimentos existentes para determinação de acidez em etanol combustível

CV (%)	Recuperação (%)	Efluente gerado (mL)	Frequência analítica (h^{-1})	Referência
< 1 (n = 6)	93,6 – 106,5	≤ 11,5	≥ 10	MCFA
< 1 (n = 15)	97,6 – 102,7	15,5	120	89
< 3	98,7 – 102,7	> 100	-	90
< 1	-	> 12	-	91

CV: coeficiente de variação; MCFA: multicomutação em análises em fluxo.

3.4. Conclusão

Os resultados obtidos demonstram a viabilidade do procedimento de titulação automática empregando a estratégia de busca binária, associada à multicomutação em fluxo para determinar a acidez de amostras de etanol combustível. Os erros decorrentes do efeito *Schileren* foram devidamente contornados diluindo-se as amostras com água. Efeitos externos, como absorção de CO_2 e subjetividade do analista ao identificar o ponto final da titulação foram eliminados. Alta precisão (CV < 1%) e exatidão foram alcançadas. Utilizando o procedimento proposto, mais de 10 titulações por hora podem ser realizadas automaticamente com geração de resíduos dez vezes menor que os das metodologias ANP e ASTM, atendendo, portanto, os princípios da química verde em relação à redução de resíduos. Além disso, a titulação fotométrica sem o uso de curvas de calibração atende à definição da IUPAC de titulação verdadeira.

4. Procedimento analítico sem preparo de amostra para determinação de sulfato em EHC empregando estratégia fluxo-batelada

Resumo

Neste trabalho foi desenvolvido um procedimento simples, preciso e rápido usando um sistema em fluxo-batelada com detecção fotométrica para a determinação de sulfato em etanol combustível. Após a formação de sulfato de bário, solúvel em meio alcoólico, o bário remanescente foi complexado pelo reagente dimetilsulfonazo III (DMS), cuja absorbância foi monitorada a 655 nm diretamente na câmara de reação. O procedimento proposto não requer nenhum tratamento da amostra. Sob as condições otimizadas, o procedimento apresentou vantagens como, baixa geração de efluentes (< 5 mL), frequência analítica de 35 determinações h^{-1}, resposta linear de 0,1 a 1,5 mg L^{-1} de sulfato e um limite de detecção (95%) e coeficiente de variação (n = 6) de 48 µg L^{-1} e 1%, respectivamente. A exatidão do procedimento foi avaliada pela comparação dos resultados com os obtidos por cromatografia de íons, e nenhuma diferença significativa foi observada ao nível de confiança de 95%.

Palavras-chave: Combustível, Bioetanol, Sulfato de bário, Espectrofotometria, Química verde.

Abstract

A simple, accurate, and fast flow-batch procedure employing photometric detection for the determination of sulfate in fuel ethanol was developed. After the formation of soluble barium sulfate in an alcoholic medium, the remaining barium formed a product with dimethylsulfonazo III (DMS), which absorbance was monitored at 655 nm directly in the reaction chamber. The proposed procedure does not require any sample treatment. Under the optimized conditions, the procedure offers the advantages of low waste generation (less than 5 mL), sampling rate of 35 determinations per hour, linear response of 0.1−1.5 mg L^{-1} sulfate, and a limit of detection (95%) and coefficient of variation (n = 6) of 48 µg L^{-1} and 1%, respectively. The accuracy was assessed by comparison of results with those obtained by ion-chromatography; no significant difference was observed at the 95% confidence level.

Keywords: Fuel, Bioethanol, Barium sulfate, Spectrophotometry, Green chemistry.

4.1. Introdução

Apesar de suas vantagens ambientais, o EHC deve ser submetido a um rigoroso controle de qualidade devido à presença de constituintes inorgânicos como Cl^-, SO_4^{-2}, Na^+, Cu^{2+} e Fe^{3+} provenientes da matéria-prima, armazenamento, transporte e dos processos de produção. Quando presentes em altas concentrações, esses íons podem afetar o desempenho do motor, devido à facilidade em formar sais e sedimentos que podem causar danos e induzir a corrosão [96,97]. Diante disso, parâmetros de controle de qualidade foram estabelecidos pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) por meio da normativa NBR10894/2012 [98], que estabelece o uso da cromatografia iônica como metodologia oficial para a determinação de sulfato e cloreto. Este procedimento apresenta precisão e robustez adequadas para a análise do etanol combustível, mas o alto custo de operação e o longo tempo de análise são incompatíveis com a alta demanda por análises desse tipo. Na tentativa de superar essas desvantagens, métodos alternativos têm sido propostos com base na eletroforese capilar [99,100], titulação condutimétrica [101], fluorescência de raios X [84] e espectrofotometria (UV-vis) [102,103].

Geralmente, nesses procedimentos as amostras de combustível são submetidas à combustão ou secagem, com posterior recuperação dos analitos em solução aquosa [99,100,103]. Esses tratamentos são empregados para eliminar os efeitos da matriz (evaporação do solvente) e/ou para a pré-concentração dos analitos. Almeida e colaboradores [102] desenvolveram um procedimento espectrofotométrico de baixo custo que submete a amostra à diluição 1:1 (v/v). No entanto, como relatado anteriormente, a diluição das amostras, apesar da sua simplicidade, não é uma estratégia apropriada para medidas espectrofotométricas em todas as amostras de EHC, devido ao aparecimento da turbidez.

Outra estratégia empregada foi a determinação indireta do sulfato, na qual houve a exploração da formação do composto sulfato de bário, com posterior separação do precipitado e determinação por fluorescência de raios X, via monitoramento da linha do bário [84]. No entanto, este método alternativo também consome um longo tempo de análise, apesar da alta sensibilidade alcançada (LD = 30 μg L^{-1}). Além disso, é consenso que etapas como combustão, solubilização e filtragem são fontes de erros e também reduzem o rendimento analítico.

Neste capitulo é descrito um novo procedimento espectrofotométrico para a determinação de sulfato em etanol combustível sem pré-tratamento da amostra. A reação explorada foi baseada na formação de sulfato de bário em meio alcoólico e reação subsequente do bário remanescente com o dimetilsulfonazo (III), formando um composto que é monitorado em 655 nm [102,103]. O procedimento foi automatizado usando um sistema baseado em fluxo-batelada [30,31] controlado por microcontrolador Arduino [81].

4.2. Experimental

4.2.1. Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas em água desionizada (resistividade> 18,2 MΩ cm). Os reagentes foram de grau analítico (Merck, Germany), com exceção do dimetilsulfonazo III (DMS), que foi adquirido da Tokyo Chemical Industry, Japão.

Uma solução estoque de sulfato 500 mg L^{-1} foi preparada pela dissolução em água do sulfato de potássio, que foi previamente seco em estufa a 110 ºC durante 2 h. Soluções de trabalho (0,1 - 2,0 mg L^{-1}) foram preparadas por diluição em etanol absoluto. Soluções estoque de cloreto de bário di-hidratado ($BaCl_2.2H_2O$) 20,0 mmol L^{-1}, ácido nítrico (HNO_3) 2,0 mol L^{-1}, nitrato de potássio (KNO_3) 50 mmol L^{-1} e DMS ($C_{24}H_{20}N_4O_{14}S_4$) 15 mmol L^{-1} foram preparadas em água.

A solução do reagente R_1 contendo 1,0 mmol L^{-1} de $BaCl_2$ foi preparada em uma solução de HNO_3 (50 mmol L^{-1}). A solução do reagente R_2 com 1,0 mmol L^{-1} de DMS e 1,0 mmol L^{-1} de KNO_3 foi preparada por diluição em etanol absoluto. A avaliação das espécies potencialmente interferentes foi realizada utilizando soluções de $Ca(NO_3)_2$, $Mg(NO_3)_2$, Na_2SO_4, $Cu(NO_3)_2$, $Fe(NO_3)_3$ e CH_3COOH.

Amostras de etanol combustível foram fornecidas por diversas usinas de etanol do Estado de São Paulo, através da Al Sukkar Biotecnologia Industrial. As amostras foram analisadas pelo procedimento proposto sem qualquer tratamento prévio. Amostras com concentração superior à faixa de trabalho foram diluídas com etanol absoluto.

4.2.2. Equipamentos e acessórios

O sistema de manipulação dos fluídos foi montado com três mini-bombas peristálticas (Welco Co., Ltd., Tóquio, Japão), duas mini-bombas solenoide (25 µL por pulso; Bio-Chem Valves Inc., Boonton, NJ, EUA) e uma válvula solenoide de três vias (NResearch, EUA, 100 psi). As linhas de fluxo foram construídas com tubos de Teflon (0,8 mm d.i.).

O sistema em fluxo-batelada foi montado usando os seguintes componentes: uma câmara fabricada em vidro borossilicato com 50 mm de altura e 10 mm de diâmetro interno, um sistema de agitação com barra magnética e um sistema de detecção, usando uma fonte de radiação (lâmpada de tungstênio) e um espectrômetro UV-vis (Ocean Optics, USB-4000, Dunedin, FL, EUA). Todos os três componentes foram acoplados usando um suporte construído em uma impressora 3D (Figura 4.1). O controle do sistema de manipulação dos fluidos foi realizado utilizando uma placa Arduino Due equipada com a interface de potência ULN 2803, montadas conforme mostrados na Figura 4.2.

Figura 4.1. Suporte feito em 3D para hifenar a câmara com os sistemas de detecção e agitação. (a) suporte 3D; (b) câmara de vidro acoplada ao suporte e (c) fibras ópticas acopladas ao módulo

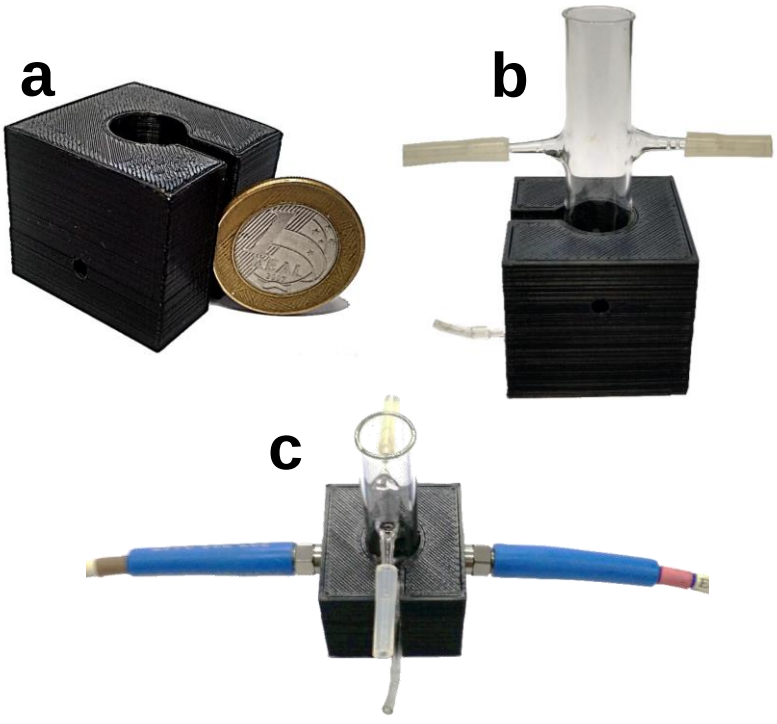
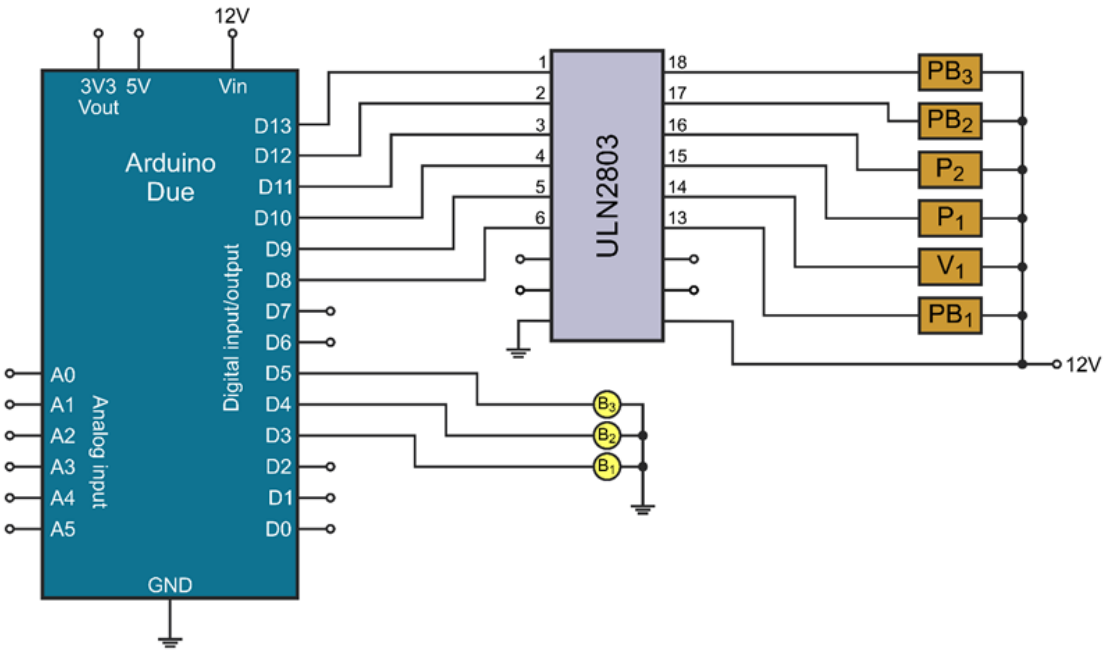


Figura 4.2. Configuração eletrônica do sistema de manipulação de fluidos com base na placa Arduino Due e interfaces periféricas



4.2.3. Procedimento de análises em fluxo-batelada

O processo de análises foi dividido em quatro etapas, realizadas sob agitação contínua, utilizando o módulo apresentado na Figura 4.3:

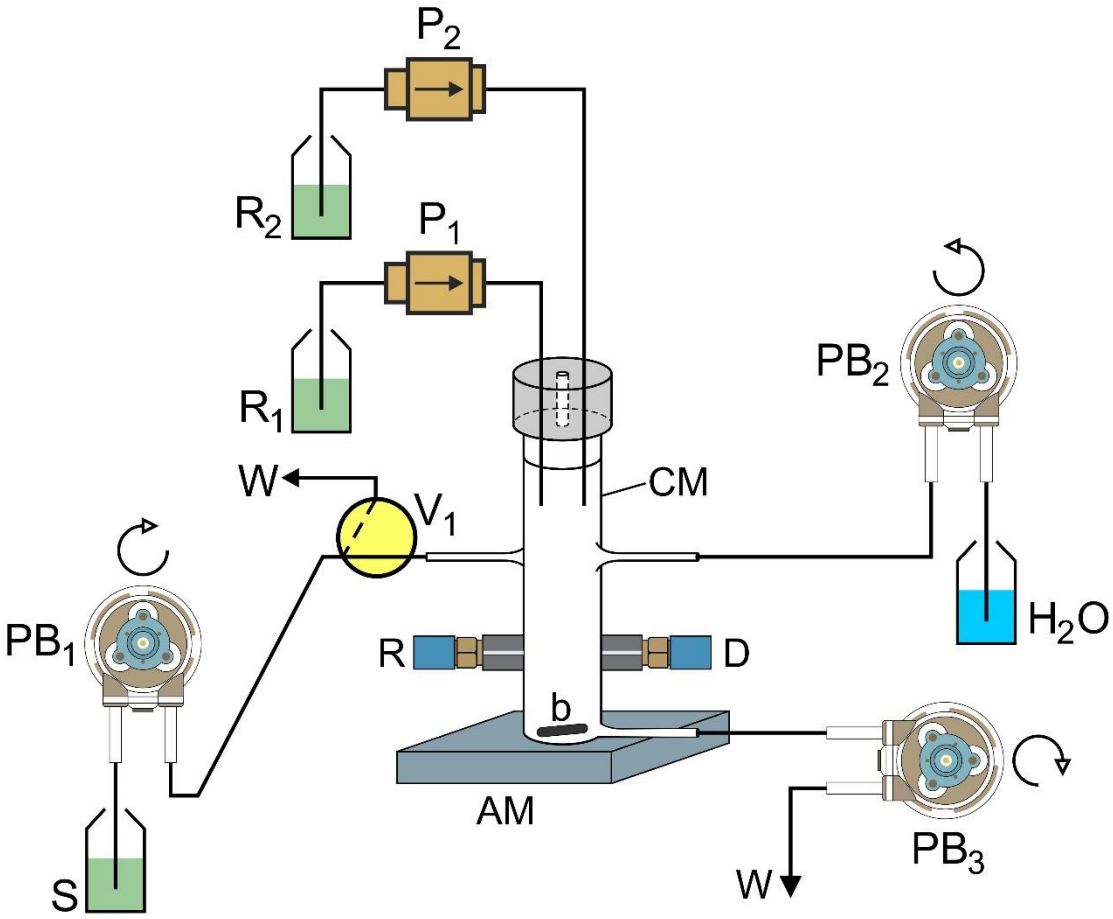
(i) preenchimento dos canais com as soluções dos reagentes (acionando P_1, P_2 e PB_1) e posteriormente limpeza da câmara (acionando PB_2 e $PB_{3)}$;

(ii) etapa de amostragem com a inserção das soluções R_1 (acionando P_1) e amostra/padrão (acionando PB_1) na câmara de mistura/reação (CM). Formação de sulfato de bário, tempo de espera 20 s;

(iii) etapa de formação do produto com adição da solução R_2 (acionando P_2), e monitoramento do composto formado em 650 nm por 10 s;

(iv) etapa de limpeza com acionamento das mini-bombas PB_3 para esvaziar a CM, PB_2 para lavar com água e PB_3 para esvaziar novamente.

Figura 4.3. Diagrama do módulo em fluxo-batelada para determinação espectrofotométrica de sulfato em etanol combustível. P_1 e P_2: mini-bomba solenoide; PB_1, PB_2, e PB_3: mini-bomba peristáltica; V_1: válvula solenoide; CM: câmara de mistura; R e D: cabos de fibra óptica conectados a uma lâmpada de tungstênio e um espectrômetro (Ocean Optics), respectivamente; b: barra magnética; AM: agitador magnético. R_1 e R_2: soluções dos reagentes, S: solução padrão ou amostra e W: frascos de efluentes



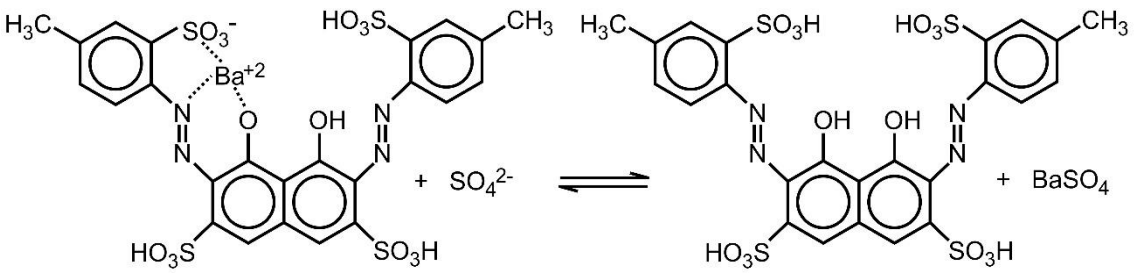
Ao fim das etapas descritas acima, o sistema repete as ações a partir da segunda etapa (ii) até atingir o número de replicatas programadas. Na etapa de troca de solução padrão ou amostra, a válvula (V_1) foi ligada para desviar a solução para frasco de efluentes.

4.3. Resultados e Discussão

4.3.1. Aspectos gerais

A reação de descoloração do DMS-Ba devido ao deslocamento provocado pelo sulfato (Figura 4.4), formando $BaSO_4$, é bem documentada na literatura [102-104]. Segundo alguns autores, a formação dos produtos acontece rapidamente na presença de misturas de água/cetona e água/etanol, podendo ainda ser usada em uma ampla faixa de pH [104]. No entanto, a maioria dos trabalhos emprega uma faixa ácida de pH (geralmente com tampão acetato), com o objetivo de eliminar interferências provocadas por carbonatos e fosfatos presentes na amostra. Entre os reagentes da família dos sulfonazos, o dimetilsulfonazo (III) apresenta o maior coeficiente de absortividade molar e atua como complexante para uma infinidade de cátions, a depender do pH do meio. Inclusive, existem vários procedimentos titulométricos que empregam este reagente como indicar [104].

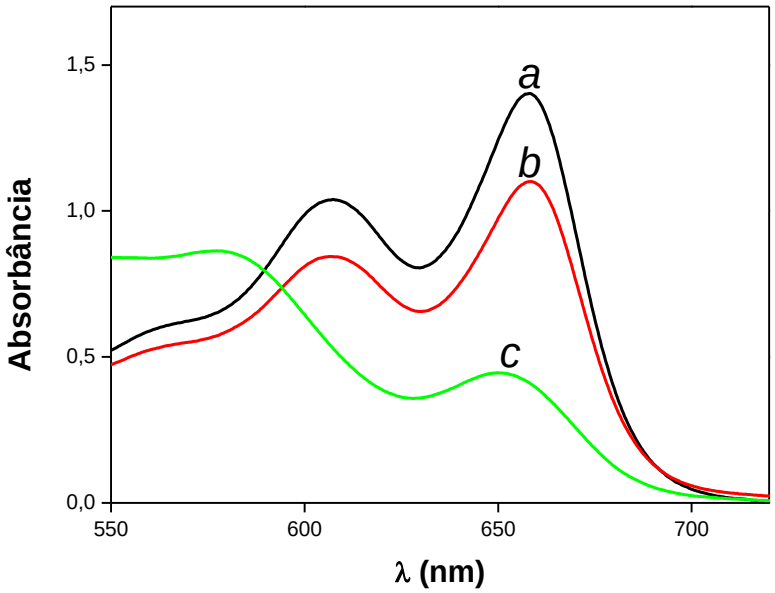
Figura 4.4. Reação entre íons sulfato e o complexo Ba^{2+}-DMS(III)



A literatura relata que a máxima absorção relativa à espécie [DMS-Ba] encontra-se em torno de 650 nm [104]. Para confirmar essa informação, foram levantados espectros de varredura na região visível para a espécie $[DMS]^{2-}$, e para o [DMS-Ba] na presença e na ausência de sulfato. Neste primeiro estudo, as soluções dos reagentes foram preparadas em etanol 50% (v/v). Os resultados apresentaram tendências idênticas às descritas na literatura [102,103] com máxima absorção em 655 nm (Figura 4.5). Os espectros mostrados na Figura 4.5 correspondem à solução de [DMS-Ba] na (a) ausência e na (b) presença de íons sulfato, enquanto o espectro (c) corresponde apenas a espécie $[DMS]^{2-}$. É possível notar que a presença de

sulfato no meio reacional causa uma diminuição na absorbância, sendo este efeito explorado para determinação indireta de sulfato em etanol combustível neste procedimento.

Figura 4.5. Espectros de absorção do DMS-Ba em etanol na (a) ausência e (b) presença de sulfato; (c) apenas DMS em etanol

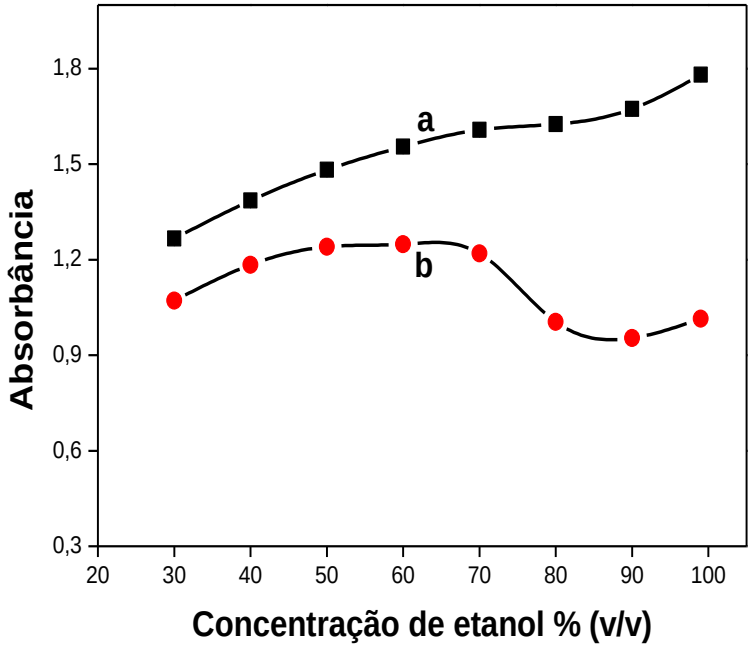


Nas etapas seguintes, a absorbância do (DMS-Ba) foi tomada como resposta analítica através do monitoramento em 655 nm e as otimizações foram feitas de forma univariada. Como é característico da mistura entre etanol e um meio aquoso, a grande geração de bolhas de gás se apresenta como inconveniente em determinações fotométricas [105-107]. Em vista disso, foi empregado um sistema baseado na estratégia fluxo-batelada. Esse tipo de sistema (aberto) é pouco afetado pela presença de gases, além de possibilitar o uso de grandes volumes de amostra, podendo gerar um aumento considerável na sensibilidade do procedimento.

4.3.2. Efeito da concentração de etanol

Baseado nos resultados obtidos anteriormente para a determinação de acidez (item 3.3.3), em que foi observado que ao se realizar diluições (> 30% v/v), algumas amostras de etanol combustível apresentaram turbidez, inviabilizando as análises, esforços foram concentrados na otimização do teor de etanol, de modo a obter resultados satisfatórios com a menor diluição da amostra. Para isso, foram utilizadas soluções de 1,0 mg L^{-1} de sulfato e o correspondente branco analítico (referência), empregando tempos de reação de 50 s e 20 s para formação do $BaSO_4$ e [DSM-Ba] (complexo colorido), respectivamente. A concentração de etanol avaliada variou de 30,0 a 99,9% (v/v), e os resultados são apresentados na Figura 4.6. Observou-se que, para a solução de referência, na ausência de sulfato (perfil (a) da Figura 4.6), houve um aumento nos valores de absorbância proporcional à concentração de etanol com uma tendência linear (r = 0,978). Para a solução com sulfato (perfil (b) da Figura 4.6), como esperado, houve um decréscimo na absorbância devido ao deslocamento do bário do complexo [DSM-Ba]. Ainda na presença de sulfato, em relação à referência, a diferença entre os valores de absorbância aumentou de proximamente 0,20 para o meio com 30% (v/v) de etanol, até 0,30 para o meio com 60% (v/v). Com o aumento do teor do etanol, um incremento significativo nessa diferença foi notado no intervalo de 60 a 90% (v/v), a ponto de, para o meio com 90% (v/v), a diferença mais que dobrar em relação ao meio com 60% de etanol. Este efeito não pôde ser esclarecido, mas, provavelmente, esteja associado ao aumento da solubilidade do sulfato de bário com o aumento do teor de etanol (>90 % v/v) (solubilidade: 2×10^{-9} mol L^{-1}). O aumento da labilidade do complexo [DMS-Ba] [108,109] também pode contribuir para esse efeito. Todos esses fatores tornaram desnecessárias as etapas de limpeza, usando soluções com espécies complexantes (como EDTA), usual em procedimentos para determinação de sulfato em sistemas de análises em fluxo. Somente água foi usada durante as etapas de limpeza.

Figura 4.6. Efeito da concentração de etanol na resposta analítica do reagente DMS-Ba na (a) ausência e (b) presença de 1,0 mg L^{-1} de sulfato



Comparando os valores dos coeficientes angulares entre as curvas traçadas com padrões de sulfato em etanol 50% (v/v) (1,0 até 5,0 mg L^{-1}, n = 5) e 99,9% (v/v) (0 até 1,2 mg L^{-1}, n = 5), foi observado um aumento maior que 5 vezes usando etanol 99,9%, indicando um aumento significativo na sensibilidade do procedimento, além da diminuição da concentração da faixa de trabalho. Também foi notado que o tempo de reação foi reduzido consideravelmente na presença de etanol >90% (v/v), enquanto em etanol 50% (v/v) em 50 segundos a reação continuava em progresso.

4.3.3. Efeito do volume de reagente

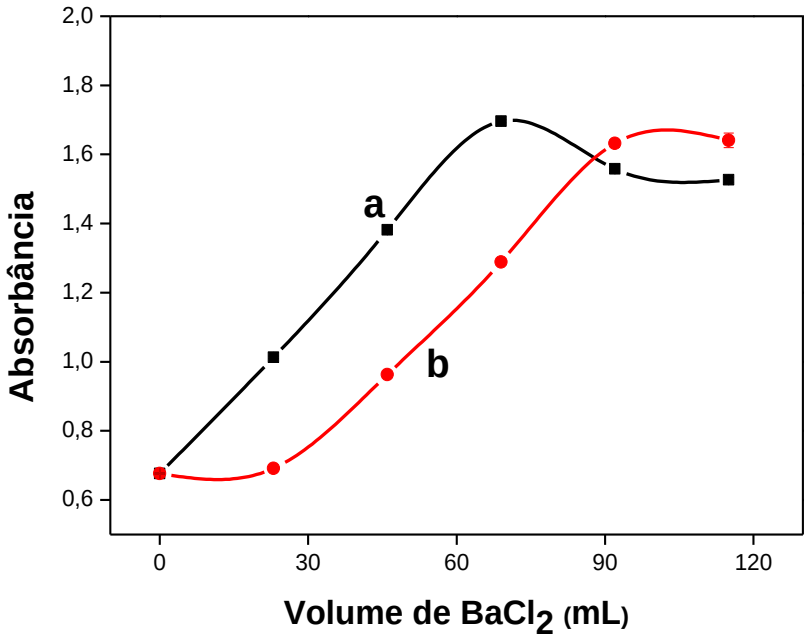
Com o objetivo de tornar o processo de otimização mais prático, as soluções dos reagentes R_1 (1,0 mmol L^{-1} de $BaCl_2$ em HNO_3) e R_2 (1,0 mmol L^{-1} de DMS e KNO_3) foram adicionadas por dispositivos diferentes. Neste estudo, o tempo para formação do sulfato de bário e para o [DMS-Ba] foram fixados em 30 e 15 s, respectivamente. Primeiramente, a mini-bomba com R_1 foi acionada para inserção do reagente contendo bário na câmara de mistura, seguida pelo acionamento da PB_1

(vazão = 208 µL s^{-1}). A válvula PB_1, que controlava a adição da amostra, foi ligada durante 15 s e após o tempo de reação foi adicionada a solução de DMS.

Por se tratar de uma determinação indireta, a concentração de bário foi otimizada para verificar a faixa de trabalho ideal. A literatura descreve que o complexo entre DMS e íons bário apresenta estequiometria 1:1, no entanto, um excesso do reagente complexante (DMS) é requerido nesse tipo de reação. Assim, o primeiro experimento foi realizado para verificar a faixa de resposta da concentração dos íons bário em relação ao DMS. Foi avaliado o número de pulsos do reagente R_1 de 0 a 5, ou seja, de 0 a 125 µL, enquanto a injeção do reagente R_2 contendo DMS foi mantida constante em seis pulsos (150 µL, cerca de 48 µmol L^{-1}). Na Figura 4.7 é apresentada a resposta analítica da solução de referência e do padrão de sulfato (0,7 mg L^{-1}).

Foi observada uma resposta linear (Figura 4.7) até o volume de 75 µL de bário (aproximadamente 24 µmol L^{-1}) e uma boa diferença entre a referência e o padrão. Devido ao alto valor da absorbância (em torno de 1,7), não foram estudadas maiores concentrações do reagente complexante (DMS), contudo, a faixa de trabalho pode ser alterada com facilidade apenas modificando os volumes dos reagentes. Visando alcançar um menor limite de detecção e baixa geração de efluente, os estudos subsequentes foram conduzidos utilizando três pulsos do reagente R_1 (75 µL) e seis pulsos de reagente R_2 (150 µL). Nestas condições, houve uma boa resposta linear para complexo [DMS-Ba], além de pequena geração de efluente e boa diferença entre as leituras do branco, usadas como referência, e as da solução padrão.

Figura 4.7. Efeito do volume de bário na resposta analítica. (a) solução de referência e (b) solução padrão de sulfato 0,7 mg L^{-1}



4.3.4. Efeito da acidez

Os reagentes da família dos sulfonazos não apresentam boa seletividade, no entanto, a depender do pH, ligam-se a determinado cátion preferencialmente. Em meio ácido, o DMS complexa com eficiência íons bário, no entanto, espécies como carbonatos e fosfatos podem competir com o DMS por este íon. Portanto, os trabalhos descritos na literatura sugerem que o meio seja o mais ácido possível, para contornar possíveis interferências desses ânions [103]. Em um meio com alto teor de etanol, a mensuração da acidez por meio do potencial hidrogeniônico (pH), determinado por eletrodo convencional, podem apresentar valores inexatos. Para verificar o meio ácido mais adequado para o desenvolvimento da reação, foram feitos ensaios variando a concentração da solução de ácido nítrico do reagente R_1 na faixa de 5 a 100 mmol L^{-1}. As figuras de mérito para verificar o efeito da acidez foram obtidas nas condições otimizadas anteriormente, e foram reunidas na Tabela 4.1. Os resultados demonstram que concentrações de ácido nítrico superiores a 10 mmol L^{-1} fornecem um meio adequado para a formação de sulfato de bário em etanol e posterior formação do DMS-Ba. Para estudos posteriores, a solução R_1 foi

preparada em 50 mmol L^{-1} de HNO_3. A maior acidez (100 mmol L^{-1}) avaliada não proporcionou melhoria significativa nas figuras de mérito, no entanto, poderia ser conveniente trabalhar sob estas condições em casos de amostras com altas concentrações das espécies CO_3^{2-} e PO_4^{3}. Uma curva de sulfato (0 até 1,5 mg L^{-1}, r = 0,993 e n = 5) com ácido clorídrico (50 mmol L^{-1}) também foi avaliada, os resultados foram semelhantes aos obtidos com ácido nítrico de mesma concentração, no entanto a sensibilidade foi cerca de 5% menor.

Tabela 4.1. Efeito da acidez nas figuras de mérito

HNO_3 (mmol L^{-1})	Coeficiente angular (L mg^{-1})	Limite de detecção (mg L^{-1})	r
5	0,563	0,124	0,9680
10	0,595	0,089	0,9995
30	0,601	0,088	0,9949
50	0,605	0,087	0,9961
100	0,597	0,088	0,9952

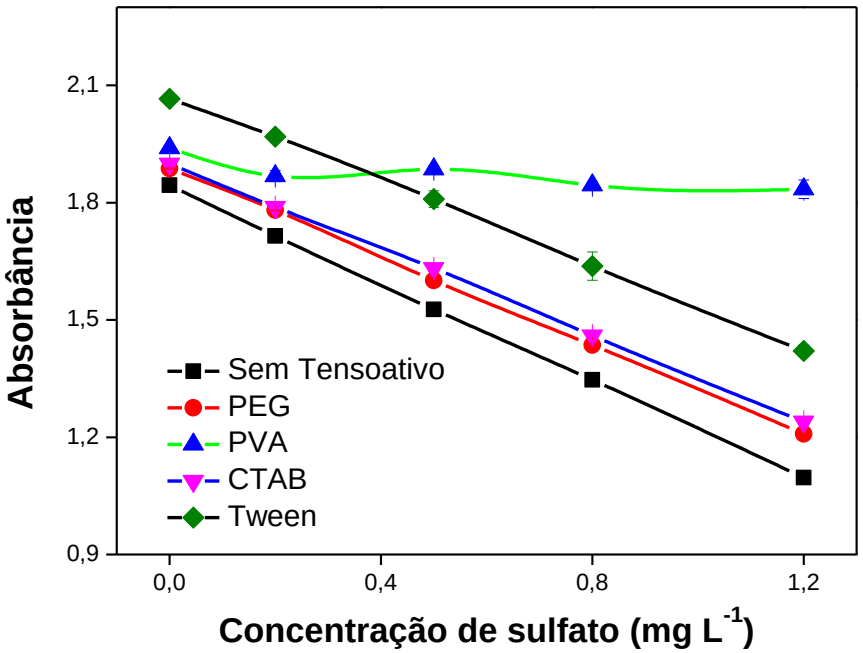
Parâmetros da curva de calibração de sulfato (0 até 1,5 mg L^{-1}), (n = 5) em etanol.

4.3.5. Efeito da adição de surfactante e nitrato de potássio

A influência de surfactantes foi avaliada utilizando soluções 1% (m/v) de tween 80, polietilenoglicol (PEG), álcool polivinílico (PVA), tergitol NP-9 e brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). As soluções dos surfactantes foram preparadas juntamente com o reagente R_1, sendo, portanto, o volume de 75 µL adicionado dentro da câmara, o que daria cerca de 0,024% (m/v) de concentração final. Os resultados das curvas de calibração são apresentados na Figura 4.8, em que os surfactantes PEG, CTAB e Tween apresentaram uma excelente correlação linear (r > 0,999, n = 5) e coeficientes angulares de 0,568; 0,550 e 0,542, respectivamente. O PVA não apresentou uma correlação adequada, além de uma pequena turvação em todos os pontos da curva. Os testes feitos com tergitol também não apresentaram correlação adequada. Embora alguns tensoativos tenham

apresentado bons resultados, a curva obtida sem a presença de surfactantes apresentou uma excelente resposta linear (r> 0,999, n = 5) e um coeficiente angular de 0,620. Este efeito está associado à ação dispersante do etanol, além da maior solubilidade das espécies presentes no meio reacional. Esse aumento no coeficiente angular incorporou uma melhoria na sensibilidade do procedimento, sem a necessidade de reagentes adicionais. Portanto, os demais estudos foram realizados sem o uso de surfactantes, simplificando a preparação das soluções reagentes e minimizando a complexidade dos efluentes gerados com o procedimento proposto.

Figura 4.8. Efeito dos surfactantes na determinação de sulfato em etanol >99% (v/v/). Condições experimentais: 75 µL do reagente R_1, 120 µL de DMS, 3,12 mL de amostra e tempo de 30 e 15 segundos para a formação do sulfato de bário e de DMS-Ba, respectivamente



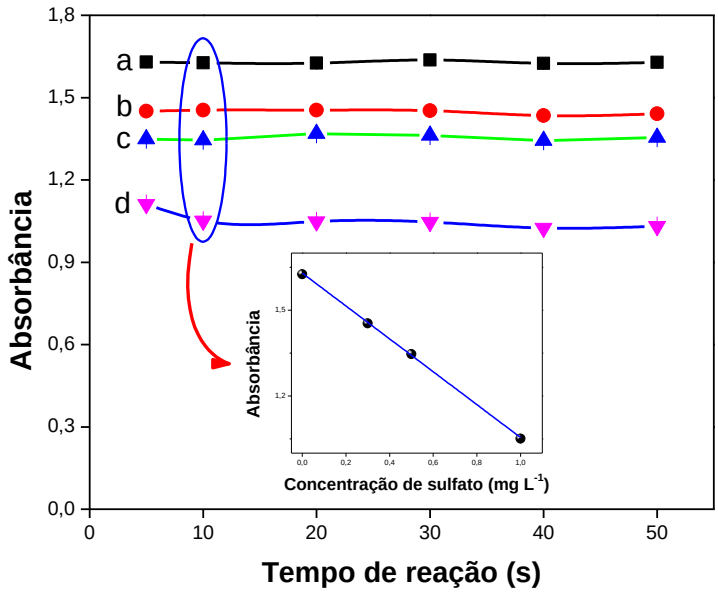
A presença de nitrato de potássio no meio reacional mantém a força iônica constante e seu uso tem sido relatado em determinações de sulfato explorando o método de descolorimetria do DMS-Ba [103,110]. A influência desse sal foi avaliada através da realização de ensaios com soluções padrão de sulfato (0 a 1,5 mg L^{-1}, n = 5) sem e com KNO_3 (1,0 e 3,0 mmol L^{-1}). A solução com as concentrações avaliadas de KNO_3 foram preparadas no reagente R_2, portanto, o volume acionado

foi de 140 µL. Todas as curvas apresentaram boa correlação linear (r > 0,992) e boa reprodutibilidade. Entretanto, as curvas obtidas com 1,0 e 3,0 mmol L^{-1} de KNO_3 apresentaram um aumento no coeficiente angular de 7% e 10% em comparação com o obtido na ausência de KNO_3, respectivamente. Portanto, para os estudos posteriores, a solução de DMS foi preparada com 1,0 mmol L^{-1} de KNO_3.

4.3.6. Efeito do tempo de reação

Em meio aquoso, a formação dos cristais de sulfato de bário (nucleação) é lenta e depende de alguns fatores, como excesso de bário e meio reacional ácido [111-114]. Muitas vezes essa formação é acelerada e estabilizada por meio da adição de agentes tensoativos [111,113]. No presente trabalho, alguns fatores nos levaram a crer que as condições necessárias para a formação de precipitados não são atingidas, devido à baixa concentração dos reagentes utilizados e o aumento da solubilidade do sulfato de bário em etanol (comparando com o meio aquoso). Como relatado anteriormente, as reações envolvidas atingiam rapidamente seus equilíbrios ao aumentar o teor de etanol. O tempo de reação avaliado foi de 5 a 50 segundos, empregando etanol >95% (v/v) com concentrações de 0; 0,3; 0,5 e 1,0 mg L^{-1} de sulfato. Os resultados para os diferentes tempos de formação do sulfato de bário são apresentados na Figura 4.9. Podemos observar que, após 10 segundos, não houve aumento na diferença entre a resposta analítica da solução de referência e dos padrões de sulfato. Estes resultados indicam a rápida e estável formação dos produtos, tornando desnecessário o uso de um longo tempo de reação, como acontece nas reações de formação de precipitado. Na etapa de complexação dos íons bário remanescentes pelo DMS, o mesmo comportamento foi percebido, no qual a absorbância permaneceu constante para o intervalo de tempo de 10 a 50 s de reação. Um ajuste linear entre as absorbâncias medidas em 10 s foi inserido dentro da Figura 4.9, e como esperado, uma boa correlação linear (R^2 = 0,999) foi observada. Para que as etapas da reação estejam sempre em condições de equilíbrio e visando mitigar possíveis alterações no sistema reacional (como a falta de mistura adequada), os tempos das etapas de formação do $BaSO_4$ e do DMS-Ba foram fixados em 15 s.

Figura 4.9. Efeito do tempo de reação na resposta do sistema. a, b, c, e d correspondem a concentrações de 0; 0,3; 0,5 e 1,0 mg L^{-1} de sulfato em etanol, respectivamente. A inserção mostra a reposta analítica em função da concentração de sulfato com 10 s de reação



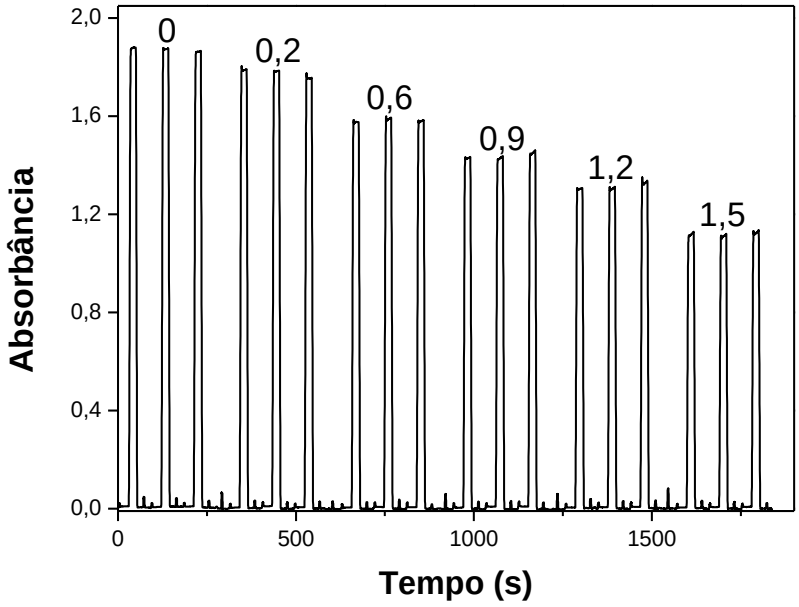
4.3.7. Efeito de potenciais interferentes

Empregando as condições otimizadas anteriormente, a seletividade do procedimento foi verificada na presença de espécies químicas potencialmente interferentes (Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cu^{2+} e Fe^{3+}). As concentrações avaliadas foram maiores que os limites estabelecidos pelo órgão regulador para presença desses íons no etanol combustível [115]. Uma solução de etanol com 1,0 mg L^{-1} de sulfato foi usada como referência. A diferença de sinal de ± 5% foi tomada como critério para estabelecer uma interferência significativa. Para os íons Na^+ e Fe^{3+}, a tolerância foi maior que 10 vezes a concentração de sulfato, enquanto que para Mg^{2+} e Ca^{2+}, a tolerância foi 4 vezes, e para o Cu^{2+} a tolerância máxima foi de 2 vezes. Em etanol combustível, as concentrações de Mg^{2+}, Ca^{2+} e Cu^{2+} são cerca de 50 vezes menores que as concentrações testadas.

4.3.8. Características analíticas e aplicação

Em condições otimizadas, o sistema apresentou uma resposta linear de 0,1 a 1,5 mg L^{-1} para sulfato, descrito pela equação A = -0,621 × C (mg L^{-1}) + 1,841 e R^2 = 0,999 (n = 6). O procedimento ainda apresentou coeficiente de variação < 1,0% e limite de detecção (3*σ) de 48,0 µg L^{-1}. Além das vantagens analíticas, como altas sensibilidade e precisão, o procedimento se mostrou ambientalmente adequado, consumindo cerca de 10 µg de bário, 107 µg de DMS e 3,12 mL de amostra por determinação. Considerando todas as etapas, incluindo as etapas de lavagem, o efluente total gerado foi inferior a 5,0 mL por determinação. Na Figura 4.10 é apresentado o perfil dos registros das leituras realizadas pelo espectrofotômetro. Baseando-se nesses resultados, podemos estimar uma taxa de amostragem de cerca de trinta e cinco determinações por hora, com excelente repetibilidade dos sinais.

Figura 4.10. Registros típicos dos sinais gerados pelo sistema de detecção. Padrões de sulfato em mg L^{-1}



Empregando o procedimento proposto, um conjunto de amostras de etanol combustível foi analisado e os resultados foram comparados com os obtidos por cromatografia iônica (ANP 10894) [98]. Os resultados foram reunidos na Tabela 4.2.

Ao se aplicar o teste-t de *Student* para amostras pareadas, os resultados apresentaram concordância ao nível de confiança de 95%. Além disso, uma correlação linear de 0,980 foi obtida entre os resultados do método proposto e os da metodologia oficial.

Tabela 4.2. Resultados para determinação de sulfato em etanol combustível

Amostras	Procedimento proposto	Procedimento de referência
	(mg kg^{-1})	
1	0,89 ± 0,01	0,85 ± 0,03
2	1,15 ± 0,01	0,96 ± 0,04
3	0,19 ± 0,03	0,17 ± 0,03
4	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,03
5	0,40 ± 0,01	0,31 ± 0,01
6	0,24 ± 0,02	0,28 ± 0,01
7	0,34 ± 0,01	0,40 ± 0,03
8	1,07 ± 0,02	1,12 ± 0,04
9	0,13 ± 0,01	0,15 ± 0,05
10	0,38 ± 0,07	0,37 ± 0,03
11	0,59 ± 0,09	0,63 ± 0,03

Os resultados correspondem à média de três medidas consecutivas ± desvio padrão.

4.3.9. Comparação do desempenho analítico

Na Tabela 4.3 são apresentadas algumas características analíticas dos procedimentos encontrados na literatura para determinação de sulfato em etanol combustível. Três desses foram baseados na reação do analito (sulfato) com íons bário, [84,102,103]. Comparando-os com o presente procedimento, a faixa de resposta linear e o limite de detecção são semelhantes, mas a sensibilidade do procedimento proposto é maior. Além disso, o pequeno volume de efluentes gerados e o não tratamento da amostra são claras vantagens, visto que, antes das análises, nos procedimentos citados, as amostras foram submetidas à combustão [103], precipitação gravimétrica [84] ou diluição [102]. No último caso, mesmo a diluição sendo um processo simples, algumas amostras podem apresentar turbidez, como relatado anteriormente.

Os procedimentos empregando eletroforese capilar (Tabela 4.3) [99,100] apresentaram boas características analíticas (por exemplo, baixo limite de detecção e geração de efluentes). Contudo, esses procedimentos submetem a amostra à combustão para eliminação da matriz, e posteriormente retomam os íons em água, o que torna as análises demoradas e mais propensas à contaminação. Portanto, considerando o exposto acima, é possível inferir que o procedimento proposto apresenta uma nova abordagem sem preparo de amostra para a determinação espectrofotométrica de sulfato em etanol combustível.

Tabela 4.3. Comparação do desempenho dos procedimentos para a determinação do sulfato em amostras de etanol combustível

Procedimento	Detecção	Limite de detecção (mg L^{-1})	CV (%)	Faixa linear (mg L^{-1})	Consumo de bário (µg)	Consumo de DMS (µg)	Referência
Evaporação de etanol com posterior recuperação do analito em água	CE-CCD	0,08	0,8	–	–	–	[99]
	CE-UV[ii]	0,027 (mg kg^{-1})	<0,5	0,2–4,0 (mg kg^{-1})	–	–	[100]
Diluição da amostra 50% (v/v) em meio tamponado com surfactante e reação de descolorimetria do [DBS-Ba]	UV-vis	0,14	2,0	0,45–6,50	0,09	800	[102]
Precipitação do analito como $BaSO_4^{-2}$, seguido de filtração, secagem e medida direta usando as linhas de bário	EDXRF	0,03	5,9	0,05–2	12,4	–	[84]
Queima da amostra com posterior recuperação do analito em água e reação de descolorimetria do [DMS-Ba]	UV-Vis	0,27	<2,5	0–10	0,0015	0,0093	[103]
Análise das amostras sem tratamento explorando a reação do bário remanescente com o DMS	UV-Vis	0,048	1,0	0–1,5	0,01	0,107	Procedimento proposto

CE-CCD: Eletroforese capilar com condutividade sem contato; EDXRF: Fluorescência de raios X por dispersão de energia; UV-vis: Espectrofotometria Ultravioleta-Visível; DBS-Ba: dibromosulfonazo III–bário; ii: Pré-concentração de 10 vezes.

4.4. Conclusões

No presente trabalho foi desenvolvido um sistema robusto, prático, rápido e sensível para a determinação de sulfato em etanol combustível. Etapas de preparação de amostras, tais como combustão/secagem, precipitação e/ou até mesmo simples filtração, não foram necessárias para realizar as análises empregando o procedimento proposto. Por se tratar de uma matriz que passou por um processo de destilação, os potenciais interferentes não foram encontrados em níveis de concentração que possam interferir nas análises. A estratégia de fluxo-batelada provou ser altamente versátil, permitindo o desenvolvimento de um procedimento analítico altamente robusto. A automação do processo foi realizada utilizando um microcontrolador Arduino de código aberto (o *software* encontra-se disponível online [116]). O módulo analítico montado com instrumentação portátil (mini-bombas, placa Arduino e mini espectrofotômetro) proporcionou versatilidade e portabilidade, permitindo, futuramente, seu uso em determinações *in situ*. Finalmente, este procedimento apresenta maior sensibilidade frente aos procedimentos analíticos existentes, e sem a geração de efluentes perigosos e uma faixa de trabalho adequada para amostras de etanol combustível, demonstrando o potencial do seu uso em análises de rotina.

5. Determinação de cloreto em EHC explorando a fotogeração de AgNPs *in situ* em um sistema fluxo-batelada

Resumo

Neste trabalho, a fotogeração de nanopartículas de cloreto de prata (AgCl-NPs) foi utilizada como sensor para a determinação espectrofotométrica de cloreto em etanol combustível. O sistema foi montado usando uma fonte de radiação UV de baixa potência (13W, lâmpada germicida), colocada o mais próximo possível de uma câmara de mistura, que foi acoplada a um suporte construído em 3D com cabos de fibra óptica na direção ortogonal ao feixe da lâmpada UV, permitindo o monitoramento da formação de nanopartículas (NPs) em tempo real. As NPs foram caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução, espectroscopia de energia dispersiva de raios X e espectrofotometria UV-vis. Os resultados mostraram que a maioria das NPs tinham forma esférica e 18 nm de diâmetro médio. Em condições otimizadas, o sistema apresentou resposta linear de 0,05 à 0,8 mg L^{-1} de cloreto, com limite de detecção (95%) e coeficiente de variação (n = 8) estimados em 12 µg L^{-1} e 2,2%, respectivamente. A faixa de trabalho para a determinação de cloreto em baixas concentrações atende perfeitamente o limite estabelecido pela legislação brasileira (valor limite 1,0 mg kg^{-1}). Os testes de recuperação confirmaram a exatidão do procedimento, obtendo-se uma recuperação média de 99%. Além disso, as análises de etanol combustível foram realizadas sem qualquer tratamento da amostra.

Palavras-chave: Etanol combustível, Fotogeração, AgCl-NPs, Espectrofotometria, Instrumentação analítica, Química Verde

Abstract

The photogeneration of silver chloride nanoparticles (AgCl-NPs) was used as a sensor for the spectrophotometric determination of chloride in fuel ethanol. To achieve this, a low-power UV radiation source (13W, germicidal lamp) was placed as close as possible to a flow-batch chamber, and a 3D-built support for the reaction chamber was used to couple fiber optic cables in the orthogonal direction with the UV-lamp beam, allowing the monitoring of nanoparticle formation in real time using a spectrophotometer. The nanoparticles were characterized using high-resolution transmission electron microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy, and UV-vis spectroscopy. The results showed that most of the particles had a spherical shape and average diameter of 18 nm. Under adequate working conditions, the system presented a linear response from 0.05 to 0.8 mg L^{-1} of chloride, and the limit of detection (95%) and the coefficient of variation (n = 8) were estimated as 12 µg L^{-1} chloride and 2.2%, respectively. The working range for the determination of chloride in low concentrations met the limit required by the Brazilian legislation (limit value 1.0 mg kg^{-1}). The recovery tests confirmed the accuracy of the procedure, with an average recovery of 99%. In addition, the analyses of fuel ethanol were performed without any sample treatment.

Keywords: Fuel ethanol, Photogeneration, AgCl-NPs, Spectrophotometry, Analytical instrumentation, Green Chemistry

5.1. Introdução

A presença de íons cloreto em etanol combustível vem sendo investigada, devido a sua alta mobilidade em meio líquido e por ser encontrado em quase todo tipo de processo, seja na matéria prima, produção, transporte ou armazenamento [117,118]. A presença desse íon, mesmo em baixas concentrações, tem sido associada a processos de fragilização por corrosão sob tensão (SCC, do inglês *stress corrosion cracking*) em aço carbono (material de tanques e tubulações) [117]. Dentre os principais fatores que potencializam esse processo, destacam-se o oxigênio dissolvido, o potencial de oxidação e a presença de cloreto e metanol [119]. Trabalhos na literatura relatam, ainda, uma série de trabalhos que atribuem ao cloreto a corrosão por pite [117,120,121]. Esses processos de correção e fissuração ocorrem tanto nos tanques de armazenamento, como nos dutos de transporte e nos motores dos veículos, acarretando em menor vida útil dos materiais.

Com base nessas informações, as agências reguladoras estabeleceram valores de referência para o etanol utilizado como combustível seja ele anidro ou hidrato. No Brasil, a ANP estabeleceu 1,0 mg kg^{-1} como concentração máxima permitida [115]. Nos Estados Unidos, o limite estabelecido pela ASTM é de 6,7 mg kg^{-1}. As duas agências recomendam a determinação por cromatografia de íons (ASTM D7328 e NBR 10894) [122,98].

Alternativamente à metodologia oficial, foram propostos procedimentos baseados em eletroforese capilar [99], cromatografia de íons [123], voltametria [124], condutimetria [90], fluorescência de raios-X [84], e espectrofotometria UV-vis [125]. Este último, baseado em espectrofotometria, apresenta vantagens notáveis, como baixo custo, rapidez, robustez e excelente seletividade. No entanto, a utilização de mercúrio nos reagentes torna essa estratégia ambientalmente inadequada e perigosa para o analista, tendo em vista a alta demanda por esse tipo de análise. Nos outros procedimentos, o preparo da amostra é realizado através da evaporação da matriz alcoólica ou processos gravimétricos, semelhantes aos citados anteriormente para determinação de sulfato.

Recentemente, o uso de sistemas investigando as interações de nanopartículas tem sido extensivamente explorado no desenvolvimento de procedimentos analíticos. As nanopartículas de prata (AgNPs) são um bom exemplo

dessas aplicações, devido ao fácil processo de síntese por meios físico ou químico e formidáveis possibilidades de modificação química, fazendo com que o material apresente variadas propriedades ópticas, eletrônicas, magnéticas e catalíticas [126]. Geralmente, as AgNPs são produzidas por redução química empregando hidreto de boro e citrato, juntamente com um agente estabilizante como o dodecil sulfato de sódio (SDS), polivinilpirrolidona (PVP), entre outros, com a finalidade de evitar a aglomeração das NPs.

Estudos recentes relatam a preparação de AgNPs em batelada, seguida pela transformação, via interação com íons cloreto, de nanoprismas e nanoplacas triangulares de prata em formas de disco. Este efeito tem sido usado para determinação de cloreto em águas [127-129], incluindo um procedimento sem uso de instrumentação na etapa de detecção [130]. Apesar dos bons resultados obtidos, sistemas empregando tais NPs não foram aplicados em matrizes complexas, como biocombustíveis.

Dentre as metodologias para a produção das NPs, a preparação de AgNPs usando um meio com alto teor de etanol (> 90% v/v) foi relatada na literatura. Nesse processo, o etanol atua como redutor dos íons prata, quando exposto a radiação ultravioleta, usando uma lâmpada de alta potência [131] ou quando aquecido (80 °C) em condição de refluxo [132]. Além disso, aplicações recentes empregam a adição de copolímeros como Pluronic® F127 ou PVP para promoção da estabilidade e/ou contribuir na diminuição do tempo de síntese [133,134]. A presença de íons cloreto tem sido investigada e os mecanismos de nucleação e crescimento de cristalitos de prata durante a formação dos NPs ainda estão sendo elucidados. [135-139]. Curiosamente, até mesmo extratos de plantas e de algas marinhas com alta concentração de íons cloreto foram usadas para induzir a formação de AgCl-NPs [140,141].

Explorando o potencial da produção de AgNPs induzidas por irradiação ultravioleta, e a influência dos íons cloreto em meio etanólico, neste trabalho foi proposto um sistema automatizado para determinação de cloreto em etanol combustível. As partículas de prata foram sintetizadas diretamente na matriz (*i.e.* etanol) na presença de cloreto. O procedimento espectrofotométrico foi implementado usando a estratégia de fluxo-batelada [31,46], e a fotogeração de NPs foi realizada com uma lâmpada UV de baixa potência [131,142].

5.2. Experimental

5.2.1. Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas em etanol absoluto (>99%) ou água ultrapura (resistividade >18.2 MΩ cm). Os reagentes empregados foram de pureza analítica, adquiridos a partir da Merck (Germany).

Soluções estoque de nitrato de prata ($AgNO_3$) (20,0 mmol L^{-1}) e de polivinilpirolidona (PVP, $C_6H_9NO)n$) 4,0% (m/v) foram preparadas por dissolução do sólido em etanol absoluto. Uma solução estoque com 500 mg L^{-1} de cloreto foi preparada por dissolução do cloreto de sódio em água. O sal foi previamente seco em estufa por 2 horas a 100 ºC e, posteriormente, mantido em dessecador. Soluções de trabalho (0 - 1,0 mg L^{-1}) de íons cloreto foram preparadas por diluição em etanol absoluto.

Espécies potencialmente interferentes foram preparadas a partir dos seguintes reagentes: $Mg(NO_3)_2$, $Ca(NO_3)_2$, $Cu(NO_3)_2$, Na_2SO_4, $Fe(NO_3)_3$, K_2SO_4 e ácido acético (CH_3COOH).

Amostras de etanol combustível foram fornecidas por diversas usinas de etanol no Estado de São Paulo, através da Al Sukkar Biotecnologia Industrial. As amostras foram analisadas pelo procedimento proposto sem qualquer tratamento prévio.

5.2.2. Equipamentos e acessórios

Três mini-bombas peristálticas (Welco Co., Ltd., Tóquio, Japão), duas mini-bombas solenoide (Bio-Chem Valve™, Boonton, NJ, EUA) e uma válvula solenoide de três vias (NResearch, EUA, 100 psi) foram usadas para manipulação dos fluidos. As linhas de fluxo foram construídas usando tubos de Teflon (0,8 mm d.i.). Um sistema em fluxo-batelada foi montado empregando um suporte construído com uma impressora em 3D que teve a função de hifenar uma cubeta convencional (10 mm) com quatro faces polidas de quartzo e os cabos de fibra óptica, que foram conectados a um espectrofotômetro (Ocean Optics USB-4000) e uma fonte de radiação visível (tungstênio). Esse conjunto foi posicionado sobre um sistema de

agitação magnética e em frente a uma lâmpada UV, do tipo germicida (13 W, Philips).

Um microcontrolador Arduino Due, equipado com as mesmas interfaces periféricas do procedimento descrito no item 4.2.2, foi usado para ligar e desligar a lâmpada UV e para controlar os dispositivos de manipulação dos fluídos.

A morfologia e o tamanho das nanopartículas foram avaliados empregando microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HR-MET), equipado com espectrômetro de energia dispersiva de raios-X (EDX) (Tecnai F20, FEI). Para as análises de TEM, a amostra foi preparada pela deposição de uma gota da solução coloidal de NPs em uma grade de cobre (Merck, Germany), com subsequente secagem à temperatura ambiente.

5.2.3. Procedimento de análises em fluxo-batelada para determinação de cloreto

O módulo de análises, apresentado na Figura 5.1, foi usado para a determinação de cloreto em etanol combustível. Após o preenchimento dos tubos com os reagentes, o sistema funcionou em três etapas principais: (i) etapa de amostragem, na qual ocorreu a adição das soluções de nitrato de prata, PVP e amostra, dentro da câmara de mistura (CM), pelo acionamento das mini-bombas P_1, P_2 e PB_1, respectivamente; (ii) etapa de irradiação da cubeta contendo as soluções, que consistiu na formação das NPs após acionamento da lâmpada UV por um tempo determinado e (iii) etapa de limpeza da câmara, que se iniciou pelo esvaziamento (PB_3) da CM, seguida pela adição de etanol absoluto (PB_2) e, novamente, esvaziamento (PB_3), para preparar o sistema para uma nova análise. As etapas descritas acima foram resumidas na Tabela 5.1, incluindo-se os tempos envolvidos, para melhor entendimento.

Figura 5.1. Diagrama do módulo de análises para a determinação de cloreto em etanol combustível. P_1 e P_2 são mini-bombas solenoide; PB_1, PB_2 e PB_3 são mini-bombas peristálticas; V_1 é uma válvula solenoide de três vias e CM é a câmara de mistura (cubeta de quartzo). R e D são cabos de fibra óptica acoplados à fonte de radiação e um espectrofotômetro, respectivamente; b é uma barra magnética; S é a amostra ou padrão de cloreto; C é solução de limpeza (etanol); AM é um agitação magnética; e W são os frascos de efluente

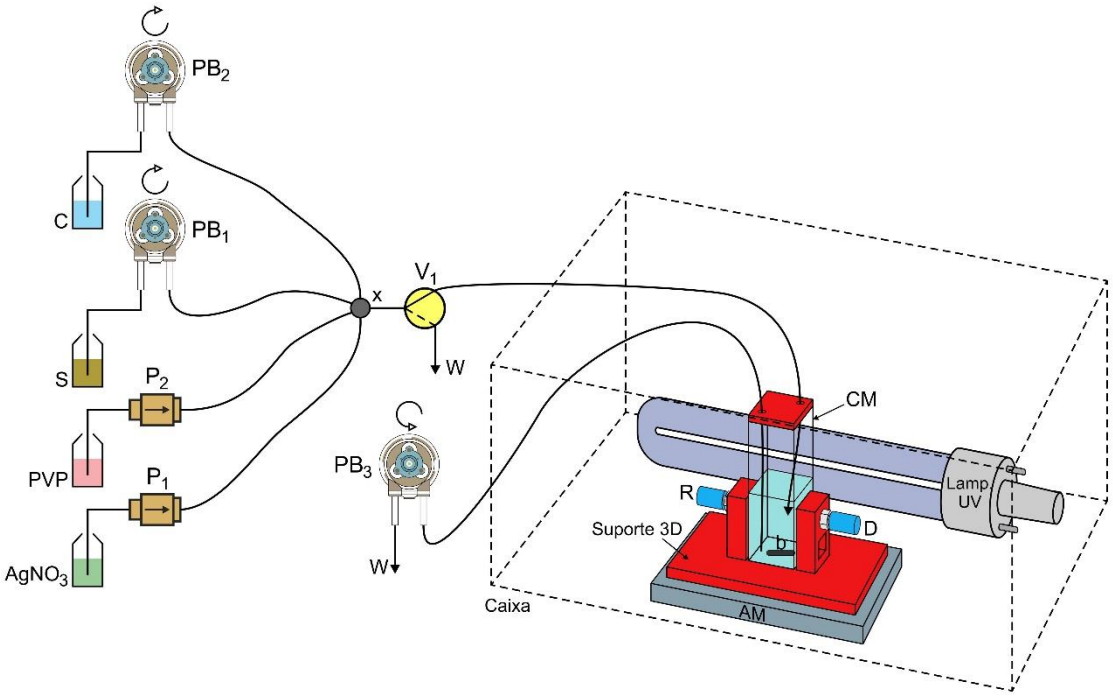


Tabela 5.1. Sequência do procedimento para a determinação de cloreto explorando geração de AgNPs

Etapas	Dispositivo acionado	Tempo (s)
Amostragem	P_1, P_2 e PB_1	1,6; 6,8; e 6
Geração de NPs	Lâmpada UV	0 - 180
Limpeza da câmara	PB_3, PB_2 e PB_3	12, 10 e 12

5.3. Resultados e Discussão

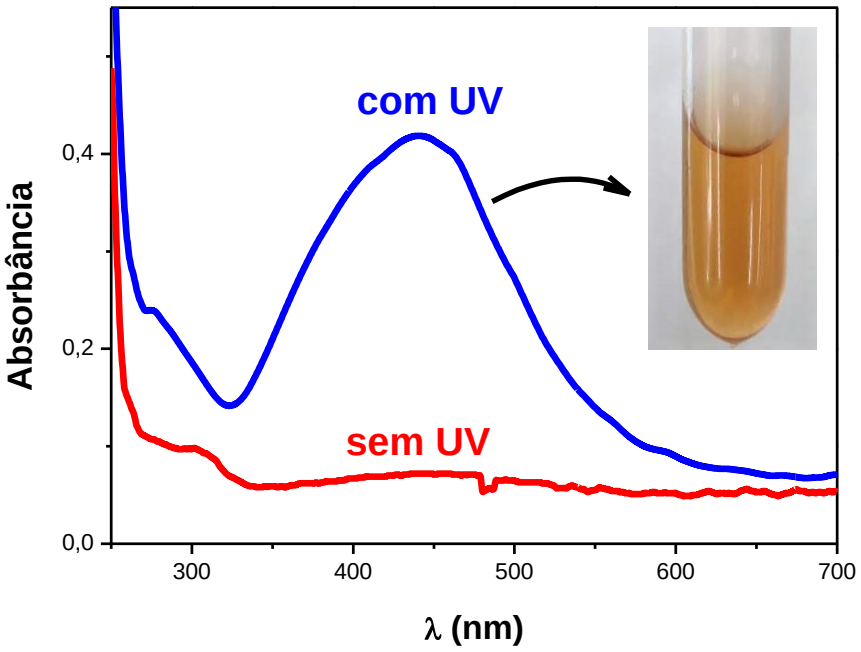
5.3.1. Aspectos gerais

A fotogeração de AgNPs em meio etanólico utilizando a irradiação UV apresenta consideráveis vantagens, como adequação ambiental e baixo tempo de síntese [140]. Geralmente, esse procedimento de síntese é implementado usando lâmpadas de mercúrio de alta pressão (250 ou 500 W), com ou sem uso de estabilizadores ou copolímeros [131,140,143,]. Após o processo de síntese empregando esse tipo de lâmpada, as partículas de prata apresentam diâmetro com aproximadamente 100 nm, com formato esférico ou de nanobastões irregulares, dependendo das concentrações dos precursores e do tempo de irradiação [131,143]. Por outro lado, a geração de AgNPs não é favorecida com uso de lâmpadas UV de baixa potência em curto intervalo de tempo, mas há evidências de que a presença de íons cloreto podem induzir a formação de AgCl-NPs nessas condições [140,141].

Com base nas informações citadas anteriormente, foram realizados experimentos para verificar a formação de NPs em meio de etanol. Uma solução de nitrato de prata, em etanol absoluto, foi submetida à irradiação por 5 min e não houve mudança significativa na coloração da solução. Então, uma solução de etanol com $AgNO_3$ e NaCl foi agitada e deixada reagir por aproximadamente 30 min sobre a bancada do laboratório. Após esse tempo, nenhuma mudança na cor da solução foi observada. Finalmente, parte desta última solução foi transferida para uma cubeta e exposta à radiação UV (13W) por cerca de 5 min e, então, a solução apresentou coloração característica da formação de AgNPs. As soluções citadas acima foram submetidas à varredura espectral, e os resultados são mostrados na Figura 5.2, confirmando o efeito da irradiação na formação das NPs.

Após a confirmação do efeito positivo da irradiação UV na formação das NPs, foi, então, investigado como os íons cloreto afetam a produção das NPs. As otimizações foram feitas de forma univariada e sob agitação constante empregando o sistema em fluxo-batelada.

Figura 5.2. Espectro de absorção das NPs formadas em função da exposição à radiação UV



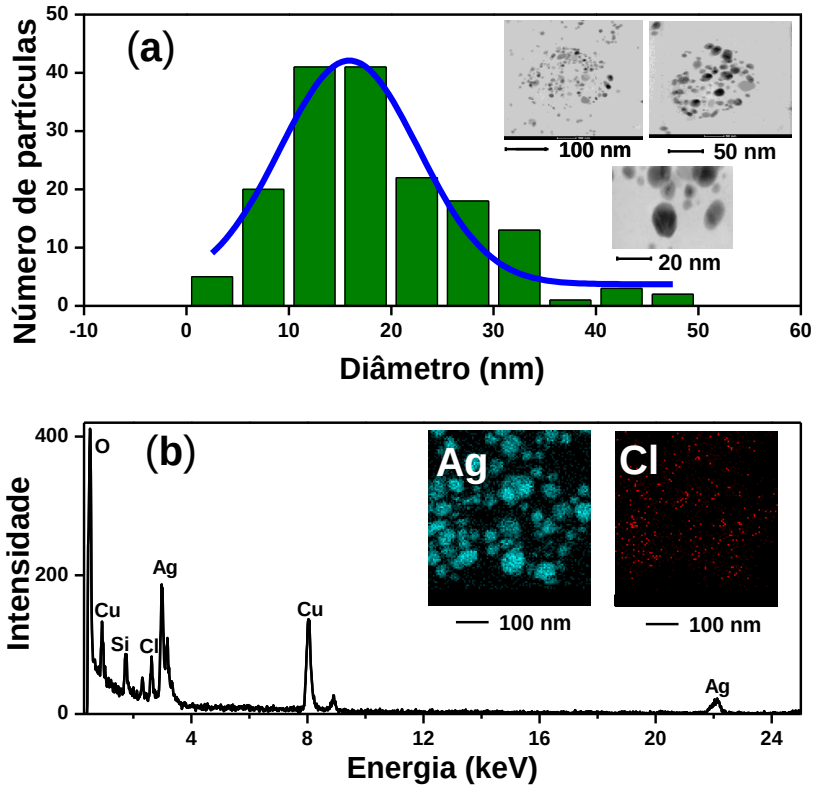
5.3.2. Caracterização das NPs

A análise por MET foi empregada para avaliar a forma e tamanho das AgNPs produzidas após 5 minutos de irradiação. Na Figura 5.3(a) é mostrado um histograma com 200 NPs que apresentaram, majoritariamente, uma morfologia esférica e diâmetro médio de 18 nm. A presença de íons cloreto na formação das NPs foi confirmada pela análise de EDX (Figura 5.3(b)). Esses dados (Figura 5.3) indicam, provavelmente, a formação de Ag-AgCl-NPs que, segundo Chen e colaboradores [135], acontece no início da síntese com poliol. No entanto, as NPs obtidas no presente trabalho não apresentaram uma cauda característica da formação de AgCl, em um curto tempo de irradiação (<5 min), como descrito na literatura [135]. Os mesmos autores relatam, ainda, que com o decorrer da reação, íons Ag(I) se dissolvem no meio e são posteriormente reduzidos a Ag(0), tornando mais fácil a formação de AgNPs isoladas, indicando que espécies como Ag-AgCl-NPs, AgCl-NPs e AgNPs podem coexistir no meio reacional, a depender do tempo de irradiação e da concentração dos precursores.

Além disso, os espectros de absorção UV-vis apresentam absorção máxima em 440 nm (Figura 5.2), confirmando, provavelmente, a fotogeração de AgCl/AgNPs

ou AgNPs isoladas em meio alcoólico. Estes resultados são consistentes com trabalhos anteriores que empregaram condições reacionais similares [138,144]. Entretanto, no presente trabalho, devido à baixa concentração de cloreto (< 1 mg L^{-1}), não houve a formação de precipitado.

Figura 5.3. Caracterização das NPs. (a) diâmetro das partículas e imagens de microscopia eletrônica de transmissão com 100, 50 e 20 nm e (b) análise de EDX de nanopartículas de prata/cloreto de prata geradas sob irradiação UV

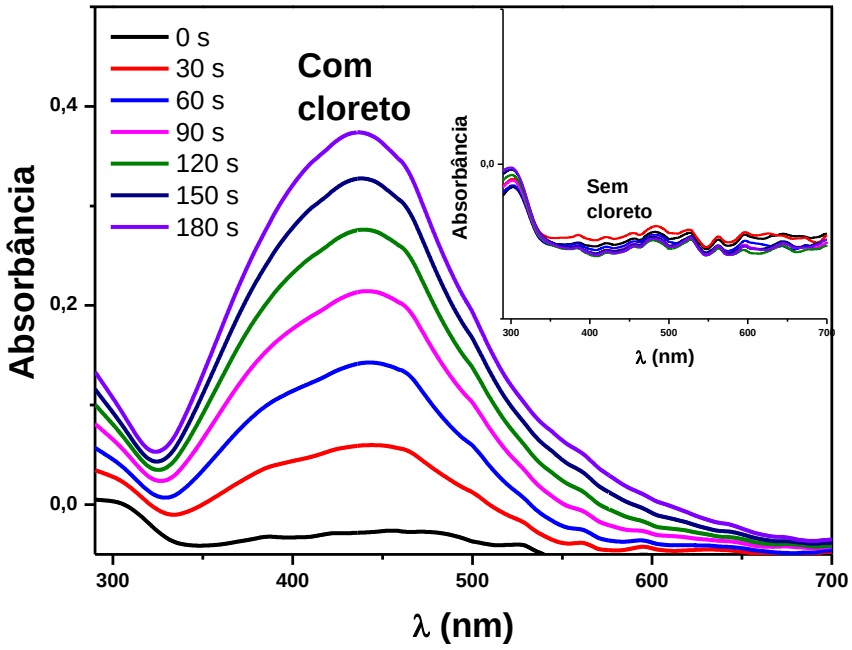


5.3.3. Efeito do tempo de irradiação UV

O efeito do tempo de irradiação UV foi o primeiro parâmetro avaliado na fotogeração das NPs. Dentro da câmara de mistura foram adicionados 360 µL de $AgNO_3$ (20 mmol L^{-1}), 250 µL de PVP (4% m/v), e 1,5 mL de cloreto (0,5 mg L^{-1}) em etanol. Em seguida, o sistema de controle foi programado para executar várias replicatas com tempos de irradiação variando de 0 a 180 segundos. Os resultados obtidos na presença e ausência de cloreto são apresentados na Figura 5.4, e demonstram a eficiência da produção das NPs em curto intervalo de tempo, mesmo

usando uma lâmpada de baixa potência. Estes resultados estão de acordo com trabalhos recentes da literatura, onde a banda de ressonância de plasmon de superfície depende fortemente do tempo da irradiação UV [143,145]. Além disso, na ausência de íons cloreto, não houve aumento na absorbância mesmo no maior tempo de exposição avaliado (180 s), indicando, portanto, que a presença de cloreto no meio reacional é essencial para promover a formação das AgNPs. Otimizações adicionais foram realizadas usando 60 segundos de irradiação. Maiores intervalos de tempo não foram avaliados considerando-se que as determinações devem ser realizadas no menor tempo possível sem comprometer o desempenho analítico.

Figura 5.4. Efeito do tempo de irradiação UV na formação das NPs na presença e na ausência de cloreto

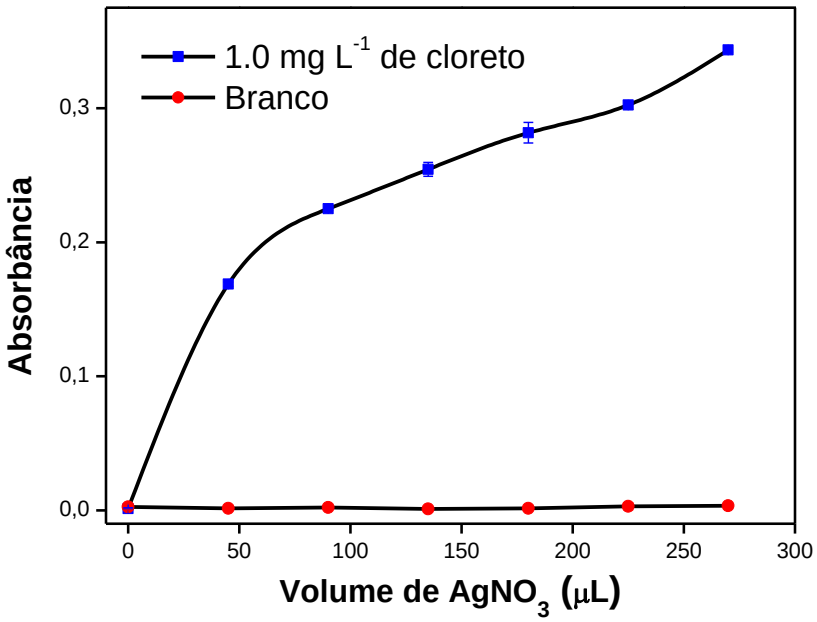


5.3.4. Otimização do volume dos reagentes

Foram avaliados os efeitos das variações dos volumes dos reagentes precursores $AgNO_3$ (20,0 mmol L^{-1}) e PVP (4,0% m/v), que atuam como fonte de íons prata e estabilizador, respectivamente. Primeiramente, foi avaliado o volume de prata na presença e na ausência de cloreto, empregando 60 segundos de irradiação. Os volumes da solução contendo prata foram adicionados pela mini-bomba (P_2), a

qual, em cada pulso, inseria 45 µL de solução na câmara de mistura. Os resultados são apresentados na Figura 5.5, onde é possível observar que a absorbância na ausência de cloreto permaneceu inalterada, o que corrobora os resultados obtidos anteriormente. Na presença de cloreto, a magnitude do sinal aumentou consideravelmente, mantendo uma relação proporcional à concentração de $AgNO_3$. Baseando-se nesses resultados, foi possível inferir que um aumento no volume da solução de $AgNO_3$ aumentaria consideravelmente a sensibilidade do procedimento. Entretanto, um volume muito grande do reagente não é desejável, considerando aspectos como economia de reagentes e baixa geração de efluentes. Desta forma, os experimentos posteriores foram conduzidos empregando 180 µL do reagente, pois com esse volume já se observava uma diferença significativa entre a resposta analítica do branco (referência) e da solução padrão.

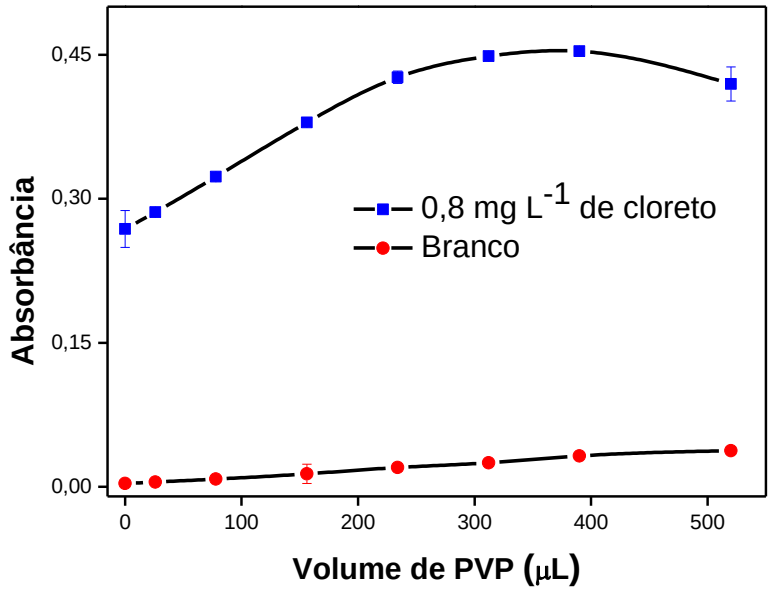
Figura 5.5. Efeito do volume de nitrato de prata. Condições experimentais: 1,5 mL de etanol, 250 µL de PVP (4% m/v) e 60 s de irradiação UV



O uso de PVP na síntese de AgNPs é comum, visto que esse reagente promove a estabilidade dos mesmos e, em alguns casos, atua na diminuição do tempo de síntese [132,134]. Portanto, a sua presença foi avaliada empregando as

condições experimentais relatadas acima. O volume de PVP 4% (m/v) foi otimizado aumentando o número de pulsos da mini-bomba P_2, que adicionava 26 µL por pulso, na câmara de mistura. Os volumes avaliados foram de 0 a 520 µL, e a reposta analítica é apresentada na Figura 5.6. Os resultados indicaram um aumento proporcional na diferença da absorbância entre a referência (branco) e a solução de cloreto até cerca de 310 µL. Para maiores volumes, a absorbância permaneceu constante, seguida por um decréscimo para o volume acima de 400 µL de PVP. Este comportamento retrata a forte influência do PVP no desenvolvimento da reação, diminuindo o tempo da reação e estabilizando as NPs formadas. O decréscimo na absorbância se deve ao excesso de reagente, portanto, atuando na diluição do produto formado.

Figura 5.6. Efeito do volume de PVP. Condições experimentais: 1,5 mL de etanol, 180 µL de $AgNO_3$ e 60 s de irradiação UV



Além disso, foi notado um aumento do sinal do branco para volumes de PVP superiores a 200 µL. Este aspecto foi associado à formação de um filme nas paredes da cubeta após sucessivas medidas (>100 repetições). Este efeito foi contornado realizando-se uma etapa de limpeza. Nesta etapa, uma solução aquosa com 0,5% (v/v) de peróxido de hidrogênio foi adicionada na câmara de mistura e a

lâmpada UV foi acionada por 60 segundos; em seguida, a câmara foi esvaziada e limpa com etanol. Após esse processo, a linha base foi restabelecida e nenhuma etapa de calibração adicional foi necessária, tornando o sistema apto para continuar outras medidas.

Devido ao efeito positivo promovido pelo PVP durante a formação das NPs, os estudos seguintes foram realizados para verificar o comportamento deste reagente nas figuras de mérito da curva analítica. Foram construídas curvas analíticas de cloreto (0,1 a 0,8 mg L^{-1}, n = 5), na ausência e na presença de PVP. As figuras de mérito são apresentadas na Tabela 5.2, e demonstram limitada linearidade e baixa sensibilidade obtidas na ausência e em baixas concentrações do estabilizante. Entretanto, em maiores concentrações, ocorreu um aumento significativo tanto no coeficiente de correlação linear, quanto no coeficiente angular. Portanto, a condição ideal de análises foi estabelecida usando 390 µL (*i.e.* 15 pulsos) de PVP. Nesta condição, o excesso de PVP promoveu boa linearidade e sensibilidade, baixo erro associado e estabilidade das NPs formadas.

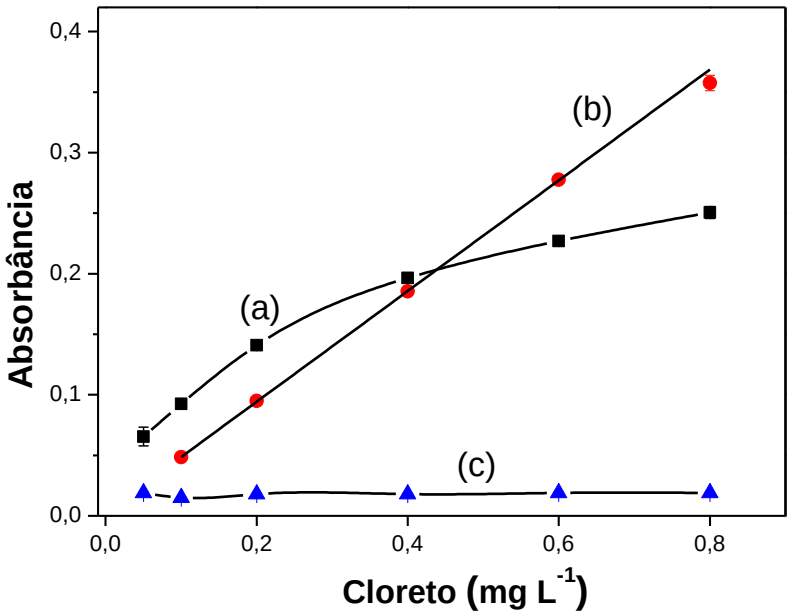
Tabela 5.2. Avaliação do efeito do PVP na linearidade da resposta do sistema

Volume de PVP (µL)	Correlação linear (R^2)	Equação da curva 0,1 a 0,8 mg L^{-1}	Limite de detecção (3*σ) µg L^{-1}
0	0,938	0,218[Cl^-] + 0,090	28
75	0,980	0,309[Cl^-] + 0,021	19
260	0,983	0,442[Cl^-] + 0,028	15
312	0,995	0,456[Cl^-] + 0,016	13
390	0,997	0,451[Cl^-] + 0,024	13
442	0,999	0,444[Cl^-] + 0,006	15
520	0,998	0,405[Cl^-] + 0,016	16

Os resultados descritos acima mostraram que a formação de AgNPs depende efetivamente da participação dos íons cloreto e da irradiação UV, e também que a presença de PVP acelera a produção das NPs, além de garantir a linearidade em uma ampla faixa de reposta. Para melhor visualização dos parâmetros otimizados, alguns ensaios são apresentados na Figura 5.7, na qual as respostas foram obtidas sob irradiação UV na (a) ausência e na (b) presença de 442 µL de PVP; o perfil (c)

corresponde à resposta sem radiação UV. Estes resultados reforçam os resultados obtidos anteriormente, em que, na ausência da radiação UV, não ocorreu a formação das NPs, e que a presença de PVP é responsável por uma ampla faixa linear em função do aumento da concentração de cloreto. Estes resultados indicaram que a formação das NPs induzidas por radiação UV e cloreto pode ser usada para a determinação de cloreto em baixa concentração em etanol combustível.

Figura 5.7. Demonstração do efeito da irradiação UV e do PVP. Condições experimentais: 1,5 mL de etanol com cloreto, 180 µL de $AgNO_3$, 390 µL de PVP (4% v/v) e 60 s de irradiação UV



5.3.5. Avaliação de potenciais interferentes

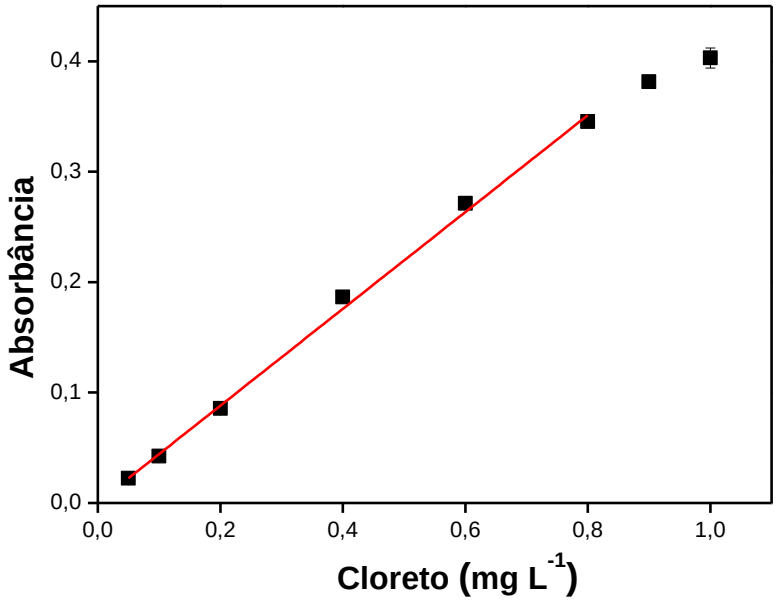
As espécies químicas mencionadas na Seção 5.2.1 foram avaliadas como potenciais interferentes. Foram tomados como referência os limites estabelecidos pela ANP, sendo os valores 4,0; 1,0 e 1,0 mg kg^{-1} para sulfato, cobre e sódio, respectivamente, além da acidez que é expressa como 30 mg L^{-1} de ácido acético por litro de etanol. Tomando como critério uma variação de 5% no sinal analítico, os resultados não mostraram diferença significativa em relação ao sinal do controle (0,5 mg L^{-1} de cloreto).

Apesar da boa tolerância aos elementos mencionados acima, para os íons de ferro (III) (valor limite da ANP: 5,0 mg kg^{-1}) a variação do sinal foi de 10% em relação ao de referência. A influência da água também foi avaliada, e a presença de 5% (v/v) de água na solução padrão de cloreto causou um aumento de 4% no sinal analítico comparado ao do meio anidro. Como as amostras de álcool hidratado combustível apresentam cerca de 5% (v/v) de água, as soluções padrão de cloreto foram preparadas em etanol 95% (v/v) para obter a compatibilidade da matriz.

5.3.6. Características analíticas e aplicação

Usando as condições otimizadas, o sistema proposto apresentou as seguintes características analíticas, curva de trabalho de 0,05 a 0,8 mg L^{-1}, descrita pela equação (Abs = 0,44 [Cl^-] (mg L^{-1}) + 0,002), com coeficiente de determinação (R^2) de 0,998 (Figura 5.8). Além disso, o limite de detecção (95%) e o coeficiente de variação (n = 8) foram estimados em 12 µg L^{-1} e 2,2%, respectivamente. O sistema também apresentou baixa geração de efluente (*c.a.* 4,6 mL/determinação) e uma velocidade analítica de 30 determinações por hora. O consumo de prata e PVP por determinação foi de 0,39 mg e 15,6 mg, respectivamente.

Figura 5.8. Curva analítica para a determinação de cloreto em etanol combustível



Todas as amostras de etanol hidratado combustível apresentaram cloreto com concentrações menores que 0,1 mg kg^{-1}, tanto no procedimento proposto, quanto no procedimento oficial (cromatografia iônica). Esses resultados comprovaram a qualidade do processo de produção do etanol, considerando que a concentração máxima permitida pela legislação é de 1,0 mg kg^{-1}. Desta forma, para avaliar a exatidão do procedimento proposto, as amostras foram fortificadas com 0,25 e 0,5 mg L^{-1} (isto é, 0,31 e 0,63 mg kg^{-1}) de cloreto e então foi avaliada a recuperação. Na Tabela 5.3 são apresentados os resultados dos ensaios de recuperação, no qual podemos observar uma recuperação variando de 92% a 110%, o que é apropriado para esse nível de concentração, demonstrando a aplicabilidade, assim como a confiabilidade dos resultados obtidos com o procedimento proposto. Além disso, os resultados obtidos através do procedimento proposto e a cromatografia iônica foram estatisticamente comparáveis ao nível de 95% de confiança (t_{cal}= 0,5; $t_{crít}$: 2,1).

Tabela 5.3. Resultados da recuperação de cloreto em amostras EHC

Amostras	Procedimento proposto (mg L^{-1})		Recuperação (%)	Referência (mg L^{-1})
	Adicionado	Encontrado		
1	0	<LQ	-	0,05 ± 0,02
	0,25	0,24 ± 0,01	96	0,27 ± 0,01
	0,50	0,52 ± 0,01	104	0,53 ± 0,01
2	0	<LQ	-	0,04 ± 0,02
	0,25	0,27 ± 0,01	108	0,28 ± 0,01
	0,50	0,55 ± 0,02	110	0,52 ± 0,01
3	0	< LQ	-	0,05 ± 0,02
	0,25	0,23 ± 0,02	92	0,29 ± 0,01
	0,50	0,55 ± 0,02	110	0,54 ± 0,01
4	0	< LQ	-	<ND
	0,25	0,23 ± 0,02	92	0,26 ± 0,01
	0,50	0,48 ± 0,01	96	0,49 ± 0,01
5	0	< LQ	-	<ND
	0,25	0,24 ± 0,01	96	0,24 ± 0,02
	0,50	0,46 ± 0,01	92	0,48 ± 0,01
6	0	< LQ	-	<ND
	0,25	0,24 ± 0,01	96	0,23 ± 0,01
	0,50	0,52 ± 0,01	104	0,48 ± 0,01
7	0	< LQ	-	<ND
	0,25	0,26 ± 0,01	104	0,22 ± 0,02
	0,50	0,48 ± 0,01	96	0,49 ± 0,01

(LQ): limite de quantificação; ND: não detectado; Os resultados correspondem à média de três medidas consecutivas ± desvio padrão.

5.3.7. Comparação do desempenho analítico

Um resumo das figuras de mérito dos procedimentos descritos na literatura para determinação de cloreto em EHC foi reunido na Tabela 5.4. Todos os procedimentos apresentaram faixa de trabalho adequada para a determinação de baixas concentrações de cloreto em etanol. No entanto, alguns destes procedimentos submetem a amostra a etapas de secagem ou precipitação antes da determinação [84,99,100]. Esses processos eliminam os efeitos da matriz,

entretanto, tornam o procedimento moroso e mais susceptível a contaminações, já que íons cloreto encontram-se abundantemente no ambiente. Em outros procedimentos, a determinação de cloreto foi realizada sem tratamento da amostra [124,125], este fato tornou os procedimentos rápidos para uso em situações de alta demanda. Krug e colaboradores empregaram a análise em fluxo, o que permitiu agregar as vantagens inerentes dos processos em fluxo [125]. No entanto, nesses casos, embora as amostras fossem analisadas sem tratamento e/ou em regime de fluxo, o uso de mercúrio na composição dos regentes limita o emprego destes procedimentos em análises de rotina, pois geram resíduos de difícil tratamento e que não atendem às atuais demandas ambientais. O procedimento aqui proposto incorporou a versatilidade dos processos em fluxo-batelada com a fotogeração de NPs diretamente na matriz (etanol) contendo o analito (cloreto), permitindo a análise direta e totalmente automatizada. Além disso, a faixa de trabalho foi adequada para a determinação de cloreto em amostras de etanol hidratado e anidro, de acordo com a legislação brasileira (limite de 1,0 mg kg^{-1}) e atendendo, também, as especificações da ASTM D 4806 (limite de 6,7 mg kg^{-1}) [146].

Tabela 5.4. Procedimentos para determinação de cloreto em etanol combustível

Procedimento	Preparação da amostra	Faixa de trabalho (mg L^{-1})	LD (µg L^{-1})	Referência
UV-vis	Sem preparação	0,05–0,8	12	Procedimento proposto
CE-CCD	Evaporação e recuperação em água	0,2–4,0	60	[99]
CE-UV	Evaporação e recuperação em água	0,02–0,1 (mg kg^{-1})	16	[100]
EDXRF	Precipitação, filtração e secagem	0,05–2	25	[84]
UV-vis	Sem preparação	0,1–6,0	–	[125]
CSV-HMDE	Sem preparação	–	40	[124]

CE-CCD: Eletroforese capilar com condutividade sem contato; CE-UV: Eletroforese capilar com ultravioleta; EDXRF: Fluorescência de raios X por dispersão de energia; CSV-HMDE: voltametria de redissolução catódica com eletrodo de gota pendente de mercúrio.

5.4. Conclusões

No presente procedimento, uma lâmpada UV de baixa potência foi usada para promover a formação de AgNPs em etanol, induzida pela presença de cloreto, e este efeito foi explorado para desenvolver um procedimento fotométrico para a determinação de cloreto em EHC. Os íons comumente presentes na matriz não causaram interferência significativa e as amostras não apresentaram cor ou turbidez, deste modo, as análises foram realizadas sem nenhum preparo das amostras. A faixa de trabalho utilizada foi adequada, com base na legislação, além disso, o procedimento permitiu alta produtividade (30 determinações h^{-1}) e baixa geração de efluentes (< 5 mL /determinação), demonstrando seu potencial uso para análises de rotina, em conformidade com as diretrizes da química verde. Finalmente, usando materiais comuns em laboratório (*i.e.* cubeta, espectrofotômetro e lâmpada UV) e um suporte construído em 3D, foi possível construir um módulo de análises simples, compacto, versátil e eficiente, que permitiu explorar o potencial do sistema reacional.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os procedimentos desenvolvidos tiveram como foco a determinação de espécies químicas, as quais, mesmo em baixas concentrações, podem afetar a qualidade do etanol combustível. Essas espécies são, geralmente, determinadas empregando procedimentos demorados e/ou com alto custo. Nesta tese foram desenvolvidos três procedimentos alternativos a esses procedimentos comumente empregados para a determinação dessas espécies químicas. O primeiro foi voltado para a determinação da acidez, empregando um titulador fotométrico automático. Os outros dois procedimentos descrevem a determinação de cloreto e sulfato, onde foram construídos sistemas em fluxo-batelada com detecção espectrofotométrica.

No procedimento por titulação automática, as análises foram realizadas com amostras diluídas (1:1) com água, com o objetivo de contornar o efeito *Schlieren*. Apesar da aplicabilidade comprovada pelas favoráveis figuras de mérito obtidas, inconvenientes foram notados, por exemplo, algumas amostras apresentaram turvação ao serem diluídas. Apesar dos esforços realizados, este efeito persistiu, inviabilizando a análise de algumas amostras. Além disso, devido à baixa acidez das amostras de etanol combustível, foi necessária a neutralização da água antes da diluição da amostra, tornando as análises mais susceptíveis a erro humano. Apesar disso, para as amostras onde não ocorreu a turvação, resultados com boa exatidão foram obtidas com o procedimento automático e sem a necessidade de empregar outras soluções para calibração, além do titulante. Em condições ideais, a geração de efluente foi 10 vezes menor em relação ao procedimento titulométrico em batelada, com desvio padrão relativo < 1% e recuperação analítica de 94 a 107 %, tais características tornam o procedimento em uma proposta ambientalmente amigável e analiticamente confiável.

Para determinação de sulfato e cloreto, dois módulos de análises em fluxo baseados em estratégia fluxo-batelada foram montados e controlados por um microcontrolador Arduino. O procedimento para determinação de sulfato foi realizado explorando a reação de deslocamento do bário presente no complexo DMS-Ba^{+} pelo sulfato, formando o sulfato de bário. Essa reação é favorecida em meio ácido e com alto teor de etanol (>90%), portanto, devido a estes aspectos, não foi necessária a diluição da amostra, tampouco qualquer outro tipo de preparo. Em condições otimizadas, o sistema apresentou faixa de trabalho adequada e boas figuras de

mérito como, alta sensibilidade e baixo limite de detecção. A geração de efluentes foi menor que 5 mL por determinação (considerando a água utilizada para limpeza da câmara) e a frequência de amostragem foi de 35 determinações h^{-1}, o que mostra a clara vantagem frente ao procedimento oficial baseado em cromatografia de íons, que demora, geralmente, mais de 10 minutos para realização de uma determinação, além do relativamente alto custo envolvido.

Para a determinação de cloreto, foi empregada uma estratégia que permitiu a formação de nanopartículas de prata diretamente na matriz da amostra, e que foi induzida por radiação UV e pela presença de íons cloreto. Como fonte de radiação UV, foi usada uma lâmpada germicida (13W), que foi colocada o mais próximo possível de uma cubeta de quartzo, usada como câmara de mistura. Novamente, não foi necessário nenhum tratamento das amostras analisadas. O sistema apresentou boa seletividade e robustez adequada. A faixa de trabalho foi adequada para amostras de etanol, que podem conter no máximo 1,0 mg kg^{-1} de cloreto, segundo a legislação brasileira. Em condições otimizadas, o procedimento apresentou boa resposta linear. A geração de efluentes foi menor que 5 mL por determinação, e a frequência de análises foi de 30 determinações h^{-1}. A exatidão do procedimento foi avaliada comparando-se os resultados com os obtidos por cromatografia de íons, e não houve diferença significativa ao nível de 95% de confiança. A estratégia aqui proposta se mostrou excelente para determinação de cloreto, pois permite que a reação de derivatização (formação das nanopartículas) ocorra diretamente na matriz da amostra e não requer tratamento prévio da mesma.

Finalmente, os três procedimentos foram aplicados com sucesso na determinação dos analitos em etanol combustível, fornecendo faixas de trabalho adequadas e permitindo a automatização dos processos. A instrumentação usada pode ser considerada como sendo de baixo custo, e parâmetros como geração de pequeno volume de efluentes e altas frequências analíticas foram alcançadas; assim podemos concluir que os procedimentos desenvolvidos são excelentes alternativas aos atualmente preconizados pelas agências reguladoras.

REFERÊNCIAS

1. MOTA, C. J. A.; MONTEIRO, R. S. Química e sustentabilidade: novas fronteiras em biocombustíveis. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 10, p. 1483-1490, 2013.

2. TIMILSINA, G. R.; CHENG, J. J. **Advanced biofuel technologies**: status and barriers. Washington, DC: World Bank, 2010. (Policy Research Working Paper, 5411).

3. LEITE, R. C. C.; LEAL, M. R. L. V. O biocombustível no Brasil. **Novos Estudos CEBRAP**, São Paulo, n. 78, p. 15-21, 2007.

4. U.S. ENERGY INFORMATION ADMINISTRATION. **Fuel ethanol production in the U.S.** Washington, DC, 2018. Disponível em: https://www.eia.gov/todayinenergy/detail.php?id=36774. Acesso em: 10 dez. 2018.

5. AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS - ANP **Produção de etanol**. Disponível em <http://www.anp.gov.br/images/DADOS_ESTATISTICOS/Producao_etanol/Producao-de-Etanol-b.xls>. Acesso em: 10 jan. 2019.

6. CHENG, J. J.; TIMILSINA, G. R. Status and barriers of advanced biofuel technologies: A review. **Renewable Energy**, Oxford, v. 36, n. 12, p. 3541-3549, 2011.

7. PRASAD, S.; SINGH, A.; JOSHI, H. C. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. **Resources, Conservation and Recycling**, Amsterdam, v. 50, n. 1, p. 1-39, 2007.

8. HAHN-HÄGERDAL, B.; GALBE, M.; GORWA-GRAUSLUND, M. F.; LIDÉN, G.; ZACCHI, G. Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today. **Trends in Biotechnology**, Cambridge, v. 24, n. 12, p. 549-556, 2006.

9. REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 293, n. 1-2, p. 129-138, 1994.

10. FERES, M. A.; REIS, B. F. A downsized flow set up based on multicommutation for the sequential photometric determination of iron(II)/iron(III) and nitrite/nitrate in surface water. **Talanta**, Amsterdam, v. 68, n. 2, p. 422-428, 2005.

11. ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F. A flow system exploiting multicommutation for speciation of inorganic nitrogen in waters. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 409, n. 1-2, p. 227-235, 2000.

12. MARTELLI, P. B.; REIS, B. F.; KRONKA, E. A. M.; BERGAMIN-FILHO, H.; KORN, M.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; ARAUJO, A. N. Multicommutation in flow analysis. Part 2. Binary sampling for spectrophotometric determination of nickel, iron and chromium in steel alloys. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 308, n. 1-3, p. 397-405, 1995.

13. KRONKA, E. A. M.; REIS, B. F.; KORN, M.; BERGAMIN-FILHO, H. Multicommutation in flow analysis. Part 5: Binary sampling for sequential spectrophotometric determination of ammonium and phosphate in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 334, n. 3, p. 287-293, 1996.

14. ROCHA, F. R. P.; FATIBELLO-FILHO, O.; REIS, B. F. A multicommuted flow system for sequential spectrophotometric determination of hydrosoluble vitamins in pharmaceutical preparations. **Talanta**, Amsterdam, v. 59, n. 1, p. 191-200, 2003.

15. FIEDORUK-POGREBNIAK, M.; KONCKI, R. Multicommutated flow analysis system based on fluorescence microdetectors for simultaneous determination of phosphate and calcium ions in human serum. **Talanta**, Amsterdam, v. 144, p. 184-188, 2015.

16. HU, Y-Y.; HE, Y-Z.; QIAN, L-L.; WANG, L. On-line ion pair solid-phase extraction of electrokinetic multicommutation for determination of trace anion surfactants in pond water. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 536, n. 1-2, p. 251-257, 2005.

17. GONZÁLES, A. P. S.; FIRMINO, M. A.; NOMURA, C. S.; ROCHA, F. R. P.; OLIVEIRA, P. V.; GAUBEUR, I. Peat as a natural solid-phase for copper preconcentration and determination in a multicommuted flow system coupled to flame atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 636, n. 2, p. 198-204, 2009.

18. SANCHEZ, M. A.; ROCHA, F. R. P. Liquid-liquid microextraction without phase separation in a multicommuted flow system for diltiazem determination in pharmaceuticals. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 694, n. 1-2, p. 95-99, 2011.

19. COMITRE, A. L. D.; REIS, B. F. Automatic flow procedure based on multicommutation exploiting liquid-liquid extraction for spectrophotometric lead determination in plant material. **Talanta**, Amsterdam, v. 65, n. 4, p. 846-852, 2005.

20. OLIVEIRA, S. M.; LOPES, T. I. M. S.; TÓTH, I. V.; RANGEL, A. O. S. S. Development of a gas diffusion multicommuted flow injection system for the determination of sulfur dioxide in wines, comparing malachite green and pararosaniline chemistries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 57, p. 3415-3422, 2009.

21. OLIVEIRA, S. M.; LOPES, T. I. M. S.; TÓTH, I. V.; RANGEL, A. O. S. S. Determination of ammonium in marine waters using a gas diffusion multicommuted flow injection system with in-line prevention of metal hydroxides precipitation. **Journal of Environmental Monitoring**, Cambridge, v. 11, n. 1, p. 228-234, 2009.

22. GINÉ, M. F.; PACKER, A. P.; BLANCO, T.; REIS, B. F. Flow system based on a binary sampling process for automatic dilutions prior to flame atomic spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 323, n. 1-3, p. 47-53, 1996.

23. FERES, M. A.; FORTES, P. R.; ZAGATTO, E. A. G.; SANTOS, J. L. M.; LIMA, J. L. F. C. Multi-commutation in flow analysis: Recent developments and applications. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 618, n. 1, p. 1-17, 2008.

24. MORALES-RUBIO, A.; REIS, B. F.; GUARDIA, M. Multi-commutation in spectrometry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 28, n. 7, p. 903-913, 2009.

25. ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. S.; SANTOS, J. L. M. Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 468, n. 1, p. 119-131, 2002.

26. ICARDO, M. C.; MATEO, J. V. G.; CALATAYUD, J. M. Multicommutation as a powerful new analytical tool. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry,** Amsterdam, v. 21, n. 5, p. 366-378, 2002.

27. RODENAS-TORRALBA, E.; ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F.; MORALES-RUBIO, A.; GUARDIA, M. Evaluation of a multicommuted flow system for photometric environmental measurements. **Journal of Automated Methods and Management in Chemistry**, London, v. 2006, ID 20384, p. 1-9, 2006.

28. MELCHERT, W. R.; REIS, B. F.; ROCHA, F. R. P. Green chemistry and the evolution of flow analysis. A review. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 714, p. 8-19, 2012.

29. SWEILEH, J. A.; DASGUPTA, P. K. Applications of in situ detection with an automated micro batch analyzer. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 214, p. 107-120, 1988.

30. HONORATO, R. S.; ARAÚJO, M. C. U.; LIMA, R. A. C.; ZAGATTO, E. A. G.; LAPA, R. A. S.; COSTA LIMA J. L .F. A flow-batch titrator exploiting a one-dimensional optimisation algorithm for end point search. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 396, p. 91-97, 1999.

31. DINIZ, P. H. G. D.; ALMEIDA, L. F.; HARDING, D. P.; ARAÚJO, M. C. U. Flow-batch analysis. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 35, p. 39-49, 2012.

32. PASQUINI, C.; AQUINO, E. V.; REBOUCAS, M. V.; GONZAGA, F. B. Robust flow-batch coulometric/biamperometric titration system: Determination of bromine index and bromine number of petrochemicals. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 600, n. 1-2, p. 84-89, 2007.

33. SILVA, M. B.; CRISPINO, C. C.; REIS, B. F. Automatic photometric titration procedure based on multicommutation and flow-batch approaches employing a photometer based on twin LEDs. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 21, n. 10, p. 1854-1860, 2010.

34. ALMEIDA, L. F.; VALE, M. G. R.; DESSUY, M. B.; SILVA, M. M.; LIMA, R. S.; SANTOS, V. B.; DINIZ, P. H. D.; ARAÚJO, M. C. U. A flow-batch analyzer with piston propulsion applied to automatic preparation of calibration solutions for Mn determination in mineral waters by ET AAS. **Talanta**, Amsterdam, v. 73, n. 5, p. 906-912, 2007.

35. CUNHA, F. A. S.; SOUSA, R. A.; HARDING, D. P.; CADORE, S.; ALMEIDA, L. F.; ARAÚJO, M. C. U. Automatic microemulsion preparation for metals determination in fuel samples using a flow-batch analyzer and graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 727, p. 34-40, 2012.

36. FREITAS, S. K. B.; NASCIMENTO, E. C. L.; DIONÍZIO, A. G. G.; GOMES, A. A.; ARAÚJO, M. C. U.; GALVÃO, R. K. H. A flow-batch analyzer using a low cost aquarium pump for classification of citrus juice with respect to brand. **Talanta**, Amsterdam, v. 107, p. 45-48, 2013.

37. CRISPINO, C. C.; REIS, B. F. Development of an automatic photometric titration procedure to determine olive oil acidity employing a miniaturized multicommuted flow-batch setup. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 6, n. 1, p. 302-307, 2014.

38. ALMEIDA, L. F.; MARTINS, V. L.; SILVA, E. C.; MOREIRA, P. N. T.; ARAUJO, M. C. U. Implementation of an automatic standard addition method in a flow-batch system: application to copper determination in an alcoholic beverage by atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 486, n. 1, p. 143-148, 2003.

39. BRASIL, M. A. S.; REIS, B. F. Development of a microcontrolled flow-batch device with direct heating for analytical procedures that require a heating step for chemical reaction development. **Sensors and Actuators B: Chemical**, Lausanne, v. 226, p. 570-578, 2016.

40. BARRETO, I. S.; ANDRADE, S. I. E.; CUNHA, F. A. S.; LIMA, M. B.; ARAUJO, M. C. U.; ALMEIDA, L. F.; A robotic magnetic nanoparticle solid phase extraction system coupled to flow-batch analyzer and GFAAS for determination of trace cadmium in edible oils without external pretreatment. **Talanta**, Amsterdam, v. 178, p. 384-391, 2018.

41. GONZÁLEZ, N.; GRÜNHUT, M.; ŠRÁMKOVÁ, I.; LISTA, A. G.; HORSTKOTTE, B.; SOLICH, P.; SKLENÁŘOVÁ, H.; ACEBAL, C. C. Flow-batch analysis of clenbuterol based on analyte extraction on molecularly imprinted polymers coupled to an in-system chromogenic reaction. Application to human urine and milk substitute samples. **Talanta**, Amsterdam, v. 178, p. 934-942, 2018.

42. PENG, J.; LIU, G.; YUAN, D.; FENG, S.; ZHOU, T.; A flow-batch manipulated Ag NPs based SPR sensor for colorimetric detection of copper ions (Cu^{2+}) in water samples. **Talanta**, Amsterdam, v. 167, p. 310-316, 2017.

43. GRÜNHUT, M.; MARTINS, V. L.; CENTURIÓN, M. E.; ARAÚJO M. C. U.; BAND, B. S. F. Flow-Batch analyzer for the chemiluminescence determination of catecholamines in pharmaceutical preparations. **Analytical Letters**, New York, v. 44, n. 1-3, p. 67-81, 2011.

44. ANDRADE, R. A. N.; ANDRADE, S. I. E.; MARTINS, V. L.; MOREIRA, P. N. T.; COSTA, D. J. E.; LYRA, W. S.; ARAÚJO, M. C. U. A flow-batch luminometer. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 108, p. 151-155, 2013.

45. ZHU, Y.; YUAN, D.; HUANG, Y.; MA, J.; FENG, S. A sensitive flow-batch system for on board determination of ultra-trace ammonium in seawater: Method development and shipboard application. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 794, p. 47-54, 2013.

46. ACEBAL, C. C.; GRÜNHUT, M.; ŠRÁMKOVÁ, I.; CHOCHOLOUŠ, P.; LISTA, A. G.; SKLENÁŘOVÁ, H.; SOLICH, P.; BAND, B. S. F.; Application of a fully integrated photodegradation-detection flow-batch analysis system with an on-line preconcentration step for the determination of metsulfuron methyl in water samples. **Talanta**, Amsterdam, v. 129, p. 233-240, 2014.

47. ANDRADE, S. I. E.; LIMA, M. B.; BARRETO, I. S.; LYRA, W. S.; ALMEIDA, L. F.; ARAÚJO, M. C. U.; SILVA, E. C. A digital image-based flow-batch analyzer for determining Al(III) and Cr(VI) in water. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 109, p. 106-111, 2013.

48. LIMA, M. B.; ANDRADE, S. I. E.; BARRETO, I. S.; ALMEIDA, L. F.; ARAÚJO, M. C. U. A digital image-based micro-flow-batch analyzer. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 106, p. 238-243, 2013.

49. MONTE-FILHO, S. S.; LIMA, M. B.; ANDRADE, S. I. E.; HARDING, D. P.; FAGUNDES, Y. N. M.; SANTOS, S. R. B.; LEMOS, S. G.; ARAÚJO, M. C. U. Flow-batch miniaturization. **Talanta**, Amsterdam, v. 86, p. 208-213, 2011.

50. ZIEGEL, H. Automatic titration. I. Automatic electrometric titration of dichromate and ferrous iron. **Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie**, Berlin, v. 53, p. 755-762, 1914.

51. MULLER, R. H.; PARTRIDGE. H. M. Application of the photo-electric cell to automatic titrations. **Industrial & Engineering Chemistry**, Easton, v. 20, n. 4, p. 423-425, 1928.

52. HICKMAN, K.; SANFORD, C. R.; Automatic Titrating Devices. **Industrial & Engineering Chemistry**, Easton, v. 5, n. 1, p. 65-68, 1933.

53. ROBINSON, H. A. Automatic potentiometric titrations. **Journal of The Electrochemical Society**, Manchester, v. 92, n. 1, p. 445-464, 1947.

54. SHAFFER, P. A.; BRIGLIO, A.; BROCKMAN, J. A. Instrument for automatic continuous titration. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 20, n. 11, p. 1008-1014, 1948.

55. IRVINGH, H. M. N.; FREISER, H.; WEST, T. S. Recommended nomenclature for automatic analysis. In: INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY – IUPAC. **Compendium of Analytical Nomenclature.** London, 1978. chap. 5, p. 22-23. Disponível em: <https://goo.gl/KKS8Yb>.

56. HALLIKAINEN, K. E.; POMPEO, D. J. Continuous recording eletrometric titrometer. **Journal of Scientific Instruments**, London, v. 25, p. 335-338, 1952.

57. SKEGGS, L. T. An automatic method for colorimetric analysis, **American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, v. 28, n. 3, p. 311-322. 1957.

58. BLAEDEL, W. J.; LAESSIG, R. H. Continuous automated buretless titrator with direct readout. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 36, n. 8, p. 1617-1623, 1964.

59. NAGY, G.; FEHÉR, Z.; PUNGOR, E. Application of silicone rubber-based graphite electrodes for continuous flow measurements: Part II. Voltammetric study of active substances injected into electrolyte streams. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 52, n. 1, p. 47-54, 1970.

60. RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analysis. Part I: A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p. 145-157, 1975.

61. RUZICKA, J.; HANSEN, E. H.; MOSBAEK, H. Flow injection analysis: Part IX. A new approach to continuous flow titrations. **Analytica Chimica Acta**, v. 92, n. 2, p. 235-249, 1977.

62. RAMSING, A. U.; RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. The principles and theory of high-speed titrations by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 129, p. 1-17, 1981.

63 CLARK, G. D.; ZABLE, J.; RŮŽIČKA, J.; CHRISTIAN, G. D. Flow-reversal flow-injection analysis Enhancement of flow-injection titrations. **Talanta**, Amsterdam, v. 38, n. 2, p. 119-124, 1991.

64. MARCOS, J.; RÍOS, A.; VALCÁRCEL, M. Automatic titrations in unsegmented flow systems based on variable flow-rate patterns: Part 1. Principles and applications to acid-base titrations. **Analytica Chimica Acta**, v. 261, n. 1-2, p. 489-494, 1992.

65. MARCOS, J.; RÍOS, A.; VALCÁRCEL, M. Automatic titrations in unsegmented flow systems based on variable flow-rate patterns: Part 2. Complexometric and redox titrations. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 261, n. 1-2, p. 495-503, 1992.

66. KORN, M.; GOUVEIA, L. F. B. P.; OLIVEIRA, E.; REIS, B. F. Binary search in flow titration employing photometric end-point detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 313, p. 177-184, 1995.

67. VIEIRA, J. A.; RAIMUNDO JR, I. M.; REIS, B. F.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M.; ARAÚJO, A. N. Monosegemented flow potentiometric titration for the determination of chloride in milk and wine. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 259-264, 2003.

68. MARTELLI, P. B.; REIS, B. F.; KORN, M.; LIMA, J. L. F. C. Automatic potentiometric titration in monosegmented flow system exploiting binary search. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 387, n. 2, p. 165-173, 1999.

69. ALMEIDA, C. M. N. V.; LAPA, R. A. S.; LIMA, J. L. F. C.; ZAGATTO, E. A. G.; ARAÚJO, M. C. U.; An automatic titrator based on a multicommutated unsegmented flow system: Its application to acid-base titrations. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 407, n. 1-2, p. 213-223, 2000.

70. TÔRRES, A. R.; LYRA, W. S.; ANDRADE, S. I. E.; ANDRADE, R. A. N.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U.; GAIÃO, E. N. A digital image-based method for determining of total acidity in red wines using acid-base titration without indicator. **Talanta**, Amsterdam, v. 84, n. 3, p. 601-606, 2011.

71. GAIAO, E. N.; MARTINS, V. L.; LYRA, W. S.; ALMEIDA, L. F.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U. Digital image-based titrations. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 570, n. 2, p. 283-290, 2006.

72. LIMA, R. A. C.; ALMEIDA, L. F.; LYRA, W. S.; SIQUEIRA, L. A.; GAIÃO, E. N.; PAIVA JR, S. S. L.; LIMA, R. L. F. C. Digital movie-based on automatic titrations. **Talanta**, Amsterdam, v. 147, p. 226-232, 2016.

73. SASAKI, M. K.; ROCHA, D. L.; ROCHA, F. R. P.; ZAGATTO, E. A. G. Tracer-monitored flow titrations. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 902, p. 123-128, 2016.

74 PHILLIPS, J. P. **Automatic titrators**. New York: Academic Press, 1959.

75. SASAKI, M. K.; DIAS, T. R.; ZAGATTO, E. A. G. Flow titrations. In: JOSHI, T. L. (Ed.). **Titration**: Theory, types, techniques and uses. Hauppauge NY: Nova Science Publishers, 2018. chap. 2. (ISBN: 978-1-53614-335-5).

76. TERRA, J.; ROSSI, A. V. Sobre o desenvolvimento da análise volumétrica e algumas aplicações atuais. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 166-171, 2005.

77. GRINIAS, J. P.; WHITFIELD, J. T.; GUETSCHOW, E. D.; KENNEDY, R. T. An inexpensive, open-source USB arduino data acquisition device for chemical instrumentation. **Journal of Chemical Education**, Easton, v. 93, n. 7, p. 1316-1319, 2016.

78. URBAN, P. L. Universal electronics for miniature and automated chemical assays. **Analyst**, London. v. 140, p. 963-975, 2015.

79. MCCLAIN, R. L. Construction of a photometer as an instructional tool for electronics and instrumentation. **Journal of Chemical Education**, Easton, v. 91, n. 5, p. 747-750, 2014.

80. MABBOTT, G. A. Teaching electronics and laboratory automation using microcontroller boards. **Journal of Chemical Education**, Easton, v. 91, n. 9, p. 1458-1463, 2014.

81. MIRANDA, J. C.; KAMOGAWA, M. Y.; REIS, B. F. Development of a portable setup and a multicommuted flow analysis procedure for the photometric determination of Fe(III) and Fe(II) in fresh water. **Sensors and Actuators B: Chemical**, Lausanne, v. 207, p. 811-818, 2015.

82. TEIXEIRA, L. S. G.; BRASILEIRO, J. F.; BORGES JR, M. M.; CORDEIRO, P. W. L.; ROCHA, S. A. N.; COSTA, A. C. S. Determinação espectrofotométrica simultânea de cobre e ferro em álcool etílico combustível com reagentes derivados da ferroína. **Química Nova**, São Paulo, v. 29 n. 4, p. 741-745, 2006.

83. STRADIOTTO, N. R.; ZANONI, M. V. B.; FRAGA, I. C. S.; BORGES, P. P. **Fuel ethanol quality**: methods of analysis and reference materials. São Paulo: Edgard Blücher, 2014.

84. TEIXEIRA, L. S. G.; CHAVES, T. J.; GUIMARÃES, P. R. B.; PONTES, L. A. M.; TEIXEIRA, J. S. R. Indirect determination of chloride and sulfate ions in ethanol fuel by X-ray fluorescence after a precipitation procedure. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 640, p. 29-32, 2009.

85. PEREIRA, F. C.; LIMA, F. J. S.; SILVA, A. O. Uma breve revisão sobre alguns aspectos do álcool combustível veicular e a análise quantitativa de espécies químicas presentes nesta matriz energética. **Revista Virtual de Química**, Niteroi, v. 8, n. 5, p. 1702-1720, 2016.

86. JEULAND, N.; MONTAGNE, X.; GAUTROT, X. Potentiality of ethanol as a fuel for dedicated engine. **Oil & Gas Science and Technology - Revue de l'IFP**, Rueil-Malmaison, v. 59, n. 6, p. 559-570, 2004.

87. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 9866:2012 - Etanol combustível** - Determinação da acidez total por titulação colorimétrica. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: < https://goo.gl/s7o99v >

88. ASTM INTERNATIONAL. **ASTM D1613-17** - Standard test method for acidity in volatile solvents and chemical intermediates used in paint, varnish, lacquer, and related products. West Conshohocken, PA, 2017.

89. FATIBELLO-FILHO, O.; BORGES, M. T. M. R. Flow-injection conductometric determination of acidity in industrial hydrated ethyl alcohol. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 366, n. 1-3, p. 81-85, 1998.

90. AVELAR, H. M.; BARBEIRA, P. J. S. Conductometric determination of total acidity and chloride content in automotive fuel ethanol. **Fuel**, London, v. 86, n. 1-3, p. 299-302, 2007.

91. GONZAGA, F. B.; GONÇALVES, M. A.; SOBRAL, S. P.; RIBEIRO, C. M. A new method for determining the acid number of ethanol fuel using coulometric titration. **Fuel**, London, v. 94, p. 70-74, 2012.

92. KORN, M.; GOUVEIA, L. F. B. P.; OLIVEIRA, E.; REIS, B. F. Binary search in flow titration employing photometric end-point detection. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 313, n. 3, p. 177-184, 1995.

93. Dias, T. R.; Brasil, M. A. S.; Feres, M. A.; Reis, B. F. A flow cell with a new design to improve the utilization of the radiation emitted by LED and employed as a radiation source for photometric detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, Lausanne, v. 198, p. 448-454, 2014.

94. SANTOS, F. G. J. **Determinação fotométrica de sulfato e cloreto em coque de petróleo, molibdênio em plantas e zinco em águas empregando multicomutação com bomba de seringa**. 2016. 158 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

95. LIMA, M. J. A.; REIS, B. F. Fully automated photometric titration procedure employing a multicommuted flow analysis setup for acidity determination in fruit juice, vinegar, and wine. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 135, p. 207-212, 2017.

96. SURISETTY, V. R.; DALAI, A. K.; KOZINSKI, J. Alcohols as alternative fuels: An overview. **Applied Catalysis A: General**, Amsterdam, v. 404, p. 1-11, 2011.

97. ALMEIDA, J. S.; SOUZA, O. C. C. O.; TEIXEIRA, L. S. G.; Determination of Pb, Cu and Fe in ethanol fuel samples by high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry by exploring a combination of sequential and simultaneous strategies. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 137, p. 22-26, 2018.

98. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10894: 2012. Etanol combustível** - Determinação da concentração de cloreto e sulfato - Método da cromatografia de íons. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: https://goo.gl/1Gx5ba.

99. MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M.; JESUS, D. P.; LAGO, C. L.; ANGNES, L. Determination of inorganic ions in ethanol fuel by capillary electrophoresis, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 15, p. 523-526, 2004.

100. PEREIRA, E. A.; TAVARES, M. F. M.; STEVANATO, A.; CARDOSO, A. A. Evaluation of inorganic and organic contaminants in alcohol fuel by capillary electrophoresis. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, p. 66-71, 2006.

101. LIMA, T. A. F.; FERREIRA, H. B. P.; BARBEIRA, P. J. S. Conductometric determination of sulphate ions in hydrated ethanol fuel. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, São Paulo, v. 6, p. 296-299, 2011.

102. ALMEIDA, J. S.; SOARES, V. R. B.; ANDRADE, C. J.; SILVA, J. D. S.; DANTAS, A. F.; ROCHA, G. O.; TEIXEIRA, L. S. G. Spectrophotometric determination of sulphate in ethanol fuel using dibromosulphonazo III. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, p. 880-884, 2013.

103. OLIVEIRA, F. S.; KORN, M. Spectrophotometric determination of sulphate in automotive fuel ethanol by sequential injection analysis using dimethylsulphonazo(III) reaction. **Talanta**, Amsterdam, v. 68, p. 992-999. 2006.

104. BUDĚŠINSKÝ, B.; KRUMLOVÁ, L. Determination of sulphur and sulphate by titration with barium perchlorate: Comparison of various colour indictors. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 39, p. 375-381, 1967.

105. SILVA, D. S.; REIS, B. F. Evaluation of the schlieren effect employing a LED-based photometer with a long-pathlength flow cell for reagentless photometric determination of ethanol in distilled ethanolic beverages. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 129, p. 325-331, 2016.

106. DIAS, A. C. B.; BORGES, E. P.; ZAGATTO, E. A. G.; WORSFOLD, P. J. A critical examination of the components of the Schlieren effect in flow analysis. **Talanta**, Amsterdam, v. 68, n. 4, p. 1076-1082, 2006.

107. LAPA, R. A. S.; LIMA, J. L. F. C.; REIS, B. F.; SANTOS, J. L. M.; ZAGATTO, E. A. G. A multicommutated flow system with on-line compensation of the Schlieren effect applied to the spectrophotometric determination of pindolol. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 366, n. 1-3, p. 209-215, 1998.

108. SUITO, E.; TAKIYAMA, K. Formation and aging of precipitates. III. Electron microscopic studies on barium sulfate precipitates in aqueous alcohol. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, Tokyo, v. 28, p. 305-307, 1955.

109. ZENKI, M.; The color reactions of sulfonazo-III isomers with lanthanum and alkaline earth metal ions. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 83, p. 267-274, 1976.

110. KONDO, O.; MIYATA, H.; TÔEI, K. Determination of sulfate in river water by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 134, p. 353-358, 1982.

111. KRUG, F. J.; ZAGATTO, E. A. G.; REIS, B. F.; BAHIA FILHO, O.; JACINTHO, O.; JØRGENSEN, S. S. Turbidimetric determination of sulphate in plant digests and natural waters by flow injection analysis with alternating streams. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 145, p. 179-187, 1983.

112. ZÁRATE, N.; PÉREZ-OLMOS, R.; REIS, B. F. Turbidimetric determination of sulfate in rainwater employing a LED based photometer and multicommuted flow analysis system with in-line preconcentration. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 22, n. 6, p. 1009-1014, 2011.

113. MELCHERT, W. R.; ROCHA, F. R. P. An improved procedure for flow-based turbidimetric sulphate determination based on a liquid core waveguide and pulsed flows. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 616, n. 1, p. 56-62, 2008.

114. SANTELLI, R. E.; LOPES, P. R. S.; SANTELLI, R. C. L.; WAGENER, A. L. R. Turbidimetric determination of sulphate in waters employing flow injection and lead sulphate formation. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 300, n. 1-3, p. 149-153, 1995.

115. AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Resolução Nº 19 de 15 de abril de 2015. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 73, 17 abr. 2015. Seção 1. p. 44.

116. LIMA, M. J. A.; KAMOGAWA, M. Y.; REIS, B. F. A new sensitive photometric procedure for the determination of sulfate in fuel ethanol without sample preparation exploiting a flow-batch strategy. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 145, p. 921-926, 2019.

117. CAO, L.; FRANKEL, G. S.; SRIDHAR, N. Effect of chloride on stress corrosion cracking susceptibility of carbon steel in simulated fuel grade ethanol. **Electrochimica Acta**, Amsterdam, v. 104, p. 255-266, 2013.

118. JOSEPH, O, O. Chloride effects on the electrochemical degradation of micro-alloyed steel in E20 simulated fuel ethanol blend. **Results in Physics**, Amsterdam, v. 7, p. 1446-1451, 2017.

119. SRIDHAR, N.; PRICE, K.; BUCKINGHAM, J.; DANTE, J. Stress corrosion cracking of carbon steel in ethanol. **Corrosion**, Houston, v. 62, n. 8, p. 687-702, 2006.

120. LOU, X.; YANG, D.; SINGH, P. M. Effect of ethanol chemistry on stress corrosion cracking of carbon steel in fuel-grade ethanol. **Corrosion**, Houston, v. 65, n. 12, p. 785-797, 2009.

121. LOU, X.; SINGH, P. M. Role of water, acetic acid and chloride on corrosion and pitting behaviour of carbon steel in fuel-grade ethanol. **Corrosion Science**, Oxford, v. 52, n. 7, p. 2303-2315, 2010.

122. ASTM INTERNATIONAL. **ASTM D7319-17** - Standard test method for determination of existent and potential sulfate and inorganic chloride in fuel ethanol and butanol by direct injection suppressed ion chromatography. West Conshohocken, PA, 2017. Available in: www.astm.org.

123. TOMIĆ, T.; MILČIĆ, M.; NASIPAK, N. U.; BABIĆ, S. Determination of chloride and sulfate in bio-ethanol by ion chromatography. **Indian Journal of Chemical Technology**, New Delhi, v. 23, p. 65-70, 2016.

124. FERREIRA, H. B. P.; LIMA, T. A. F.; BARBEIRA, P. J. S. Voltammetric determination of chloride ion in automotive fuel ethanol. **Electroanalysis**, New York, v. 20, p. 390-395, 2008.

125. KRUG, F. J.; PESSENDA, L. C. R.; ZAGATTO, E. A. G.; JACINTHO, A. O.; REIS, B. F. Spectrophotometric flow injection determination of chloride in ethanol. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 130, p. 409-413, 1981.

126. MELO JR, M. A.; SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. C.; NOGUEIRA, A. F. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 9, p. 1872-1878, 2012.

127. YAKOH, A.; RATTANARAT, P.; SIANGPROH, W.; CHAILAPAKUL, O. Simple and selective paper-based colorimetric sensor for determination of chloride ion in environmental samples using label-free silver nanoprisms. **Talanta**, Amsterdam, v. 178, p. 134-140, 2018.

128. AN, J.; TANG, B.; ZHENG, X.; ZHOU, J.; DONG, F.; XU, S.; WANG, Y.; ZHAO, B.; XU, W. Sculpturing effect of chloride ions in shape transformation from triangular to discal silver nanoplates. **Journal of Physical Chemistry C**, Washington, DC, v. 112, p. 15176-15182, 2008.

129. CHEN, A.; CHENG, H.; QIN, B.; XU, Y.; LI, R.; TAI, Z. Rapid Determination of chloride using silver triangular nanoplates. **Analytical Letters**, Philadelphia, v. 48, p. 2223-2233, 2015.

130. PHOONSAWAT, K.; RATNARATHORN, N.; HENRY, C. S.; DUNGCHAI, W. A distance-based paper sensor for the determination of chloride ions using silver nanoparticles. **Analyst**, London, v. 143, p. 3867-3873, 2018.

131. SZYMANSKA-CHARGOT, M.; GRUSZECKA, A.; SMOLIRA, A.; BEDERSKI, K.; GŁUCH, K.; CYTAWA, J.; MICHALAK, L. Formation of nanoparticles and nanorods via UV irradiation of $AgNO_3$ solutions. **Journal of Alloys and Compounds**, Amsterdam, v. 486, p. 66-69, 2009.

132. LEE, Y.; OH, S.-G. Ostwald ripening and control of Ag ion reduction degree by ammonium hydroxide in alcohol reduction process. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Amsterdam. v. 21, p. 768-771, 2015.

133. YAHYAEI, B.; AZIZIAN, S. Photogeneration of silver nanoparticle facilitated by pluronic F127 surfactant in ethanolic solution. **Journal of Dispersion Science and Technology**, New York, v. 35, p. 98-102, 2014.

134. HARADA, M.; KATAGIRI, E. Mechanism of silver particle formation during photoreduction using in situ time-resolved SAXS analysis. **Langmuir**, Washington, DC, v. 26, p. 17896-17905, 2010.

135. CHEN, S.; CAREY, J. L.; WHITCOMB, D. R.; BÜHLMANN, P.; PENN, R. L. Elucidating the role of AgCl in the nucleation and growth of silver nanoparticles in ethylene glycol. **Crystal Growth & Design**, Washington, DC, v. 18, p. 324-330, 2018.

136. GATEMALA, H.; PIENPINIJTHAM, P.; THAMMACHAROEN, C.; EKGASIT, S. Rapid fabrication of silver microplates under an oxidative etching environment consisting of O_2/Cl^-, NH_4OH/H_2O_2, and H_2O_2. **CrystEngComm**, London, v. 17, p. 5530-5537, 2015.

137. GATEMALA, H.; THAMMACHAROEN, C.; EKGASIT, S. 3D AgCl microstructures selectively fabricated via Cl^--induced precipitation from $[Ag(NH_3)_2]^+$. **CrystEngComm**, London, v. 16, p. 6688-6696, 2014.

138. XINLING, T.; MASAHARU, T.; MICHIKO, N.; PENG, J. Roles of chloride anions in the shape evolution of anisotropic silver nanostructures in poly(vinylpyrrolidone) (PVP)-assisted polyol process. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, Tokyo, v. 82, p. 1304-1312, 2009.

139. TSUJI, M.; MATSUMOTO, K.; JIANG, P.; MATSUO, R.; TANG, X-L.; KAMARUDIN, K. S. N. Roles of Pt seeds and chloride anions in the preparation of silver nanorods and nanowires by microwave-polyol method. **Colloids and Surfaces A**, Amsterdam, v. 316, p. 266-277, 2008.

140. GOPINATH, V.; PRIYADARSHINI, S.; PRIYADHARSSHINI, N. M.; PANDIAN, K.; VELUSAMY, P. Biogenic synthesis of antibacterial silver chloride nanoparticles using leaf extracts of *Cissus quadrangularis Linn*. **Materials Letters**, Amsterdam, v. 91, p. 224-227, 2013.

141. DHAS, T. S.; KUMAR, V. G.; KARTHICK, V.; ANGEL, K. J.; GOVINDARAJU, K. Facile synthesis of silver chloride nanoparticles using marine alga and its antibacterial efficacy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Amsterdam, v. 120, p. 416-420, 2014.

142. ROCHA, D. L.; KAMOGAWA, M. Y.; ROCHA, F. R. P. A critical review on photochemical conversions in flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 896, p. 11-33, 2015.

143. SHAO, K.; YAO, J-N. Preparation of silver nanoparticles via a non-template method. **Materials Letters**, Amsterdam, v. 60, p. 3826-3829, 2006.

144. CHOI, M.; SHIN, K-H.; JANG, J. Plasmonic photocatalytic system using silver chloride/silver nanostructures under visible light. **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, v. 341, p. 83-87, 2010.

145. PASSOS, M. L. C.; COSTA, D.; LIMA, J. L. F. C.; SARAIVA, M. L. M. F. S. Sequential injection technique as a tool for the automatic synthesis of silver nanoparticles in a greener way. **Talanta**, Amsterdam, v. 133, p. 45-51, 2015.

146. ASTM INTERNATIONAL. **ASTM D4806-18** - Standard specification for denatured fuel ethanol for blending with gasolines for use as automotive spark-ignition engine fuel. West Conshohocken, 2018.