



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Carolina Silva Fernandes

**FATORES CONDICIONANTES NA ANÁLISE  
DE ETANOL, METANOL, 2-PROPANOL E  
ACETONA EM AMOSTRAS SANGUÍNEAS**

**Dissertação no âmbito do Mestrado em Química Forense,  
orientada pela Mestre Carla Maria Pinto Monteiro, no Serviço de  
Química e Toxicologia Forenses do Instituto Nacional de Medicina  
Legal e Ciências Forenses da Delegação do Centro, coorientada  
pela Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio e  
apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de  
Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra**

setembro de 2021



Ana Carolina Silva Fernandes

**FATORES CONDICIONANTES NA ANÁLISE  
DE ETANOL, METANOL, 2-PROPANOL E  
ACETONA EM AMOSTRAS SANGUÍNEAS**

**Dissertação no âmbito do Mestrado em Química Forense,  
orientada pela Mestre Carla Maria Pinto Monteiro, no Serviço de  
Química e Toxicologia Forenses do Instituto Nacional de Medicina  
Legal e Ciências Forenses da Delegação do Centro, coorientada  
pela Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio e  
apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de  
Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra**

setembro de 2021



*"Above all, don't fear difficult moments. The best comes from them"*

**Rita Levi-Montalcini**



## **Agradecimentos**

À mestre Carla Maria Pinto Monteiro pela oportunidade, pelo acompanhamento, pelas conversas, pela confiança que sempre demonstrou e por todos os conhecimentos transmitidos ao longo do último ano. O meu muito obrigada.

À Professora Doutora Maria Ermelinda da Silva Eusébio, pelo acompanhamento, pelos ensinamentos, pela disponibilidade que sempre demonstrou ao longo do meu percurso académico. O meu muito obrigada.

Ao Senhor Professor Doutor Francisco Corte Real e ao Mestre João Miguel Franco pela oportunidade.

A todos os profissionais que integram o Serviço de Química e Toxicologia Forenses do INMLCF. À Dona Alda, à Catarina obrigada pela disponibilidade, simpatia e conhecimentos transmitidos. O meu muito obrigada.

A todos os meus amigos!

Às pessoas que Coimbra me deu...Tiago, Amílcar, Frias, João, Santos, Pedro, Rita, Maria e Joana. Agradeço pela amizade, compreensão, histórias e aventuras ao longo dos últimos anos. São e serão para a vida!

Aos da Figueira da Foz, do teatro, da SIT... Ana Teresa, Cristiana, Joana e João de Bastos. O meu sincero agradecimento.

Ao Francisco que apesar da distância e de todas as circunstâncias tem estado sempre presente. O meu enorme obrigada pelas conversas infindáveis, pela paciência, pela amizade e compreensão.

À minha família, em especial aos meus pais e irmão. Obrigada pelo apoio incondicional, por nunca duvidarem das minhas escolhas, por estarem sempre presentes. Por me deixarem ser feliz!

Por fim, aos meus avós ...





# Índice

<b>Índice de Figuras</b> .....	V
<b>Índice de Tabelas</b> .....	VI
<b>Símbolos e Abreviaturas</b> .....	VIII
<b>Resumo</b> .....	XI
<b>Abstract</b> .....	XIII
<b>Parte I - Introdução</b> .....	1
1.1. Justificação do tema .....	3
1.2. Objetivo .....	4
1.3. Compostos orgânicos voláteis (VOC).....	5
1.3.1. Etanol .....	5
1.3.2. Metanol.....	6
1.3.3. 2-Propanol.....	7
1.3.4. Acetona .....	8
1.4. Matrizes biológicas .....	9
1.4.1. Sangue.....	9
1.5. Colheita e armazenamento de amostras .....	10
1.5.1. Temperatura .....	11
1.5.2. Volume .....	11
1.5.3. Abertura prévia do tubo .....	12
1.5.4. Tempo de armazenamento.....	12
1.6. Cromatografia de gás com detetor de ionização de chama e sistema de injeção de <i>headspace</i> .....	12
1.6.1. Cromatografia de gás.....	12
1.6.2. Detetor de ionização em chama .....	14
1.6.3. Sistema de <i>headspace</i> .....	14
<b>Parte II – Trabalho Experimental</b> .....	16
2.1. Material e métodos .....	18
2.1.1. Amostras biológicas .....	18
2.1.2. Padrões, reagentes e conservante.....	18
2.1.2.1. Reagentes/padrões .....	18
2.1.2.2. Conservante .....	18
2.1.3. Material e equipamento .....	18

2.1.4. Instrumentos analíticos .....	19
2.2. Procedimento Experimental.....	20
2.2.1. Compostos orgânicos voláteis estudados.....	20
2.2.2. Preparação de soluções utilizadas no procedimento analítico .....	20
2.2.2.1. Preparação da solução de PI contendo 0,10 g/L de n-propanol.....	20
2.2.2.2. Preparação das soluções de controlo de qualidade interno .....	20
2.2.3. Preparação das soluções utilizadas na parte experimental .....	21
2.2.3.1. Solução de concentração 7,5 g/L .....	21
2.2.3.2. Solução de concentração 18 g/L .....	21
2.2.4. Preparação das amostras de ensaio .....	22
2.2.5. Preparação das <i>pools</i> de concentrações 0,50 e 1,20 g/L.....	22
2.2.6. Preparação das amostras de ensaio para congelação e refrigeração ...	23
2.2.7. Procedimento experimental aplicado às AE, CQI e PI .....	24
2.2.8. Procedimento analítico aplicado .....	24
2.2.9. Análise instrumental .....	25
2.2.10. Identificação/confirmação e quantificação das amostras .....	26
2.2.11. Análise estatística aplicada .....	27
<b>Parte III - Resultados e Discussão</b> .....	<b>30</b>
2.3. Amostras brancas .....	32
2.4. Recolha de dados.....	33
2.5. Compostos orgânicos voláteis estudados .....	33
2.5.1. Etanol .....	33
2.5.1.1. Identificação de <i>outliers</i> .....	33
2.5.1.2. Teste t-Student emparelhado e variação das concentrações.....	34
2.5.1.3. $T_1$ vs $T_2$ .....	42
2.5.2. Metanol.....	44
2.5.2.1. Identificação de <i>outliers</i> .....	44
2.5.2.2. Teste t-Student emparelhado e variação das concentrações.....	44
2.5.2.3. $T_1$ vs $T_2$ .....	53
2.5.3. 2-Propanol.....	55
2.5.3.1. Identificação de <i>outliers</i> .....	55
2.5.3.2. Teste t-Student emparelhado e variação das concentrações.....	55
2.5.3.3. $T_1$ vs $T_2$ .....	64
2.5.4. Acetona .....	66
2.5.4.1. Identificação de <i>outliers</i> .....	66

2.5.4.2. Teste t-Student emparelhado e variação das concentrações.....	66
2.5.4.3. $T_1$ vs $T_2$ .....	75
<b>Parte IV - Conclusão</b> .....	<b>78</b>
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>82</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>90</b>
A1. Concentrações iniciais obtidas para os quatro compostos .....	92
A1.1. $T_1$ .....	92
A1.2. $T_2$ .....	93
A2. Método utilizado na determinação de compostos orgânicos voláteis de baixo peso molecular.....	95
A3. Valores de $C_0$ , $C_{15}$ e $C_{30}$ e valor médio conforme o limite de repetibilidade .....	103
A3.1. Etanol.....	103
A3.2. Metanol .....	108
A3.3. 2-Propanol .....	113
A3.4. Acetona .....	118
A4. Identificação de <i>outliers</i> - Teste de Grubbs.....	123
A4.1. Etanol.....	123
A4.2. Metanol .....	123
A4.3. 2-Propanol .....	123
A4.4. Acetona .....	124
A5. Teste t-Student Emparelhado.....	125
A5.1. Etanol.....	125
A5.2. Metanol .....	130
A5.3. 2-Propanol .....	135
A5.4. Acetona .....	140



## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Representação da estrutura da molécula de etanol segundo a notação “ball and stick”; a branco os átomos de hidrogénio, a cinzento os átomos de carbono e a vermelho o átomo de oxigénio. ....	6
<b>Figura 2.</b> Representação da estrutura da molécula de metanol segundo a notação “ball and stick”; a branco os átomos de hidrogénio, a cinzento os átomos de carbono e a vermelho o átomo de oxigénio. ....	6
<b>Figura 3.</b> Representação da estrutura da molécula de 2-propanol segundo a notação “ball and stick”; a branco os átomos de hidrogénio, a cinzento os átomos de carbono e a vermelho o átomo de oxigénio.....	7
<b>Figura 4.</b> Representação da estrutura da molécula de acetona segundo a notação “ball and stick”; a branco os átomos de hidrogénio, a cinzento os átomos de carbono e a vermelho o átomo de oxigénio. ....	8
<b>Figura 5.</b> Esquema representativo do sistema de cromatografia de gás. Adaptado de 49. ....	13
<b>Figura 6.</b> Princípio da técnica de headspace. Adaptado de 58. ....	14
<b>Figura 7.</b> Divisão dos tubos de acordo com a temperatura de armazenamento, concentração e volume após a fortificação do sangue. ....	24
<b>Figura 8.</b> Cromatogramas obtidos através da análise HS-GC-FID, aos compostos em estudo e padrão interno. Tempo de retenção em minutos (FID1, FID2): Metanol (2,113;1,998), etanol (2,667;2,478), acetona (2,972;3,998), 2-propanol (3,148;2,993) e n-propanol. ....	27
<b>Figura 9.</b> Bolsas de sangue utilizadas. ....	32
<b>Figura 10.</b> Cromatograma de uma das bolsas de sangue usada obtido com o sistema FID1. ....	32
<b>Figura 11.</b> Gráficos representativos da evolução da concentração do etanol para um período de 30 dias. Legenda: azul – C <sub>0</sub> , laranja – C <sub>15</sub> e cinzento – C <sub>30</sub> .....	42
<b>Figura 12.</b> Gráficos representativos da evolução da concentração do metanol para um período de 30 dias. Legenda: azul – C <sub>0</sub> , laranja – C <sub>15</sub> e cinzento – C <sub>30</sub> .....	53
<b>Figura 13.</b> Gráficos representativos da evolução da concentração do 2-propanol para um período de 30 dias. Legenda: azul – C <sub>0</sub> , laranja – C <sub>15</sub> e cinzento – C <sub>30</sub> .....	64
<b>Figura 14.</b> Gráficos representativos da evolução da concentração da acetona para um período de 30 dias. Legenda: azul – C <sub>0</sub> , laranja – C <sub>15</sub> e cinzento – C <sub>30</sub> .....	75

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Principais características do sistema HS-GC-FID utilizado. ....	19
<b>Tabela 2.</b> Densidade dos compostos em estudo. ....	20
<b>Tabela 3.</b> Preparação das soluções de padrões de referência para CQI.....	21
<b>Tabela 4.</b> Preparação da solução de trabalho de concentração 7,5 g/L.....	21
<b>Tabela 5.</b> Preparação da solução de trabalho de concentração 18 g/L.....	21
<b>Tabela 6.</b> Volumes de sangue e da solução de concentração 7,5 g/L, adicionados para obter concentrações de 0,50 g/L nos diferentes volumes de tubos.....	22
<b>Tabela 7.</b> Volumes de sangue e da solução de concentração 18 g/L, adicionados para obter concentrações de 1,20 g/L nos diferentes volumes de tubos.....	22
<b>Tabela 8.</b> Planificação das amostras de ensaio de acordo com o código de identificação. ....	23
<b>Tabela 9.</b> Principais parâmetros analíticos da análise instrumental.....	25
<b>Tabela 10.</b> Tempos de retenção dos quatro compostos em estudo e do padrão interno. ....	26
<b>Tabela 11.</b> Valores de G experimental para as amostras APT <sub>1</sub> -1a, BMT <sub>1</sub> -2d, APT <sub>2</sub> -1d, BMT <sub>2</sub> -1a, BET <sub>2</sub> -2c.....	33
<b>Tabela 12.</b> Resultados obtidos para o analito etanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T <sub>1</sub> . Concentrações expressas em g/L..	34
<b>Tabela 13.</b> Resultados obtidos para o analito etanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T <sub>1</sub> . Concentrações em g/L.....	36
<b>Tabela 14.</b> Resultados obtidos para o analito etanol das amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T <sub>2</sub> . Concentrações em g/L.....	38
<b>Tabela 15.</b> Resultados obtidos para o analito etanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T <sub>2</sub> . Concentrações em g/L.....	40
<b>Tabela 16.</b> Valores de G experimental para as amostras APT <sub>1</sub> -1a, APT <sub>1</sub> -1b, APT <sub>2</sub> -2d, BPT <sub>2</sub> -2b e BET <sub>2</sub> -2c. ....	44
<b>Tabela 17.</b> Resultados obtidos para o analito metanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T <sub>1</sub> . Concentrações expressas em g/L..	45

<b>Tabela 18.</b> Resultados obtidos para o analito metanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura $T_1$ . Concentrações expressas em g/L..	47
<b>Tabela 19.</b> Resultados obtidos para o analito metanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura $T_2$ . Concentrações expressas em g/L..	49
<b>Tabela 20.</b> Resultados obtidos para o analito metanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura $T_2$ . Concentrações expressas em g/L..	51
<b>Tabela 21.</b> Valores de G experimental para as amostras APT <sub>1</sub> -1a, BPT <sub>1</sub> -2b, BPT <sub>2</sub> -2b, BPT <sub>2</sub> -2c, BMT <sub>2</sub> -1c e BET <sub>2</sub> -2c.....	55
<b>Tabela 22.</b> Resultados obtidos para o analito 2-propanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura $T_1$ . Concentrações expressas em g/L.	56
<b>Tabela 23.</b> Resultados obtidos para o analito 2-propanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura $T_1$ . Concentrações expressas em g/L..	58
<b>Tabela 24.</b> Resultados obtidos para o analito 2-propanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura $T_2$ . Concentrações expressas em g/L..	60
<b>Tabela 25.</b> Resultados obtidos para o analito 2-propanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura $T_2$ . Concentrações expressas em g/L..	62
<b>Tabela 26.</b> Valores de G experimental para as amostras APT <sub>1</sub> -1a, BPT <sub>1</sub> -2a, BPT <sub>1</sub> -2b, BMT <sub>1</sub> -1c, BMT <sub>1</sub> -2d, BPT <sub>2</sub> -1b e BPT <sub>2</sub> -2c. ....	66
<b>Tabela 27.</b> Resultados obtidos para o analito acetona em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura $T_1$ . Concentrações expressas em g/L..	67
<b>Tabela 28.</b> Resultados obtidos para o analito acetona em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura $T_1$ . Concentrações expressas em g/L..	69
<b>Tabela 29.</b> Resultados obtidos para o analito acetona em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura $T_2$ . Concentrações expressas em g/L..	71
<b>Tabela 30.</b> Resultados obtidos para o analito acetona em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura $T_2$ . Concentrações expressas em g/L..	73

## Símbolos e Abreviaturas

**a, b, c e d** – Tubos com as mesmas condições

**A** – Concentração 0,50 g/L

**AE** – Amostras de Ensaio

**AP** – Amostras Primárias

**B** – Concentração 1,20 g/L

**BrRg** – Branco Reagente

**C<sub>0</sub>** – Concentração ao dia 0

**C<sub>15</sub>** – Concentração ao dia 15

**C<sub>30</sub>** – Concentração ao dia 30

**Ct** - Controlo

**CQI** – Controlo de Qualidade Interno

**E** – Volume Elevado

**GC** – Cromatografia de Gás

**FID** – Detetor de Ionização em Chama

**HS** – *Headspace*

**HS-GC-FID** – Cromatografia de Gás com Detetor de Ionização em Chama e Sistema de Injeção de *Headspace*

**INMLCF** – Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses

**M** – Volume Médio

**Nº** - Número

**P** – Volume Pequeno

**PI** – Padrão Interno

**r<sup>2</sup>** – Coeficiente de Correlação

**rpm** – Rotações por Minuto

**SQTF** – Serviço de Química e Toxicologia Forenses

**SQTF-DC** – Serviço de Química e Toxicologia Forenses da Delegação do Centro

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**TE** – Tomas de Ensaio

**T** – Temperatura

**T<sub>1</sub>** – Temperatura -20 °C

**T<sub>2</sub>** – Temperatura 5-6 °C

**TRR** – Tempo de Retenção Relativo

**VS** – Versus

**VOC** – *Volatile Organic Compounds*



**1** – Tubos abertos aos dias 0, 15 e 30

**2** – Tubos abertos aos dias 0 e 30



## Resumo

A análise de compostos orgânicos voláteis (VOC) presentes em matrizes biológicas como o sangue, é realizada com bastante frequência nos laboratórios de Química e Toxicologia Forense do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses. Apesar de serem determinações analíticas de grande relevância, o facto de serem compostos voláteis dificulta a sua análise, devendo garantir-se que não ocorrem perdas, que comprometem a análise e consequentemente, o processo legal.

O presente trabalho teve como objetivo abordar diferentes situações como a colheita de diferentes volumes de amostra, temperaturas de armazenamento em mais do que uma análise da mesma amostra de forma a retratar o procedimento abordado para a rotina diária num laboratório forense. Para isso foi importante estudar os vários fatores em simultâneo, durante um certo período de tempo, e assim, verificar de que forma poderá ser afetada a determinação das diferentes substâncias estudadas, o etanol, o metanol, o 2-propanol e a acetona.

Foram fortificados 538,8 mL de sangue branco, distribuídos por 96 tubos com volumes diferentes (3, 6 e 9 mL) aos quais se adicionou uma massa de 0,1 g de NaF. As amostras de ensaio foram sujeitas a duas temperaturas de armazenamento: a -20 °C e a 5-6 °C, por um período de 30 dias e analisadas aos dias 0, 15 e 30.

Para analisar as amostras, foi utilizado um cromatógrafo de gás *Agilent* 6890N com detetor de ionização em chama e um injetor *headspace* de volume fixo *Agilent* G1898 (HS-GC-FID).

Os resultados obtidos para os quatro compostos em estudo foram analisados individualmente. Foi calculada a diferença da concentração obtida nos três períodos de análise, a diferença percentual e feita a comparação estatística com o teste t-Student emparelhado, com um nível de significância de 5%.

Na generalidade em todos os conjuntos de amostras, verificou-se que após um período de 30 dias de armazenamento houve diferenças significativas na concentração dos quatro compostos. A acetona foi o composto para o qual a diminuição de concentração foi mais elevada.

No caso de etanol não se registaram alterações significativas de concentração após um período de 30 dias no caso de amostras de menor volume e de volume intermédio, para a concentração 0,50 g/L, quando armazenadas a -20 °C. O mesmo foi verificado para o metanol nas amostras de volume elevado, para a concentração 0,50 g/L, quando armazenadas a 5-6 °C.

Em algumas amostras para o etanol foi possível verificar a influência da abertura prévia do tubo.

**Palavras-chave:** VOC, estabilidade, condições de armazenamento, sangue, HS-GC-FID



## Abstract

The analysis of volatile organic compounds (VOC) present in biological matrices such as blood is carried out quite frequently in the Chemistry and Forensic Toxicology laboratories of the National Institute of Legal Medicine and Forensic Sciences. Despite being highly relevant analytical determinations, the fact that they are volatile compounds makes their analysis difficult, and it must be ensured that no losses occur, which compromise the analysis and, consequently, the legal process.

This study aimed to address different situations such as the collection of different sample volumes, storage temperatures in more than one analysis of the same sample in order to portray the procedure addressed for the daily routine in a forensic laboratory. For this, it was important to study the various factors simultaneously, over a certain period of time, and thus verify how the determination of the different substances studied, ethanol, methanol, 2-propanol and acetone, could be affected.

A total of 538,8 mL of white blood was spiked, distributed into 96 tubes with different volumes (3, 6 e 9 mL) to which a mass of 0,1 g NaF was added. The samples were subject to a two temperatures: -20 °C and 5-6 °C, and were stored for a period of 30 days and analyzed on days 0, 15 and 30.

To carry out the work, an Agilent 6890N gas chromatograph with a flame ionization detector and an Agilent G1898 fixed volume headspace injector (HS-GC-FID) were used.

The results obtained for the four compounds under study were analyzed individually. The difference in concentration obtained in the three periods of analysis, the percentage difference, was calculated and a statistical comparison was made using the Student t-test, with a significance level of 5%.

Overall, across all sets of samples, it was found that after a 30-day storage period there were significant differences in the concentration of the four compounds. Acetone was the compound for which the concentration drop was highest.

In the case of ethanol, there were no significant changes in concentration after a period of 30 days in the case of samples of smaller and intermediate volume, for the concentration of 0,50 g/L, when stored at -20 °C. The same was verified for methanol in high volume, at a concentration of 0,50 g/L, when stored at 5-6 °C.

In some samples for ethanol it was possible to verify the influence of the previous opening of the tube.

**Keywords:** VOC, stability, storage conditions, blood, HS-GC-FID



# **Parte I - Introdução**





## 1.1. Justificação do tema

A análise de compostos orgânicos voláteis no âmbito de intoxicações com interesse forense constitui um importante desafio colocado à Toxicologia Forense, sendo análises pedidas frequentemente devido ao baixo custo destes compostos para o consumidor, o seu fácil acesso e o facto de serem legais. O seu consumo pode levar a uma vasta gama de situações como condução sob o efeito de álcool, que pode levar à morte do próprio ou de terceiros, acidentes de trabalho, crimes de violência doméstica, agressões sexuais, homicídios e suicídios.<sup>1</sup>

A presença deste tipo de compostos na corrente sanguínea em concentrações baixas é comum, visto que são formados no decorrer de alguns processos fisiológicos. No entanto, não é habitual estarem presentes em elevadas concentrações. São compostos que se encontram presentes em vários produtos domésticos, industriais e de recreio, e a sua má utilização ou consumo excessivo pode conduzir a intoxicação.<sup>1-3</sup>

O etanol é o composto psicoativo mais conhecido e consumido no mundo, quer como género alimentar quer como substância de abuso, o que faz com que seja uma das análises mais frequentes e importantes realizadas em serviços de toxicologia forense, devido ao significado que pode adquirir em questões legais, como por exemplo a condução sob efeito de álcool.<sup>4</sup> Além do etanol, existem outros compostos orgânicos voláteis com interesse forense como é o caso do metanol, do 2-propanol e da acetona que são inalados ou ingeridos, na procura de efeitos similares aos do etanol e de barbitúricos e que incluem prazer, desinibição, euforia e alucinações e que podem causar dependência psicológica.<sup>3</sup>

Assim que estes compostos são ingeridos, são absorvidos e distribuídos por todo o conteúdo aquoso existente no corpo, o que faz com que a matriz biológica escolhida e preferencial para este tipo de análises seja o sangue. É uma matriz que consegue avaliar a exposição aos diferentes compostos voláteis.<sup>5</sup> Em amostras colhidas *in vivo*, os níveis detetados de determinado composto, estão diretamente relacionados com a sua concentração no sangue. A par destas vantagens, o sangue é das amostras mais recebidas num laboratório de toxicologia forense, sendo assim a matriz escolhida para este trabalho.<sup>3</sup>

Apesar de serem determinações analíticas de grande relevância, o facto de serem compostos voláteis dificulta a sua análise, devendo existir certos cuidados para que haja o mínimo de perdas possível. Diversos estudos visaram anteriormente a determinação das condições ideais para a conservação das amostras, no entanto, fatores intervenientes como a temperatura de armazenamento e a abertura prévia do tubo têm sido estudados maioritariamente de forma isolada e sobretudo para um único composto, o etanol. Um fator relacionado com a colheita da amostra, que poderá condicionar os resultados da análise, é o correto enchimento dos tubos utilizados para armazenar a amostra, sendo importante estudar os vários fatores em simultâneo, durante um certo período de tempo, e assim, verificar de que forma poderá ser afetada a determinação das várias substâncias.

Para a realização do presente trabalho, optou-se pela utilização de um cromatógrafo de gás Agilent 6890N, equipado com um detetor de ionização de chama e um injetor *headspace* de volume fixo (1 mL) Agilent G1888 (HS-GC-FID). A escolha deste equipamento baseou-se no facto de ser a técnica analítica preferencial para a quantificação de etanol e de compostos voláteis em sangue, e por ser a técnica já utilizada no Serviço de Química Toxicologia Forenses da Delegação do Centro do INMLCF.<sup>1</sup>

## 1.2. Objetivo

O trabalho apresentado nesta dissertação tem como objetivo abordar diferentes situações como a colheita de diferentes volumes de amostra, temperaturas de armazenamento, em mais que uma análise da mesma amostra de forma a retratar o procedimento abordado para a rotina diária de uma amostra num laboratório forense. É importante estudar os vários fatores em simultâneo, durante um certo período de tempo, e assim, verificar de que forma poderá ser afetada a determinação de compostos como o etanol, o metanol, o 2-propanol e a acetona.

As condições em estudo foram selecionadas com base na recolha bibliográfica efetuada e com as condições a que uma amostra fica sujeita depois de ser rececionada no Serviço de Química e Toxicologia Forenses da Delegação do Centro do INMLCF. O método bem como o procedimento analítico selecionado, foi o usado na rotina para a pesquisa destas substâncias. Tendo sido verificadas para uma concentração mais baixa, 0,50 g/L, e para uma mais elevada, 1,20 g/L, dos analitos em estudo.

No final, a variação da concentração é medida em g/L e foi feita análise estatística dos resultados obtidos, sendo aceite um nível de significância de 5% nos vários testes a serem aplicados.

### 1.3. Compostos orgânicos voláteis (VOC)

Os compostos orgânicos voláteis, VOC do inglês *volatile organic compound*, podem ser encontrados numa ampla gama de produtos com os quais lidamos diariamente, e quando utilizados ou consumidos de forma errada podem assumir o papel de agentes tóxicos.<sup>6,7</sup>

Segundo a Diretiva de 1999/13/CE de 11 de março de 1999, os VOC são compostos orgânicos que apresentam “uma pressão de vapor igual ou superior a 0,01 kPa a 293,15 K”, excluindo compostos como o monóxido de carbono, o dióxido de carbono, o ácido carbónico e o carbonato de amónio.<sup>8,9</sup>

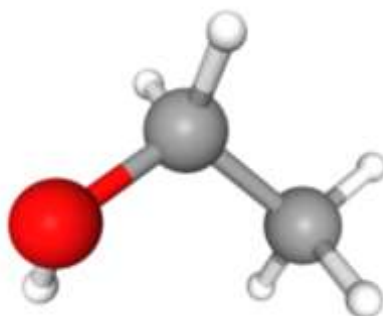
Os VOC são bastante atrativos por terem um baixo custo, legais e de fácil acesso, o que os torna apetecíveis na procura de sensações semelhantes às das drogas ou de outros sedativos. Devido à conjugação de várias propriedades moleculares como a solubilidade, a volatilidade e a capacidade de atravessarem camadas lipídicas, os VOC conseguem atingir rapidamente a corrente sanguínea o que faz com que tenham um efeito relativamente rápido, mas que também desapareça na mesma medida. O seu consumo pode ser acidental ou intencional, através de vias como a inalação ou a ingestão, que a par da duração de exposição aos mesmos, faz com que tenham influência na toxicidade que ocorre maioritariamente a nível cardíaco, mas que também leva a que ocorra depressão respiratória.<sup>10,11</sup>

O VOC mais relevante em termos forenses é o etanol, mas existem outros de interesse neste contexto como é o caso do metanol, do 2-propanol e da acetona.

#### 1.3.1. Etanol

O etanol,  $C_2H_5OH$ , figura 1, álcool etílico, vulgarmente designado por álcool, está presente em muitos produtos do nosso quotidiano sendo, por isso, de fácil acesso. É um composto importante em várias atividades como por exemplo na indústria, sendo utilizado como solvente na síntese de outros compostos e como aditivo na gasolina, tintas e vernizes, em vários produtos de cosmética e produtos de limpeza domésticos. No entanto o seu consumo ocorre maioritariamente em atividades sociais, familiares e em ambientes de festa através de bebidas alcoólicas.<sup>12,13</sup>

À pressão e temperatura ambientes é um líquido, incolor, com odor e sabor característicos, com vapor de pressão de 5,8 kPa e densidade 790 g/L a 20 °C e que entra em ebulição a 78,3 °C à pressão atmosférica. O etanol é totalmente miscível em água, em outros álcoois, em ésteres e em hidrocarbonetos halogenados.<sup>12,14,15</sup>



**Figura 1.** Representação da estrutura da molécula de etanol segundo a notação “ball and stick”; a branco os átomos de hidrogénio, a cinzento os átomos de carbono e a vermelho o átomo de oxigénio.

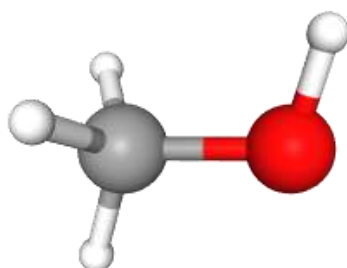
É um composto que está presente em vários tipos de bebidas alcoólicas e numa variada gama de concentrações. Pode ser obtido através de dois processos; a) fermentação de sacarídeos, e b) da hidratação do etileno.<sup>12,14</sup>

O etanol é um composto tóxico, teratogénico e que afeta o sistema nervoso central (SNC). Dependendo da quantidade ingerida consegue provocar diferentes alterações no comportamento do indivíduo, começando com o relaxamento dos músculos e com um efeito estimulante, em pequenas quantidades. Quando o seu consumo é exagerado, as consequências podem ser mais graves levando ao estado de coma e em último caso, à morte. No entanto, um dos problemas mais frequentes é o alcoolismo, que para além das consequências físicas a médio e longo prazo, tem consequências a nível social.<sup>14,15</sup>

### 1.3.2. Metanol

O metanol,  $\text{CH}_3\text{OH}$ , figura 2, também designado por álcool metílico, pode ser encontrado em vários produtos de uso corrente como anticongelantes, solventes, resinas, vernizes, tintas e perfumes, mas também tem um papel importante na síntese química de outros compostos a nível industrial.<sup>16,17</sup>

À pressão e temperatura ambientes é um líquido incolor e com um sabor ligeiramente mais doce do que o etanol. À temperatura de 20 °C a densidade do líquido é 792 g/L e a pressão de vapor 12,9 kPa. À pressão atmosférica entra em ebulição a 64,96 °C. O metanol é completamente miscível em água.<sup>16,18</sup>



**Figura 2.** Representação da estrutura da molécula de metanol segundo a notação “ball and stick”; a branco os átomos de hidrogénio, a cinzento os átomos de carbono e a vermelho o átomo de oxigénio.

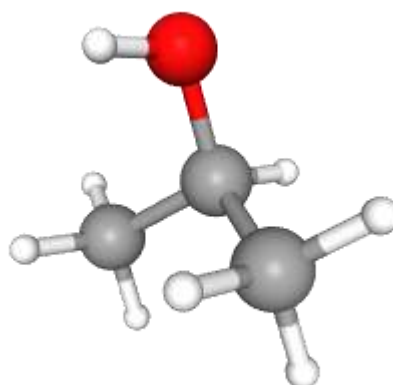
O metanol é um produto resultante da fermentação alcoólica da pectina, o que faz com que esteja presente em bebidas alcoólicas, como o vinho e as bebidas espirituosas, em concentrações que podem atingir os 300 mg/L.<sup>16</sup> No entanto, as intoxicações provocadas por este composto podem ser acidentais ou intencionais, porque apesar de estar presente em diversos produtos, o metanol por vezes é usado como substituto do etanol apesar dos seus efeitos prejudiciais.<sup>16</sup> Para além de ser formado através da fermentação, o metanol pode ser produzido pela combinação direta de monóxido de carbono com hidrogénio na presença de um catalisador, sendo esta via atualmente cada vez mais utilizada.<sup>17</sup>

É um composto depressor do SNC, embora seja menos tóxico do que o etanol. A exposição curta ou prolongada ao metanol pode provocar vários sintomas, entre eles deficiência visual, cefaleias persistentes, náuseas, tonturas e dermatite de contacto.<sup>16,18</sup>

### 1.3.3. 2-Propanol

O 2-propanol também designado por álcool isopropílico ou isopropanol,  $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ , figura 3, é um composto que pode ser encontrado em antissépticos, desinfetantes (tem propriedades antibacterianas), anticongelantes, produtos de limpeza de janelas e em produtos de cosmética como *aftershaves* e cremes de mãos. Para além dos produtos convencionais mencionados, também é usado como solvente na indústria na preparação de medicamentos, gomas e para desnaturar o etanol.<sup>19-21</sup>

À pressão e temperatura ambientes é um líquido incolor e com um odor bem forte a mofo, com uma pressão de vapor de 4,5 kPa a 20 °C e densidade 786 g/L à mesma temperatura, entrando em ebulição a 82,3 °C. Das moléculas estudadas, é a que tem o maior massa molecular, 60,1 g/mol e também é miscível em água. No entanto, facilmente se oxida noutra molécula – acetona.<sup>19,20</sup>



**Figura 3.** Representação da estrutura da molécula de 2-propanol segundo a notação “ball and stick”; a branco os átomos de hidrogénio, a cinzento os átomos de carbono e a vermelho o átomo de oxigénio.

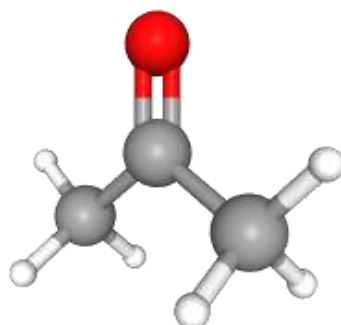
O 2-propanol é um composto facilmente sintetizado através da reação do propileno com o ácido sulfúrico, seguindo-se uma hidrólise. Esta hidrólise, em alguns casos pode ocorrer na presença de um catalisador a alta pressão.<sup>20</sup>

É um composto menos tóxico que o metanol, mas um depressor mais potente do SNC que o etanol. A par da sua influência no SNC, a intoxicação por 2-propanol pode provocar vasodilatação, hipotensão, edema pulmonar e gastrite com possível sangramento, visto que é absorvido rapidamente no trato gastrointestinal.<sup>21,22</sup>

#### 1.3.4. Acetona

A acetona também designada por dimetilcetona ou 2-propanona,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ , figura 4, é um composto que pode ser encontrado em diversos produtos, tal como referidos nos pontos anteriores. Apesar de ser associada maioritariamente a um produto removedor de verniz, pode ser usado para manufaturar fibras artificiais e explosivos, como intermediário em produtos farmacêuticos, como solvente e ainda estar presente na preparação de papel e adesivos.<sup>23,24</sup>

À semelhança dos restantes compostos alvo de estudo nesta dissertação, a acetona, à pressão e temperatura ambientes, é um líquido incolor com um odor e sabor bem distintos, com uma pressão de vapor de 24 kPa e densidade de 790 g/L a 20 °C e que entra em ebulição a 56,2 °C à pressão atmosférica. A acetona é também miscível em água em todas as proporções.<sup>23,24</sup>



**Figura 4.** Representação da estrutura da molécula de acetona segundo a notação “ball and stick”; a branco os átomos de hidrogénio, a cinzento os átomos de carbono e a vermelho o átomo de oxigénio.

A acetona está presente numa vasta gama de produtos quotidianos, quer como produto primário para a síntese de outros compostos, quer como produto intermediário ou final. Pode ser encontrada naturalmente em plantas, árvores, nos gases vulcânicos, nos gases que são libertados para a atmosfera pelos fogos florestais mas, também pode ser preparada em ambiente laboratorial através da hidrólise em meio ácido de hidroperóxido de cumeno ou da oxidação do 2-propanol.<sup>23,24</sup> No entanto, é um composto que costuma estar presente, em pequenas quantidades no sangue e na urina de indivíduos saudáveis, mas que apresenta concentrações superiores nos diabéticos e em casos de cetoacidose diabética, provocando um quadro clínico semelhante a uma intoxicação alcoólica. Os sintomas provocados vão desde sonolência e discurso incoerente em casos mais leves, a coma profundo nos mais graves.<sup>25,26</sup>

## 1.4. Matrizes biológicas

São várias as matrizes biológicas que podem ser submetidas a análises toxicológicas. Assim, qualquer matriz que tenha estado em contacto com uma substância tóxica é uma possível amostra.<sup>27</sup> A escolha da matriz depende de vários fatores como o tipo de investigação, a facilidade de colheita da amostra, que tipo de informação poderá ser fornecida, a integridade da amostra e as propriedades das substâncias em causa, devendo ser sempre analisada a situação para se fazer um levantamento das amostras a recolher.<sup>28,29</sup>

De acordo com o tipo de investigação em causa deve-se dar preferência a determinadas matrizes. Em casos *in vivo* normalmente são colhidas amostras de sangue (total, plasma e soro), urina, fluido oral, cabelo, unhas, suor, vómito, aspirado gástrico e ar expirado. Por outro lado, em casos *post mortem*, para além da urina e do sangue, que pode ser periférico e/ou cardíaco, pode ser colhido durante a autópsia outro tipo de matrizes como a bÍlis, conteúdo estomacal, fluido cefalorraquidiano, humor vítreo e órgãos como o rim, pulmão, fígado e cérebro. No entanto existem outras matrizes que ajudam a complementar as análises toxicológicas e que incluem a medula óssea, o osso, o músculo-esquelético, o tecido adiposo e o ventrículo esquerdo.<sup>28,30,31</sup>

Na literatura são vários os estudos que tentam perceber qual a capacidade que outras matrizes, como o fluido oral, suor e cabelo, têm para determinar a exposição ou não aos compostos voláteis.<sup>32-34</sup> No entanto, o sangue continua a ser a matriz preferencial para este tipo de análises toxicológicas.<sup>1,25</sup>

### 1.4.1. Sangue

O sangue é um fluido vital, denso e mais viscoso do que a água, constituído maioritariamente por água, proteínas solúveis, gorduras, sais e, com funções específicas, algumas células suspensas (eritrócitos, leucócitos e plaquetas). Tem como funções o transporte de oxigénio e nutrientes até às células, e em troca liberta dióxido de carbono e outras substâncias prejudiciais.<sup>35</sup>

Dependendo do objetivo da análise, esta matriz biológica pode ser avaliada na forma de sangue total, plasma ou soro. Quando é necessária uma quantificação de várias substâncias, o sangue total é a amostra mais indicada, visto que as substâncias têm diferentes afinidades às proteínas nele presentes. Se a análise for reduzida apenas ao soro ou ao plasma corre-se o risco de perder algumas, fazendo com que a análise não seja a mais correta e distorcendo a realidade da situação legalmente em causa.<sup>29</sup>

Apesar da sua complexidade, o sangue permite que substâncias tóxicas, estranhas ao organismo como o álcool, os medicamentos e as drogas de abuso, sejam detetadas, quantificadas e interpretadas. A sua maior vantagem relaciona-se com o facto de ser possível fazer uma correlação da concentração de substâncias no sangue com o estado

clínico do indivíduo e de ainda, através dos metabolitos, estimar o período decorrido desde a sua administração. No entanto, tem como desvantagem o facto de ser obtida de uma forma invasiva e poder ser facilmente contaminada.<sup>1,36</sup> Para além disto, é uma amostra relativamente fácil de colher *in vivo*, mas que em situações *post mortem* pode

mesmo não ser possível obtê-la como é o caso de cadáveres em avançado estado de putrefação, exumações ou em mortes que tenham ocorrido por choque traumático. Nestas situações é necessário recorrer a outras matrizes.<sup>36</sup>

O sangue total, além do soro e do plasma, é uma matriz que permite fazer análises com relevância quantitativa, mas apenas quando obtido *in vivo* através da veia cefálica e *post mortem*, através da artéria femoral ou quando a amostra recolhida é de sangue venoso. O sangue cardíaco apesar de ser uma possível amostra, como sofre uma grande influência de redistribuição *post mortem*, não tem uma forte interpretação quantitativa.<sup>28,30</sup>

## 1.5. Colheita e armazenamento de amostras

Antes de as amostras serem analisadas, existem procedimentos importantes que podem influenciar as análises toxicológicas, interferindo na sua qualidade, e conseqüentemente, com o processo legal. Merecem referência a seleção da amostra, a colheita, o armazenamento e o transporte.<sup>37,38</sup> De forma a evitar contaminações, alterações das matrizes e dos analitos presentes, os toxicologistas e técnicos de campo devem seguir protocolos adaptados a cada uma das situações e matrizes.<sup>27</sup>

O processo começa com a seleção da ou das matrizes a colher com base em critérios bem definidos, seguindo-se o primeiro passo de preservação. A colheita deve garantir a integridade da amostra e de qualquer analito que possa estar presente, prevenindo, assim, alterações significativas. Todas as amostras devem ser colocadas nos tubos a que se destinam e ser devidamente identificadas com o número do processo, nome, data da colheita e descrição da amostra. Para além disto, devem fazer-se acompanhar por documentos que garantam a cadeia de custódia, as análises pretendidas, informações sobre o caso, o relatório da polícia, medicamentos que possam estar presentes na amostra e informação sobre o indivíduo.<sup>27,37</sup>

Após a colheita, as amostras são pré-armazenadas a uma temperatura de 4 °C por um período máximo de 48h, sendo depois direcionadas para os laboratórios dos Serviços de Toxicologia Forense, onde são rececionadas e verificadas as condições em que chegam, bem como as informações anexas, assegurando assim a cadeia de custódia. *Só a posteriori* são analisadas e armazenadas por um período máximo de 2 anos quando dizem respeito a exames e perícias médico-legais, e por um 1 ano as amostras provenientes da condução sob efeito de álcool ou de outras substâncias.<sup>39,40</sup>

No entanto, durante o armazenamento de amostras que contêm compostos voláteis podem ocorrer alterações de concentração causadas por fatores como a temperatura, o tempo de armazenamento, o volume de amostra e a abertura prévia do tubo em que estão contidas. Estes fatores potenciam a perda dos VOC através de mecanismos como a presença de microrganismos, a evaporação dos compostos ou a oxidação química.<sup>41</sup>



### 1.5.1. Temperatura

A temperatura (T) de armazenamento é um dos fatores mais importantes e o que pode ter mais influência na estabilidade da matriz biológica e dos vários analitos que a amostra pode conter.

Devido às características dos compostos em estudo e dos mecanismos que levam à sua perda, são várias as referências na literatura que aconselham o armazenamento das amostras em tubos, hermeticamente fechados, a baixas temperaturas, sendo recomendado o uso de 4 °C para curtos períodos e -20 °C para longos. O uso de temperaturas mais elevadas promove volatilização dos analitos e a degradação do sangue.<sup>27,30</sup> Segundo o trabalho desenvolvido por Hayden, as amostras com concentrações mais elevadas têm tendência a que ocorram maiores diminuições da concentração ao longo do tempo.<sup>42</sup> No entanto, o contrário foi demonstrado por Jones e Ericsson para a temperatura de armazenamento de 4 °C.<sup>43</sup>

A utilização de temperaturas mais baixas, nas quais a amostra congela, também pode levantar problemas a longo prazo fazendo com que o sangue perca algumas das suas propriedades como a fluidez e homogeneidade e que ocorra hemólise celular.<sup>27</sup>

### 1.5.2. Volume

O volume de amostra é um dos fatores mais irregular e da responsabilidade do técnico que faz a colheita do sangue. De acordo com a norma procedimental 009 do INMLCF é recomendada a colheita de 10 mL de sangue, ou seja, deve ser colhido o volume suficiente para fazer as análises necessárias às diferentes substâncias que possam existir (voláteis, drogas, medicamentos), as análises de confirmação e que estas ainda possam ser repetidas, caso seja preciso.<sup>27,44</sup>

Apesar de existir uma norma e de também haver regulamentação<sup>39</sup> neste sentido, a variabilidade de volumes de amostras sanguíneas em laboratório continua a existir, o que pode ter influência na análise. Em consequência do volume de amostra existente no tubo, na parte superior forma-se uma camada de ar (*headspace*) maior ou menor que pode interferir com os analitos e levar à sua perda. Ou seja, quanto maior for o volume, menor irá ser o seu *headspace* e menor espaço haverá para que ocorra oxidação e evaporação dos compostos.<sup>27,30</sup>

Todos os tubos destinados a amostras sanguíneas têm uma massa de 1 a 5 % de NaF (fluoreto de sódio).<sup>30</sup> Como a sua adição antecede a recolha da amostra e é constante para um determinado volume de tubo de recolha<sup>41,45</sup>, a concentração de NaF em volumes mais pequenos de amostra é maior quando comparado com volumes maiores de amostra. O que segundo a literatura, pode levar a uma diminuição da concentração dos compostos.<sup>46</sup>

### **1.5.3. Abertura prévia do tubo**

A abertura dos tubos é também um dos fatores que pode contribuir para diminuição da concentração dos analitos. Os VOC tendem a difundir-se da amostra para a atmosfera até atingirem o equilíbrio e o tubo da amostra ao ser aberto, por breve instantes, irá haver uma renovação do ar. Sempre que existe ar novo dentro do tubo, a difusão dos VOC irá sempre criar um novo equilíbrio, levando à perda de analitos. Isto faz com que os tubos só devam ser abertos quando for estritamente necessário.<sup>27,30,47</sup>

### **1.5.4. Tempo de armazenamento**

O tempo e a temperatura de armazenamento são os fatores mais relevantes, tendo influência direta nos microrganismos presentes.<sup>37</sup> Nos vários estudos é o fator que mais varia, mas poucos são os que igualam o tempo de armazenamento que as amostras têm em laboratório. No entanto, segundo Kocak é expectável que em longos períodos de tempo haja alterações mais significativas na concentração dos VOC, do que em períodos mais curtos.<sup>27,48</sup>

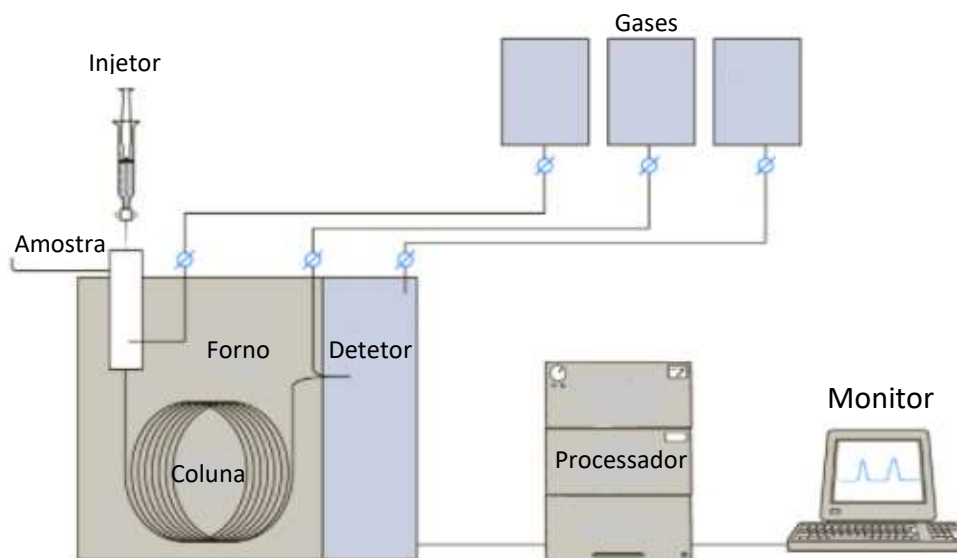
## **1.6. Cromatografia de gás com detetor de ionização de chama e sistema de injeção de *headspace***

### **1.6.1. Cromatografia de gás**

A cromatografia de gás (GC) é uma das técnicas analíticas mais utilizada pelos toxicologistas, por permitir a análise de substâncias que se volatilizem, sem se decomporem, até temperaturas cerca de 400 °C.<sup>49</sup> É uma técnica com uma elevada resolução, sensibilidade, precisão e exatidão, é simples e os tempos de análise envolvidos são relativamente curtos.<sup>47,48</sup>

A GC baseia-se na distribuição dos analitos da amostra entre uma fase estacionária e uma fase móvel (gás inerte), permitindo a separação, identificação e quantificação dos analitos. A fase móvel deve ser um gás quimicamente inerte, ou seja não deve reagir com os analitos da amostra nem com a fase estacionária.<sup>49</sup>

Inicialmente, a amostra é introduzida, através de um sistema de injeção, numa coluna, com frequência do tipo capilar, que se encontra dentro de um forno cuja temperatura é controlada (Figura 5).<sup>49</sup> A temperatura do injetor deve ser suficientemente elevada para que ocorra a volatilização imediata da amostra e haja o mínimo de perdas possível.<sup>52</sup> Assim que é volatilizada, a amostra é transportada pela fase móvel até à fase estacionária iniciando-se a separação cromatográfica.<sup>51</sup>



**Figura 5.** Esquema representativo do sistema de cromatografia de gás. Adaptado de 49.

A separação dos analitos ocorre de acordo com a massa molecular, tamanho, ponto de ebulição e com as algumas propriedades que determinam a afinidade (por adsorção ou partição) com a fase estacionária. Todas estas características vão fazer com que haja uma maior ou menor interação com a fase estacionária, provocando diferentes velocidades de migração e conseqüentemente, diferentes tempos de retenção.<sup>47,48</sup>

Os analitos vão eluir ao longo da coluna, de acordo com as propriedades já mencionadas, sendo depois detetados por um detector que produz um sinal proporcional à quantidade de analito que por ele passar. O sinal é depois processado obtendo-se no final um cromatograma com os sinais dos vários analitos.<sup>37,52</sup> Cada analito, sob determinadas condições, apresenta um tempo de retenção característico, que fornece informação qualitativa, podendo também ser retirados do mesmo cromatograma dados sobre a altura ou a área do sinal, que apresenta um valor proporcional à quantidade do analito na amostra.<sup>52</sup>

Como mencionado anteriormente, esta é uma técnica que separa os analitos de acordo com as suas afinidades para as duas fases, observando-se diferentes tempos de retenção, para diferentes analitos. No entanto, pode acontecer haver substâncias com o mesmo tempo de retenção, induzindo o analista em erro. Para que isto não aconteça, é necessário o uso de duas colunas cromatográficas com fases estacionárias de polaridades diferentes, sendo uma usada para identificar e quantificar e a outra para confirmar e evitar a existência de falsos positivos. A diferença de polaridade das duas fases estacionárias vai fazer com que o tempo de retenção e a ordem de eluição do mesmo analito seja diferente e que todas as substâncias possam ser identificadas corretamente.<sup>3,53</sup>

### 1.6.2. Detetor de ionização em chama

O detetor de ionização em chama (FID) é o mais utilizado em cromatografia de gás uma vez que dá resposta a praticamente todos os compostos orgânicos, sendo pouco afetado por variações de temperatura, por exemplo.<sup>52,54</sup>

O FID baseia-se na produção de iões pela combustão de compostos que contêm átomos de carbono, sendo a sua resposta dependente do número de átomos de carbono dos analitos.<sup>37,54</sup> O analito ao eluir da coluna do GC vai interagir com uma chama gerada pela combustão de hidrogénio em ar, e que vai levar à formação de iões. Estes iões vão, por sua vez, ser atraídos para um eléctrodo dando origem a uma corrente elétrica proporcional à quantidade de analito presente na chama e que vai dar origem ao sinal.<sup>37,52</sup>

Apesar das várias vantagens deste detetor, ele tem a desvantagem de destruir a amostra, impedindo assim a sua reutilização.

### 1.6.3. Sistema de *headspace*

O sistema de *headspace* (HS) é uma técnica de amostragem que permite a análise de compostos voláteis em matrizes biológicas.<sup>52,55,56</sup>

Esta técnica baseia-se no equilíbrio dos analitos voláteis entre uma fase líquida inferior (matriz biológica) e uma fase gasosa superior (*headspace*), dentro de um *vial* devidamente selado e a temperatura controlada (Figura 6). A partir da fase gasosa formada, uma alíquota é injetada no cromatógrafo.<sup>57</sup>

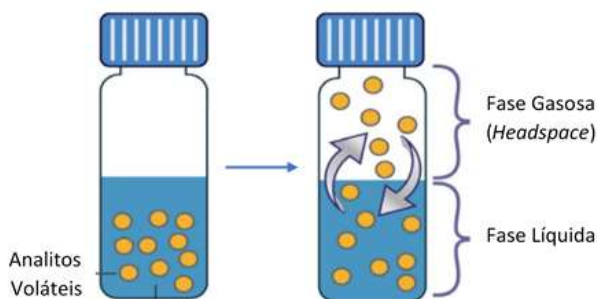


Figura 6. Princípio da técnica de headspace. Adaptado de 58.

No entanto, na sua utilização é necessário ter em atenção os potenciais efeitos provocados pela matriz biológica. Uma forma de os diminuir, é através da diluição da amostra utilizando a solução que contém o padrão interno.<sup>45</sup>

O HS é uma técnica simples, na qual a injeção da amostra é direta e limpa, evitando a contaminação do injetor e da coluna e reduzindo assim a perda de analito.<sup>55,56</sup> É um procedimento que pode ser mecanizado e o facto de a amostra ser injetada na fase gasosa faz com que o cromatograma apresente picos separados e bem definidos, e que a sua linha de base seja estável.<sup>59</sup>



# **Parte II – Trabalho Experimental**



## 2.1. Material e métodos

### 2.1.1. Amostras biológicas

O sangue utilizado, dispensado pelo Hospital de São João do Porto, foi colhido no ano de 2018 e encontrava-se fora do prazo legal estipulado para a sua conservação e utilização em contexto hospitalar. Não foi necessário realizar qualquer tipo de preparação, uma vez que o sangue já se encontrava pronto a ser utilizado.

Inicialmente, o sangue foi mantido congelado, sendo posteriormente descongelado e mantido refrigerado num frigorífico até ser repartido pelos vários tubos, tendo sido utilizado um volume total de 538,8 mL.

### 2.1.2. Padrões, reagentes e conservante

#### 2.1.2.1. Reagentes/padrões

- Água ultrapura *MilliQ*, obtida por sistema de purificação *Millipore*;
- Etanol *PanReac Applichem ITW Reagents*;
- Metanol *Uvasol*<sup>®</sup> adquirido a *Merck*;
- Acetona *SupraSolv*<sup>®</sup> adquirido a *Merck*;
- 2-Propanol *EMSURE*<sup>®</sup> adquirido a *Merck*;
- n-Propanol *EMSURE*<sup>®</sup> adquirido a *Merck*;
- Padrões certificados – *Multicomponent Alcohol Calibration kit* (0,1; 0,25; 0,50; 1,00; 2,00; 4,00 g/L).

#### 2.1.2.2. Conservante

- Fluoreto de sódio (NaF) da marca *Scharlau*.

### 2.1.3. Material e equipamento

- Balões volumétricos de 50 e 1000 mL;
- Frascos de vidro para armazenamento;
- Micropipeta eletrónica de volume variável de 10-300 µL *Sartorius 312110*;
- Micropipeta de volume variável de 10-1000 µL *Eppendorf Reference2 312059*;
- Micropipeta de volume fixo de 100 µL *Eppendorf Reference 3408347*;
- Pontas adequadas às várias micropipetas;



- Doseador *Eppendorf Multipette Plus* com combitips de 10 mL 3883039;
- *Vials* 10 mL;
- Cápsulas de alumínio constituídas por septos de silicone para *vials*;
- Suporte para *vials* e tubos;
- Tubos de plástico de 10 mL com tampa de rosca;
- Hote *Kottermann*;
- Vórtex *Zx<sup>3</sup>*;
- Câmaras Frigoríficas;
- Banho de Ultrassons *Bandelin Sonorex Super* RK 510 H;
- Agitador GFL 3015;
- Centrifugadora KUBOTA 5400;

#### 2.1.4. Instrumentos analíticos

Foi utilizado um sistema cromatográfico HS-GC-FID da marca *Agilent*<sup>®</sup> 6890N, dotado de um detetor de ionização de chama, acoplado a um injetor de *headspace* de volume fixo (*loop*) *Agilent* G1888.

**Tabela 1.** Principais características do sistema HS-GC-FID utilizado.

Componente	Principais Características	
<b>GC</b>	Equipamento	GCHS
	Fabricante	<i>Agilent</i>
	Modelo	6890N
	Nº de Série	CN10532058
<b>Headspace</b>	Fabricante	<i>Agilent</i>
	Modelo	G1888
	Nº de Série	IT00525007
<b>Detetores</b>	2 FID	
<b>Software</b>	GC ChemStation Rev.B.03.01.[317]	

## 2.2. Procedimento Experimental

### 2.2.1. Compostos orgânicos voláteis estudados

A seleção do grupo de compostos voláteis estudados neste trabalho assentou essencialmente em três aspetos: na falta de estudos científicos efetuados para três dos compostos (acetona, metanol e 2-propanol), na sua relevância em contexto clínico/forense e na representatividade de amostras recebidas no Serviço de Química e Toxicologia Forense da Delegação do Centro do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses.

Desta forma, os compostos em estudo são o etanol, a acetona, o metanol e o 2-propanol que foram estudados em duas concentrações 0,50 g/L e 1,20 g/L. A escolha destes valores baseou-se na concentração dos controlos de qualidade interno (CQI) utilizados no SQTf para a quantificação de etanol e de outros compostos voláteis.<sup>60</sup>

### 2.2.2. Preparação de soluções utilizadas no procedimento analítico

No procedimento analítico para a determinação/quantificação das substâncias utilizou-se dois controlos de qualidade interno (CQI) e o padrão interno que é o n-propanol devido às propriedades físico-químicas e comportamento cromatográfico semelhante aos das substâncias em estudo e ser o PI utilizado no SQTf-DC.

Na preparação das soluções utilizaram-se padrões com pureza igual ou superior a 99,5%, cuja densidade se apresenta na tabela 2.

Tabela 2. Densidade dos compostos em estudo.

Composto	Etanol	Acetona	Metanol	2-Propanol	n-Propanol
Densidade (g/L) a 20 °C	790	790	790	786	800

#### 2.2.2.1. Preparação da solução de PI contendo 0,10 g/L de n-propanol

Medir 12,5 mL de n-propanol e transferir para um frasco de armazenamento de 1L. Adicionar água ultrapura até perfazer o volume.

#### 2.2.2.2. Preparação das soluções de controlo de qualidade interno

Medir os volumes indicados na tabela 3 e transferir para um balão de 500 mL. Adicionar água ultrapura até perfazer o volume. No fim, colocar em banho de ultrassons durante 10 minutos à temperatura ambiente.

**Tabela 3.** Preparação das soluções de padrões de referência para CQI.

Concentração Alvo (g/L)	Etanol		Acetona		Metanol		2-Propanol	
	µL	g/L	µL	g/L	µL	g/L	µL	g/L
<b>0,50</b>	316	0,499	316	0,499	316	0,499	318	0,499
<b>1,20</b>	759	1,199	759	1,199	759	1,199	763	1,199

### 2.2.3. Preparação das soluções utilizadas na parte experimental

#### 2.2.3.1. Solução de concentração 7,5 g/L

Medir os volumes indicados na tabela 4 e transferir para um balão de 50 mL. Adicionar água ultrapura até perfazer o volume. No fim, colocar em banho de ultrassons durante 10 minutos à temperatura ambiente.

**Tabela 4.** Preparação da solução de trabalho de concentração 7,5 g/L.

Concentração Alvo (g/L)	Etanol		Acetona		Metanol		2-Propanol	
	µL	g/L	µL	g/L	µL	g/L	µL	g/L
<b>7,50</b>	474,8	7,501	474,8	7,501	474,8	7,501	477	7,498

#### 2.2.3.2. Solução de concentração 18 g/L

Medir os volumes indicados na tabela 5 e transferir para um balão de 50 mL. Adicionar água ultrapura até perfazer o volume. No fim, colocar em banho de ultrassons durante 10 minutos à temperatura ambiente.

**Tabela 5.** Preparação da solução de trabalho de concentração 18 g/L.

Concentração Alvo (g/L)	Etanol		Acetona		Metanol		2-Propanol	
	µL	g/L	µL	g/L	µL	g/L	µL	g/L
<b>18</b>	1139	17,99	1139	17,99	1139	17,99	1145	18,09

## 2.2.4. Preparação das amostras de ensaio

As amostras de ensaio (AE) foram sujeitas a duas temperaturas de armazenamento: a -20 °C e a 5-6 °C, ambas utilizadas na rotina do SQTf-DC. Os tubos de colheita com capacidade de 10 mL foram preenchidos com três volumes diferentes (3, 6 e 9 mL) e armazenados por um período de 30 dias. Parte das amostras foram abertas a meio do tempo de armazenamento para simular a abertura do tubo na rotina para a análise de outras substâncias.

As condições foram estudadas para duas concentrações diferentes (0,50 g/L e 1,20 g/L).

## 2.2.5. Preparação das *pools* de concentrações 0,50 e 1,20 g/L

Para fortificar o sangue branco com as concentrações 0,50 g/L e 1,20 g/L, utilizaram-se as soluções com as concentrações 7,5 g/L e 18 g/L. Os volumes medidos de sangue e de solução estão descritos nas tabelas 6 e 7.

**Tabela 6.** Volumes de sangue e da solução de concentração 7,5 g/L, adicionados para obter concentrações de 0,50 g/L nos diferentes volumes de tubos.

Volume de sangue (mL)	Volume de solução de concentração 7,5 g/L (µL)	Volume total de sangue fortificado (mL)
2,8	200	3
5,6	400	6
8,4	600	9

**Tabela 7.** Volumes de sangue e da solução de concentração 18 g/L, adicionados para obter concentrações de 1,20 g/L nos diferentes volumes de tubos.

Volume de sangue (mL)	Volume de solução de concentração 18 g/L (µL)	Volume total de sangue fortificado (mL)
2,812	188	3
5,625	375	6
8,438	562	9

## 2.2.6. Preparação das amostras de ensaio para congelação e refrigeração

De forma a simplificar os diferentes fatores estudados, foi usado um código de letras e números que remetem diretamente para as condições de cada amostra de ensaio (Tabela 8).

A concentração inicial foi representada por um A para os 0,50 g/L e um B para os 1,20 g/L, sendo a primeira informação a ser dada; de seguida é especificado o volume total da amostra no tubo, sendo usado um P para o volume pequeno (3 mL), um M para o volume médio (6 mL) e um E para o volume elevado (9 mL). Depois é referida a temperatura a que a amostra foi exposta: T<sub>1</sub> (-20 °C) ou T<sub>2</sub> (5-6 °C), seguindo-se por último o 1 ou o 2 que indicam se o tubo foi aberto ao dia 15 ou não, respetivamente. Para cada condição foram preparados quatro tubos, estando representados pelas letras a, b, c e d.

Um exemplo da designação de uma amostra é o seguinte:

APT<sub>1</sub>-1a

em que A é a concentração 0,50 g/L; P o volume de 3 mL, T<sub>1</sub> a temperatura de -20 °C, 1 ser aberto ao dia 15 e o a, o primeiro tubo desta condição.

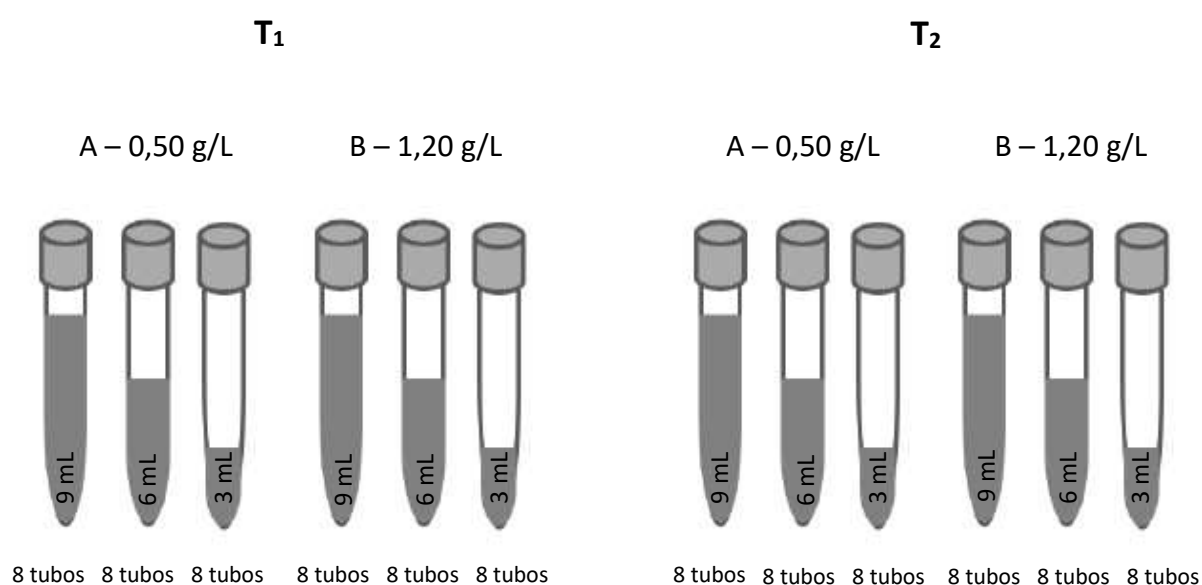
**Tabela 8.** Planificação das amostras de ensaio de acordo com o código de identificação.

Legenda: A– concentração 0,50 g/L, B– concentração 1,20 g/L; P– volume pequeno, M– volume médio, E– volume elevado; T<sub>1</sub>- -20 °C, T<sub>2</sub>– 5-6 °C; 1- tubos abertos aos dias 0, 15 e 30, 2- tubos abertos aos dias 0 e 30; a,b,c,d – tubos com as mesmas condições.

Concentração	Volume	Tubos	
		T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
A (0,50 g/L)/ B (1,20 g/L)	Pequeno (P)	1a	1a
		1b	1b
		1c	1c
		1d	1d
		2a	2a
		2b	2b
		2c	2c
		2d	2d
	Médio (M)	1a	1a
		1b	1b
		1c	1c
		1d	1d
		2a	2a
		2b	2b
		2c	2c
		2d	2d
	Elevado (E)	1a	1a
		1b	1b
		1c	1c
		1d	1d
		2a	2a
		2b	2b
		2c	2c
		2d	2d

Em cada tubo foi colocada uma massa de 0,1 g de NaF como conservante. De seguida, com recurso a micropipetas de volume variável de 10-1000  $\mu\text{L}$  e de 10-300  $\mu\text{L}$  foram transferidos para os tubos os volumes de sangue e de solução descritos nas tabelas 9 e 10.

No final da fortificação, 538,8 mL de sangue foram distribuídos por 96 tubos no total, 48 para cada temperatura ( $T_1$  e  $T_2$ ), 24 para cada concentração (A e B), 8 para cada volume (P, M e E) e 4 abertos ao dia 0, 15 e 30 (Figura 7).



**Figura 7.** Divisão dos tubos de acordo com a temperatura de armazenamento, concentração e volume após a fortificação do sangue.

### 2.2.7. Procedimento experimental aplicado às AE, CQI e PI

As amostras de ensaio (AE), CQI e PI antes de serem analisadas foram retiradas antecipadamente da congelação e refrigeração para que atingissem a temperatura ambiente.

De forma a garantir a correta homogeneização das AE, estas foram invertidas 10 vezes e centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos, à semelhança do estudo realizado por Kocak.<sup>48</sup>

Para cada amostra foram injetadas duas alíquotas, encontrando-se registados no anexo A1 os valores obtidos para as concentrações iniciais, dia 0, dos quatro compostos. Foram posteriormente analisadas aos dias 15 e 30 de armazenamento.

### 2.2.8. Procedimento analítico aplicado

Todas as amostras e CQI antes de serem analisadas e introduzidas no cromatógrafo, foram sujeitas ao procedimento analítico seguinte: num *vial* de 10 mL, colocou-se 1 mL da solução de padrão interno e adicionaram-se 100  $\mu\text{L}$  de amostra pretendida.

Cada *vial* deve ser imediatamente fechado após a sua preparação, sob pena de perda dos compostos voláteis presentes na matriz.

## 2.2.9. Análise instrumental

Para a realização do presente estudo foi utilizado um sistema cromatográfico HS-GC-FID: um cromatógrafo de gás *Agilent* 6890N com detetor de ionização de chama e injeção por *headspace* estático *Agilent* G1888. Foram utilizadas duas colunas com diferentes polaridades, sendo a DB-ALC1 mais polar do que a DB-ALC2. O hélio funcionou como gás de arraste e o azoto como gás “*makeup*”, fazendo a ligação entre a coluna e o detetor. Neste detetor, a chama é produzida por combustão de ar e hidrogénio.

Uma vez que os compostos em estudo têm tempos de retenção próximos, o método utilizado ocorreu em condições isotérmicas, ou seja, a temperatura foi mantida durante todo o tempo da corrida.

Na tabela 9 e anexo A2 encontram-se descritos os parâmetros analíticos da análise instrumental usada.

**Tabela 9.** Principais parâmetros analíticos da análise instrumental.

<b>Parâmetros GC</b>		
<b>Colunas</b>	Coluna Analítica 1	DB-ALC2 – 30,0 m x 320 µm Filme espessura 1,20 µm
	Coluna Analítica 2	DB-ALC1 – 30,0 m x 320 µm Filme espessura 1,80 µm
<b>Inlet</b>	Gás de arraste	Hélio
	Modo	<i>Split</i>
	Split Ratio	3,68:1
	Pressão	11,96 psi
	Temperatura	150 °C
	<i>Split Flow</i>	20,0 mL/min
<b>Detetores FID</b>	Temperatura	250 °C
	Fluxo H <sub>2</sub>	40,0 mL/min
	Fluxo Ar	450 mL/min
	Fluxo Azoto	45,0 mL/min
<b>Forno</b>	Temperatura	50 °C
	<i>Run Time</i>	5 min
<b>Parâmetros Headspace</b>		

<b>HS</b>	Estabilização <i>Vial</i>	10 min
	Injeção	1 min
	Pressurização <i>Vial</i>	0,50 min
	Temperatura Forno	50 °C
	Temperatura <i>Loop</i>	90 °C
	Temperatura <i>Transferline</i>	90 °C

### 2.2.10. Identificação/confirmação e quantificação das amostras

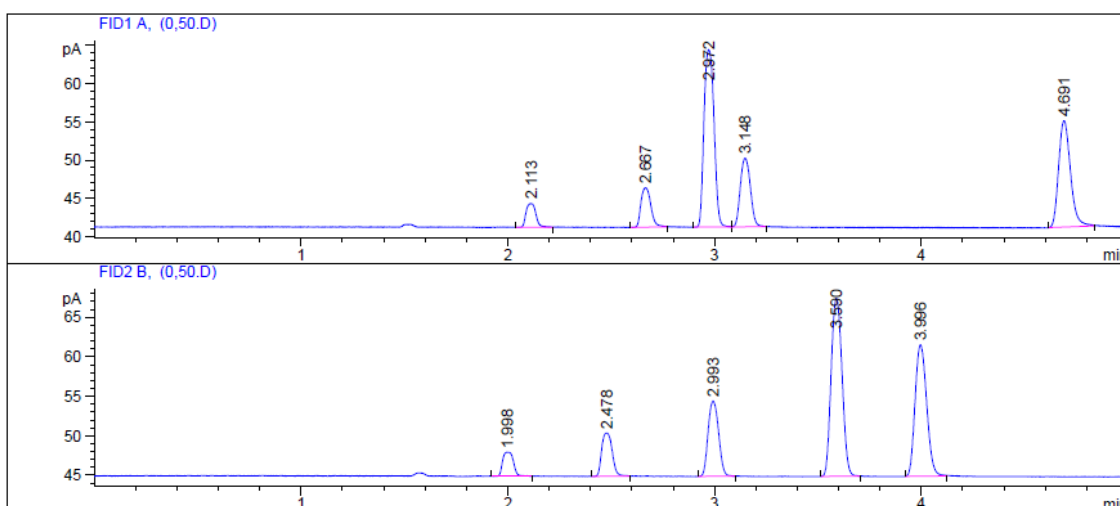
Na identificação dos compostos, são entendidos como resultados positivos aqueles que nos cromatogramas apresentem um sinal cujo tempo de retenção relativo, seja idêntico ao do composto de referência analisado nas mesmas condições, sendo aceite uma variação de  $\pm 0,7\%$ .<sup>61</sup>

Os tempos de retenção para os compostos em estudo, com o método usado encontram-se descritos na tabela 10 e representados no cromatograma da figura 8.

**Tabela 10.** Tempos de retenção dos quatro compostos em estudo e do padrão interno.

<b>Composto</b>	<b>Tempo de Retenção (min)</b>	
	<b>FID1</b>	<b>FID2</b>
<b>Etanol</b>	2,621	2,436
<b>Acetona</b>	2,932	3,549
<b>Metanol</b>	2,069	1,962
<b>2-Propanol</b>	3,549	3,106
<b>n-Propanol</b>	4,649	3,958





**Figura 8.** Cromatogramas obtidos através da análise HS-GC-FID, aos compostos em estudo e padrão interno. Tempo de retenção em minutos (FID1, FID2): Metanol (2,113;1,998), etanol (2,667;2,478), acetona (2,972;3,998), 2-propanol (3,148;2,993) e n-propanol.

Após a identificação, as curvas de calibração são o que nos permite quantificar a amostra. São curvas construídas a partir das áreas relativas (área do pico do composto/área do pico do padrão interno) obtidas para diferentes calibradores.<sup>61</sup> No método utilizado como existem duas colunas cromatográficas e dois detetores, o FID1 e o FID2, foram obtidas duas curvas de calibração com seis pontos para cada composto (anexo A2), com um coeficiente de correlação ( $r^2$ ) igual ou superior a 0,9997.

Ao longo do trabalho, foram usados os dois sinais para confirmação/quantificação, no entanto, uma vez que ambos os sistemas se encontram validados optou-se por usar apenas o sistema FID1.

### 2.2.11. Análise estatística aplicada

Os resultados obtidos para os quatro compostos em estudo foram analisados individualmente. Foi calculada a diferença da concentração obtida nos três períodos de análise e a diferença percentual entre  $C_0$  e  $C_{30}$ . Após a avaliação da presença de *outliers* utilizando o teste de Grubbs, os resultados foram comparados usando o teste t-Student emparelhado. Os resultados obtidos foram, ainda, representados em gráfico para comparação das duas temperaturas.

O teste de Grubbs é usado na detecção de *outliers* num conjunto de valores que seguem aproximadamente uma distribuição normal. A hipótese nula ( $H_0$ ) é a de que o valor extremo não é *outlier* e na hipótese alternativa ( $H_1$ ) esse valor é *outlier*.

São usadas duas fórmulas:  $G = \frac{\bar{y} - y_i}{s}$  se o menor valor do conjunto é testado como *outlier* e  $G = \frac{y_n - \bar{y}}{s}$  se for o maior valor do conjunto a ser testado,  $\bar{y}$  é a média,  $y_i$  é o menor valor,  $y_n$  o maior valor e  $s$  o desvio padrão.<sup>62</sup>

Neste trabalho, o teste de Grubbs foi aplicado a cada conjunto de quatro amostras de ensaio com as mesmas condições, quando necessário, com um nível de significância de 5%. O valor de G tabelado é de 1,48 para 4 graus de liberdade.

O teste t-Student emparelhado é um teste de hipóteses que é aplicado para comparação de diferenças entre conjuntos de pares de observações realizados sobre amostras.

O parâmetro do teste é definido pela fórmula:  $t = \frac{\bar{x}}{s/\sqrt{n}}$ , onde  $\bar{x}$  e  $s$  são a média e o desvio padrão, respectivamente, da diferença entre valores dos pares de medidas e  $n$  é o número de ensaios.<sup>62</sup>

Neste trabalho, o teste T-Student emparelhado foi aplicado a cada conjunto de quatro amostras com as mesmas condições, com um nível de significância de 5%, e tendo sido usado o valor uni caudal. Foram definidas as seguintes hipóteses:

(Hipótese Nula)  $H_0: C_0 = C_{30}$

(Hipótese Alternativa)  $H_1: C_0 > C_{30}$  ou  $C_0 < C_{30}$

Nestas, para  $H_0$  não existe diferença estatística significativa entre a concentração ao dia 0 e a concentração ao dia 30, e para  $H_1$  a concentração ao dia 0 é maior que no dia 30.



# **Parte III - Resultados e Discussão**



Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos para um período de armazenamento de 30 dias. A análise dos resultados foi feita, após verificação de *outliers* pelo teste de Grubbs, utilizando o teste t-Student emparelhado com um nível de significância de 5%.

### 2.3. Amostras brancas

As amostras brancas antes de serem utilizadas em ensaios ou em rotina têm que estar isentas de analitos, ou seja, o chamado sangue branco.



Figura 9. Bolsas de sangue utilizadas.

Para verificar se as amostras utilizadas no trabalho, figura 9, se encontravam isentas de analitos, foram retiradas de cada bolsa de sangue com recurso a uma micropipeta de volume fixo, alíquotas de 100  $\mu\text{L}$ , tendo sido preparadas e analisadas como descrito anteriormente. Depois de analisadas obteve-se, para a primeira bolsa da figura 9, o cromatograma presente na figura 10.

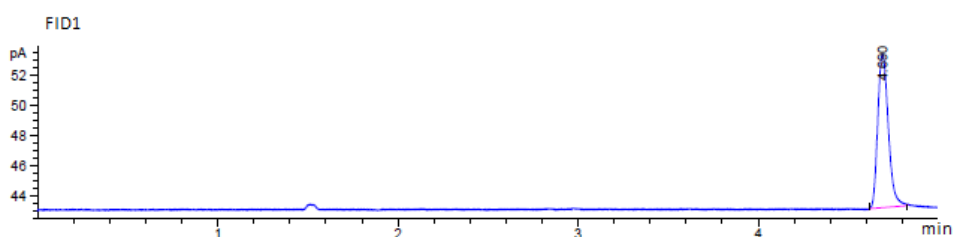


Figura 10. Cromatograma de uma das bolsas de sangue usada obtido com o sistema FID1.

Observa-se que a amostra está isenta de etanol, metanol, 2-propanol ou acetona, sendo apenas visível o sinal do padrão interno usado aos 4,690 min. O mesmo foi observado para as restantes bolsas de sangue.

## 2.4. Recolha de dados

Para cada conjunto de quatro tubos com as mesmas condições (a, b, c e d), foram efetuadas determinações em duas alíquotas por cada tubo após 0 ( $C_0$ ), 15 ( $C_{15}$ ) e 30 ( $C_{30}$ ) dias de preparação. A partir dos resultados obtidos, obteve-se a média das concentrações das duas alíquotas desde que satisfizessem o limite de repetibilidade 6%, para ambas as concentrações 0,50 g/L e 1,20 g/L. Este valor foi determinado no SQTF-DC em estudos prévios.

Os valores das concentrações para os três períodos de análise e o valor médio encontram-se registados no anexo A3 para os quatro compostos.

A análise estatística foi feita com base no valor médio.

## 2.5. Compostos orgânicos voláteis estudados

### 2.5.1. Etanol

#### 2.5.1.1. Identificação de *outliers*

Para os valores que poderão ser discrepantes, em cada conjunto de amostras de ensaio com as mesmas condições, fez-se o teste de Grubbs.

Na tabela 11, encontram-se os valores dos resultados potencialmente discrepantes e o valor obtido para o parâmetro de teste, G experimental, calculado com os valores que constam no anexo A4.1.

**Tabela 11.** Valores de G experimental para as amostras APT<sub>1</sub>-1a, BMT<sub>1</sub>-2d, APT<sub>2</sub>-1d, BMT<sub>2</sub>-1a, BET<sub>2</sub>-2c.

Amostra de ensaio	Valor potencialmente discrepante	G experimental
APT <sub>1</sub> -1a	0,62	1,36
BMT <sub>1</sub> -2d	1,37	1,33
APT <sub>2</sub> -1d	0,56	1,47
BMT <sub>2</sub> -1a	1,24	1,20
BET <sub>2</sub> -2c	1,36	1,41

Como se pode verificar, para todas as amostras foi obtido um valor de G experimental inferior ao G tabelado, tendo sido aceite a hipótese nula. Nenhum ensaio foi considerado um *outlier*.

### 2.5.1.2. Teste t-Student emparelhado e variação das concentrações

À semelhança do teste anterior, também o teste t-Student emparelhado foi feito aos mesmos conjuntos de amostras de ensaio com as mesmas condições. Os valores obtidos para os parâmetros de teste e t crítico uni caudal encontram-se em anexo (A5.1).

Nas tabelas 12, 13, 14 e 15 encontram-se registados os resultados da concentração de etanol obtidos, as diferenças para os três períodos de análise, a diferença percentual entre  $C_0$  e  $C_{30}$  e as conclusões obtidas por aplicação do teste-t emparelhado à diferença da concentração  $C_0$  e  $C_{30}$ .

**Tabela 12.** Resultados obtidos para o analito etanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura  $T_1$ . Concentrações expressas em g/L.

AE	$C_0$	$C_{15}$	$C_{30}$	Diferença ( $C_0 - C_{15}$ )	Diferença ( $C_0 - C_{30}$ )	Diferença % ( $C_0 - C_{30}$ )	t-Student
APT <sub>1</sub> -1a	0,62	0,63	0,62	-0,01	0,00	0,0	
APT <sub>1</sub> -1b	0,48	0,52	0,49	-0,04	-0,01	-2,1	Não significativa
APT <sub>1</sub> -1c	0,54	0,54	0,52	0,00	0,02	3,7	
APT <sub>1</sub> -1d	0,52	0,52	0,51	0,00	0,01	1,9	
APT <sub>1</sub> -2a	0,54	-	0,51	-	0,03	5,6	
APT <sub>1</sub> -2b	0,52	-	0,52	-	0,00	0,0	Não significativa
APT <sub>1</sub> -2c	0,52	-	0,52	-	0,00	0,0	
APT <sub>1</sub> -2d	0,52	-	0,52	-	0,00	0,0	
AMT <sub>1</sub> -1a	0,51	0,50	0,48	0,01	0,03	5,9	
AMT <sub>1</sub> -1b	0,52	0,52	0,49	0,00	0,03	5,8	Significativa
AMT <sub>1</sub> -1c	0,52	0,48	0,48	0,04	0,04	7,7	
AMT <sub>1</sub> -1d	0,52	0,51	0,51	0,01	0,01	1,9	
AMT <sub>1</sub> -2a	0,50	-	0,50	-	0,00	0,0	Não Significativa



<b>AMT<sub>1</sub>-2b</b>	0,51	-	0,50	-	0,01	2,0	
<b>AMT<sub>1</sub>-2c</b>	0,52	-	0,49	-	0,03	5,8	
<b>AMT<sub>1</sub>-2d</b>	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	
<b>AET<sub>1</sub>-1a</b>	0,51	0,51	0,50	0,00	0,01	2,0	
<b>AET<sub>1</sub>-1b</b>	0,50	0,51	0,50	-0,01	0,00	0,0	
<b>AET<sub>1</sub>-1c</b>	0,51	0,51	0,48	0,00	0,03	5,9	Não Significativa
<b>AET<sub>1</sub>-1d</b>	0,52	0,51	0,50	0,00	0,02	3,9	
<b>AET<sub>1</sub>-2a</b>	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	
<b>AET<sub>1</sub>-2b</b>	0,53	-	0,50	-	0,03	5,7	
<b>AET<sub>1</sub>-2c</b>	0,52	-	0,49	-	0,03	5,8	Significativa
<b>AET<sub>1</sub>-2d</b>	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	

Como se pode observar pela tabela 12, o valor máximo de diminuição da concentração de etanol foi de 7,7% para a amostra AMT<sub>1</sub>-1c e o valor mínimo foi de 0,0% para as amostras APT<sub>1</sub>-1a, APT<sub>1</sub>-2b, APT<sub>1</sub>-2c, APT<sub>1</sub>-2d, AMT<sub>1</sub>-2a e AET<sub>1</sub>-1b.

Quatro dos seis conjuntos não apresentaram diferenças significativas após um período 30 dias de armazenamento.

Para as amostras de volume médio, as AMT<sub>1</sub>-1 têm diferenças significativas e as AMT<sub>1</sub>-2 diferenças não significativas, enquanto nas amostras de volume elevado verifica-se o oposto. Os resultados obtidos para volume elevado levantam algumas dúvidas e nesse sentido deveria ser feita uma nova análise.

As amostras de ensaio de volume pequeno apresentam diferenças não significativas entre as concentrações obtidas nas duas condições de ensaio.

**Tabela 13.** Resultados obtidos para o analito etanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T<sub>1</sub>. Concentrações em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
BPT <sub>1</sub> -1a	1,30	1,28	1,27	0,02	0,03	2,31	
BPT <sub>1</sub> -1b	1,30	1,27	1,21	0,03	0,09	6,92	Significativa
BPT <sub>1</sub> -1c	1,31	1,33	1,24	-0,02	0,07	5,34	
BPT <sub>1</sub> -1d	1,28	1,28	1,24	0,00	0,04	3,13	
BPT <sub>1</sub> -2a	1,31	-	1,24	-	0,07	5,34	
BPT <sub>1</sub> -2b	1,35	-	1,30	-	0,05	3,70	Significativa
BPT <sub>1</sub> -2c	1,36	-	1,28	-	0,08	5,88	
BPT <sub>1</sub> -2d	1,26	-	1,24	-	0,02	1,59	
BMT <sub>1</sub> -1a	1,29	1,31	1,30	-0,02	-0,01	-0,78	
BMT <sub>1</sub> -1b	1,28	1,30	1,26	-0,02	0,02	1,56	Não significativa
BMT <sub>1</sub> -1c	1,30	1,28	1,28	0,02	0,02	1,54	
BMT <sub>1</sub> -1d	1,31	1,32	1,30	-0,01	0,01	0,76	
BMT <sub>1</sub> -2a	1,32	-	1,26	-	0,06	4,55	
BMT <sub>1</sub> -2b	1,34	-	1,31	-	0,03	2,24	Significativa
BMT <sub>1</sub> -2c	1,34	-	1,26	-	0,08	5,97	
BMT <sub>1</sub> -2d	1,37	-	1,30	-	0,07	5,11	
BET <sub>1</sub> -1a	1,34	1,33	1,28	0,01	0,06	4,48	Significativa

<b>BET<sub>1</sub>-1b</b>	1,35	1,33	1,29	0,02	0,06	4,44	
<b>BET<sub>1</sub>-1c</b>	1,32	1,34	1,24	-0,02	0,08	6,06	
<b>BET<sub>1</sub>-1d</b>	1,36	1,34	1,28	0,02	0,08	5,88	
<b>BET<sub>1</sub>-2a</b>	1,33	-	1,30	-	0,03	2,26	
<b>BET<sub>1</sub>-2b</b>	1,34	-	1,27	-	0,07	5,22	
<b>BET<sub>1</sub>-2c</b>	1,32	-	1,30	-	0,02	1,52	Significativa
<b>BET<sub>1</sub>-2d</b>	1,32	-	1,26	-	0,06	4,55	

Como se pode observar pela tabela 13, relativamente à concentração mais elevada, o valor máximo de diminuição da concentração de etanol foi de 6,92% para a amostra BPT<sub>1</sub>-1b e o valor mínimo foi de 0,76% para a amostra BMT<sub>1</sub>-1d.

Apenas um dos seis conjuntos não apresentou diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento.

As amostras de ensaio de volumes pequeno e elevado apresentam diferenças significativas, entre as concentrações C<sub>0</sub> e C<sub>30</sub>. No entanto para as amostras de volume médio, com abertura do tubo ao fim de 15 dias de armazenamento, BMT<sub>2</sub>-1, não se registam diferenças significativas enquanto sem abertura do tubo, BMT<sub>2</sub>-2, as diferenças são significativas. Estes resultados levantam algumas dúvidas e, nesse sentido, deveria ser feita uma nova análise.

Nas tabelas seguintes, encontram-se registados os resultados referentes a T<sub>2</sub> (5-6 °C).

**Tabela 14.** Resultados obtidos para o analito etanol das amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T<sub>2</sub>. Concentrações em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
APT <sub>2</sub> -1a	0,51	0,50	0,49	0,01	0,02	3,9	Significativa
APT <sub>2</sub> -1b	0,51	0,50	0,48	0,01	0,03	5,9	
APT <sub>2</sub> -1c	0,52	0,52	0,50	0,00	0,02	3,9	
APT <sub>2</sub> -1d	0,56	0,55	0,53	0,01	0,03	5,4	
APT <sub>2</sub> -2a	0,51	-	0,49	-	0,02	3,9	Não significativa
APT <sub>2</sub> -2b	0,51	-	0,50	-	0,01	2,0	
APT <sub>2</sub> -2c	0,50	-	0,50	-	0,00	0,0	
APT <sub>2</sub> -2d	0,52	-	0,48	-	0,04	7,7	
AMT <sub>2</sub> -1a	0,51	0,50	0,49	0,01	0,02	3,9	Significativa
AMT <sub>2</sub> -1b	0,51	0,49	0,48	0,02	0,03	5,9	
AMT <sub>2</sub> -1c	0,50	0,48	0,48	0,02	0,02	4,0	
AMT <sub>2</sub> -1d	0,48	0,49	0,48	-0,01	0,00	0,0	
AMT <sub>2</sub> -2a	0,50	-	0,48	-	0,02	4,0	Significativa
AMT <sub>2</sub> -2b	0,50	-	0,48	-	0,02	4,0	
AMT <sub>2</sub> -2c	0,50	-	0,49	-	0,01	2,0	
AMT <sub>2</sub> -2d	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	

<b>AET<sub>2</sub>-1a</b>	0,50	0,49	0,48	0,01	0,02	4,0	
<b>AET<sub>2</sub>-1b</b>	0,50	0,49	0,49	0,01	0,01	2,0	
<b>AET<sub>2</sub>-1c</b>	0,48	0,50	0,49	-0,02	-0,01	-2,1	Não significativa
<b>AET<sub>2</sub>-1d</b>	0,50	0,50	0,48	0,00	0,02	4,0	
<b>AET<sub>2</sub>-2a</b>	0,51	-	0,49	-	0,02	3,9	
<b>AET<sub>2</sub>-2b</b>	0,50	-	0,48	-	0,02	4,0	
<b>AET<sub>2</sub>-2c</b>	0,51	-	0,48	-	0,03	5,9	Significativa
<b>AET<sub>2</sub>-2d</b>	0,50	-	0,48	-	0,03	5,9	

Como se pode observar pela tabela 14, o valor máximo de diminuição da concentração de etanol foi de 7,7% para a amostra APT<sub>2</sub>-2d e o valor mínimo foi de 0,0% para as amostras APT<sub>2</sub>-2c e AMT<sub>2</sub>-1d.

Apenas dois dos seis conjuntos não apresentaram diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento.

Para as amostras de volume pequeno as APT<sub>2</sub>-1 têm diferenças significativas e as APT<sub>2</sub>-2 diferenças não significativas, enquanto nas amostras de volume elevado verificase o oposto. Os resultados obtidos para volume elevado levantam algumas dúvidas e, nesse sentido, deveria ser feita uma nova análise.

As amostras de ensaio de volume médio apresentam diferenças significativas em ambas as condições de ensaio.

**Tabela 15.** Resultados obtidos para o analito etanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T<sub>2</sub>. Concentrações em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
<b>BPT<sub>2</sub>-1a</b>	1,30	1,28	1,24	0,02	0,06	4,62	Significativa
<b>BPT<sub>2</sub>-1b</b>	1,32	1,28	1,26	0,04	0,06	4,55	
<b>BPT<sub>2</sub>-1c</b>	1,31	1,29	1,26	0,02	0,05	3,82	
<b>BPT<sub>2</sub>-1d</b>	1,33	1,29	1,28	0,04	0,05	3,76	
<b>BPT<sub>2</sub>-2a</b>	1,26	-	1,25	-	0,01	0,79	Não Significativa
<b>BPT<sub>2</sub>-2b</b>	1,33	-	1,28	-	0,05	3,76	
<b>BPT<sub>2</sub>-2c</b>	1,22	-	1,12	-	0,1	8,20	
<b>BPT<sub>2</sub>-2d</b>	1,28	-	1,26	-	0,02	1,56	
<b>BMT<sub>2</sub>-1a</b>	1,24	1,28	1,26	-0,04	-0,02	-1,61	Significativa
<b>BMT<sub>2</sub>-1b</b>	1,30	1,28	1,26	0,02	0,04	3,08	
<b>BMT<sub>2</sub>-1c</b>	1,34	1,30	1,27	0,04	0,07	5,22	
<b>BMT<sub>2</sub>-1d</b>	1,28	1,27	1,28	0,01	0,00	0,00	
<b>BMT<sub>2</sub>-2a</b>	1,30	-	1,26	-	0,04	3,08	Significativa
<b>BMT<sub>2</sub>-2b</b>	1,26	-	1,24	-	0,02	1,59	
<b>BMT<sub>2</sub>-2c</b>	1,28	-	1,26	-	0,02	1,56	
<b>BMT<sub>2</sub>-2d</b>	1,30	-	1,27	-	0,03	2,31	
<b>BET<sub>2</sub>-1a</b>	1,32	1,26	1,29	0,06	0,03	2,27	Significativa

<b>BET<sub>2</sub>-1b</b>	1,33	1,30	1,27	0,03	0,06	4,51	
<b>BET<sub>2</sub>-1c</b>	1,35	1,31	1,28	0,04	0,07	5,19	
<b>BET<sub>2</sub>-1d</b>	1,32	1,30	1,26	0,02	0,06	4,55	
<b>BET<sub>2</sub>-2a</b>	1,30	-	1,25	-	0,05	3,85	
<b>BET<sub>2</sub>-2b</b>	1,30	-	1,28	-	0,02	1,54	
<b>BET<sub>2</sub>-2c</b>	1,36	-	1,28	-	0,08	5,88	Significativa
<b>BET<sub>2</sub>-2d</b>	1,32	-	1,26	-	0,06	4,55	

Como se pode observar pela tabela 15, relativamente à concentração mais elevada, o valor máximo de diminuição da concentração de etanol foi de 8,20% para a amostra BPT<sub>2</sub>-2c e o valor mínimo foi de 0,00% para a amostra BMT<sub>2</sub>-1d.

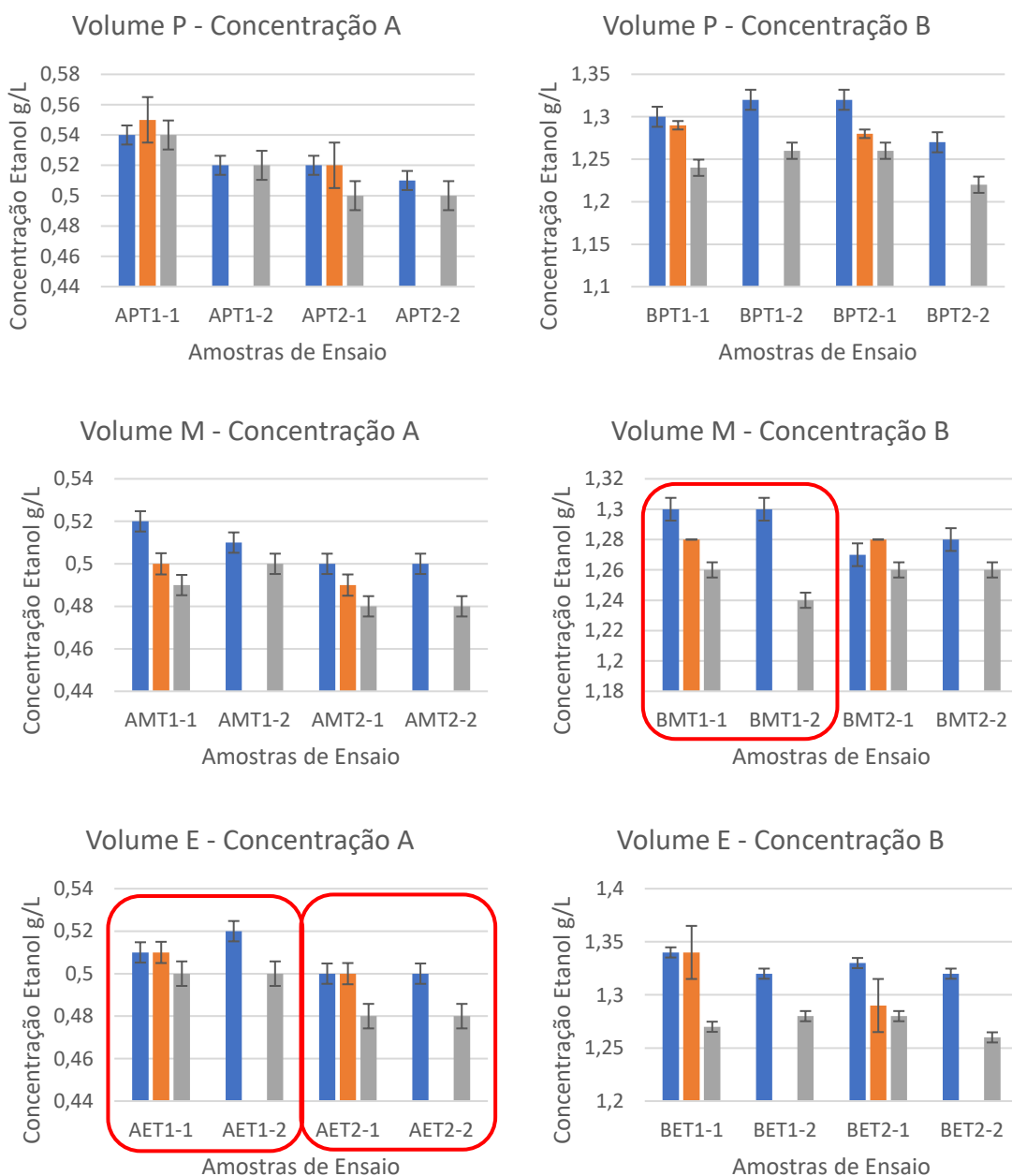
Apenas um dos seis conjuntos não apresentou diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento e diz respeito à amostra de menor volume, cujo tubo não foi aberto antes de 30 dias. Este resultado também foi obtido para este volume de amostra, em concentração mais baixa e às duas temperaturas ensaiadas.

As amostras de ensaio de volumes médio e elevado apresentam diferenças significativas. As amostras de volume pequeno, BPT<sub>2</sub>, têm diferenças significativas de concentração C<sub>0</sub> e C<sub>30</sub>, apenas quando houve abertura do tubo ao fim de 15 dias.

### 2.5.1.3. T<sub>1</sub> vs T<sub>2</sub>

Depois de registados os resultados obtidos para cada temperatura (T<sub>1</sub>- -20 °C; T<sub>2</sub>- 5-6 °C), os mesmos foram agrupados em gráficos por volume e concentração, para melhor visualização do efeito das duas temperaturas de ensaio, para o mesmo período de tempo.

Na figura 11 encontram-se representados os resultados obtidos para o analito etanol.



**Figura 11.** Gráficos representativos da evolução da concentração do etanol para um período de 30 dias. Legenda: azul – C<sub>0</sub>, laranja – C<sub>15</sub> e cinzento – C<sub>30</sub>.



As amostras de ensaio assinaladas a vermelho, são as que causam alguma dúvida e para as quais uma nova análise seria necessário.

Os resultados apontam, que para o etanol, a conservação a  $T_1$  (-20 °C) conferiu maior estabilidade às amostras após o período de 30 dias de armazenamento. Observando-se ainda que para a concentração mais baixa é registado um maior número de diferenças não significativas entre a concentração inicial e ao fim de 30 dias de armazenamento. Este resultado vai ao encontro do trabalho de Hayden<sup>42</sup>, no qual foi observado que as amostras com uma concentração mais elevada têm tendência a que haja uma diminuição mais acentuada da concentração.

## 2.5.2. Metanol

### 2.5.2.1. Identificação de *outliers*

Para os valores que poderão ser discrepantes, em cada conjunto de amostras de ensaio com as mesmas condições, fez-se o teste de Grubbs.

Na tabela 16, encontram-se os valores dos resultados potencialmente discrepantes e o valor obtido para o parâmetro de teste, G experimental, calculado com valores que constam no anexo A4.2.

**Tabela 16.** Valores de G experimental para as amostras APT<sub>1</sub>-1a, APT<sub>1</sub>-1b, APT<sub>2</sub>-2d, BPT<sub>2</sub>-2b e BET<sub>2</sub>-2c.

Amostra de Ensaio	Valor potencialmente discrepante	G experimental
APT <sub>1</sub> -1a	0,64	1,36
APT <sub>1</sub> -1b	0,50	1,02
BPT <sub>1</sub> -2d	1,26	1,39
APT <sub>2</sub> -1d	0,59	1,49
BPT <sub>2</sub> -2b	1,31	1,36
BET <sub>2</sub> -2c	1,36	1,37

Como se pode verificar, para todas as amostras foi obtido um valor de G experimental inferior ao G tabelado, tendo sido aceite a hipótese nula. Com exceção da amostra APT<sub>2</sub>-1d que mostrou ser um *outlier* e foi excluída da restante análise estatística.

### 2.5.2.2. Teste t-Student emparelhado e variação das concentrações

À semelhança do teste anterior, também o teste t-Student emparelhado foi feito aos mesmos conjuntos de amostras de ensaio com as mesmas condições. Os valores obtidos para os parâmetros de teste e o t crítico uni caudal encontram-se em anexo (A5.2).

Nas tabelas 17, 18, 19 e 20 encontram-se registados os resultados de concentração de metanol obtidos, as diferenças obtidas para os três períodos de análise, a diferença percentual entre C<sub>0</sub> e C<sub>30</sub> e as conclusões obtidas por aplicação do teste-t emparelhado à diferença de concentrações C<sub>0</sub> e C<sub>30</sub>.

**Tabela 17.** Resultados obtidos para o analito metanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T<sub>1</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
APT <sub>1</sub> -1a	0,64	0,64	0,64	0,00	0,00	0,0	Não significativa
APT <sub>1</sub> -1b	0,50	0,52	0,50	-0,02	0,00	0,0	
APT <sub>1</sub> -1c	0,56	0,55	0,52	0,01	0,04	7,1	
APT <sub>1</sub> -1d	0,54	0,52	0,52	0,02	0,02	3,7	
APT <sub>1</sub> -2a	0,56	-	0,53	-	0,03	5,4	Significativa
APT <sub>1</sub> -2b	0,54	-	0,52	-	0,02	3,7	
APT <sub>1</sub> -2c	0,54	-	0,52	-	0,02	3,7	
APT <sub>1</sub> -2d	0,54	-	0,52	-	0,02	3,7	
AMT <sub>1</sub> -1a	0,52	0,51	0,49	0,01	0,03	5,8	Significativa
AMT <sub>1</sub> -1b	0,53	0,53	0,50	0,00	0,03	5,7	
AMT <sub>1</sub> -1c	0,54	0,49	0,48	0,05	0,06	11	
AMT <sub>1</sub> -1d	0,52	0,52	0,52	0,00	0,00	0,0	
AMT <sub>1</sub> -2a	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	Significativa
AMT <sub>1</sub> -2b	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	
AMT <sub>1</sub> -2c	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	
AMT <sub>1</sub> -2d	0,54	-	0,51	-	0,03	5,6	
AET <sub>1</sub> -1a	0,52	0,52	0,50	0,00	0,02	3,9	Significativa
AET <sub>1</sub> -1b	0,52	0,52	0,50	0,00	0,02	3,9	

<b>AET<sub>1</sub>-1c</b>	0,52	0,52	0,50	0,00	0,02	3,9	
<b>AET<sub>1</sub>-1d</b>	0,54	0,52	0,51	0,02	0,03	5,6	
<b>AET<sub>1</sub>-2a</b>	0,54	-	0,52	-	0,02	3,7	
<b>AET<sub>1</sub>-2b</b>	0,55	-	0,53	-	0,02	3,6	
<b>AET<sub>1</sub>-2c</b>	0,53	-	0,52	-	0,01	1,9	Significativa
<b>AET<sub>1</sub>-2d</b>	0,54	-	0,52	-	0,02	3,7	

Como se pode observar pela tabela 17, o valor máximo de diminuição de concentração de metanol foi de 11% para a amostra AMT<sub>1</sub>-1c e o mínimo foi de 0,0% para as amostras APT<sub>1</sub>-1a, APT<sub>1</sub>-1b e AMT<sub>1</sub>-1d.

Apenas um dos seis conjuntos não apresentou diferenças significativas durante os 30 dias.

As amostras de ensaio de volumes médio e elevado apresentam diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento. No entanto para as amostras de volume pequeno, os resultados obtidos quando o tubo foi aberto ao fim de 15 dias, APT<sub>1</sub>-1 têm diferenças não significativas entre C<sub>0</sub> e C<sub>30</sub>, enquanto para as amostras APT<sub>1</sub>-2 são registadas diferenças significativas. Estes resultados levantam algumas dúvidas e, nesse sentido. Deveria ser feita uma nova análise.

**Tabela 18.** Resultados obtidos para o analito metanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T<sub>1</sub> Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
<b>BPT<sub>1</sub>-1a</b>	1,30	1,27	1,26	0,03	0,04	3,08	Significativa
<b>BPT<sub>1</sub>-1b</b>	1,28	1,28	1,20	0,00	0,08	6,25	
<b>BPT<sub>1</sub>-1c</b>	1,31	1,33	1,23	-0,02	0,08	6,11	
<b>BPT<sub>1</sub>-1d</b>	1,27	1,28	1,22	-0,01	0,05	3,94	
<b>BPT<sub>1</sub>-2a</b>	1,32	-	1,24	-	0,08	6,06	Significativa
<b>BPT<sub>1</sub>-2b</b>	1,35	-	1,28	-	0,07	5,19	
<b>BPT<sub>1</sub>-2c</b>	1,36	-	1,28	-	0,08	5,88	
<b>BPT<sub>1</sub>-2d</b>	1,26	-	1,22	-	0,04	3,17	
<b>BMT<sub>1</sub>-1a</b>	1,28	1,32	1,28	-0,04	0,00	0,00	Não significativa
<b>BMT<sub>1</sub>-1b</b>	1,26	1,30	1,26	-0,04	0,00	0,00	
<b>BMT<sub>1</sub>-1c</b>	1,30	1,30	1,26	0,00	0,04	3,08	
<b>BMT<sub>1</sub>-1d</b>	1,30	1,32	1,28	-0,02	0,02	1,54	
<b>BMT<sub>1</sub>-2a</b>	1,33	-	1,24	-	0,09	6,77	Significativa
<b>BMT<sub>1</sub>-2b</b>	1,34	-	1,30	-	0,04	2,99	
<b>BMT<sub>1</sub>-2c</b>	1,33	-	1,26	-	0,07	5,26	
<b>BMT<sub>1</sub>-2d</b>	1,38	-	1,28	-	0,10	7,25	
<b>BET<sub>1</sub>-1a</b>	1,35	1,33	1,27	0,02	0,08	5,93	Significativa
<b>BET<sub>1</sub>-1b</b>	1,36	1,34	1,28	0,02	0,08	5,88	
<b>BET<sub>1</sub>-1c</b>	1,33	1,34	1,22	-0,01	0,11	8,27	
<b>BET<sub>1</sub>-1d</b>	1,37	1,34	1,27	0,03	0,10	7,30	
<b>BET<sub>1</sub>-2a</b>	1,34	-	1,29	-	0,05	3,73	Significativa

<b>BET<sub>1</sub>-2b</b>	1,34	-	1,26	-	0,08	5,97
<b>BET<sub>1</sub>-2c</b>	1,31	-	1,28	-	0,03	2,29
<b>BET<sub>1</sub>-2d</b>	1,32	-	1,25	-	0,07	5,30

Como se pode observar pela tabela 18, relativamente à concentração mais elevada, o valor máximo de diminuição de concentração de metanol foi de 8,27% para a amostra BET<sub>1</sub>-1c e o mínimo foi de 0,00% para as amostras BMT<sub>1</sub>-1a e BMT<sub>1</sub>-1b.

Apenas um dos conjuntos que não apresentou diferenças significativas durante os 30 dias.

As amostras de ensaio de volumes pequeno e elevado apresentam diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento. Nos resultados obtidos para as amostras de volume médio, BMT<sub>1</sub>-1 têm diferenças não significativas e as BMT<sub>1</sub>-2 diferenças significativas, que mais uma vez levanta algumas dúvidas, que deverão ser esclarecidas com a realização de novos ensaios.

Nas tabelas seguintes, encontram-se registados os resultados obtidos para T<sub>2</sub> (5-6 °C).

**Tabela 19.** Resultados obtidos para o analito metanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T<sub>2</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
APT <sub>2</sub> -1a	0,52	0,51	0,50	0,01	0,02	3,9	
APT <sub>2</sub> -1b	0,52	0,52	0,50	0,00	0,02	3,9	Significativa
APT <sub>2</sub> -1c	0,53	0,52	0,52	0,01	0,01	1,9	
APT <sub>2</sub> -2a	0,53	-	0,50	-	0,03	5,7	
APT <sub>2</sub> -2b	0,52	-	0,51	-	0,01	1,9	Significativa
APT <sub>2</sub> -2c	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	
APT <sub>2</sub> -2d	0,54	-	0,48	-	0,06	11	
AMT <sub>2</sub> -1a	0,52	0,50	0,51	0,02	0,01	1,9	
AMT <sub>2</sub> -1b	0,52	0,50	0,50	0,02	0,02	3,9	Não significativa
AMT <sub>2</sub> -1c	0,50	0,46	0,50	0,04	0,00	0,0	
AMT <sub>2</sub> -1d	0,50	0,50	0,50	0,00	0,00	0,0	
AMT <sub>2</sub> -2a	0,51	-	0,51	-	0,00	0,0	
AMT <sub>2</sub> -2b	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	Significativa
AMT <sub>2</sub> -2c	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	
AMT <sub>2</sub> -2d	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	
AET <sub>2</sub> -1a	0,52	0,50	0,49	0,02	0,03	5,8	Não significativa

<b>AET<sub>2</sub>-1b</b>	0,50	0,50	0,50	0,00	0,00	0,0
<b>AET<sub>2</sub>-1c</b>	0,50	0,52	0,50	-0,02	0,00	0,0
<b>AET<sub>2</sub>-1d</b>	0,51	0,52	0,49	-0,01	0,02	3,9
<b>AET<sub>2</sub>-2a</b>	0,53	-	0,51	-	0,02	3,8
<b>AET<sub>2</sub>-2b</b>	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9
<b>AET<sub>2</sub>-2c</b>	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9
<b>AET<sub>2</sub>-2d</b>	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9

Não significativa

Como se pode observar pela tabela 19, o valor máximo de diminuição de concentração de metanol foi de 11% para a amostra APT<sub>2</sub>-2d e o mínimo foi de 0,00% para as amostras AMT<sub>2</sub>-1c, AMT<sub>2</sub>-1d, AMT<sub>2</sub>-2a, AET<sub>2</sub>-1b e AET<sub>2</sub>-1c.

Três dos seis conjuntos não apresentaram diferenças significativas durante os 30 dias.

As amostras de ensaio de volume pequeno apresentam diferenças significativas, enquanto as de volume elevado diferenças não significativas. Os resultados obtidos para as AMT<sub>2</sub>-1 e AMT<sub>2</sub>-2 suscitam dúvidas e como tal, deveria ser feita uma nova análise.



**Tabela 20.** Resultados obtidos para o analito metanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T<sub>2</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
BPT <sub>2</sub> -1a	1,30	1,26	1,21	0,04	0,09	6,92	Significativa
BPT <sub>2</sub> -1b	1,32	1,27	1,24	0,05	0,08	6,06	
BPT <sub>2</sub> -1c	1,31	1,28	1,24	0,03	0,07	5,34	
BPT <sub>2</sub> -1d	1,33	1,28	1,26	0,05	0,07	5,26	
BPT <sub>2</sub> -2a	1,24	-	1,22	-	0,02	1,61	Significativa
BPT <sub>2</sub> -2b	1,31	-	1,26	-	0,05	3,82	
BPT <sub>2</sub> -2c	1,22	-	1,11	-	0,11	9,02	
BPT <sub>2</sub> -2d	1,26	-	1,24	-	0,02	1,59	
BMT <sub>2</sub> -1a	1,24	1,27	1,24	-0,03	0,00	0,00	Não significativa
BMT <sub>2</sub> -1b	1,22	1,26	1,14	-0,04	-0,02	-1,64	
BMT <sub>2</sub> -1c	1,32	1,29	1,26	0,03	0,06	4,55	
BMT <sub>2</sub> -1d	1,26	1,20	1,26	0,06	0,00	0,00	
BMT <sub>2</sub> -2a	1,28	-	1,24	-	0,04	3,13	Significativa
BMT <sub>2</sub> -2b	1,24	-	1,21	-	0,03	2,42	
BMT <sub>2</sub> -2c	1,27	-	1,26	-	0,01	0,79	
BMT <sub>2</sub> -2d	1,28	-	1,26	-	0,02	1,56	
BET <sub>2</sub> -1a	1,32	1,28	1,27	0,04	0,05	3,79	Significativa
BET <sub>2</sub> -1b	1,34	1,28	1,26	0,06	0,08	5,97	
BET <sub>2</sub> -1c	1,35	1,31	1,27	0,04	0,08	5,93	

<b>BET<sub>2</sub>-1d</b>	1,32	1,29	1,26	0,03	0,06	4,55	
<b>BET<sub>2</sub>-2a</b>	1,29	-	1,22	-	0,07	5,43	
<b>BET<sub>2</sub>-2b</b>	1,30	-	1,27	-	0,03	2,31	
<b>BET<sub>2</sub>-2c</b>	1,36	-	1,26	-	0,10	7,35	Significativa
<b>BET<sub>2</sub>-2d</b>	1,32		1,24	-	0,08	6,06	

Como se pode observar pela tabela 20, relativamente à concentração mais elevada, o valor máximo de diminuição de concentração de metanol foi de 9,02% para a amostra BPT<sub>2</sub>-2c e o mínimo foi de 0,00% para as amostras BMT<sub>2</sub>-1a e BMT<sub>2</sub>-1d.

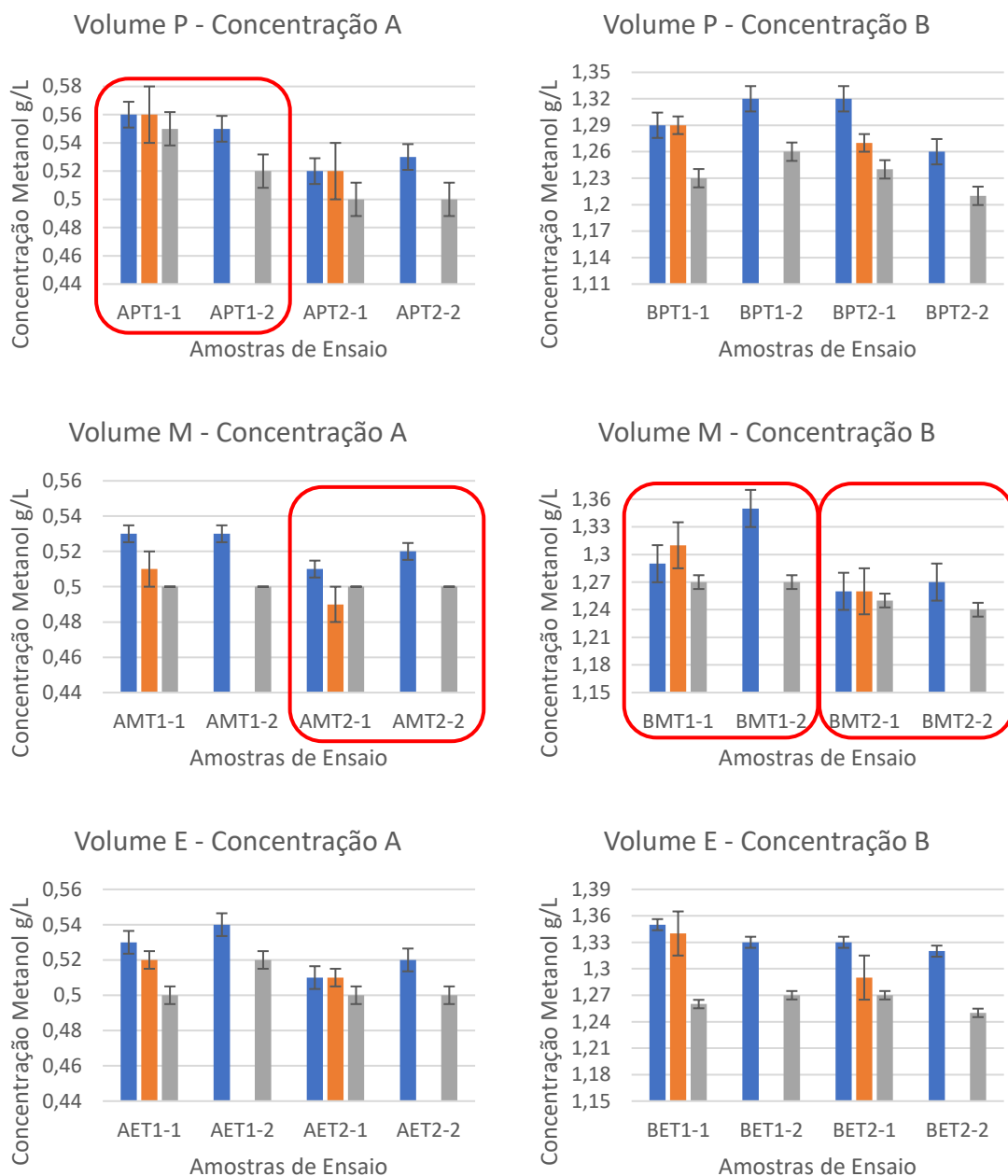
Apenas um dos conjuntos não apresentou diferenças significativas durante os 30 dias.

As amostras de ensaio de volumes pequeno e elevado apresentam diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento. No entanto para as amostras de volume médio as BMT<sub>2</sub>-1 têm diferenças não significativas e as BMT<sub>2</sub>-2 diferenças significativas. Estes ensaios deverão ser repetidos.

### 2.5.2.3. T<sub>1</sub> vs T<sub>2</sub>

Depois de registados os resultados obtidos para cada temperatura (T<sub>1</sub>- -20 °C; T<sub>2</sub>- 5-6 °C), os mesmos foram agrupados em gráficos por volume e concentração, para melhor visualização do efeito das duas temperaturas de ensaio, para o mesmo período de tempo.

Na figura 12 encontram-se representados os resultados obtido para as amostras referentes ao metanol.



**Figura 12.** Gráficos representativos da evolução da concentração do metanol para um período de 30 dias.  
 Legenda: azul – C<sub>0</sub>, laranja – C<sub>15</sub> e cinzento – C<sub>30</sub>.

As amostras de ensaio assinaladas a vermelho, são as que causam alguma dúvida e para as quais uma nova análise seria necessária.

O conjunto de ensaios realizado aponta para que os parâmetros avaliados tenham efeito significativo na concentração de metanol após armazenamento de 30 dias, nas condições ensaiadas, não sendo possível retirar conclusões sobre efeito diferenciado da temperatura.

Os resultados devem ser aprofundados com mais réplicas para cada uma das condições e períodos de tempo estudados.

## 2.5.3. 2-Propanol

### 2.5.3.1. Identificação de *outliers*

Para os valores que poderão ser discrepantes, em cada conjunto de amostras de ensaio com as mesmas condições, fez-se o teste de Grubbs.

Na tabela 21, encontram-se os valores dos resultados potencialmente discrepantes e o valor obtido para o parâmetro de teste, G experimental, calculado com os valores que constam no anexo A4.3.

**Tabela 21.** Valores de G experimental para as amostras APT<sub>1</sub>-1a, BPT<sub>1</sub>-2b, BPT<sub>2</sub>-2b, BPT<sub>2</sub>-2c, BMT<sub>2</sub>-1c e BET<sub>2</sub>-2c.

Amostra de Ensaio	Valor potencialmente discrepante	G experimental
APT <sub>1</sub> -1a	0,63	1,47
BPT <sub>1</sub> -2b	1,34	1,39
BPT <sub>2</sub> -2b	1,28	0,98
BPT <sub>2</sub> -2c	1,16	1,37
BMT <sub>2</sub> -1b	1,18	1,23
BMT <sub>2</sub> -1c	1,28	1,11
BET <sub>2</sub> -2c	1,31	1,44

Como se pode verificar, para todas as amostras foi obtido um valor de G experimental inferior ao G tabelado, tendo sido aceite a hipótese nula. Nenhum ensaio foi considerado um *outlier*.

### 2.5.3.2. Teste t-Student emparelhado e variação das concentrações

À semelhança do teste anterior, também o teste t-Student emparelhado foi feito aos mesmos conjuntos de amostras de ensaio com as mesmas condições. Os valores obtidos para os parâmetros de teste e para o t crítico uni caudal encontram-se em anexo (A5.3).

Nas tabelas 22, 23, 24 e 25 encontram-se registados os resultados de concentração do 2-propanol obtidos, as diferenças obtidas para os três períodos de análise, a diferença percentual entre C<sub>0</sub> e C<sub>30</sub> e as conclusões obtidas por aplicação do teste-t à diferença de concentração C<sub>0</sub> e C<sub>30</sub>.

**Tabela 22.** Resultados obtidos para o analito 2-propanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T<sub>1</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
APT <sub>1</sub> -1a	0,63	0,64	0,60	-0,01	0,03	4,8	
APT <sub>1</sub> -1b	0,49	0,50	0,48	-0,01	0,01	2,0	Significativa
APT <sub>1</sub> -1c	0,52	0,52	0,50	0,00	0,02	3,9	
APT <sub>1</sub> -1d	0,51	0,52	0,49	-0,01	0,02	3,9	
APT <sub>1</sub> -2a	0,54	-	0,50	-	0,04	7,4	
APT <sub>1</sub> -2b	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	Significativa
APT <sub>1</sub> -2c	0,52	-	0,49	-	0,03	5,8	
APT <sub>1</sub> -2d	0,52	-	0,50	-	0,02	3,9	
AMT <sub>1</sub> -1a	0,52	0,49	0,46	0,03	0,06	12	
AMT <sub>1</sub> -1b	0,50	0,50	0,47	0,00	0,03	6,0	Significativa
AMT <sub>1</sub> -1c	0,51	0,50	0,46	0,01	0,05	9,8	
AMT <sub>1</sub> -1d	0,52	0,50	0,49	0,02	0,03	5,8	
AMT <sub>1</sub> -2a	0,51	-	0,48	-	0,03	5,9	
AMT <sub>1</sub> -2b	0,52	-	0,48	-	0,04	7,7	Significativa
AMT <sub>1</sub> -2c	0,50	-	0,47	-	0,03	6,0	
AMT <sub>1</sub> -2d	0,50	-	0,48	-	0,02	4,0	

<b>AET<sub>1</sub>-1a</b>	0,51	0,50	0,48	0,01	0,03	5,9	
<b>AET<sub>1</sub>-1b</b>	0,51	0,50	0,48	0,01	0,03	5,9	
<b>AET<sub>1</sub>-1c</b>	0,50	0,50	0,46	0,00	0,04	8,0	Significativa
<b>AET<sub>1</sub>-1d</b>	0,52	0,50	0,48	0,02	0,04	7,7	
<b>AET<sub>1</sub>-2a</b>	0,52	-	0,48	-	0,04	7,7	
<b>AET<sub>1</sub>-2b</b>	0,52	-	0,49	-	0,03	5,8	
<b>AET<sub>1</sub>-2c</b>	0,51	-	0,47	-	0,04	7,8	Significativa
<b>AET<sub>1</sub>-2d</b>	0,50	-	0,47	-	0,03	6,0	

Como se pode observar pela tabela 22, o valor máximo de diminuição da concentração de 2-propanol foi de 12% para a amostra AMT<sub>1</sub>-1a e o valor mínimo foi de 2,0% para a amostra APT<sub>1</sub>-1b.

Todos os conjuntos apresentaram diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento.

**Tabela 23.** Resultados obtidos para o analito 2-propanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T<sub>1</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
BPT <sub>1</sub> -1a	1,28	1,22	1,20	0,06	0,08	6,25	
BPT <sub>1</sub> -1b	1,30	1,22	1,14	0,08	0,16	12,3	Significativa
BPT <sub>1</sub> -1c	1,28	1,25	1,18	0,03	0,10	7,81	
BPT <sub>1</sub> -1d	1,26	1,22	1,18	0,04	0,08	6,35	
BPT <sub>1</sub> -2a	1,24	-	1,18	-	0,06	4,84	
BPT <sub>1</sub> -2b	1,34	-	1,24	-	0,10	7,46	Significativa
BPT <sub>1</sub> -2c	1,28	-	1,22	-	0,06	4,69	
BPT <sub>1</sub> -2d	1,26	-	1,16	-	0,10	7,94	
BMT <sub>1</sub> -1a	1,28	1,24	1,22	0,04	0,06	4,69	
BMT <sub>1</sub> -1b	1,28	1,24	1,19	0,04	0,09	7,03	Significativa
BMT <sub>1</sub> -1c	1,26	1,22	1,20	0,04	0,06	4,76	
BMT <sub>1</sub> -1d	1,30	1,24	1,22	0,06	0,08	6,15	
BMT <sub>1</sub> -2a	1,29	-	1,19	-	0,10	7,75	
BMT <sub>1</sub> -2b	1,31	-	1,24	-	0,07	5,34	Significativa
BMT <sub>1</sub> -2c	1,30	-	1,20	-	0,10	7,69	
BMT <sub>1</sub> -2d	1,30	-	1,22	-	0,08	6,15	
BET <sub>1</sub> -1a	1,32	1,25	1,20	0,07	0,12	9,09	Significativa



<b>BET<sub>1</sub>-1b</b>	1,31	1,26	1,22	0,05	0,09	6,87
<b>BET<sub>1</sub>-1c</b>	1,28	1,25	1,17	0,03	0,11	8,59
<b>BET<sub>1</sub>-1d</b>	1,32	1,27	1,22	0,05	0,10	7,58
<b>BET<sub>1</sub>-2a</b>	1,30	-	1,22	-	0,08	6,15
<b>BET<sub>1</sub>-2b</b>	1,28	-	1,20	-	0,08	6,25
<b>BET<sub>1</sub>-2c</b>	1,29	-	1,22	-	0,07	5,43
<b>BET<sub>1</sub>-2d</b>	1,28	-	1,18	-	0,10	7,81

Significativa

Como se pode observar pela tabela 23, relativamente à concentração mais elevada, o valor máximo de diminuição da concentração de 2-propanol foi de 12,3% para a amostra BPT<sub>1</sub>-1b e o valor mínimo foi de 4,69% para a amostra BMT<sub>1</sub>-1a.

Todos os conjuntos apresentaram diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento.

Nas tabelas seguintes, encontram-se registados os resultados obtidos para T<sub>2</sub> (5-6 °C).

**Tabela 24.** Resultados obtidos para o analito 2-propanol em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T<sub>2</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
APT <sub>2</sub> -1a	0,50	0,48	0,47	0,02	0,03	6,0	
APT <sub>2</sub> -1b	0,50	0,47	0,46	0,03	0,04	8,0	Significativa
APT <sub>2</sub> -1c	0,52	0,49	0,48	0,03	0,04	7,7	
APT <sub>2</sub> -1d	0,53	0,52	0,50	0,01	0,03	5,7	
APT <sub>2</sub> -2a	0,50	-	0,47	-	0,03	6,0	
APT <sub>2</sub> -2b	0,50	-	0,47	-	0,03	6,0	Significativa
APT <sub>2</sub> -2c	0,50	-	0,48	-	0,02	4,0	
APT <sub>2</sub> -2d	0,49	-	0,46	-	0,03	6,1	
AMT <sub>2</sub> -1a	0,48	0,47	0,46	0,01	0,02	4,2	
AMT <sub>2</sub> -1b	0,48	0,48	0,46	0,00	0,02	4,2	Significativa
AMT <sub>2</sub> -1c	0,49	0,46	0,45	0,03	0,04	8,2	
AMT <sub>2</sub> -1d	0,47	0,48	0,46	-0,01	0,01	2,1	
AMT <sub>2</sub> -2a	0,48	-	0,47	-	0,01	2,1	
AMT <sub>2</sub> -2b	0,48	-	0,46	-	0,02	4,2	Significativa
AMT <sub>2</sub> -2c	0,49	-	0,47	-	0,02	4,1	
AMT <sub>2</sub> -2d	0,50	-	0,47	-	0,03	6,0	

<b>AET<sub>2</sub>-1a</b>	0,49	0,46	0,46	0,03	0,03	6,1	
<b>AET<sub>2</sub>-1b</b>	0,50	0,47	0,47	0,03	0,03	6,0	
<b>AET<sub>2</sub>-1c</b>	0,48	0,48	0,47	0,00	0,01	2,1	Significativa
<b>AET<sub>2</sub>-1d</b>	0,50	0,48	0,46	0,02	0,04	8,0	
<b>AET<sub>2</sub>-2a</b>	0,48	-	0,47	-	0,01	2,1	
<b>AET<sub>2</sub>-2b</b>	0,48	-	0,46	-	0,02	4,2	
<b>AET<sub>2</sub>-2c</b>	0,50	-	0,46	-	0,04	8,0	Significativa
<b>AET<sub>2</sub>-2d</b>	0,49	-	0,48	-	0,01	2,1	

Como se pode observar pela tabela 24, o valor máximo de diminuição da concentração de 2-propanol foi de 8,2% para a amostra AMT<sub>2</sub>-1c e o valor mínimo foi de 2,0% para a amostra AET<sub>2</sub>-2d.

Todos os conjuntos apresentaram diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento.

**Tabela 25.** Resultados obtidos para o analito 2-propanol em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T<sub>2</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
BPT <sub>2</sub> -1a	1,24	1,21	1,17	0,03	0,07	5,65	
BPT <sub>2</sub> -1b	1,22	1,21	1,18	0,01	0,04	3,28	Significativa
BPT <sub>2</sub> -1c	1,22	1,22	1,18	0,00	0,04	3,28	
BPT <sub>2</sub> -1d	1,26	1,21	1,20	0,05	0,06	4,76	
BPT <sub>2</sub> -2a	1,23	-	1,18	-	0,05	4,07	
BPT <sub>2</sub> -2b	1,28	-	1,22	-	0,06	4,69	Significativa
BPT <sub>2</sub> -2c	1,16	-	1,04	-	0,12	10,3	
BPT <sub>2</sub> -2d	1,25	-	1,18	-	0,07	5,60	
BMT <sub>2</sub> -1a	1,21	1,20	1,18	0,01	0,03	2,48	
BMT <sub>2</sub> -1b	1,18	1,18	1,18	0,00	0,00	0,00	Não significativa
BMT <sub>2</sub> -1c	1,28	1,23	1,20	0,05	0,08	6,25	
BMT <sub>2</sub> -1d	1,24	1,14	1,20	0,10	0,04	3,23	
BMT <sub>2</sub> -2a	1,26	-	1,18	-	0,08	6,35	
BMT <sub>2</sub> -2b	1,22	-	1,16	-	0,06	4,92	Significativa
BMT <sub>2</sub> -2c	1,24	-	1,18	-	0,06	4,84	
BMT <sub>2</sub> -2d	1,27	-	1,19	-	0,08	6,30	
BET <sub>2</sub> -1a	1,24	1,20	1,20	0,04	0,04	3,23	Significativa

<b>BET<sub>2</sub>-1b</b>	1,26	1,21	1,18	0,05	0,08	6,35	
<b>BET<sub>2</sub>-1c</b>	1,26	1,23	1,20	0,03	0,06	4,76	
<b>BET<sub>2</sub>-1d</b>	1,26	1,20	1,20	0,06	0,06	4,76	
<b>BET<sub>2</sub>-2a</b>	1,26	-	1,16	-	0,10	7,94	
<b>BET<sub>2</sub>-2b</b>	1,24	-	1,19	-	0,05	4,03	
<b>BET<sub>2</sub>-2c</b>	1,31	-	1,20	-	0,11	8,40	Significativa
<b>BET<sub>2</sub>-2d</b>	1,24	-	1,20	-	0,04	3,23	

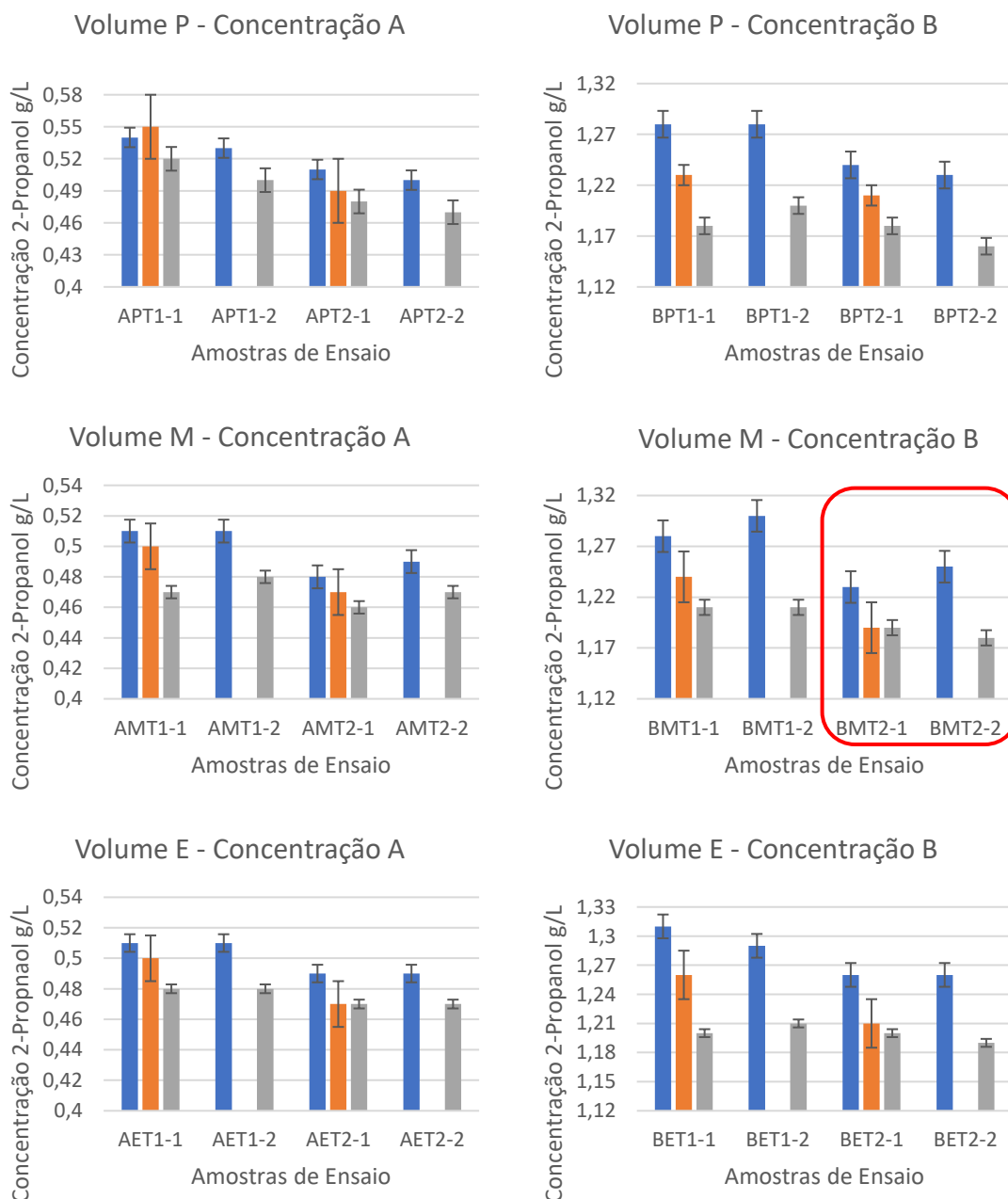
Como se pode observar pela tabela 25, relativamente à concentração mais elevada, o valor máximo de diminuição de concentração de 2-propanol foi de 10,3% para a amostra BPT<sub>2</sub>-2c e o mínimo foi de 0% para a amostra BMT<sub>2</sub>-1b.

As amostras de ensaio de volumes pequeno e elevado apresentam diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento. Os resultados obtidos para as amostras de volume médio, BMT<sub>2</sub>-1 e BMT<sub>2</sub>-2, suscitam dúvidas e deverá ser feita uma nova análise.

### 2.5.3.3. T<sub>1</sub> vs T<sub>2</sub>

Depois de registados os resultados obtidos para cada temperatura (T<sub>1</sub>- -20 °C; T<sub>2</sub>- 5-6 °C), os mesmos foram agrupados em gráficos por volume e concentração, para melhor visualização do efeito das duas temperaturas de ensaio, para o mesmo período de tempo.

Na figura 13 encontram-se representados os resultados obtido para as amostras referentes ao 2-propanol.



**Figura 13.** Gráficos representativos da evolução da concentração do 2-propanol para um período de 30 dias. Legenda: azul – C<sub>0</sub>, laranja – C<sub>15</sub> e cinzento – C<sub>30</sub>.

As amostras de ensaio assinaladas a vermelho, são as que causam alguma dúvida e para as quais uma nova análise seria necessário.

Para ambos os valores de temperatura de armazenamento registaram-se diferenças significativas entre a concentração inicial  $C_0$  e a concentração ao fim de 30 dias de armazenamento,  $C_{30}$ , independentemente do volume de amostra, da concentração e da abertura intermédia do tubo.

## 2.5.4. Acetona

### 2.5.4.1. Identificação de *outliers*

Para os valores que poderão ser discrepantes, em cada conjunto de amostras de ensaio com as mesmas condições, fez-se o teste de Grubbs.

Na tabela 26, encontram-se os valores dos resultados potencialmente discrepantes e o valor obtido para o parâmetro de teste, G experimental, calculado com os valores que constam no anexo A4.4.

**Tabela 26.** Valores de G experimental para as amostras APT<sub>1</sub>-1a, BPT<sub>1</sub>-2a, BPT<sub>1</sub>-2b, BMT<sub>1</sub>-1c, BMT<sub>1</sub>-2d, BPT<sub>2</sub>-1b e BPT<sub>2</sub>-2c.

Amostra de Ensaio	Valor potencialmente discrepante	G experimental
APT <sub>1</sub> -1a	0,62	1,48
BPT <sub>1</sub> -2a	1,22	0,99
BPT <sub>1</sub> -2b	1,37	1,30
BMT <sub>1</sub> -1c	1,26	1,48
BMT <sub>1</sub> -2d	1,25	1,29
BPT <sub>2</sub> -1b	1,12	1,05
BPT <sub>2</sub> -2c	1,12	1,46

Como se pode verificar, para todas as amostras foi obtido um valor de G experimental inferior ao G tabelado, tendo sido aceite a hipótese nula. Nenhum ensaio foi considerado um *outlier*.

### 2.5.4.2. Teste t-Student emparelhado e variação das concentrações

À semelhança do teste anterior, também o teste t-Student emparelhado foi feito aos mesmos conjuntos de amostras de ensaio com as mesmas condições. Os valores obtidos para os parâmetros de teste e o t crítico uni caudal encontram-se em anexo (A5.4).

Nas tabelas 27, 28, 29 e 30 encontram-se registados os resultados de concentração da acetona obtidos, as diferenças obtidas para os três dias de análise, a diferença percentual entre C<sub>0</sub> e C<sub>30</sub> e as conclusões obtidas por aplicação do teste-t emparelhado à diferença de concentrações C<sub>0</sub> e C<sub>30</sub>.



**Tabela 27.** Resultados obtidos para o analito acetona em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T<sub>1</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
<b>APT<sub>1</sub>-1a</b>	0,62	0,61	0,51	0,01	0,11	18	
<b>APT<sub>1</sub>-1b</b>	0,47	0,45	0,40	0,02	0,07	15	Significativa
<b>APT<sub>1</sub>-1c</b>	0,50	0,46	0,42	0,04	0,08	16	
<b>APT<sub>1</sub>-1d</b>	0,48	0,51	0,40	-0,03	0,08	17	
<b>APT<sub>1</sub>-2a</b>	0,52	-	0,39	-	0,13	25	
<b>APT<sub>1</sub>-2b</b>	0,49	-	0,39	-	0,10	20	Significativa
<b>APT<sub>1</sub>-2c</b>	0,50	-	0,40	-	0,10	20	
<b>APT<sub>1</sub>-2d</b>	0,51	-	0,41	-	0,10	20	
<b>AMT<sub>1</sub>-1a</b>	0,50	0,49	0,40	0,01	0,10	20	
<b>AMT<sub>1</sub>-1b</b>	0,47	0,46	0,40	0,01	0,07	15	Significativa
<b>AMT<sub>1</sub>-1c</b>	0,48	0,48	0,40	0,00	0,08	17	
<b>AMT<sub>1</sub>-1d</b>	0,50	0,49	0,42	0,01	0,08	16	
<b>AMT<sub>1</sub>-2a</b>	0,49	-	0,42	-	0,07	14	
<b>AMT<sub>1</sub>-2b</b>	0,50	-	0,42	-	0,08	16	Significativa
<b>AMT<sub>1</sub>-2c</b>	0,46	-	0,42	-	0,04	8,7	
<b>AMT<sub>1</sub>-2d</b>	0,46	-	0,43	-	0,03	6,5	
<b>AET<sub>1</sub>-1a</b>	0,48	0,48	0,42	0,00	0,06	13	Significativa

<b>AET<sub>1</sub>-1b</b>	0,49	0,46	0,42	0,03	0,07	14
<b>AET<sub>1</sub>-1c</b>	0,48	0,46	0,40	0,02	0,08	17
<b>AET<sub>1</sub>-1d</b>	0,49	0,46	0,41	0,03	0,08	16
<b>AET<sub>1</sub>-2a</b>	0,50	-	0,40	-	0,10	20
<b>AET<sub>1</sub>-2b</b>	0,48	-	0,40	-	0,08	17
<b>AET<sub>1</sub>-2c</b>	0,52	-	0,41	-	0,11	21
<b>AET<sub>1</sub>-2d</b>	0,50	-	0,42	-	0,08	16

Significativa

Como se pode observar pela tabela 27, o valor máximo de diminuição de concentração de acetona foi de 25% para a amostra APT<sub>1</sub>-2a e o mínimo foi de 6,3% para a amostra AMT<sub>1</sub>-2d.

Todos os conjuntos apresentaram diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento.

**Tabela 28.** Resultados obtidos para o analito acetona em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T<sub>1</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
<b>BPT<sub>1</sub>-1a</b>	1,31	1,17	0,76	0,14	0,55	42,0	
<b>BPT<sub>1</sub>-1b</b>	1,34	1,16	0,76	0,18	0,58	43,3	Significativa
<b>BPT<sub>1</sub>-1c</b>	1,28	1,15	1,10	0,13	0,18	14,1	
<b>BPT<sub>1</sub>-1d</b>	1,26	1,13	1,09	0,13	0,17	13,5	
<b>BPT<sub>1</sub>-2a</b>	1,22	-	1,07	-	0,15	12,3	
<b>BPT<sub>1</sub>-2b</b>	1,37	-	1,11	-	0,26	19,0	Significativa
<b>BPT<sub>1</sub>-2c</b>	1,25	-	1,13	-	0,12	9,60	
<b>BPT<sub>1</sub>-2d</b>	1,30	-	1,02	-	0,28	21,5	
<b>BMT<sub>1</sub>-1a</b>	1,32	1,14	1,10	0,18	0,22	16,7	
<b>BMT<sub>1</sub>-1b</b>	1,32	1,16	1,09	0,16	0,23	17,4	Significativa
<b>BMT<sub>1</sub>-1c</b>	1,26	1,12	1,06	0,14	0,20	15,9	
<b>BMT<sub>1</sub>-1d</b>	1,33	1,16	1,06	0,17	0,27	20,3	
<b>BMT<sub>1</sub>-2a</b>	1,30	-	1,08	-	0,22	16,9	
<b>BMT<sub>1</sub>-2b</b>	1,34	-	1,12	-	0,22	16,4	Significativa
<b>BMT<sub>1</sub>-2c</b>	1,30	-	1,07	-	0,23	17,7	
<b>BMT<sub>1</sub>-2d</b>	1,25	-	1,10	-	0,15	12,0	
<b>BET<sub>1</sub>-1a</b>	1,34	1,16	1,08	0,18	0,26	19,4	Significativa
<b>BET<sub>1</sub>-1b</b>	1,34	1,18	1,10	0,16	0,24	17,9	

<b>BET<sub>1</sub>-1c</b>	1,30	1,12	1,04	0,18	0,26	20,0	
<b>BET<sub>1</sub>-1d</b>	1,31	1,19	1,10	0,12	0,21	16,0	
<b>BET<sub>1</sub>-2a</b>	1,32	-	1,11	-	0,21	15,9	
<b>BET<sub>1</sub>-2b</b>	1,28	-	1,04	-	0,24	18,8	
<b>BET<sub>1</sub>-2c</b>	1,32	-	1,09	-	0,23	17,4	Significativa
<b>BET<sub>1</sub>-2d</b>	1,30	-	1,06	-	0,24	18,5	

Como se pode observar pela tabela 28, relativamente à concentração mais elevada, o valor máximo de diminuição de concentração de acetona foi de 43,3% para a amostra BPT<sub>1</sub>-1b e o mínimo foi de 9,60% para a amostra BPT<sub>1</sub>-2c.

Todos os conjuntos apresentaram diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento.

Nas tabelas seguintes, encontram-se registados os resultados obtidos para T<sub>2</sub> (5-6 °C).

**Tabela 29.** Resultados obtidos para o analito acetona em amostras de ensaio de concentração A e armazenados à temperatura T<sub>2</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
<b>APT<sub>2</sub>-1a</b>	0,48	0,44	0,41	0,04	0,07	15	
<b>APT<sub>2</sub>-1b</b>	0,50	0,42	0,39	0,08	0,11	22	Significativa
<b>APT<sub>2</sub>-1c</b>	0,52	0,44	0,42	0,08	0,10	19	
<b>APT<sub>2</sub>-1d</b>	0,49	0,46	0,42	0,03	0,07	14	
<b>APT<sub>2</sub>-2a</b>	0,48	-	0,40	-	0,08	17	
<b>APT<sub>2</sub>-2b</b>	0,50	-	0,41	-	0,09	18	Significativa
<b>APT<sub>2</sub>-2c</b>	0,51	-	0,42	-	0,09	18	
<b>APT<sub>2</sub>-2d</b>	0,47	-	0,40	-	0,07	15	
<b>AMT<sub>2</sub>-1a</b>	0,45	0,42	0,42	0,03	0,03	6,7	
<b>AMT<sub>2</sub>-1b</b>	0,44	0,44	0,40	0,00	0,04	9,1	Significativa
<b>AMT<sub>2</sub>-1c</b>	0,50	0,42	0,40	0,08	0,10	20	
<b>AMT<sub>2</sub>-1d</b>	0,46	0,44	0,41	0,02	0,05	11	
<b>AMT<sub>2</sub>-2a</b>	0,47	-	0,42	-	0,05	11	
<b>AMT<sub>2</sub>-2b</b>	0,44	-	0,42	-	0,02	4,6	Significativa
<b>AMT<sub>2</sub>-2c</b>	0,50	-	0,42	-	0,08	16	
<b>AMT<sub>2</sub>-2d</b>	0,49	-	0,41	-	0,08	16	
<b>AET<sub>2</sub>-1a</b>	0,47	0,42	0,40	0,05	0,07	15	
<b>AET<sub>2</sub>-1b</b>	0,50	0,42	0,42	0,08	0,08	16	Significativa
<b>AET<sub>2</sub>-1c</b>	0,48	0,43	0,44	0,05	0,04	8,3	
<b>AET<sub>2</sub>-1d</b>	0,50	0,44	0,43	0,06	0,07	14	
<b>AET<sub>2</sub>-2a</b>	0,44	-	0,42	-	0,02	4,6	Significativa

<b>AET<sub>2</sub>-2b</b>	0,46	-	0,42	-	0,04	8,7
<b>AET<sub>2</sub>-2c</b>	0,48	-	0,42	-	0,06	13
<b>AET<sub>2</sub>-2d</b>	0,48	-	0,43	-	0,05	10

Como se pode observar pela tabela 29, o valor máximo de diminuição de concentração de acetona foi de 22% para a amostra APT<sub>2</sub>-1b e o mínimo foi de 4,6% para a amostra AMT<sub>2</sub>-2b.

Todos os conjuntos apresentaram diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento.

**Tabela 30.** Resultados obtidos para o analito acetona em amostras de ensaio de concentração B e armazenados à temperatura T<sub>2</sub>. Concentrações expressas em g/L.

AE	C <sub>0</sub>	C <sub>15</sub>	C <sub>30</sub>	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>15</sub> )	Diferença (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	Diferença % (C <sub>0</sub> - C <sub>30</sub> )	t-Student
BPT <sub>2</sub> -1a	1,22	1,12	1,04	0,10	0,18	14,8	
BPT <sub>2</sub> -1b	1,12	1,10	1,04	0,02	0,08	7,14	Significativa
BPT <sub>2</sub> -1c	1,14	1,11	1,03	0,03	0,11	9,65	
BPT <sub>2</sub> -1d	1,20	1,08	1,03	0,12	0,17	14,2	
BPT <sub>2</sub> -2a	1,24	-	1,02	-	0,22	17,7	
BPT <sub>2</sub> -2b	1,28	-	1,10	-	0,18	14,1	Significativa
BPT <sub>2</sub> -2c	1,12	-	0,91	-	0,21	18,8	
BPT <sub>2</sub> -2d	1,25	-	1,04	-	0,21	16,8	
BMT <sub>2</sub> -1a	1,21	1,10	1,02	0,11	0,19	15,7	
BMT <sub>2</sub> -1b	1,18	1,04	1,04	0,14	0,14	11,9	Significativa
BMT <sub>2</sub> -1c	1,24	1,13	1,08	0,11	0,16	12,9	
BMT <sub>2</sub> -1d	1,25	1,04	1,08	0,21	0,17	13,6	
BMT <sub>2</sub> -2a	1,24	-	1,02	-	0,22	17,7	
BMT <sub>2</sub> -2b	1,24	-	1,04	-	0,20	16,1	Significativa
BMT <sub>2</sub> -2c	1,24	-	1,04	-	0,20	16,1	
BMT <sub>2</sub> -2d	1,27	-	1,05	-	0,22	17,3	
BET <sub>2</sub> -1a	1,17	1,10	1,06	0,07	0,11	9,40	Significativa

<b>BET<sub>2</sub>-1b</b>	1,24	1,10	1,08	0,14	0,16	12,9	
<b>BET<sub>2</sub>-1c</b>	1,20	1,10	1,08	0,10	0,12	10,0	
<b>BET<sub>2</sub>-1d</b>	1,23	1,08	1,08	0,15	0,15	12,2	
<b>BET<sub>2</sub>-2a</b>	1,27	-	1,01	-	0,26	20,5	
<b>BET<sub>2</sub>-2b</b>	1,21	-	1,04	-	0,17	14,1	
<b>BET<sub>2</sub>-2c</b>	1,30	-	1,06	-	0,24	18,5	Significativa
<b>BET<sub>2</sub>-2d</b>	1,21	-	1,08	-	0,13	10,7	

Como se pode observar pela tabela 30, relativamente à concentração mais elevada, o valor máximo de diminuição de concentração de acetona foi de 20,5% para a amostra BET<sub>2</sub>-2a e o mínimo foi de 7,14% para a amostra BPT<sub>2</sub>-1b.

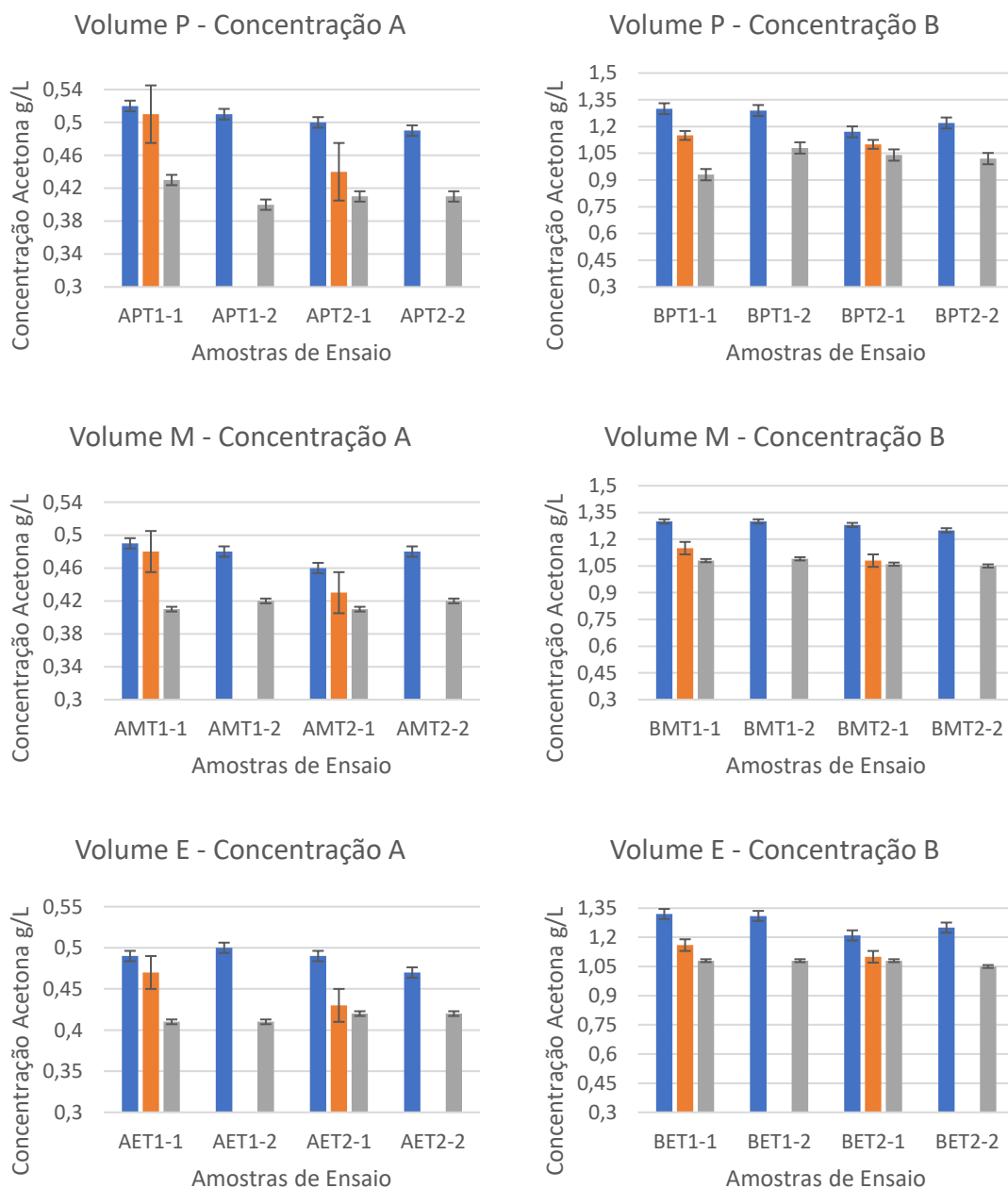
Todos os conjuntos apresentaram diferenças significativas após um período de 30 dias de armazenamento.



### 2.5.4.3. T<sub>1</sub> vs T<sub>2</sub>

Depois de registados os resultados obtidos para cada temperatura (T<sub>1</sub>- -20 °C; T<sub>2</sub>- 5-6 °C), os mesmos foram agrupados em gráficos por volume e concentração, para melhor visualização do efeito das duas temperaturas de ensaio, para o mesmo período de tempo.

Na figura 14 encontram-se representados os resultados obtido para as amostras referentes à acetona.



**Figura 14.** Gráficos representativos da evolução da concentração da acetona para um período de 30 dias.  
 Legenda: azul – C<sub>0</sub>, laranja – C<sub>15</sub> e cinzento – C<sub>30</sub>.

Para a acetona, independentemente da temperatura de armazenamento, T1 ou T2, foram observadas diferenças significativas em todos os casos investigados.



## **Parte IV - Conclusão**



A análise das condições com maior relevância na estabilidade de amostras sanguíneas que contenham compostos orgânicos voláteis é um estudo realizado frequentemente. Assim, neste trabalho foram estudadas a variação da temperatura, do volume de amostra e da abertura prévia do tubo para o etanol, metanol, 2-propanol e para a acetona.

Na generalidade das amostras houve diminuição da concentração para todos os compostos estudados no período de 30 dias de armazenamento. Verificou-se que as diferenças estão relacionadas com a pressão de vapor de cada composto. O etanol foi o analito com menos perdas e a acetona o analito para o qual se registaram valores de perda de massa percentuais mais elevados.

No caso do etanol não se registaram alterações significativas de concentração após um período de 30 dias no caso de amostras de menor volume e volume intermédio, para a concentração de 0,50 g/L, quando armazenadas a -20 °C. O mesmo foi verificado para o metanol nas amostras de volume elevado, para a concentração 0,50 g/L, quando armazenadas a 5-6 °C. Para o 2-propanol e para a acetona foram observadas diferenças significativas entre as concentrações  $C_0$  e  $C_{30}$  em todas as condições ensaiadas.

Verificou-se a influência da abertura prévia do tubo entre as amostras AMT<sub>1-1</sub> e AMT<sub>1-2</sub>, APT<sub>2-1</sub> e APT<sub>2-2</sub>, BPT<sub>2-1</sub> e BPT<sub>2-2</sub> para o etanol.

Em conclusão, as análises a amostras sanguíneas e com a presença de compostos orgânicos voláteis devem ser realizadas no menor espaço de tempo, uma vez que ao longo do tempo é expectável que ocorram alterações mais significativas na concentração dos compostos orgânicos voláteis.

Futuramente, este é um trabalho que deve ser continuado e no qual o tempo de armazenamento deve ser prolongado, no caso do etanol, e encurtado para os restantes compostos, com um maior número de amostras de ensaio e análises para os períodos de tempo definidos. Posteriormente, poderá ser feita análise multivariada de forma a tentar identificar qual ou quais os fatores com mais influência na estabilidade das amostras.



# **Referências Bibliográficas**





1. Mihretu LD, Gebru AG, Mekonnen KN, Asgedom AG, Desta YH. Determination of ethanol in blood using headspace gas chromatography with flame ionization detector (HS-GC-FID): Validation of a method. *Cogent Chemistry*. 2020;6(1):1760187. doi:10.1080/23312009.2020.1760187
2. Zuba D, Piekoszewski W, Pach J, Winnik L, Parczewski A. Concentration of ethanol and other volatile compounds in the blood of acutely poisoned alcoholics. *Alcohol*. 2002;26(1):17-22. doi:10.1016/S0741-8329(01)00186-0
3. Monteiro C, Franco JM, Proença P, et al. Qualitative and quantitative analysis of a group of volatile organic compounds in biological samples by HS-GC/FID: Application in practical cases. *Forensic Science International*. 2014;243:137-143. doi:10.1016/j.forsciint.2014.07.016
4. Prenesti E, Bagnati M, Berto S, Basile M, Vidali M, Bellomo G. Measurement Uncertainty of Ethanol Concentration in Venous Whole Blood Determined By a HS-GC-MS Method. *JSM Anal Bioanal Techniques*. <https://www.jsmcentral.org/Analytical/jsmabt123906.pdf>; acesso em 26 janeiro 2021
5. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses. *Quantificação de Etanol No Sangue (PE-SQTF-C-401)*.2019.
6. Flanagan RJ. Forensic Sciences/Volatile Substances. Em: *Encyclopedia of Analytical Science*. 2005:486-498.2ª edição, Elsevier. Reino Unido. ISBN:978-0-12-369397-6
7. Ashley DL, Bonin MA, Cardinali FL, McCraw JM, Wooten J V. Measurement of volatile organic compounds in human blood. *Environmental Health Perspectives*. 1996;104(SUPPL. 5):871-877. doi:10.1289/ehp.96104s5871
8. União Europeia. Directiva 1999/13/CE do Conselho de 11 Março. *Jornal Oficial das comunidades Europeias*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:31999L0013&from=PT> , acesso em 26 janeiro 2021
9. Bernal E. Determination of Volatile Substances in Forensic Samples by Static Headspace Gas Chromatography. Em: *Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications*. 2012:197-224. 1ª edição, InTech. Croatia. ISBN:978-953-51-0127-7
10. Vale A. Volatile Substance Abuse. *Medicine (Baltimore)*. 2007;35(12):663. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2007.09.016>
11. Flanagan RJ, Streete PJ RJ. Volatile Substance Abuse; practical guidelines for analytical investigation of suspected cases and interpretation of results. Em: *United Nations Drug Control Program*. 1997. [https://www.unodc.org/pdf/technical\\_series\\_1997-01-01\\_1.pdf](https://www.unodc.org/pdf/technical_series_1997-01-01_1.pdf), acesso em 26 janeiro 2021
12. Bairos AV de, Pego AMF, Yonamine M. Etanol. Em: *Toxicologia Forense*. 2015:249-277. 1ªedição, PACTOR. Lisboa ISBN:978-989-693-045-5

13. Ethanol (Ethyl Alcohol). <https://www.chemicalsafetyfacts.org/ethanol/>, acesso em 26 janeiro 2021
14. Britannica. Ethanol, chemical compound. <https://www.britannica.com/science/ethanol>, acesso em 26 janeiro 2021
15. PubChem. Ethanol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethanol>, acesso em 26 janeiro 2021
16. Duarte JA, Dinis-Oliveira RJ. Metanol e Etilenoglicol. Em: *Toxicologia Forense*. 2015:279-292. 1ª edição, PACTOR. Lisboa. ISBN:978-989-693-045-5
17. Britannica. Methanol. <https://www.britannica.com/science/methanol>, acesso em 26 janeiro 2021
18. PubChem. Methanol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/887>, acesso em 27 janeiro 2021
19. PubChem. Isopropyl alcohol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Isopropyl-alcohol>, acesso em 27 janeiro 2021
20. Wade L. Isopropyl alcohol, chemical compound. <https://www.britannica.com/science/isopropyl-alcohol>, acesso em 27 janeiro 2021
21. Kimberley Molina D. A characterization of sources of isopropanol detected on postmortem toxicologic analysis. *Journal of Forensic Sciences*. 2010;55(4):998-1002. doi:10.1111/j.1556-4029.2010.01386.x
22. Krasowski MD, Wilcoxon RM, Miron J. A retrospective analysis of glycol and toxic alcohol ingestion: Utility of anion and osmolal gaps. *BMC Clinical Pathology*. 2012;12:1-10. doi:10.1186/1472-6890-12-1
23. WH Brown. Acetone, chemical compound. <https://www.britannica.com/science/acetone>, acesso em 27 janeiro 2021
24. PubChem.Acetone. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/180#section=Structures>, acesso em janeiro 2021
25. Feltraco L de L, Antunes MV, Linden R. Determinação de etanol e voláteis relacionados em sangue e fluido oral por microextração em fase sólida em headspace associada à cromatografia gasosa com detector de ionização em chama. *Quimica Nova*. 2009;32(9):2401-2406. doi:10.1590/s0100-40422009000900031
26. Ramu A, Rosenbaum J, Blaschke TF. Disposition of acetone following acute acetone intoxication. *West J Med*. 1978;129(5):429-432.
27. Lappas NT, Lappas CM. *Forensic Toxicology: Principles and Concepts*. 2016:113-144. 1ª edição, Academic Press. ISBN: 978-0-12-799967-8

28. Peters FT, Wissenbach DK, Busardo FP, Marchei E, Pichini S. Method Development in Forensic Toxicology. *Current Pharmaceutical Design*. 2018;23(36):1-13. doi:10.2174/1381612823666170622113331
29. Bordin DCM, Monedeiro FF da SS, Campos EG de, Alves MNR, Bueno LHP, Martinis BS de. Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense. *Scientia Chromatographica*. 2015;7(2):125-143. doi:10.4322/sc.2015.022
30. Dinis-Oliveira RJ, Carvalho FD, Duarte JA MT. Recomendações Gerais para Colheita de Amostras Bilógicas em Toxicologia Forense. Em: *Toxicologia Forense*. 2015:103-108. 1ª edição, PACTOR. Lisboa. ISBN:978-989-693-045-5
31. Dinis-Oliveira RJ, Vieira DN, Magalhães T. Guidelines for collection of biological samples for clinical and forensic toxicological analysis. *Forensic Sciences Research*. 2016;1(1):42-51. doi:10.1080/20961790.2016.1271098
32. Singh Z. Forensic Toxicology: Biological Sampling and use of Different Analytical Techniques. *Forensic Research & Criminology International Journal*. 2017;4(4):117-120. doi:10.15406/frcij.2017.04.00120
33. Bueno LHP, da Silva RHA, Azenha AV, de Souza Dias MC, De Martinis BS. Oral fluid as an alternative matrix to determine ethanol for forensic purposes. *Forensic Science International*. 2014;242:117-122. doi:10.1016/j.forsciint.2014.06.024
34. Gamella M, Campuzano S, Manso J, et al. A novel non-invasive electrochemical biosensing device for in situ determination of the alcohol content in blood by monitoring ethanol in sweat. *Analytica Chimica Acta*. 2014;806:1-7. doi:10.1016/j.aca.2013.09.020
35. Conley CL SR. Blood. <https://www.britannica.com/science/blood-biochemistry>, acesso em 22 janeiro 2021
36. Lisboa MP. Matrizes Biológicas de Interesse Forense. *Universidade de Coimbra*.
37. Kerrigan S. Sampling, storage and stability. Em: *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*. 2013:335-356. 2ª edição, Pharmaceutical Press. Reino Unido. ISBN: 978-0-85711-054-1
38. Saracevic A, Simundic AM, Dukic L. The stability of ethanol in unstoppered tubes. *Clinical Biochemistry*. 2014;47:92-95. doi:10.1016/j.clinbiochem.2013.11.006
39. Lei nº 45/2004 de 19 de Agosto. *Diário da República nº 195 – I Série A*. Assembleia da República. Lisboa
40. Portaria nº 1005/98 de 30 de Novembro. *Diário da República nº 277 – I Série B*. Ministérios da Administração Interna, da Justiça e da Saúde. Lisboa

41. Tiscione NB, Vacha RE, Alford I, Yeatman DT, Shan X. Long-term blood alcohol stability in forensic antemortem whole blood samples. *Journal of Analytical Toxicology*. 2015;39(6):419-425. doi:10.1093/jat/bkv037
42. Hayden PM, Layden MT, Hickey MD. The stability of alcohol content in samples of blood and urine. *Irish Journal of Medical Science*. 1977;146(1):48-53. doi:10.1007/BF03030928
43. Jones AW, Ericsson E. Decreases in blood ethanol concentrations during storage at 4 °C for 12 months were the same for specimens kept in glass or plastic tubes. *Practical Laboratory Medicine*. 2016;4:76-81. doi:10.1016/j.plabm.2016.02.002
44. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses. Recomendações para a colheita e acondicionamento de amostras em toxicologia forense (NP-INMLCF-009). 2013
45. Kugelberg FC, Jones AW. Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: A review of the literature. *Forensic Science International*. 2007;165(1):10-29. doi:10.1016/j.forsciint.2006.05.004
46. Jones AW, Fransson M. Blood analysis by headspace gas chromatography: Does a deficient sample volume distort ethanol concentration?. *Medicine Science and the Law*. 2003;43(3):241-247. doi:10.1258/rsmmsl.43.3.241
47. Lewis RJ, Johnson RD, Angier MK, Vu NT. Ethanol formation in unadulterated postmortem tissues. *Forensic Science International*. 2004;146(1):17-24. doi:10.1016/j.forsciint.2004.03.015
48. Lewis RJ, Johnson RD, Angier MK, Vu NT. Ethanol formation in unadulterated postmortem tissues. *Forensic Science International*. 2004;146(1):17-24. doi:10.1016/j.forsciint.2004.03.015
49. Dawling S, Jickells S, Negrusz A. Gas chromatography. Em: *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*. 2013:485-528. 2ª edição, Pharmaceutical Press. Reino Unido. ISBN: 978-0-85711-054-1
50. Coskun O. Separation Techniques: CHROMATOGRAPHY. *North Clin Istanbul*. 2016;3(2):156-160. doi:10.14744/nci.2016.32757
51. Wang Z, Jocelyn Paré JR. Gas chromatography (GC): Principles and applications. *Techniques and Instrumentation Analytical Chemistry*. 1997;18:61-91. doi:10.1016/S0167-9244(97)80012-1
52. Monteiro C, Proença P, Tavares C, Castañera A, Corte Real F. Interference of anesthetics in blood alcohol analysis by HS-GC-FID: A case report. *Forensic Science International*. 2016;265:65-69. doi:10.1016/j.forsciint.2016.01.010
53. Holm T. Aspects of the mechanism of the flame ionization detector. *Journal of Chromatography A*. 1999;842:221-227. doi:10.1016/S0021-9673(98)00706-7

54. Hofmann E. Gas chromatography. *Journal of Chromatography Library*. 1976;8:29-44. doi: 10.1016/S0301-4770(08)60731-9
55. Portari GV, Marchini JS, Jordão AA. Validation of a manual headspace gas chromatography method for determining volatile compounds in biological fluids. *Laboratory Medicine*. 2008;39(1):42-45. doi:10.1309/EA876C1PVC0UXPH0
56. Mariotti K de C, Ortiz RS LR. Sequência Analítica em Toxicologia Forense. Em: *Toxicologia Forense*. 2015:109-130. 1ª edição, PACTOR. Lisboa. ISBN: 978-989-693-045-5
57. Gong X, Lu D, Hower D, Gulbinski J, Cavagnino D. Analytical solutions for challenges in headspace GC-MS analysis of volatile extractable and leachable compounds Authors. *Thermo Fisher Scientific*. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/an-10704-gc-ms-headspace-extractables-leachables-an10704-en.pdf>. acesso em 27 janeiro 2021
58. Machata G. The advantages of automated blood alcohol determination by head space analysis. *Zeitschrift für Rechtsmedizin*. 1975;75(4):229-234. doi:10.1007/BF00201176
59. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses. *Quantificação de Etanol e Outros Voláteis No Sangue* (PE-SQTF-N-002).2019.
60. Kocak FE, Isiklar OO, Kocak H, Meral A. Comparison of blood ethanol stabilities in different storage periods. *Biochemia Medica*. 2015;25(1):57-63. doi:10.11613/BM.2015.006
61. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses. *Avaliação, Cálculo e Expressão de Resultados* (PO-STF-C-009).2012.
62. Harris DC. Statistics. Em: *Quantitative Chemical Analysis*. 2010: 68-89. 8ª edição, W. H. Freeman and Company. Nova Iorque. ISBN: 978-1-4292-1815-3



# **Anexos**





## A1. Concentrações iniciais obtidas para os quatro compostos

### A1.1. T<sub>1</sub>

	Etanol	Metanol	2-Propanol	Acetona		Etanol	Metanol	2-Propanol	Acetona
APT <sub>1</sub> -1a	0,61	0,63	0,62	0,62	BPT <sub>1</sub> -1a	1,30	1,29	1,28	1,32
	0,63	0,66	0,64	0,61		1,20	1,31	1,27	1,30
APT <sub>1</sub> -1b	0,48	0,49	0,49	0,48	BPT <sub>1</sub> -1b	1,31	1,28	1,32	1,40
	0,49	0,50	0,49	0,46		1,29	1,28	1,27	1,29
APT <sub>1</sub> -1c	0,54	0,57	0,53	0,48	BPT <sub>1</sub> -1c	1,38	1,28	1,26	1,28
	0,53	0,54	0,53	0,52		1,34	1,34	1,29	1,29
APT <sub>1</sub> -1d	0,51	0,53	0,50	0,47	BPT <sub>1</sub> -1d	1,26	1,23	1,28	1,35
	0,53	0,54	0,52	0,50		1,30	1,31	1,23	1,16
APT <sub>1</sub> -2a	0,52	0,54	0,53	0,52	BPT <sub>1</sub> -2a	1,33	1,34	1,24	1,16
	0,55	0,57	0,54	0,51		1,29	1,29	1,25	1,28
APT <sub>1</sub> -2b	0,53	0,56	0,52	0,48	BPT <sub>1</sub> -2b	1,33	1,33	1,33	1,39
	0,52	0,53	0,52	0,50		1,37	1,37	1,34	1,35
APT <sub>1</sub> -2c	0,52	0,52	0,52	0,52	BPT <sub>1</sub> -2c	1,34	1,35	1,25	1,17
	0,53	0,55	0,53	0,47		1,37	1,38	1,32	1,33
APT <sub>1</sub> -2d	0,52	0,53	0,52	0,51	BPT <sub>1</sub> -2d	1,26	1,26	1,26	1,30
	0,53	0,54	0,53	0,50		1,27	1,26	1,25	1,29
AMT <sub>1</sub> -1a	0,50	0,52	0,51	0,49	BMT <sub>1</sub> -1a	1,27	1,25	1,27	1,32
	0,52	0,52	0,53	0,51		1,31	1,31	1,29	1,33
AMT <sub>1</sub> -1b	0,51	0,52	0,50	0,50	BMT <sub>1</sub> -1b	1,27	1,24	1,28	1,35
	0,52	0,54	0,51	0,44		1,29	1,29	1,27	1,30
AMT <sub>1</sub> -1c	0,51	0,53	0,51	0,49	BMT <sub>1</sub> -1c	1,28	1,30	1,23	1,20
	0,52	0,54	0,51	0,46		1,31	1,31	1,28	1,31
AMT <sub>1</sub> -1d	0,51	0,52	0,52	0,50	BMT <sub>1</sub> -1d	1,31	1,30	1,30	1,34
	0,53	0,53	0,51	0,49		1,31	1,31	1,29	1,32
AMT <sub>1</sub> -2a	0,49	0,49	0,51	0,50	BMT <sub>1</sub> -2a	1,32	1,31	1,31	1,35
	0,52	0,54	0,51	0,48		1,32	1,35	1,27	1,24
AMT <sub>1</sub> -2b	0,51	0,52	0,52	0,50	BMT <sub>1</sub> -2b	1,33	1,33	1,32	1,37
	0,51	0,52	0,52	0,50		1,35	1,35	1,30	1,30
AMT <sub>1</sub> -2c	0,52	0,52	0,50	0,49	BMT <sub>1</sub> -2c	1,31	1,29	1,31	1,36
	0,51	0,53	0,51	0,44		1,36	1,37	1,29	1,24
AMT <sub>1</sub> -2d	0,52	0,54	0,50	0,46	BMT <sub>1</sub> -2d	1,36	1,37	1,30	1,29
	0,53	0,54	0,51	0,45		1,38	1,39	1,29	1,21
AET <sub>1</sub> -1a	0,51	0,52	0,51	0,48	BET <sub>1</sub> -1a	1,32	1,32	1,33	1,38
	0,51	0,52	0,51	0,50		1,37	1,38	1,31	1,29
AET <sub>1</sub> -1b	0,49	0,50	0,51	0,51	BET <sub>1</sub> -1b	1,33	1,32	1,31	1,36
	0,51	0,54	0,51	0,47		1,37	1,39	1,31	1,31
AET <sub>1</sub> -1c	0,49	0,50	0,50	0,49	BET <sub>1</sub> -1c	1,30	1,30	1,28	1,28
	0,53	0,55	0,51	0,46		1,35	1,36	1,29	1,31
AET <sub>1</sub> -1d	0,51	0,53	0,52	0,50	BET <sub>1</sub> -1d	1,35	1,35	1,34	1,37
	0,30	0,54	0,51	0,47		1,37	1,39	1,30	1,25
AET <sub>1</sub> -2a	0,52	0,55	0,52	0,50	BET <sub>1</sub> -2a	1,31	1,32	1,30	1,34

	0,51	0,53	0,51	0,49		1,35	1,36	1,30	1,30
<b>AET<sub>1</sub>-2b</b>	0,53	0,55	0,51	0,45	<b>BET<sub>1</sub>-2b</b>	1,31	1,31	1,29	1,33
	0,52	0,55	0,53	0,50		1,36	1,37	1,28	1,24
<b>AET<sub>1</sub>-2c</b>	0,52	0,53	0,51	0,52	<b>BET<sub>1</sub>-2c</b>	1,31	1,30	1,30	1,34
	0,52	0,53	0,51	0,52		1,32	1,32	1,28	1,31
<b>AET<sub>1</sub>-2d</b>	0,53	0,55	0,50	0,47	<b>BET<sub>1</sub>-2d</b>	1,31	1,32	1,30	1,34
	0,51	0,53	0,51	0,52		1,32	1,32	1,27	1,27

## A1.2. T<sub>2</sub>

	Etanol	Metanol	2-Propanol	Acetona		Etanol	Metanol	2-Propanol	Acetona
<b>APT<sub>2</sub>-1a</b>	0,50	0,52	0,51	0,52	<b>BPT<sub>2</sub>-1a</b>	1,29	1,25	1,26	1,28
	0,52	0,53	0,49	0,45		1,32	1,34	1,23	1,15
<b>APT<sub>2</sub>-1b</b>	0,51	0,51	0,50	0,51	<b>BPT<sub>2</sub>-1b</b>	1,33	1,33	1,24	1,13
	0,51	0,53	0,50	0,49		1,31	1,31	1,21	1,11
<b>APT<sub>2</sub>-1c</b>	0,52	0,53	0,52	0,52	<b>BPT<sub>2</sub>-1c</b>	1,33	1,34	1,23	1,14
	0,52	0,53	0,52	0,53		1,29	1,28	1,21	1,13
<b>APT<sub>2</sub>-1d</b>	0,56	0,59	0,53	0,48	<b>BPT<sub>2</sub>-1d</b>	1,32	1,31	1,27	1,25
	0,56	0,59	0,53	0,50		1,34	1,35	1,24	1,14
<b>APT<sub>2</sub>-2a</b>	0,52	0,54	0,50	0,48	<b>BPT<sub>2</sub>-2a</b>	1,24	1,21	1,22	1,24
	0,50	0,52	0,49	0,48		1,29	1,28	1,24	1,25
<b>APT<sub>2</sub>-2b</b>	0,51	0,52	0,50	0,51	<b>BPT<sub>2</sub>-2b</b>	1,35	1,33	1,31	1,29
	0,51	0,53	0,51	0,49		1,31	1,29	1,26	1,26
<b>APT<sub>2</sub>-2c</b>	0,49	0,50	0,50	0,51	<b>BPT<sub>2</sub>-2c</b>	1,18	1,19	1,10	0,99
	0,52	0,53	0,51	0,51		1,22	1,25	1,23	1,25
<b>APT<sub>2</sub>-2d</b>	0,52	0,54	0,49	0,45	<b>BPT<sub>2</sub>-2d</b>	1,26	1,22	1,25	1,25
	0,51	0,53	0,49	0,49		1,29	1,30	1,25	1,25
<b>AMT<sub>2</sub>-1a</b>	0,52	0,53	0,48	0,44	<b>BMT<sub>2</sub>-1a</b>	1,22	1,20	1,19	1,20
	0,50	0,51	0,48	0,46		1,27	1,27	1,23	1,22
<b>AMT<sub>2</sub>-1b</b>	0,51	0,53	0,48	0,44	<b>BMT<sub>2</sub>-1b</b>	1,30	1,29	1,25	1,26
	0,51	0,52	0,48	0,43		1,30	1,14	1,11	1,10
<b>AMT<sub>2</sub>-1c</b>	0,49	0,49	0,49	0,51	<b>BMT<sub>2</sub>-1c</b>	1,29	1,25	1,28	1,32
	0,50	0,52	0,49	0,48		1,38	1,38	1,29	1,16
<b>AMT<sub>2</sub>-1d</b>	0,49	0,51	0,46	0,43	<b>BMT<sub>2</sub>-1d</b>	1,28	1,26	1,25	1,27
	0,48	0,49	0,48	0,49		1,28	1,27	1,23	1,23
<b>AMT<sub>2</sub>-2a</b>	0,50	0,51	0,47	0,45	<b>BMT<sub>2</sub>-2a</b>	1,27	1,25	1,26	1,20
	0,49	0,51	0,49	0,49		1,32	1,32	1,25	1,24
<b>AMT<sub>2</sub>-2b</b>	0,50	0,51	0,48	0,44	<b>BMT<sub>2</sub>-2b</b>	1,26	1,25	1,22	1,25
	0,51	0,53	0,47	0,43		1,25	1,24	1,23	1,22
<b>AMT<sub>2</sub>-2c</b>	0,49	0,51	0,49	0,50	<b>BMT<sub>2</sub>-2c</b>	1,27	1,26	1,25	1,27
	0,50	0,52	0,49	0,50		1,28	1,28	1,23	1,20
<b>AMT<sub>2</sub>-2d</b>	0,52	0,53	0,50	0,47	<b>BMT<sub>2</sub>-2d</b>	1,29	1,28	1,26	1,27
	0,51	0,52	0,49	0,51		1,30	1,29	1,28	1,27
<b>AET<sub>2</sub>-1a</b>	0,50	0,52	0,50	0,44	<b>BET<sub>2</sub>-1a</b>	1,26	1,27	1,18	1,11

	0,51	0,53	0,48	0,50		1,37	1,37	1,29	1,23
<b>AET<sub>2</sub>-1b</b>	0,50	0,50	0,50	0,50	<b>BET<sub>2</sub>-1b</b>	1,33	1,35	1,25	1,20
	0,50	0,51	0,49	0,50		1,33	1,32	1,27	1,27
<b>AET<sub>2</sub>-1c</b>	0,47	0,48	0,48	0,49	<b>BET<sub>2</sub>-1c</b>	1,37	1,37	1,26	1,18
	0,50	0,52	0,48	0,47		1,33	1,33	1,27	1,22
<b>AET<sub>2</sub>-1d</b>	0,49	0,49	0,50	0,52	<b>BET<sub>2</sub>-1d</b>	1,29	1,28	1,25	1,26
	0,51	0,53	0,49	0,47		1,31	1,37	1,27	1,20
<b>AET<sub>2</sub>-2a</b>	0,51	0,53	0,48	0,44	<b>BET<sub>2</sub>-2a</b>	1,29	1,26	1,26	1,29
	0,51	0,53	0,48	0,44		1,31	1,32	1,26	1,25
<b>AET<sub>2</sub>-2b</b>	0,51	0,53	0,48	0,46	<b>BET<sub>2</sub>-2b</b>	1,25	1,24	1,23	1,26
	0,50	0,52	0,48	0,46		1,30	1,35	1,25	1,16
<b>AET<sub>2</sub>-2c</b>	0,52	0,53	0,50	0,45	<b>BET<sub>2</sub>-2c</b>	1,39	1,38	1,36	1,38
	0,50	0,52	0,49	0,50		1,33	1,34	1,26	1,22
<b>AET<sub>2</sub>-2d</b>	0,50	0,51	0,50	0,52	<b>BET<sub>2</sub>-2d</b>	1,33	1,34	1,23	1,15
	0,52	0,54	0,48	0,44		1,31	1,30	1,26	1,27

## A2. Método utilizado na determinação de compostos orgânicos voláteis de baixo peso molecular

### 6890 GC METHOD

#### OVEN

Initial temp: 40 'C (On)

Initial time: 5.00 min

Ramps:

# Rate Final temp Final time

1 0.0(Off) Post

temp: 50 'C Post

time: 0.00 min Run

time: 5.00 min

Maximum temp: 240 'C

Equilibration time: 0.20 min

#### FRONT INLET (SPLIT/SPLITLESS)

Mode: Split

Initial temp: 50 'C (Off)

Pressure: 0.00 psi (Off)

Total flow: 45.0 mL/min

Gas saver: Off

Gas type: Helium

#### BACK INLET (SPLIT/SPLITLESS)

Mode: Split

Initial temp: 150 'C (On)

Pressure: 11.96 psi (On)

Split ratio: 3.68:1

Split flow: 20.0 mL/min

Total flow: 28.3 mL/min

Gas saver: Off

Gas type: Helium

#### COLUMN 1

Capillary Column

Model Number: J&W 123-924

DB-ALC2

Max temperature: 260 'C

Nominal length: 30.0 m

Nominal diameter: 320.00 um

Nominal film thickness: 1.20 um

Mode: constant pressure

Pressure: 11.96 psi

Nominal initial flow: 2.7 mL/min

Average velocity: 42 cm/sec

Inlet: Back Inlet

Outlet: Front Detector

Outlet pressure: ambient

#### COLUMN 2

Capillary Column

Model Number: J&W 123-9134

DB-ALC1

Max temperature: 260 'C

Nominal length: 30.0 m

Nominal diameter: 320.00 um

Nominal film thickness: 1.80 um

Mode: (see column 1)

Pressure: 11.96 psi

Nominal initial flow: 2.7 mL/min

Average velocity: 42 cm/sec

Inlet: Back Inlet

Outlet: Back Detector

Outlet pressure: ambient

#### FRONT DETECTOR (FID)

Temperature: 250 'C (On)

Hydrogen flow: 40.0 mL/min (On)

Air flow: 450.0 mL/min (On)

Mode: Constant makeup flow

Makeup flow: 45.0 mL/min (On)

Makeup Gas Type: Nitrogen

Flame: On

Electrometer: On

Lit offset: 2.0

#### BACK DETECTOR (FID)

Temperature: 250 'C (On)

Hydrogen flow: 40.0 mL/min (On)

Air flow: 450.0 mL/min (On)

Mode: Constant makeup flow

Makeup flow: 45.0 mL/min (On)

Makeup Gas Type: Nitrogen

Flame: On

Electrometer: On

Lit offset: 2.0

**SIGNAL 1**

Data rate: 50 Hz  
 Type: front detector  
 Save Data: On  
 Zero: 0.0 (Off)  
 Fast Peaks: Off  
 Attenuation: 0

**SIGNAL 2**

Data rate: 20 Hz  
 Type: back detector  
 Save Data: On  
 Zero: 0.0 (Off)  
 Fast Peaks: Off  
 Attenuation: 0

**COLUMN COMP 1**

Derive from front detector

**COLUMN COMP 2**

Derive from back detector

**AUX PRESSURE 3**

Description:  
 Gas Type: Helium  
 Inicial pressure: 0.00 psi (Off)

**AUX PRESSURE 4**

Description: CARRIER  
 Gas Type: Helium  
 Inicial pressure: 30.00 psi (On)  
 Inicial time: 0.00 min  
 # Rate Final pres Final time  
 1 0.0 (off)

**AUX PRESSURE 5**

Description: VIAL/PRESS  
 Gas Type: Helium  
 Inicial pressure: 14.50 psi (On)  
 Inicial time: 0.00 min  
 # Rate Final pres Final time  
 1 0.0 (off)

**POST RUN**

Post Time: 0.00 min

**TIME TABLE**

Time Specifier

Parameter & Setpoint

**GC Injector**

Front Injector: No parameters specified

Back Injector: No parameters specified

**HEADSPACE PARAMETERS**

Headspace Device:  
 Communications Mode:  
 Serial Number:  
 Firmware Revision:  
 Vial Size, mL:  
 Handshake Mode:  
 Oven Stabilization Time, min:  
 Pressure Units:  
 Carrier Connection:  
 Vial EPC:

Agilent G1888 Headspace Sampler  
 IP Address:Port = 10.1.1.122  
 IT00525007  
 A.01.09  
 10  
 Headspace Proceed  
 1  
 psi  
 Back Inlet (EPC) Vial Aux5

Multi HS Extr: OFF  
 Extractions Per Vial: 2  
 GC Cycle Time (Min): 5.2  
 Inject Time (Min): 1.00  
 Loop Equilibration Time (Min): 0.05  
 Loop Fill Time (Min): 0.05  
 Loop Temperature: 90  
 Oven Temperature: 50  
 Shake: LOW  
 Transfer Line Temperature: 90  
 Vial Equilibration Time (Min): 10.0  
 Vial Pressurization Time (Min): 0.50

**Calibration Table**

Calculate: Internal Standard  
 Based on: Peak Area

Rel. Reference Window: 5.000 %  
 Abs. Reference Window: 0.000 min  
 Rel. Non-ref. Window: 5.000 %  
 Abs. Non-ref. Window: 0.000 min

Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs  
 Uncalibrated Peaks: Not reported  
 Partial Calibration: Yes, identified peaks are recalibrated  
 Correct All Ret. Times: No, only for identified peaks

Curve Type: Linear  
 Origin: Included  
 Weight: Equal

Recalibration Settings:  
 Average Response: Average all calibrations  
 Average Retention Time: Floating average new 75 %

Calibration Report Options:  
 Printout of recalibrations within a sequence:  
 Calibration Table after Recalibration  
 Normal Report after Recalibration  
 If the sequence is done with bracketing:  
 Results of first cycle (ending previous bracket)

Default Sample ISTD Information (if not set in sample table):

ISTD #	ISTD Amount [g/L]	Name
1	1.00000	PIB
2	1.00000	PIA

RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [g/L]	Area	Amt/Area	Ref Grp	Name
---------------	---------	--------------	------	----------	---------	------

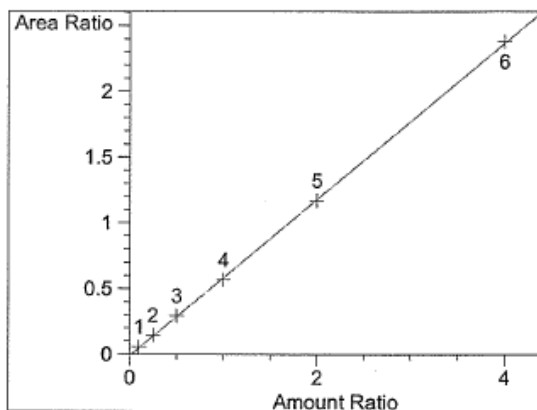
1.962	2	1	1.00000e-1	8.99604e-1	1.11160e-1	1	MetanolB
		2	2.50000e-1	2.60473	9.59794e-2		
		3	5.00000e-1	5.05773	9.88587e-2		
		4	1.00000	8.45451	1.18280e-1		
		5	2.00000	18.59451	1.07559e-1		
		6	4.00000	39.82512	1.00439e-1		
2.069	1	1	1.00000e-1	8.05355e-1	1.24169e-1	2	MetanolA
		2	2.50000e-1	2.38083	1.05005e-1		
		3	5.00000e-1	4.65131	1.07497e-1		
		4	1.00000	7.73626	1.29261e-1		
		5	2.00000	17.24434	1.15980e-1		
		6	4.00000	37.20140	1.07523e-1		
2.436	2	1	1.00000e-1	1.42754	7.00508e-2	1	EtanolB
		2	2.50000e-1	4.13070	6.05224e-2		
		3	5.00000e-1	8.20050	6.09719e-2		
		4	1.00000	14.19178	7.04633e-2		
		5	2.00000	30.69585	6.51554e-2		
		6	4.00000	65.86839	6.07272e-2		
2.621	1	1	1.00000e-1	1.21722	8.21543e-2	2	EtanolA
		2	2.50000e-1	3.58683	6.96995e-2		
		3	5.00000e-1	7.16342	6.97991e-2		
		4	1.00000	12.54731	7.96983e-2		
		5	2.00000	27.78325	7.19858e-2		
		6	4.00000	60.18740	6.64591e-2		
2.932	1	1	1.00000e-1	7.38672	1.35378e-2	2	AcetonaA
		2	2.50000e-1	18.92542	1.32097e-2		
		3	5.00000e-1	37.87609	1.32009e-2		
		4	1.00000	75.08568	1.33181e-2		
		5	2.00000	151.58438	1.31940e-2		
		6	4.00000	310.73056	1.28729e-2		
2.952	2	1	1.00000e-1	2.57543	3.88284e-2	1	IsopropanolB
		2	2.50000e-1	7.08781	3.52718e-2		
		3	5.00000e-1	14.00116	3.57113e-2		
		4	1.00000	25.69776	3.89139e-2		
		5	2.00000	53.55754	3.73430e-2		
		6	4.00000	112.57899	3.55306e-2		
3.106	1	1	1.00000e-1	2.24814	4.44813e-2	2	IsopropanolA
		2	2.50000e-1	6.30331	3.96617e-2		
		3	5.00000e-1	12.54491	3.98568e-2		
		4	1.00000	23.30712	4.29053e-2		
		5	2.00000	48.90308	4.08972e-2		
		6	4.00000	103.94480	3.84820e-2		
3.549	2	1	1.00000e-1	7.98064	1.25303e-2	1	AcetonaB
		2	2.50000e-1	20.28238	1.23260e-2		
		3	5.00000e-1	40.32942	1.23979e-2		
		4	1.00000	79.83863	1.25253e-2		
		5	2.00000	161.08553	1.24158e-2		
		6	4.00000	329.50803	1.21393e-2		
3.958	2	1	1.00000	25.18107	3.97124e-2	I1	PIB
		2	1.00000	28.51507	3.50692e-2		
		3	1.00000	28.03296	3.56723e-2		
		4	1.00000	25.03809	3.99391e-2		
		5	1.00000	26.26649	3.80713e-2		
		6	1.00000	27.65357	3.61617e-2		
4.649	1	1	1.00000	21.15223	4.72763e-2	I2	PIA
		2	1.00000	23.87035	4.18930e-2		



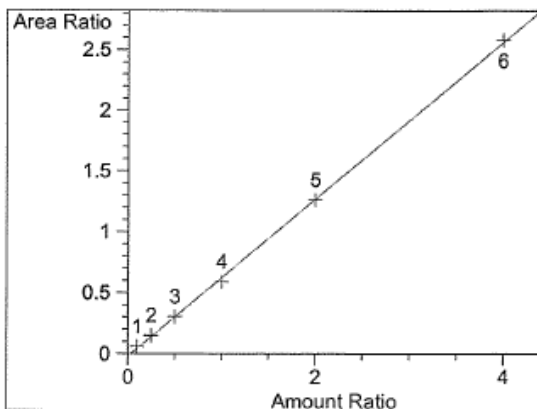
3	1.00000	23.52534	4.25074e-2
4	1.00000	21.24778	4.70637e-2
5	1.00000	21.96787	4.55210e-2
6	1.00000	23.34804	4.28302e-2

### Curvas de Calibração

- Etanol

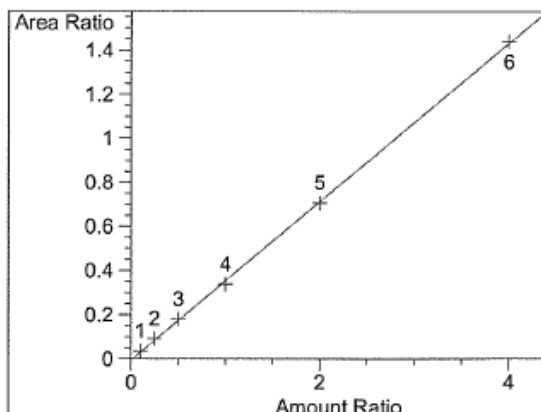


EtanolB at exp. RT: 2.436  
 FID2 B,  
 Correlation: 0.99991  
 Residual Std. Dev.: 0.01265  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 5.94960e-1  
 b: -8.42919e-3  
 x: Amount  
 y: Area

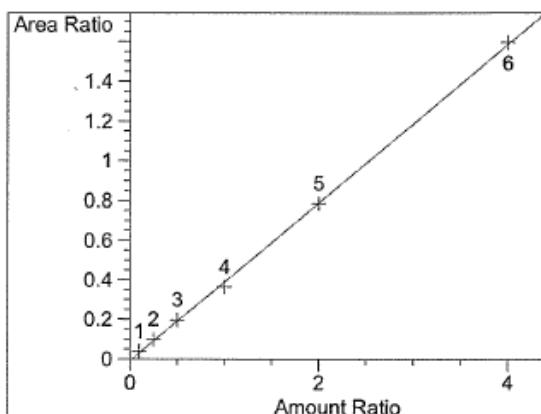


EtanolA at exp. RT: 2.621  
 FID1 A,  
 Correlation: 0.99980  
 Residual Std. Dev.: 0.02058  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 6.45483e-1  
 b: -1.73786e-2  
 x: Amount  
 y: Area

- **Metanol**

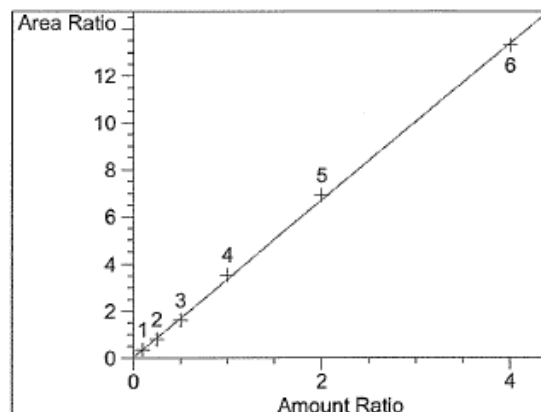


MetanolB at exp. RT: 1.962  
 FID2 B,  
 Correlation: 0.99985  
 Residual Std. Dev.: 0.00987  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m:  $3.59310e-1$   
 b:  $-3.90883e-3$   
 x: Amount  
 y: Area

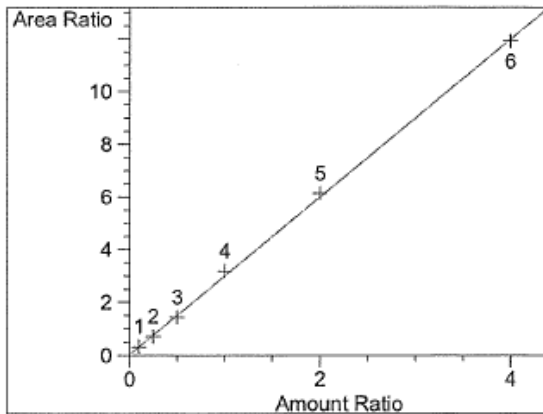


MetanolA at exp. RT: 2.069  
 FID1 A,  
 Correlation: 0.99976  
 Residual Std. Dev.: 0.01393  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m:  $3.98052e-1$   
 b:  $-6.67980e-3$   
 x: Amount  
 y: Area

- **Acetona**

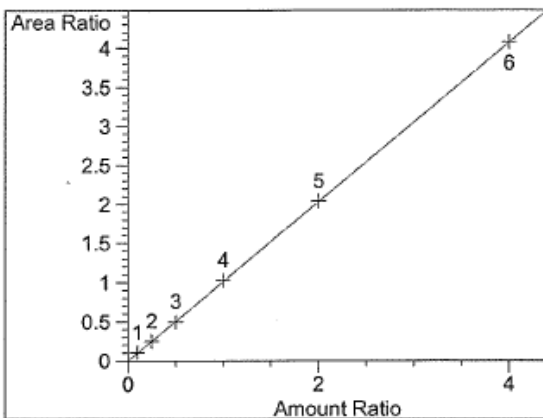


AcetonaA at exp. RT: 2.932  
 FID1 A,  
 Correlation: 0.99970  
 Residual Std. Dev.: 0.12880  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 3.34644  
 b:  $3.21784e-2$   
 x: Amount  
 y: Area

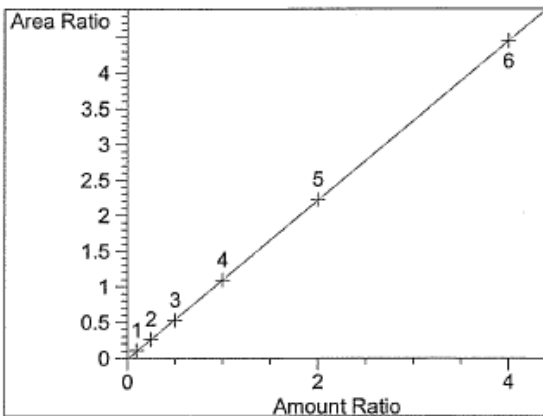


AcetonaB at exp. RT: 3.549  
 FID2 B,  
 Correlation: 0.99972  
 Residual Std. Dev.: 0.11118  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 2.99243  
 b: 3.04670e-2  
 x: Amount  
 y: Area

• 2-Propanol

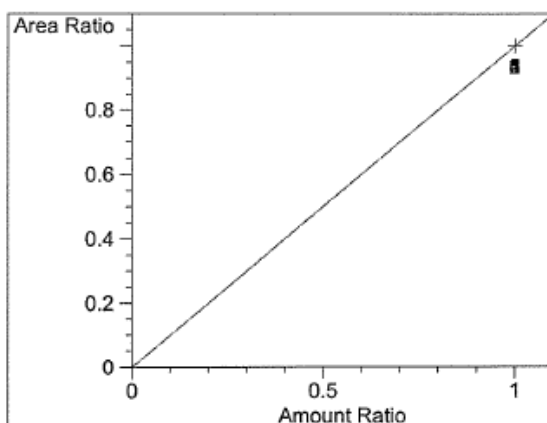


IsopropanolB at exp. RT: 2.952  
 FID2 B,  
 Correlation: 0.99999  
 Residual Std. Dev.: 0.00626  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 1.01876  
 b: -1.50948e-3  
 x: Amount  
 y: Area

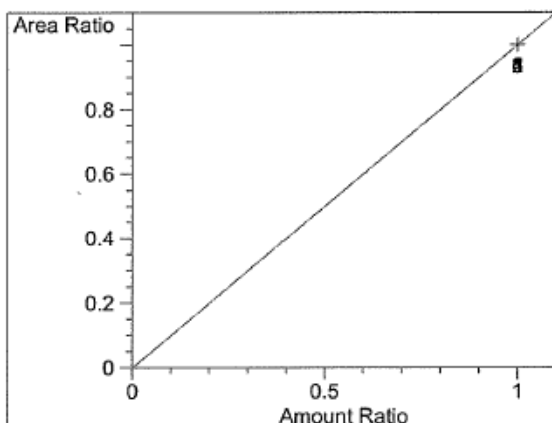


IsopropanolA at exp. RT: 3.106  
 FID1 A,  
 Correlation: 0.99999  
 Residual Std. Dev.: 0.00944  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 1.11571  
 b: -1.13861e-2  
 x: Amount  
 y: Area

• **Padrão Interno**



PIB at exp. RT: 3.958  
FID2 B,  
Correlation: 1.00000  
Residual Std. Dev.: 0.00000  
Formula:  $y = mx + b$   
m: 1.00000  
b: 0.00000  
x: Amount  
y: Area



PIA at exp. RT: 4.649  
FID1 A,  
Correlation: 1.00000  
Residual Std. Dev.: 0.00000  
Formula:  $y = mx + b$   
m: 1.00000  
b: 0.00000  
x: Amount  
y: Area

### A3. Valores de C<sub>0</sub>, C<sub>15</sub> e C<sub>30</sub> e valor médio conforme o limite de repetibilidade

#### A3.1. Etanol

• Concentração A, Temperatura T<sub>1</sub>

AE	C <sub>0</sub>	Média	C <sub>15</sub>	Média	C <sub>30</sub>	Média
APT <sub>1</sub> -1a	0,61	0,62	0,63	0,63	0,63	0,62
	0,63		0,63		0,62	
APT <sub>1</sub> -1b	0,48	0,48	0,51	0,52	0,50	0,49
	0,49		0,52		0,48	
APT <sub>1</sub> -1c	0,54	0,54	0,54	0,54	0,52	0,52
	0,53		0,53		0,51	
APT <sub>1</sub> -1d	0,51	0,52	0,52	0,52	0,50	0,51
	0,53		0,52		0,51	
APT <sub>1</sub> -2a	0,52	0,54	-	-	0,51	0,51
	0,55		0,51			
APT <sub>1</sub> -2b	0,53	0,52	-	-	0,52	0,52
	0,52		0,51			
APT <sub>1</sub> -2c	0,52	0,52	-	-	0,52	0,52
	0,53		0,51			
APT <sub>1</sub> -2d	0,52	0,52	-	-	0,52	0,52
	0,53		0,51			
AMT <sub>1</sub> -1a	0,50	0,51	0,51	0,50	0,47	0,48
	0,52		0,50		0,49	
AMT <sub>1</sub> -1b	0,51	0,52	0,53	0,52	0,49	0,49
	0,52		0,51		0,49	
AMT <sub>1</sub> -1c	0,51	0,52	0,50	0,48	0,47	0,48
	0,52		0,47		0,48	
AMT <sub>1</sub> -1d	0,51	0,52	0,52	0,51	0,51	0,51
	0,53		0,50		0,51	
AMT <sub>1</sub> -2a	0,49	0,50	-	-	0,50	0,50
	0,52		0,50			
AMT <sub>1</sub> -2b	0,51	0,51	-	-	0,49	0,50
	0,51		0,50			
AMT <sub>1</sub> -2c	0,52	0,52	-	-	0,49	0,49
	0,51		0,49			
AMT <sub>1</sub> -2d	0,52	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,53		0,50			
AET <sub>1</sub> -1a	0,51	0,51	0,51	0,51	0,50	0,50
	0,51		0,51		0,49	
AET <sub>1</sub> -1b	0,49	0,50	0,50	0,51	0,50	0,50
	0,51		0,52		0,49	

<b>AET<sub>1</sub>-1c</b>	0,49	0,51	0,50	0,51	0,48	0,48
	0,53		0,52		0,49	
<b>AET<sub>1</sub>-1d</b>	0,51	0,52	0,52	0,51	0,50	0,50
	0,30		0,51		0,50	
<b>AET<sub>1</sub>-2a</b>	0,52	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,51		0,51			
<b>AET<sub>1</sub>-2b</b>	0,53	0,53	-	-	0,50	0,50
	0,52		0,51			
<b>AET<sub>1</sub>-2c</b>	0,52	0,52	-	-	0,49	0,49
	0,52		0,49			
<b>AET<sub>1</sub>-2d</b>	0,53	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,51		0,50			

• **Concentração B, Temperatura T<sub>1</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>BPT<sub>1</sub>-1a</b>	1,30	1,30	1,29	1,28	1,27	1,27
	1,30		1,27		1,27	
<b>BPT<sub>1</sub>-1b</b>	1,31	1,30	1,27	1,27	1,21	1,21
	1,29		1,27		1,21	
<b>BPT<sub>1</sub>-1c</b>	1,38	1,31	1,33	1,33	1,25	1,24
	1,34		1,33		1,23	
<b>BPT<sub>1</sub>-1d</b>	1,26	1,28	1,27	1,28	1,24	1,24
	1,30		1,3		1,23	
<b>BPT<sub>1</sub>-2a</b>	1,33	1,31	-	-	1,24	1,24
	1,29		1,25			
<b>BPT<sub>1</sub>-2b</b>	1,33	1,35	-	-	1,3	1,30
	1,37		1,29			
<b>BPT<sub>1</sub>-2c</b>	1,34	1,36	-	-	1,27	1,28
	1,37		1,3			
<b>BPT<sub>1</sub>-2d</b>	1,26	1,26	-	-	1,25	1,24
	1,27		1,22			
<b>BMT<sub>1</sub>-1a</b>	1,27	1,29	1,31	1,31	1,29	1,30
	1,31		1,31		1,3	
<b>BMT<sub>1</sub>-1b</b>	1,27	1,28	1,3	1,30	1,24	1,26
	1,29		1,3		1,29	
<b>BMT<sub>1</sub>-1c</b>	1,28	1,30	1,28	1,28	1,28	1,28
	1,31		1,29		1,26	
<b>BMT<sub>1</sub>-1d</b>	1,31	1,31	1,33	1,32	1,29	1,30
	1,31		1,32		1,3	
<b>BMT<sub>1</sub>-2a</b>	1,32	1,32	-	-	1,29	1,26
	1,32		1,23			
<b>BMT<sub>1</sub>-2b</b>	1,33	1,34	-	-	1,3	1,31
	1,35		1,32			
<b>BMT<sub>1</sub>-2c</b>	1,31	1,34	-	-	1,26	1,26

	1,36				1,27	
<b>BMT<sub>1</sub>-2d</b>	1,36	1,37	-	-	1,3	1,30
	1,38				1,3	
<b>BET<sub>1</sub>-1a</b>	1,32	1,34	1,31	1,33	1,28	1,28
	1,37		1,35		1,27	
<b>BET<sub>1</sub>-1b</b>	1,33	1,35	1,33	1,33	1,28	1,29
	1,37		1,33		1,3	
<b>BET<sub>1</sub>-1c</b>	1,30	1,32	1,34	1,34	1,26	1,24
	1,35		1,34		1,23	
<b>BET<sub>1</sub>-1d</b>	1,35	1,36	1,34	1,34	1,28	1,28
	1,37		1,33		1,28	
<b>BET<sub>1</sub>-2a</b>	1,31	1,33	-	-	1,3	1,30
	1,35		1,29			
<b>BET<sub>1</sub>-2b</b>	1,31	1,34	-	-	1,27	1,27
	1,36		1,27			
<b>BET<sub>1</sub>-2c</b>	1,31	1,32	-	-	1,29	1,30
	1,32		1,3			
<b>BET<sub>1</sub>-2d</b>	1,31	1,32	-	-	1,24	1,26
	1,32		1,27			

• **Concentração A, Temperatura T<sub>2</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>APT<sub>2</sub>-1a</b>	0,5	0,51	0,5	0,50	0,49	0,49
	0,52		0,49		0,49	
<b>APT<sub>2</sub>-1b</b>	0,51	0,51	0,51	0,50	0,49	0,48
	0,51		0,49		0,48	
<b>APT<sub>2</sub>-1c</b>	0,52	0,52	0,53	0,52	0,51	0,50
	0,52		0,5		0,5	
<b>APT<sub>2</sub>-1d</b>	0,56	0,56	0,55	0,55	0,52	0,53
	0,56		0,55		0,54	
<b>APT<sub>2</sub>-2a</b>	0,52	0,51	-	-	0,49	0,49
	0,5		0,49			
<b>APT<sub>2</sub>-2b</b>	0,51	0,51	-	-	0,49	0,50
	0,51		0,5			
<b>APT<sub>2</sub>-2c</b>	0,49	0,50	-	-	0,5	0,50
	0,52		0,49			
<b>APT<sub>2</sub>-2d</b>	0,52	0,52	-	-	0,48	0,48
	0,51		0,49			
<b>AMT<sub>2</sub>-1a</b>	0,52	0,51	0,5	0,50	0,49	0,49
	0,5		0,49		0,49	
<b>AMT<sub>2</sub>-1b</b>	0,51	0,51	0,49	0,49	0,48	0,48
	0,51		0,49		0,49	
<b>AMT<sub>2</sub>-1c</b>	0,49	0,50	0,47	0,48	0,48	0,48
	0,5		0,49		0,48	

<b>AMT<sub>2</sub>-1d</b>	0,49	0,48	0,49	0,49	0,49	0,48
	0,48		0,49		0,48	
<b>AMT<sub>2</sub>-2a</b>	0,5	0,50	-	-	0,49	0,48
	0,49		0,48			
<b>AMT<sub>2</sub>-2b</b>	0,5	0,50	-	-	0,49	0,48
	0,51		0,48			
<b>AMT<sub>2</sub>-2c</b>	0,49	0,50	-	-	0,49	0,49
	0,5		0,49			
<b>AMT<sub>2</sub>-2d</b>	0,52	0,52	-	-	0,5	0,50
	0,51		0,49			
<b>AET<sub>2</sub>-1a</b>	0,5	0,50	0,49	0,49	0,49	0,48
	0,51		0,49		0,48	
<b>AET<sub>2</sub>-1b</b>	0,5	0,50	0,49	0,49	0,49	0,49
	0,5		0,49		0,49	
<b>AET<sub>2</sub>-1c</b>	0,47	0,48	0,49	0,50	0,49	0,49
	0,5		0,5		0,49	
<b>AET<sub>2</sub>-1d</b>	0,49	0,50	0,5	0,50	0,48	0,48
	0,51		0,5		0,48	
<b>AET<sub>2</sub>-2a</b>	0,51	0,51	-	-	0,48	0,49
	0,51		0,49			
<b>AET<sub>2</sub>-2b</b>	0,51	0,50	-	-	0,48	0,48
	0,5		0,48			
<b>AET<sub>2</sub>-2c</b>	0,52	0,51	-	-	0,48	0,48
	0,5		0,49			
<b>AET<sub>2</sub>-2d</b>	0,5	0,50	-	-	0,48	0,48
	0,52		0,49			

• **Concentração B, Temperatura T<sub>2</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>BPT<sub>2</sub>-1a</b>	1,29	1,30	1,27	1,28	1,25	1,24
	1,32		1,29		1,22	
<b>BPT<sub>2</sub>-1b</b>	1,33	1,32	1,28	1,28	1,26	1,26
	1,31		1,28		1,27	
<b>BPT<sub>2</sub>-1c</b>	1,33	1,31	1,28	1,29	1,27	1,26
	1,29		1,3		1,24	
<b>BPT<sub>2</sub>-1d</b>	1,32	1,33	1,3	1,29	1,29	1,28
	1,34		1,28		1,28	
<b>BPT<sub>2</sub>-2a</b>	1,24	1,26	-	-	1,25	1,25
	1,29		1,25			
<b>BPT<sub>2</sub>-2b</b>	1,35	1,33	-	-	1,28	1,28
	1,31		1,28			
<b>BPT<sub>2</sub>-2c</b>	1,18	1,22	-	-	1,12	1,12
	1,27		1,11			
<b>BPT<sub>2</sub>-2d</b>	1,26	1,28	-	-	1,25	1,26
	1,29		1,26			



<b>BMT<sub>2</sub>-1a</b>	1,22	1,24	1,27	1,28	1,26	1,26
	1,27		1,3		1,27	
<b>BMT<sub>2</sub>-1b</b>	1,3	1,30	1,27	1,28	1,24	1,26
	1,3		1,29		1,27	
<b>BMT<sub>2</sub>-1c</b>	1,29	1,34	1,3	1,30	1,29	1,27
	1,38		1,3		1,28	
<b>BMT<sub>2</sub>-1d</b>	1,28	1,28	1,27	1,27	1,29	1,28
	1,28		1,27		1,27	
<b>BMT<sub>2</sub>-2a</b>	1,27	1,30	-	-	1,25	1,26
	1,32		1,27			
<b>BMT<sub>2</sub>-2b</b>	1,26	1,26	-	-	1,23	1,24
	1,25		1,24			
<b>BMT<sub>2</sub>-2c</b>	1,27	1,28	-	-	1,27	1,26
	1,28		1,26			
<b>BMT<sub>2</sub>-2d</b>	1,29	1,30	-	-	1,26	1,27
	1,3		1,28			
<b>BET<sub>2</sub>-1a</b>	1,26	1,32	1,24	1,26	1,28	1,29
	1,37		1,29		1,3	
<b>BET<sub>2</sub>-1b</b>	1,33	1,33	1,3	1,30	1,29	1,27
	1,33		1,3		1,25	
<b>BET<sub>2</sub>-1c</b>	1,37	1,35	1,33	1,31	1,29	1,28
	1,33		1,32		1,28	
<b>BET<sub>2</sub>-1d</b>	1,29	1,32	1,3	1,30	1,29	1,26
	1,31		1,31		1,22	
<b>BET<sub>2</sub>-2a</b>	1,29	1,30	-	-	1,25	1,25
	1,31		1,25			
<b>BET<sub>2</sub>-2b</b>	1,25	1,30	-	-	1,29	1,28
	1,3		1,28			
<b>BET<sub>2</sub>-2c</b>	1,39	1,36	-	-	1,28	1,28
	1,33		1,28			
<b>BET<sub>2</sub>-2d</b>	1,33	1,32	-	-	1,27	1,26
	1,31		1,26			

## A3.2. Metanol

### • Concentração A, Temperatura T<sub>1</sub>

AE	C <sub>0</sub>	Média	C <sub>15</sub>	Média	C <sub>30</sub>	Média
APT <sub>1</sub> -1a	0,63	0,64	0,63	0,64	0,64	0,64
	0,66		0,65		0,63	
APT <sub>1</sub> -1b	0,49	0,50	0,52	0,52	0,51	0,50
	0,50		0,53		0,49	
APT <sub>1</sub> -1c	0,57	0,56	0,56	0,55	0,53	0,52
	0,54		0,54		0,52	
APT <sub>1</sub> -1d	0,53	0,54	0,52	0,52	0,51	0,52
	0,54		0,52		0,52	
APT <sub>1</sub> -2a	0,54	0,56	-	-	0,53	0,53
	0,57		0,53			
APT <sub>1</sub> -2b	0,56	0,54	-	-	0,53	0,52
	0,53		0,52			
APT <sub>1</sub> -2c	0,52	0,54	-	-	0,52	0,52
	0,55		0,52			
APT <sub>1</sub> -2d	0,53	0,54	-	-	0,53	0,52
	0,54		0,51			
AMT <sub>1</sub> -1a	0,52	0,52	0,52	0,51	0,48	0,49
	0,52		0,50		0,50	
AMT <sub>1</sub> -1b	0,52	0,53	0,54	0,53	0,50	0,50
	0,54		0,52		0,50	
AMT <sub>1</sub> -1c	0,53	0,54	0,50	0,49	0,48	0,48
	0,54		0,48		0,49	
AMT <sub>1</sub> -1d	0,52	0,52	0,53	0,52	0,52	0,52
	0,53		0,50		0,51	
AMT <sub>1</sub> -2a	0,49	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,54		0,51			
AMT <sub>1</sub> -2b	0,52	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,52		0,50			
AMT <sub>1</sub> -2c	0,52	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,53		0,49			
AMT <sub>1</sub> -2d	0,54	0,54	-	-	0,51	0,51
	0,54		0,51			
AET <sub>1</sub> -1a	0,52	0,52	0,51	0,52	0,50	0,50
	0,52		0,52		0,50	
AET <sub>1</sub> -1b	0,50	0,52	0,50	0,52	0,51	0,50
	0,54		0,54		0,50	
AET <sub>1</sub> -1c	0,50	0,52	0,50	0,52	0,50	0,50
	0,55		0,54		0,49	
AET <sub>1</sub> -1d	0,53	0,54	0,51	0,52	0,51	0,51
	0,54		0,53		0,51	
AET <sub>1</sub> -2a	0,55	0,54	-	-	0,53	0,52
	0,53		0,52			
AET <sub>1</sub> -2b	0,55	0,55	-	-	0,53	0,53
	0,55		0,53			
AET <sub>1</sub> -2c	0,53	0,53	-	-	0,54	0,52

	0,53				0,49	
<b>AET<sub>1</sub>-2d</b>	0,55	0,54	-	-	0,52	0,52
	0,53				0,51	

• **Concentração B, Temperatura T<sub>1</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>BPT<sub>1</sub>-1a</b>	1,29	1,30	1,27	1,27	1,26	1,26
	1,31		1,27		1,26	
<b>BPT<sub>1</sub>-1b</b>	1,28	1,28	1,28	1,28	1,20	1,20
	1,28		1,28		1,20	
<b>BPT<sub>1</sub>-1c</b>	1,28	1,31	1,33	1,33	1,24	1,23
	1,34		1,33		1,22	
<b>BPT<sub>1</sub>-1d</b>	1,23	1,27	1,28	1,28	1,23	1,22
	1,31		1,29		1,22	
<b>BPT<sub>1</sub>-2a</b>	1,34	1,32	-	-	1,23	1,24
	1,29		1,24			
<b>BPT<sub>1</sub>-2b</b>	1,33	1,35	-	-	1,29	1,28
	1,37		1,27			
<b>BPT<sub>1</sub>-2c</b>	1,35	1,36	-	-	1,27	1,28
	1,38		1,30			
<b>BPT<sub>1</sub>-2d</b>	1,26	1,26	-	-	1,24	1,22
	1,26		1,20			
<b>BMT<sub>1</sub>-1a</b>	1,25	1,28	1,32	1,32	1,28	1,28
	1,31		1,31		1,29	
<b>BMT<sub>1</sub>-1b</b>	1,24	1,26	1,31	1,30	1,23	1,26
	1,29		1,30		1,30	
<b>BMT<sub>1</sub>-1c</b>	1,30	1,30	1,30	1,30	1,28	1,26
	1,31		1,29		1,25	
<b>BMT<sub>1</sub>-1d</b>	1,30	1,30	1,32	1,32	1,29	1,28
	1,31		1,31		1,28	
<b>BMT<sub>1</sub>-2a</b>	1,31	1,33	-	-	1,28	1,24
	1,35		1,21			
<b>BMT<sub>1</sub>-2b</b>	1,33	1,34	-	-	1,29	1,30
	1,35		1,31			
<b>BMT<sub>1</sub>-2c</b>	1,29	1,33	-	-	1,26	1,26
	1,37		1,26			
<b>BMT<sub>1</sub>-2d</b>	1,37	1,38	-	-	1,29	1,28
	1,39		1,28			
<b>BET<sub>1</sub>-1a</b>	1,32	1,35	1,31	1,33	1,28	1,27
	1,38		1,35		1,26	
<b>BET<sub>1</sub>-1b</b>	1,32	1,36	1,34	1,34	1,27	1,28
	1,39		1,34		1,28	
<b>BET<sub>1</sub>-1c</b>	1,30	1,33	1,34	1,34	1,25	1,22
	1,36		1,35		1,19	
<b>BET<sub>1</sub>-1d</b>	1,35	1,37	1,34	1,34	1,27	1,27
	1,39		1,33		1,27	
<b>BET<sub>1</sub>-2a</b>	1,32	1,34	-	-	1,30	1,29
	1,36		1,28			
<b>BET<sub>1</sub>-2b</b>	1,31	1,34	-	-	1,26	1,26

	1,37				1,25	
BET <sub>1-2c</sub>	1,30	1,31	-	-	1,28	1,28
	1,32				1,29	
BET <sub>1-2d</sub>	1,32	1,32	-	-	1,24	1,25
	1,32				1,26	

• Concentração A, Temperatura T<sub>2</sub>

AE	C <sub>0</sub>	Média	C <sub>15</sub>	Média	C <sub>30</sub>	Média
APT <sub>2-1a</sub>	0,52	0,52	0,52	0,51	0,50	0,50
	0,53		0,50		0,49	
APT <sub>2-1b</sub>	0,51	0,52	0,53	0,52	0,50	0,50
	0,53		0,50		0,49	
APT <sub>2-1c</sub>	0,53	0,53	0,54	0,52	0,53	0,52
	0,53		0,51		0,51	
APT <sub>2-1d</sub>	0,59	0,59	0,56	0,56	0,53	0,54
	0,59		0,57		0,55	
APT <sub>2-2a</sub>	0,54	0,53	-	-	0,50	0,50
	0,52		0,50		0,50	
APT <sub>2-2b</sub>	0,52	0,52	-	-	0,50	0,51
	0,53		0,52		0,52	
APT <sub>2-2c</sub>	0,50	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,53		0,51		0,51	
APT <sub>2-2d</sub>	0,54	0,54	-	-	0,48	0,48
	0,53		0,48		0,48	
AMT <sub>2-1a</sub>	0,53	0,52	0,51	0,50	0,51	0,51
	0,51		0,50		0,51	
AMT <sub>2-1b</sub>	0,53	0,52	0,50	0,50	0,49	0,50
	0,52		0,50		0,50	
AMT <sub>2-1c</sub>	0,49	0,50	0,49	0,46	0,50	0,50
	0,52		0,44		0,49	
AMT <sub>2-1d</sub>	0,51	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	0,49		0,51		0,49	
AMT <sub>2-2a</sub>	0,51	0,51	-	-	0,52	0,51
	0,51		0,50		0,50	
AMT <sub>2-2b</sub>	0,51	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,53		0,50		0,50	
AMT <sub>2-2c</sub>	0,51	0,52	-	-	0,51	0,50
	0,52		0,50		0,50	
AMT <sub>2-2d</sub>	0,53	0,52	-	-	0,51	0,50
	0,52		0,50		0,50	
AET <sub>2-1a</sub>	0,52	0,52	0,51	0,50	0,50	0,49
	0,53		0,50		0,48	
AET <sub>2-1b</sub>	0,50	0,50	0,51	0,50	0,50	0,50
	0,51		0,50		0,51	
AET <sub>2-1c</sub>	0,48	0,50	0,51	0,52	0,50	0,50
	0,52		0,52		0,50	
AET <sub>2-1d</sub>	0,49	0,51	0,52	0,52	0,50	0,49
	0,53		0,51		0,48	
AET <sub>2-2a</sub>	0,53	0,53	-	-	0,51	0,51
	0,53		0,51		0,51	

<b>AET<sub>2</sub>-2b</b>	0,53	0,52	-	-	0,49	0,50
	0,52				0,50	
<b>AET<sub>2</sub>-2c</b>	0,53	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,52				0,51	
<b>AET<sub>2</sub>-2d</b>	0,51	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,54				0,50	

• **Concentração B, Temperatura T<sub>2</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>BPT<sub>2</sub>-1a</b>	1,25	1,30	1,25	1,26	1,23	1,21
	1,34		1,27		1,19	
<b>BPT<sub>2</sub>-1b</b>	1,33	1,32	1,27	1,27	1,25	1,24
	1,31		1,27		1,24	
<b>BPT<sub>2</sub>-1c</b>	1,34	1,31	1,27	1,28	1,25	1,24
	1,28		1,29		1,22	
<b>BPT<sub>2</sub>-1d</b>	1,31	1,33	1,29	1,28	1,27	1,26
	1,35		1,26		1,25	
<b>BPT<sub>2</sub>-2a</b>	1,21	1,24	-	-	1,23	1,22
	1,28		1,22			
<b>BPT<sub>2</sub>-2b</b>	1,33	1,31	-	-	1,26	1,26
	1,29		1,27			
<b>BPT<sub>2</sub>-2c</b>	1,19	1,22	-	-	1,12	1,11
	1,25		1,10			
<b>BPT<sub>2</sub>-2d</b>	1,22	1,26	-	-	1,24	1,24
	1,30		1,23			
<b>BMT<sub>2</sub>-1a</b>	1,20	1,24	1,26	1,27	1,24	1,24
	1,27		1,28		1,25	
<b>BMT<sub>2</sub>-1b</b>	1,29	1,22	1,26	1,26	1,22	1,14
	1,14		1,27		1,25	
<b>BMT<sub>2</sub>-1c</b>	1,25	1,32	1,29	1,29	1,28	1,26
	1,38		1,29		1,25	
<b>BMT<sub>2</sub>-1d</b>	1,26	1,26	1,14	1,20	1,27	1,26
	1,27		1,25		1,25	
<b>BMT<sub>2</sub>-2a</b>	1,25	1,28	-	-	1,24	1,24
	1,32		1,25			
<b>BMT<sub>2</sub>-2b</b>	1,25	1,24	-	-	1,21	1,21
	1,24		1,21			
<b>BMT<sub>2</sub>-2c</b>	1,26	1,27	-	-	1,26	1,26
	1,28		1,25			
<b>BMT<sub>2</sub>-2d</b>	1,28	1,28	-	-	1,25	1,26
	1,29		1,26			
<b>BET<sub>2</sub>-1a</b>	1,27	1,32	1,29	1,28	1,26	1,27
	1,37		1,28		1,28	
<b>BET<sub>2</sub>-1b</b>	1,35	1,34	1,29	1,28	1,28	1,26
	1,32		1,28		1,24	
<b>BET<sub>2</sub>-1c</b>	1,37	1,35	1,32	1,31	1,27	1,27
	1,33		1,30		1,27	
<b>BET<sub>2</sub>-1d</b>	1,28	1,32	1,28	1,29	1,27	1,26
	1,37		1,30		1,25	

<b>BET<sub>2</sub>-2a</b>	1,26	1,29	-	-	1,22	1,22
	1,32				1,23	
<b>BET<sub>2</sub>-2b</b>	1,24	1,30	-	-	1,27	1,27
	1,35				1,27	
<b>BET<sub>2</sub>-2c</b>	1,38	1,36	-	-	1,27	1,26
	1,34				1,26	
<b>BET<sub>2</sub>-2d</b>	1,34	1,32			1,25	1,24
	1,30				1,24	

### A3.3. 2-Propanol

• Concentração A, Temperatura T<sub>1</sub>

AE	C <sub>0</sub>	Média	C <sub>15</sub>	Média	C <sub>30</sub>	Média
APT <sub>1</sub> -1a	0,62	0,63	0,62	0,64	0,60	0,60
	0,64		0,65		0,60	
APT <sub>1</sub> -1b	0,49	0,49	0,50	0,50	0,48	0,48
	0,49		0,50		0,47	
APT <sub>1</sub> -1c	0,53	0,52	0,52	0,52	0,50	0,50
	0,53		0,52		0,49	
APT <sub>1</sub> -1d	0,50	0,51	0,52	0,52	0,49	0,49
	0,52		0,52		0,49	
APT <sub>1</sub> -2a	0,53	0,54	-	-	0,50	0,50
	0,54		0,49			
APT <sub>1</sub> -2b	0,52	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,52		0,50			
APT <sub>1</sub> -2c	0,52	0,52	-	-	0,49	0,49
	0,53		0,49			
APT <sub>1</sub> -2d	0,52	0,52	-	-	0,50	0,50
	0,53		0,50			
AMT <sub>1</sub> -1a	0,51	0,52	0,51	0,49	0,46	0,46
	0,53		0,47		0,47	
AMT <sub>1</sub> -1b	0,50	0,50	0,50	0,50	0,47	0,47
	0,51		0,51		0,47	
AMT <sub>1</sub> -1c	0,51	0,51	0,50	0,50	0,46	0,46
	0,51		0,49		0,47	
AMT <sub>1</sub> -1d	0,52	0,52	0,50	0,50	0,49	0,49
	0,51		0,51		0,49	
AMT <sub>1</sub> -2a	0,51	0,51	-	-	0,48	0,48
	0,51		0,49			
AMT <sub>1</sub> -2b	0,52	0,52	-	-	0,48	0,48
	0,52		0,48			
AMT <sub>1</sub> -2c	0,50	0,50	-	-	0,48	0,47
	0,51		0,46			
AMT <sub>1</sub> -2d	0,50	0,50	-	-	0,48	0,48
	0,51		0,49			
AET <sub>1</sub> -1a	0,51	0,51	0,51	0,50	0,46	0,48
	0,51		0,49		0,47	
AET <sub>1</sub> -1b	0,51	0,51	0,51	0,50	0,48	0,48
	0,51		0,49		0,48	
AET <sub>1</sub> -1c	0,50	0,50	0,50	0,50	0,47	0,46
	0,51		0,50		0,46	
AET <sub>1</sub> -1d	0,52	0,52	0,51	0,50	0,48	0,48
	0,51		0,49		0,49	
AET <sub>1</sub> -2a	0,52	0,52	-	-	0,48	0,48
	0,51		0,49			
AET <sub>1</sub> -2b	0,51	0,52	-	-	0,49	0,49
	0,53		0,49			

AET <sub>1-2c</sub>	0,51	0,51	-	-	0,48	0,47
	0,51				0,46	
AET <sub>1-2d</sub>	0,50	0,50	-	-	0,47	0,47
	0,51				0,47	

• **Concentração B, Temperatura T<sub>1</sub>**

AE	C <sub>0</sub>	Média	C <sub>15</sub>	Média	C <sub>30</sub>	Média
BPT <sub>1-1a</sub>	1,28	1,28	1,24	1,22	1,20	1,20
	1,27		1,21		1,20	
BPT <sub>1-1b</sub>	1,32	1,30	1,22	1,22	1,14	1,14
	1,27		1,21		1,14	
BPT <sub>1-1c</sub>	1,26	1,28	1,25	1,25	1,19	1,18
	1,29		1,25		1,18	
BPT <sub>1-1d</sub>	1,28	1,26	1,22	1,22	1,19	1,18
	1,23		1,22		1,17	
BPT <sub>1-2a</sub>	1,24	1,24	-	-	1,19	1,18
	1,25		1,17			
BPT <sub>1-2b</sub>	1,33	1,34	-	-	1,26	1,24
	1,34		1,21			
BPT <sub>1-2c</sub>	1,25	1,28	-	-	1,22	1,22
	1,32		1,23			
BPT <sub>1-2d</sub>	1,26	1,26	-	-	1,18	1,16
	1,25		1,14			
BMT <sub>1-1a</sub>	1,27	1,28	1,23	1,24	1,22	1,22
	1,29		1,24		1,22	
BMT <sub>1-1b</sub>	1,28	1,28	1,23	1,24	1,17	1,19
	1,27		1,24		1,21	
BMT <sub>1-1c</sub>	1,23	1,26	1,22	1,22	1,22	1,20
	1,28		1,21		1,18	
BMT <sub>1-1d</sub>	1,30	1,30	1,23	1,24	1,21	1,22
	1,29		1,26		1,22	
BMT <sub>1-2a</sub>	1,31	1,29	-	-	1,22	1,19
	1,27		1,16			
BMT <sub>1-2b</sub>	1,32	1,31	-	-	1,25	1,24
	1,30		1,23			
BMT <sub>1-2c</sub>	1,31	1,30	-	-	1,20	1,20
	1,29		1,19			
BMT <sub>1-2d</sub>	1,30	1,30	-	-	1,22	1,22
	1,29		1,23			
BET <sub>1-1a</sub>	1,33	1,32	1,24	1,25	1,20	1,20
	1,31		1,26		1,20	
BET <sub>1-1b</sub>	1,31	1,31	1,26	1,26	1,22	1,22
	1,31		1,25		1,21	
BET <sub>1-1c</sub>	1,28	1,28	1,24	1,25	1,20	1,17
	1,29		1,26		1,14	
BET <sub>1-1d</sub>	1,34	1,32	1,28	1,27	1,22	1,22
	1,30		1,27		1,21	
BET <sub>1-2a</sub>	1,30	1,30	-	-	1,22	1,22
	1,30		1,23			



<b>BET<sub>1-2b</sub></b>	1,29	1,28	-	1,20	1,20
	1,28			1,19	
<b>BET<sub>1-2c</sub></b>	1,30	1,29	-	1,22	1,22
	1,28			1,22	
<b>BET<sub>1-2d</sub></b>	1,30	1,28	-	1,18	1,18

• **Concentração A, Temperatura T<sub>2</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>APT<sub>2-1a</sub></b>	0,51	0,50	0,48	0,48	0,47	0,47
	0,49		0,47		0,47	
<b>APT<sub>2-1b</sub></b>	0,50	0,50	0,48	0,47	0,46	0,46
	0,50		0,46		0,46	
<b>APT<sub>2-1c</sub></b>	0,52	0,52	0,50	0,49	0,48	0,48
	0,52		0,48		0,48	
<b>APT<sub>2-1d</sub></b>	0,53	0,53	0,52	0,52	0,49	0,50
	0,53		0,52		0,51	
<b>APT<sub>2-2a</sub></b>	0,50	0,50	-	-	0,47	0,47
	0,49		0,47		0,47	
<b>APT<sub>2-2b</sub></b>	0,50	0,50	-	-	0,47	0,47
	0,51		0,47		0,47	
<b>APT<sub>2-2c</sub></b>	0,50	0,50	-	-	0,48	0,48
	0,51		0,47		0,47	
<b>APT<sub>2-2d</sub></b>	0,49	0,49	-	-	0,46	0,46
	0,49		0,47		0,47	
<b>AMT<sub>2-1a</sub></b>	0,48	0,48	0,47	0,47	0,46	0,46
	0,48		0,47		0,47	
<b>AMT<sub>2-1b</sub></b>	0,48	0,48	0,48	0,48	0,46	0,46
	0,48		0,47		0,47	
<b>AMT<sub>2-1c</sub></b>	0,49	0,49	0,45	0,46	0,45	0,45
	0,49		0,47		0,45	
<b>AMT<sub>2-1d</sub></b>	0,46	0,47	0,48	0,48	0,46	0,46
	0,48		0,47		0,47	
<b>AMT<sub>2-2a</sub></b>	0,47	0,48	-	-	0,47	0,47
	0,49		0,47		0,47	
<b>AMT<sub>2-2b</sub></b>	0,48	0,48	-	-	0,46	0,46
	0,47		0,46		0,46	
<b>AMT<sub>2-2c</sub></b>	0,49	0,49	-	-	0,47	0,47
	0,49		0,47		0,47	
<b>AMT<sub>2-2d</sub></b>	0,50	0,50	-	-	0,47	0,47
	0,49		0,47		0,47	
<b>AET<sub>2-1a</sub></b>	0,50	0,49	0,46	0,46	0,47	0,46
	0,48		0,47		0,45	
<b>AET<sub>2-1b</sub></b>	0,50	0,50	0,47	0,47	0,47	0,47
	0,49		0,47		0,47	
<b>AET<sub>2-1c</sub></b>	0,48	0,48	0,48	0,48	0,47	0,47
	0,48		0,47		0,47	
<b>AET<sub>2-1d</sub></b>	0,50	0,50	0,49	0,48	0,46	0,46
	0,49		0,47		0,47	
<b>AET<sub>2-2a</sub></b>	0,48	0,48	-	-	0,47	0,47

	0,48				0,47	
<b>AET<sub>2</sub>-2b</b>	0,48	0,48	-	-	0,46	0,46
	0,48				0,47	
<b>AET<sub>2</sub>-2c</b>	0,50	0,50	-	-	0,46	0,46
	0,49				0,47	
<b>AET<sub>2</sub>-2d</b>	0,50	0,49	-	-	0,48	0,48

• **Concentração B, Temperatura T<sub>2</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>BPT<sub>2</sub>-1a</b>	1,26	1,24	1,20	1,21	1,20	1,17
	1,23		1,22		1,17	
<b>BPT<sub>2</sub>-1b</b>	1,24	1,22	1,22	1,21	1,18	1,18
	1,21		1,20		1,19	
<b>BPT<sub>2</sub>-1c</b>	1,23	1,22	1,22	1,22	1,16	1,18
	1,21		1,22		1,20	
<b>BPT<sub>2</sub>-1d</b>	1,27	1,26	1,22	1,21	1,20	1,20
	1,24		1,20		1,19	
<b>BPT<sub>2</sub>-2a</b>	1,22	1,23	-	-	1,18	1,18
	1,24		1,17			
<b>BPT<sub>2</sub>-2b</b>	1,31	1,28	-	-	1,23	1,22
	1,26		1,20			
<b>BPT<sub>2</sub>-2c</b>	1,10	1,16	-	-	1,04	1,04
	1,23		1,05			
<b>BPT<sub>2</sub>-2d</b>	1,25	1,25	-	-	1,18	1,18
	1,25		1,19			
<b>BMT<sub>2</sub>-1a</b>	1,19	1,21	1,20	1,20	1,18	1,18
	1,23		1,21		1,18	
<b>BMT<sub>2</sub>-1b</b>	1,25	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18
	1,11		1,19		1,17	
<b>BMT<sub>2</sub>-1c</b>	1,28	1,28	1,23	1,23	1,22	1,20
	1,29		1,23		1,19	
<b>BMT<sub>2</sub>-1d</b>	1,25	1,24	1,09	1,14	1,20	1,20
	1,23		1,19		1,21	
<b>BMT<sub>2</sub>-2a</b>	1,26	1,26	-	-	1,18	1,18
	1,25		1,17			
<b>BMT<sub>2</sub>-2b</b>	1,22	1,22	-	-	1,15	1,16
	1,23		1,17			
<b>BMT<sub>2</sub>-2c</b>	1,25	1,24	-	-	1,17	1,18
	1,23		1,19			
<b>BMT<sub>2</sub>-2d</b>	1,26	1,27	-	-	1,18	1,19
	1,28		1,20			
<b>BET<sub>2</sub>-1a</b>	1,18	1,24	1,21	1,20	1,19	1,20
	1,29		1,20		1,21	
<b>BET<sub>2</sub>-1b</b>	1,25	1,26	1,22	1,21	1,20	1,18
	1,27		1,20		1,17	
<b>BET<sub>2</sub>-1c</b>	1,26	1,26	1,24	1,23	1,20	1,20
	1,27		1,22		1,19	
<b>BET<sub>2</sub>-1d</b>	1,25	1,26	1,20	1,20	1,20	1,20
	1,27		1,21		1,19	

<b>BET<sub>2</sub>-2a</b>	1,26	1,26	-	1,16	1,16
	1,26			1,15	
<b>BET<sub>2</sub>-2b</b>	1,23	1,24	-	1,19	1,19
	1,25			1,19	
<b>BET<sub>2</sub>-2c</b>	1,36	1,31	-	1,20	1,20
	1,26			1,19	
<b>BET<sub>2</sub>-2d</b>	1,23	1,24	-	1,21	1,20

### A3.4. Acetona

• Concentração A, Temperatura T<sub>1</sub>

AE	C <sub>0</sub>	Média	C <sub>15</sub>	Média	C <sub>30</sub>	Média
APT <sub>1</sub> -1a	0,62	0,62	0,58	0,61	0,52	0,51
	0,61		0,64		0,50	
APT <sub>1</sub> -1b	0,48	0,47	0,45	0,45	0,41	0,40
	0,46		0,45		0,38	
APT <sub>1</sub> -1c	0,48	0,50	0,45	0,46	0,43	0,42
	0,52		0,47		0,41	
APT <sub>1</sub> -1d	0,47	0,48	0,51	0,51	0,40	0,40
	0,50		0,51		0,41	
APT <sub>1</sub> -2a	0,52	0,52	-	-	0,41	0,39
	0,51		-		0,37	
APT <sub>1</sub> -2b	0,48	0,49	-	-	0,39	0,39
	0,50		-		0,39	
APT <sub>1</sub> -2c	0,52	0,50	-	-	0,4	0,40
	0,47		-		0,4	
APT <sub>1</sub> -2d	0,51	0,51	-	-	0,41	0,41
	0,50		-		0,41	
AMT <sub>1</sub> -1a	0,49	0,50	0,48	0,49	0,42	0,40
	0,51		0,5		0,39	
AMT <sub>1</sub> -1b	0,50	0,47	0,43	0,46	0,41	0,40
	0,44		0,49		0,39	
AMT <sub>1</sub> -1c	0,49	0,48	0,48	0,48	0,43	0,40
	0,46		0,47		0,38	
AMT <sub>1</sub> -1d	0,50	0,50	0,47	0,49	0,42	0,42
	0,49		0,51		0,42	
AMT <sub>1</sub> -2a	0,50	0,49	-	-	0,44	0,42
	0,48		-		0,41	
AMT <sub>1</sub> -2b	0,50	0,50	-	-	0,42	0,42
	0,50		-		0,41	
AMT <sub>1</sub> -2c	0,49	0,46	-	-	0,44	0,42
	0,44		-		0,39	
AMT <sub>1</sub> -2d	0,46	0,46	-	-	0,44	0,43
	0,45		-		0,42	
AET <sub>1</sub> -1a	0,48	0,48	0,49	0,48	0,44	0,42
	0,50		0,46		0,41	
AET <sub>1</sub> -1b	0,51	0,49	0,50	0,46	0,43	0,42
	0,47		0,43		0,40	
AET <sub>1</sub> -1c	0,49	0,48	0,48	0,46	0,40	0,40
	0,46		0,45		0,40	
AET <sub>1</sub> -1d	0,50	0,49	0,49	0,46	0,41	0,41
	0,47		0,43		0,41	

<b>AET<sub>1</sub>-2a</b>	0,50	0,50	-	-	0,42	0,40
	0,49				0,39	
<b>AET<sub>1</sub>-2b</b>	0,45	0,48	-	-	0,40	0,40
	0,50				0,41	
<b>AET<sub>1</sub>-2c</b>	0,52	0,52	-	-	0,43	0,41
	0,52				0,39	
<b>AET<sub>1</sub>-2d</b>	0,47	0,50	-	-	0,42	0,42
	0,52				0,41	

• **Concentração B, Temperatura T<sub>1</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>BPT<sub>1</sub>-1a</b>	1,32	1,31	1,19	1,17	0,50	0,76
	1,30		1,15		1,02	
<b>BPT<sub>1</sub>-1b</b>	1,40	1,34	1,17	1,16	0,54	0,76
	1,29		1,15		0,99	
<b>BPT<sub>1</sub>-1c</b>	1,28	1,28	1,16	1,15	1,11	1,10
	1,29		1,14		1,09	
<b>BPT<sub>1</sub>-1d</b>	1,35	1,26	1,16	1,13	1,12	1,09
	1,16		1,10		1,06	
<b>BPT<sub>1</sub>-2a</b>	1,16	1,22	-	-	1,12	1,07
	1,28		1,02			
<b>BPT<sub>1</sub>-2b</b>	1,39	1,37	-	-	1,18	1,11
	1,35		1,04			
<b>BPT<sub>1</sub>-2c</b>	1,17	1,25	-	-	1,14	1,13
	1,33		1,12			
<b>BPT<sub>1</sub>-2d</b>	1,30	1,30	-	-	1,05	1,02
	1,29		0,99			
<b>BMT<sub>1</sub>-1a</b>	1,32	1,32	1,14	1,14	1,11	1,10
	1,33		1,14		1,09	
<b>BMT<sub>1</sub>-1b</b>	1,35	1,32	1,13	1,16	1,09	1,09
	1,30		1,19		1,09	
<b>BMT<sub>1</sub>-1c</b>	1,20	1,26	1,11	1,12	1,10	1,06
	1,31		1,12		1,03	
<b>BMT<sub>1</sub>-1d</b>	1,34	1,33	1,11	1,16	1,10	1,06
	1,32		1,20		1,03	
<b>BMT<sub>1</sub>-2a</b>	1,35	1,30	-	-	1,09	1,08
	1,24		1,06			
<b>BMT<sub>1</sub>-2b</b>	1,37	1,34	-	-	1,14	1,12
	1,30		1,10			
<b>BMT<sub>1</sub>-2c</b>	1,36	1,30	-	-	1,13	1,07
	1,24		1,01			
<b>BMT<sub>1</sub>-2d</b>	1,29	1,25	-	-	1,09	1,10
	1,21		1,11			
<b>BET<sub>1</sub>-1a</b>	1,38	1,34	1,17	1,16	1,08	1,08
	1,29		1,14		1,07	
<b>BET<sub>1</sub>-1b</b>	1,36	1,34	1,19	1,18	1,09	1,10
	1,31		1,17		1,12	
<b>BET<sub>1</sub>-1c</b>	1,28	1,30	1,10	1,12	1,12	1,04

	1,31		1,15		0,96	
<b>BET<sub>1</sub>-1d</b>	1,37	1,31	1,23	1,19	1,09	1,10
	1,25		1,15		1,11	
<b>BET<sub>1</sub>-2a</b>	1,34	1,32	-	-	1,13	1,11
	1,30		1,09			
<b>BET<sub>1</sub>-2b</b>	1,33	1,28	-	-	1,04	1,04
	1,24		1,05			
<b>BET<sub>1</sub>-2c</b>	1,34	1,32	-	-	1,09	1,09
	1,31		1,09			
<b>BET<sub>1</sub>-2d</b>	1,34	1,30	-	-	1,06	1,06
	1,27		1,07			

• **Concentração A, Temperatura T<sub>2</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>APT<sub>2</sub>-1a</b>	0,52	0,48	0,45	0,44	0,42	0,41
	0,45		0,43		0,40	
<b>APT<sub>2</sub>-1b</b>	0,51	0,50	0,43	0,42	0,40	0,39
	0,49		0,42		0,38	
<b>APT<sub>2</sub>-1c</b>	0,52	0,52	0,45	0,44	0,42	0,42
	0,53		0,43		0,41	
<b>APT<sub>2</sub>-1d</b>	0,48	0,49	0,48	0,46	0,41	0,42
	0,50		0,45		0,43	
<b>APT<sub>2</sub>-2a</b>	0,48	0,48	-	-	0,41	0,40
	0,48		0,39			
<b>APT<sub>2</sub>-2b</b>	0,51	0,50	-	-	0,42	0,41
	0,49		0,40			
<b>APT<sub>2</sub>-2c</b>	0,51	0,51	-	-	0,42	0,42
	0,51		0,40			
<b>APT<sub>2</sub>-2d</b>	0,45	0,47	-	-	0,43	0,40
	0,49		0,38			
<b>AMT<sub>2</sub>-1a</b>	0,44	0,45	0,42	0,42	0,43	0,42
	0,46		0,43		0,40	
<b>AMT<sub>2</sub>-1b</b>	0,44	0,44	0,46	0,44	0,42	0,40
	0,43		0,43		0,39	
<b>AMT<sub>2</sub>-1c</b>	0,51	0,50	0,40	0,42	0,40	0,40
	0,48		0,43		0,41	
<b>AMT<sub>2</sub>-1d</b>	0,43	0,46	0,45	0,44	0,41	0,41
	0,49		0,42		0,41	
<b>AMT<sub>2</sub>-2a</b>	0,45	0,47	-	-	0,42	0,42
	0,49		0,41			
<b>AMT<sub>2</sub>-2b</b>	0,44	0,44	-	-	0,43	0,42
	0,43		0,41			
<b>AMT<sub>2</sub>-2c</b>	0,50	0,50	-	-	0,42	0,42
	0,50		0,43			
<b>AMT<sub>2</sub>-2d</b>	0,47	0,49	-	-	0,43	0,41
	0,51		0,39			
<b>AET<sub>2</sub>-1a</b>	0,44	0,47	0,42	0,42	0,40	0,40
	0,50		0,42		0,41	
<b>AET<sub>2</sub>-1b</b>	0,50	0,50	0,42	0,42	0,44	0,42
	0,50		0,42		0,41	

<b>AET<sub>2</sub>-1c</b>	0,49 0,47	0,48	0,42 0,44	0,43	0,45 0,42	0,44
<b>AET<sub>2</sub>-1d</b>	0,52 0,47	0,50	0,46 0,42	0,44	0,44 0,42	0,43
<b>AET<sub>2</sub>-2a</b>	0,44 0,44	0,44	-	-	0,44 0,41	0,42
<b>AET<sub>2</sub>-2b</b>	0,46 0,46	0,46	-	-	0,44 0,41	0,42
<b>AET<sub>2</sub>-2c</b>	0,45 0,50	0,48	-	-	0,42 0,41	0,42
<b>AET<sub>2</sub>-2d</b>	0,52 0,44	0,48	-	-	0,43 0,43	0,43

• **Concentração B, Temperatura T<sub>2</sub>**

<b>AE</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>15</sub></b>	<b>Média</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>Média</b>
<b>BPT<sub>2</sub>-1a</b>	1,28 1,15	1,22	1,12 1,12	1,12	1,10 0,98	1,04
<b>BPT<sub>2</sub>-1b</b>	1,13 1,11	1,12	1,13 1,08	1,10	1,08 0,99	1,04
<b>BPT<sub>2</sub>-1c</b>	1,14 1,13	1,14	1,12 1,10	1,11	1,07 0,99	1,03
<b>BPT<sub>2</sub>-1d</b>	1,25 1,14	1,20	1,10 1,06	1,08	1,04 1,02	1,03
<b>BPT<sub>2</sub>-2a</b>	1,24 1,25	1,24	-	-	1,04 1,00	1,02
<b>BPT<sub>2</sub>-2b</b>	1,29 1,26	1,28	-	-	1,13 1,06	1,10
<b>BPT<sub>2</sub>-2c</b>	0,99 1,25	1,12	-	-	0,92 0,90	0,91
<b>BPT<sub>2</sub>-2d</b>	1,25 1,25	1,25	-	-	1,06 1,04	1,04
<b>BMT<sub>2</sub>-1a</b>	1,20 1,22	1,21	1,11 1,09	1,10	1,04 0,99	1,02
<b>BMT<sub>2</sub>-1b</b>	1,26 1,10	1,18	1,06 1,03	1,04	1,11 0,98	1,04
<b>BMT<sub>2</sub>-1c</b>	1,32 1,16	1,24	1,16 1,10	1,13	1,12 1,05	1,08
<b>BMT<sub>2</sub>-1d</b>	1,27 1,23	1,25	1,01 1,08	1,04	1,09 1,06	1,08
<b>BMT<sub>2</sub>-2a</b>	1,20 1,24	1,24	-	-	1,05 0,99	1,02
<b>BMT<sub>2</sub>-2b</b>	1,25 1,22	1,24	-	-	1,03 1,04	1,04
<b>BMT<sub>2</sub>-2c</b>	1,27 1,20	1,24	-	-	1,02 1,06	1,04
<b>BMT<sub>2</sub>-2d</b>	1,27 1,27	1,27	-	-	1,04 1,06	1,05
<b>BET<sub>2</sub>-1a</b>	1,11 1,23	1,17	1,12 1,07	1,10	1,06 1,05	1,06
<b>BET<sub>2</sub>-1b</b>	1,20	1,24	1,15	1,10	1,09	1,08

	1,27		1,05		1,06	
<b>BET<sub>2</sub>-1c</b>	1,18		1,11		1,09	
	1,22	1,20	1,08	1,10	1,07	1,08
<b>BET<sub>2</sub>-1d</b>	1,26		1,08		1,09	
	1,20	1,23	1,08	1,08	1,06	1,08
<b>BET<sub>2</sub>-2a</b>	1,29		-		1,01	
	1,25	1,27	-	-	1,01	1,01
<b>BET<sub>2</sub>-2b</b>	1,26		-		1,03	
	1,16	1,21	-	-	1,06	1,04
<b>BET<sub>2</sub>-2c</b>	1,38		-		1,06	
	1,22	1,30	-	-	1,06	1,06
<b>BET<sub>2</sub>-2d</b>	1,15		-		1,13	
	1,27	1,21	-	-	1,03	1,08



## A4. Identificação de *outliers* - Teste de Grubbs

### A4.1. Etanol

	Desvio Padrão	Média	G experimental
APT <sub>1</sub> -1a	0,0589	0,54	1,36
BMT <sub>1</sub> -2d	0,0206	1,34	1,33
APT <sub>2</sub> -1d	0,0238	0,53	1,47
BMT <sub>2</sub> -1a	0,0416	1,29	1,20
BET <sub>2</sub> -2c	0,0283	1,32	1,41

### A4.2. Metanol

	Desvio Padrão	Média	G experimental
APT <sub>1</sub> -1a	0,0589	0,56	1,36
APT <sub>1</sub> -1b	0,0589	0,56	1,02
BPT <sub>1</sub> -2d	0,0450	1,32	1,39
APT <sub>2</sub> -1d	0,0238	0,53	1,49
BPT <sub>2</sub> -2b	0,0386	1,26	1,36
BET <sub>2</sub> -2c	0,0310	1,32	1,37

### A4.3. 2-Propanol

	Desvio Padrão	Média	G experimental
APT <sub>1</sub> -1a	0,0629	0,54	1,47
BPT <sub>1</sub> -2b	0,0432	1,28	1,39
BPT <sub>2</sub> -2b	0,0510	1,23	0,981
BPT <sub>2</sub> -2c	0,0510	1,23	1,37
BMT <sub>2</sub> -1b	0,0427	1,23	1,11
BMT <sub>2</sub> -1c	0,0427	1,23	1,23
BET <sub>2</sub> -2c	0,0330	1,26	1,44

#### A4.4. Acetona

	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Média</b>	<b>G experimental</b>
<b>APT<sub>1</sub>-1a</b>	0,0695	0,52	1,48
<b>BPT<sub>1</sub>-2a</b>	0,0656	1,29	0,99
<b>BPT<sub>1</sub>-2b</b>	0,0656	1,29	1,30
<b>BMT<sub>1</sub>-1c</b>	0,0320	1,31	1,48
<b>BMT<sub>1</sub>-2d</b>	0,0369	1,30	1,29
<b>BPT<sub>2</sub>-1b</b>	0,0477	1,17	1,05
<b>BPT<sub>2</sub>-2c</b>	0,0704	1,22	1,46

## A5. Teste t-Student Emparelhado

### A5.1. Etanol

- Amostras APT<sub>1</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,54	0,54
<b>Variância</b>	0,00347	0,00337
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	0,775	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,248	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras APT<sub>1</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,525	0,519
<b>Variância</b>	0,000100	3,49E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	0,809	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,239	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>1</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,518	0,490
<b>Variância</b>	0,0000250	0,000200
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,37	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0111	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>1</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,513	0,498
<b>Variância</b>	9,17E-05	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	2,32	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0514	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>1</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,510	0,495
<b>Variância</b>	6,67E-05	0,000100
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	2,32	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0514	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>1</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,523	0,498
<b>Variância</b>	0,0000250	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	8,660	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00162	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>1</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,29	1,24
<b>Variância</b>	0,000158	0,000600
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,18	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0125	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>1</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,32	1,27
<b>Variância</b>	0,00207	0,000900
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,16	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0127	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>1</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,30	1,29
<b>Variância</b>	0,000167	0,000367
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	1,41	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,126	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	1,34	1,28
Variância	0,000425	0,000692
gl	3	
Stat t	5,55	
P(T<=t) uni-caudal	0,00575	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras BET<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	1,34	1,27
Variância	0,000292	0,000492
gl	3	
Stat t	12,1	
P(T<=t) uni-caudal	0,000604	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras BET<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	1,33	1,28
Variância	9,17E-05	0,000425
gl	3	
Stat t	3,78	
P(T<=t) uni-caudal	0,0162	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras APT<sub>2-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	0,525	0,500
Variância	0,000567	0,000467
gl	3	
Stat t	8,66	
P(T<=t) uni-caudal	0,00162	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras APT<sub>2-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	0,510	0,492
Variância	6,67E-05	9,17E-05
gl	3	
Stat t	2,05	
P(T<=t) uni-caudal	0,0664	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras AMT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,500	0,482
<b>Variância</b>	0,000200	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	2,78	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0345	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,505	0,488
<b>Variância</b>	0,000100	9,17E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	7	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00299	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,495	0,485
<b>Variância</b>	0,000100	3,33E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	1,41	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,126	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,508	0,483
<b>Variância</b>	0,0000250	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	8,66	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00162	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,32	1,26
<b>Variância</b>	0,000167	0,000267
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	19,1	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000158	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,27	1,23
<b>Variância</b>	0,00209	0,00529
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	2,23	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0562	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,29	1,23
<b>Variância</b>	0,00173	9,17E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	1,12	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,173	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,29	1,26
<b>Variância</b>	0,000367	0,000158
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	5,74	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00524	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,33	1,28
<b>Variância</b>	0,000200	0,000167
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	6,35	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00395	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,32	1,27
<b>Variância</b>	0,000800	0,000225
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,20	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0123	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

## A5.2. Metanol

- Amostras APT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,560	0,545
<b>Variância</b>	0,003467	0,00410
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	1,57	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,108	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras APT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,545	0,5223
<b>Variância</b>	0,000100	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	9,00	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00145	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,528	0,498
<b>Variância</b>	9,17E-05	0,000292
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	2,45	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0459	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,525	0,503
<b>Variância</b>	0,000100	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	9,00	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00145	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,525	0,503
<b>Variância</b>	0,000100	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	9,00	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00145	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	



- Amostras AET<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,540	0,523
<b>Variância</b>	6,67E-05	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	7,00	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00299	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,29	1,23
<b>Variância</b>	0,000333	0,000625
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	6,06	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00450	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,32	1,26
<b>Variância</b>	0,00203	0,000900
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	7,13	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00284	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,29	1,27
<b>Variância</b>	0,000367	0,000133
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	1,57	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,108	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,35	1,27
<b>Variância</b>	0,000567	0,000667
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	5,67	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00543	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>1</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,35	1,26
<b>Variância</b>	0,000292	0,000733
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	12,3	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000574	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>1</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,33	1,27
<b>Variância</b>	0,000225	0,000333
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	5,19	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00696	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras APT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,523	0,507
<b>Variância</b>	3,33E-05	0,000133
<b>gl</b>	2	
<b>Stat t</b>	5,00	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0189	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,92	

- Amostras APT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,528	0,498
<b>Variância</b>	9,17E-05	0,000158
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	2,78	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0346	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,510	0,503
<b>Variância</b>	0,000133	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	1,57	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,108	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,518	0,503
<b>Variância</b>	0,0000250	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	3,00	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0288	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,508	0,495
<b>Variância</b>	9,17E-05	3,33E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	1,67	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0971	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,523	0,503
<b>Variância</b>	0,0000250	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	1,67	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0971	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,32	1,24
<b>Variância</b>	0,000167	0,000425
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	16,2	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000256	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,26	1,21
<b>Variância</b>	0,00149	0,00449
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	2,36	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0498	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,26	1,25
<b>Variância</b>	0,00187	0,000133
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	0,577	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,302	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,27	1,24
<b>Variância</b>	0,000358	0,000558
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	3,87	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0152	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,33	1,27
<b>Variância</b>	0,000225	3,33E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	9,00	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00145	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,32	1,25
<b>Variância</b>	0,000958	0,000492
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,76	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00882	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

### A5.3. 2-Propanol

- Amostras APT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	0,538	0,518
Variância	0,00396	0,00309
gl	3	
Stat t	4,90	
P(T<=t) uni-caudal	0,00814	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras APT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	0,525	0,498
Variância	0,000100	0,0000250
gl	3	
Stat t	5,74	
P(T<=t) uni-caudal	0,005239	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras AMT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	0,513	0,470
Variância	9,17E-05	0,000200
gl	3	
Stat t	5,67	
P(T<=t) uni-caudal	0,00544	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras AMT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	0,508	0,478
Variância	9,17E-05	0,0000250
gl	3	
Stat t	7,35	
P(T<=t) uni-caudal	0,00260	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras AET<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
Média	0,510	0,475
Variância	6,67E-05	1,00E-04
gl	3	
Stat t	12,1	
P(T<=t) uni-caudal	0,000604	
t crítico uni-caudal	2,35	

- Amostras AET<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,513	0,478
<b>Variância</b>	9,17E-05	9,17E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	12,1	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000604	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,28	1,18
<b>Variância</b>	0,000267	0,000633
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	5,55	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00578	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,28	1,20
<b>Variância</b>	0,00187	0,00133
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	6,93	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00308	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,28	1,21
<b>Variância</b>	0,000267	0,000225
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	9,67	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00118	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,30	1,21
<b>Variância</b>	6,67E-05	0,000492
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	11,7	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000676	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>1</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,31	1,20
<b>Variância</b>	0,000358	0,000558
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	16,3	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000253	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>1</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,29	1,21
<b>Variância</b>	9,17E-05	0,000367
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	13,1	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000479	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras APT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,513	0,478
<b>Variância</b>	0,000225	0,000292
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	12,1	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000604	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras APT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,498	0,470
<b>Variância</b>	0,0000250	6,67E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	11,0	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000804	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>C<sub>0</sub></b>
<b>Média</b>	0,480	0,458
<b>Variância</b>	6,67E-05	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	3,58	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0187	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,488	0,468
<b>Variância</b>	9,17E-05	2,50E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,90	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00814	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,493	0,465
<b>Variância</b>	9,17E-05	3,33E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,37	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0111	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,488	0,468
<b>Variância</b>	9,17E-05	9,17E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	2,83	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0331	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,24	1,183
<b>Variância</b>	0,000367	0,0001583
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	7,00	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00299	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,23	1,16
<b>Variância</b>	0,00260	0,00623
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,82	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00849	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	



- Amostras BMT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,23	1,19
<b>Variância</b>	0,00183	0,000133
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	2,27	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0540	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,25	1,18
<b>Variância</b>	0,000492	0,000158
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	12,1	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000604	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,26	1,20
<b>Variância</b>	0,000100	0,000100
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	7,35	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00260	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,26	1,19
<b>Variância</b>	0,00109	0,000358
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,27	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0118	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

## A5.4. Acetona

- Amostras APT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,518	0,433
<b>Variância</b>	0,00483	0,00276
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	9,81	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00112	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras APT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,505	0,398
<b>Variância</b>	0,000167	9,17E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	14,3	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000368	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,488	0,405
<b>Variância</b>	0,000225	1,00E-04
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	13,1	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000479	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,478	0,423
<b>Variância</b>	0,000425	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,62	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00954	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,485	0,413
<b>Variância</b>	3,33E-05	9,17E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	15,1	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000313	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,500	0,408
<b>Variância</b>	0,000267	9,17E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	12,3	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000574	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,30	0,928
<b>Variância</b>	0,00123	0,0374
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	3,28	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0232	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,29	1,08
<b>Variância</b>	0,00430	0,00236
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	5,11	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00727	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,31	1,08
<b>Variância</b>	0,00103	0,000425
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	15,6	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000285	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,30	1,09
<b>Variância</b>	0,00136	0,0004912
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	11,1	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000785	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>1-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,32	1,08
<b>Variância</b>	0,000425	0,000800
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	20,5	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000126	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>1-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,31	1,08
<b>Variância</b>	0,000367	0,000967
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	32,5	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	3,19E-05	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras APT<sub>2-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,498	0,410
<b>Variância</b>	0,000292	0,000200
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	8,49	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00172	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras APT<sub>2-2</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,490	0,408
<b>Variância</b>	0,000333	9,17E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	17,2	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000213	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>2-1</sub>

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,463	0,408
<b>Variância</b>	0,000692	9,17E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	3,54	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0192	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AMT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,475	0,418
<b>Variância</b>	0,000700	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,00	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,0140	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,488	0,423
<b>Variância</b>	0,000225	0,000292
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	7,51	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00245	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras AET<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	0,465	0,423
<b>Variância</b>	0,000367	0,0000250
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	4,98	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00779	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,17	1,04
<b>Variância</b>	0,00227	3,33E-05
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	5,63	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00554	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BPT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,23	1,02
<b>Variância</b>	0,00500	0,00629
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	23,7	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	8,26E-05	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,22	1,06
<b>Variância</b>	0,00100	0,000900
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	15,9	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000273	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BMT<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,25	1,04
<b>Variância</b>	0,000225	0,000158
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	36,4	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	2,29E-05	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>2</sub>-1

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,21	1,08
<b>Variância</b>	0,00100	0,000100
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	11,3	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,000735	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	

- Amostras BET<sub>2</sub>-2

	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>
<b>Média</b>	1,25	1,05
<b>Variância</b>	0,00203	0,000892
<b>gl</b>	3	
<b>Stat t</b>	6,61	
<b>P(T&lt;=t) uni-caudal</b>	0,00353	
<b>t crítico uni-caudal</b>	2,35	