



Ministério da
**Ciência, Tecnologia
e Inovação**



sid.inpe.br/mtc-m19/2013/12.12.16.42-NTC

**PROTOCOLO DE ANÁLISE DE CARBONO
DISSOLVIDO NOS CORPOS DE ÁGUA SUPERFICIAIS
E O PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO DO TOC
SHIMADZU TOC VCPH/CPN**

Vanessa Daniéle Tomé
Maria Cristina Forti

URL do documento original:
<<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/3FCLALL>>

INPE
São José dos Campos
2013

PUBLICADO POR:

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE

Gabinete do Diretor (GB)

Serviço de Informação e Documentação (SID)

Caixa Postal 515 - CEP 12.245-970

São José dos Campos - SP - Brasil

Tel.:(012) 3208-6923/6921

Fax: (012) 3208-6919

E-mail: pubtc@sid.inpe.br

CONSELHO DE EDITORAÇÃO E PRESERVAÇÃO DA PRODUÇÃO INTELLECTUAL DO INPE (RE/DIR-204):

Presidente:

Marciana Leite Ribeiro - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Membros:

Dr. Antonio Fernando Bertachini de Almeida Prado - Coordenação Engenharia e Tecnologia Espacial (ETE)

Dr^a Inez Staciarini Batista - Coordenação Ciências Espaciais e Atmosféricas (CEA)

Dr. Gerald Jean Francis Banon - Coordenação Observação da Terra (OBT)

Dr. Germano de Souza Kienbaum - Centro de Tecnologias Especiais (CTE)

Dr. Manoel Alonso Gan - Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPT)

Dr^a Maria do Carmo de Andrade Nono - Conselho de Pós-Graduação

Dr. Plínio Carlos Alvalá - Centro de Ciência do Sistema Terrestre (CST)

BIBLIOTECA DIGITAL:

Dr. Gerald Jean Francis Banon - Coordenação de Observação da Terra (OBT)

REVISÃO E NORMALIZAÇÃO DOCUMENTÁRIA:

Marciana Leite Ribeiro - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Yolanda Ribeiro da Silva Souza - Serviço de Informação e Documentação (SID)

EDITORAÇÃO ELETRÔNICA:

Maria Tereza Smith de Brito - Serviço de Informação e Documentação (SID)

André Luis Dias Fernandes - Serviço de Informação e Documentação (SID)



Ministério da
**Ciência, Tecnologia
e Inovação**



sid.inpe.br/mtc-m19/2013/12.12.16.42-NTC

**PROTOCOLO DE ANÁLISE DE CARBONO
DISSOLVIDO NOS CORPOS DE ÁGUA SUPERFICIAIS
E O PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO DO TOC
SHIMADZU TOC VCPH/CPN**

Vanessa Daniéle Tomé
Maria Cristina Forti

URL do documento original:
<<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/3FCLALL>>

INPE
São José dos Campos
2013



Esta obra foi licenciada sob uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial 3.0 Não Adaptada.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 3.0 Unported License.

RESUMO

O Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias (LAQUATEC) é uma facilidade do Centro de Ciência do Sistema Terrestre (CCST) associado à linha de pesquisa em Biogeoquímica Ambiental. Tem como missão dar suporte, prioritariamente, às pesquisas relacionadas aos temas: química da atmosfera, transferências de espécies químicas nas interfaces de ecossistemas, estudos da qualidade de corpos de água interiores e costeiros e tecnologias ambientais, bem como deposição e emissão de espécies químicas em diferentes escalas geográficas e ambientes. Além dessa missão específica está disponível também para atender estudos desenvolvidos no âmbito de projetos institucionais que necessitem dessas facilidades. Assim, este documento é parte da política de divulgação dos diversos protocolos empregados para que os usuários tenham instrumentos para lhes orientar quando ao uso de determinados equipamentos ou procedimentos. O objetivo deste documento é descrever o protocolo empregado no estudo sobre o conteúdo de carbono inorgânico em águas superficiais, como orientação aos usuários do LAQUATEC sobre o princípio de funcionamento do analisador de carbono total TOC – V_{CPN}, Shimadzu, para a quantificação de carbono orgânico total (TOC) através do método direto pela quantificação do carbono inorgânico não purgável (NPOC) em soluções aquosas.

ABSTRACT

The Laboratory of Aerosol Aqueous Solutions and Technologies (LAQUATEC) is a facility of the Center for Earth System Science (CCST) associated with the line of research in Environmental Biogeochemistry. Its mission is to support, primarily research themes related to: atmospheric chemistry, transfer of chemical species within ecosystem interfaces, inland water bodies' quality studies and coastal environmental technologies, as well chemical species deposition and emission in different environments and geographical scales. Besides this specific mission, it is also available to cater studies developed within institutional projects that require these facilities. Thus, this document is part of the disclosure policy of the different protocols for the facilities users to have tools to guide them for the use of the available equipment or procedures. Therefore, the purpose of this document is to describe the utilized protocol for the content determination of inorganic carbon in surface waters as guidance to users LAQUATEC as well as the working principle of the total carbon analyzer TOC - VCPN, Shimadzu. It is detailed the methods for the quantification of total organic carbon (TOC) through the direct method for the quantification of inorganic carbon not purgeable (NPOC) in aqueous solutions.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 - Shimadzu TOC-Vcph/cpn.....	2
Figura 2 - Fluxograma de análise.....	3
Figura 3 – Diagrama do principio de funcionamento do TOC.....	4
Figura 4 – Válvula de diluidor automático e seringa.....	5
Figura 5 – Etapa da acidificação com <i>sparging</i> da amostra.....	6
Figura 6 – Etapa da combustão catalítica da amostra.....	7
Figura 7– Auto-amostrador - ASI-V da Shimadzu.....	13

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
CCST	Centro de Ciências do Sistema Terrestre
LAPBio	Laboratório Associado de Pesquisas em BioGeoQuímica Ambiental
LAQUATEC	Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias
TOC	Total organic carbon
IC	Inorganic carbon
NPOC	Non- purgeable organic carbon
POC	Purgeable organica carbon
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DQO	Demanda química de oxigênio
NDIR	Infravermelho não dispersivo

SUMÁRIO

	Pág.
1 Introdução	1
2 O equipamento Shimadzu TOC-Vcph/cpn	2
3 Análise no TOC	8
4. Referências.....	14

1 Introdução

O ciclo do carbono é a circulação do carbono nos segmentos do ecossistema, por meio da água, do solo, do ar e de alguns organismos vivos. Devido à presença de carbono nos compostos orgânicos (como nos carboidratos, DNA, etc) torna-se possível sua circulação na biosfera pelo ciclo do carbono. (Miller, 2007).

A quantificação do carbono orgânico total (TOC) ocorre por meio de análises químicas aplicadas em águas superficiais ou subterrâneas. Esta análise permite identificar parâmetros que podem ser usados para avaliação dos impactos ambientais, como por exemplo, o DBO (demanda biológica de oxigênio) e o DQO (demanda bioquímica de oxigênio), devido ao consumo da de oxigênio pela matéria orgânica, realizado pelo carbono (UFV, 2011).

Nesse relatório apresenta-se a descrição do método analítico de quantificação do carbono orgânico total e o princípio de funcionamento do analisador Shimadzu TOC-Vcph/cpn. Este equipamento está instalado no Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias (LAQUATEC), localizado no INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais) em São José dos Campos-SP. O método de análise a ser utilizado é o método direto, que consiste na quantificação do carbono orgânico não purgável/volátil (non-purgeable organic carbono - NPOC), relacionando-o com a concentração de TOC, através de três etapas: acidificação (que serve para remover o carbono inorgânico da amostra), combustão catalítica (que transformar o NPOC em CO₂, possibilitando sua quantificação pelo detector) e por fim, a detecção da quantidade de NPOC presente, pelo detector de infravermelho não dispersivo.

2 O equipamento Shimadzu TOC-Vcph/cpn

A análise do carbono total dissolvido ocorre através de uma técnica de medição do carbono orgânico total (TOC), sendo usadas uma das facilidades disponíveis no Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias (LAQUATEC), o Shimadzu TOC-Vcph/cpn, mostrado na Figura 1.



Figura 1 - Shimadzu TOC-Vcph/cpn. (Fonte: Shimadzu, 2011)

Métodos de análise no TOC

A análise do TOC ocorre através da subtração do carbono inorgânico do carbono total contido na amostra, obtendo-se a concentração de TOC (Fonseca et al, 2006). O TOC contém duas frações: o carbono orgânico purgável/volátil (purgeable organic carbon - POC) e não purgável (non-purgeable organic carbono - NPOC).

Desta forma, esse aparelho permite determinar as concentrações do IC (Carbono Inorgânico) e TOC. Para se a determinar este TOC primeiramente ocorre a separação do carbono orgânico purgável do não-purgável, partindo da concentração do carbono total (total carbono - TC), como mostrado na Figura 2.

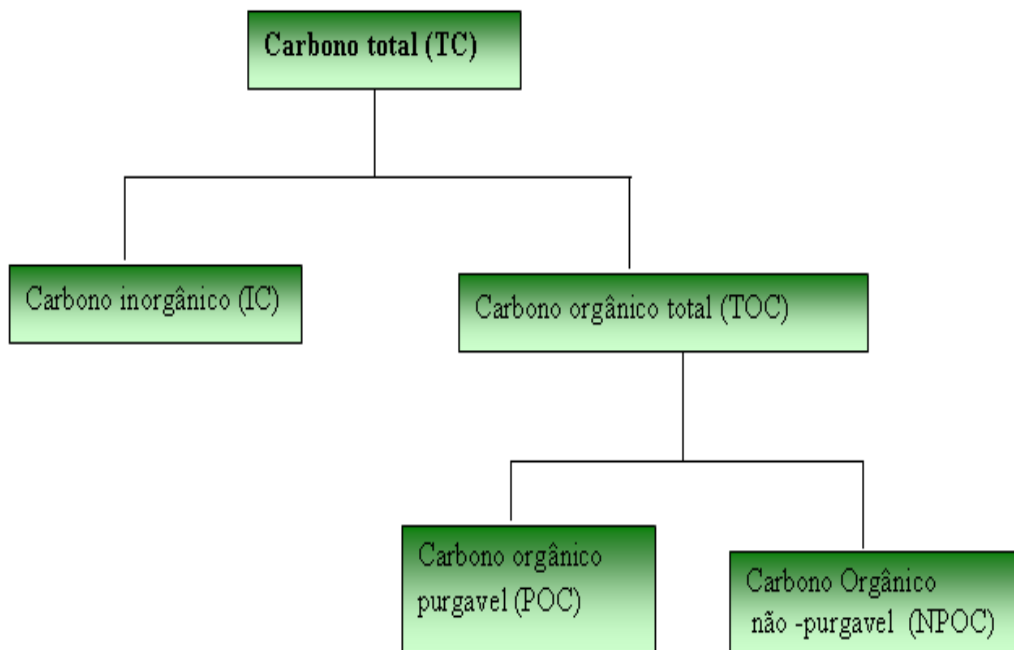


Figura 2 - Fluxograma de análise. (Fonte: Vanessa, 2011)

O equipamento Shimadzu TOC-Vcph/cpn contém três métodos de análise: método da diferença, método da adição e o método direto. O método direto de quantificação de TOC consiste na quantificação do NPOC, desconsiderando-se a concentração do IC, sendo a concentração de TOC correspondente à concentração de NPOC.

Princípio de funcionamento do TOC

Na Figura 3 está apresentado o diagrama destas etapas, partindo do amostrador automático até a apresentação dos resultados.

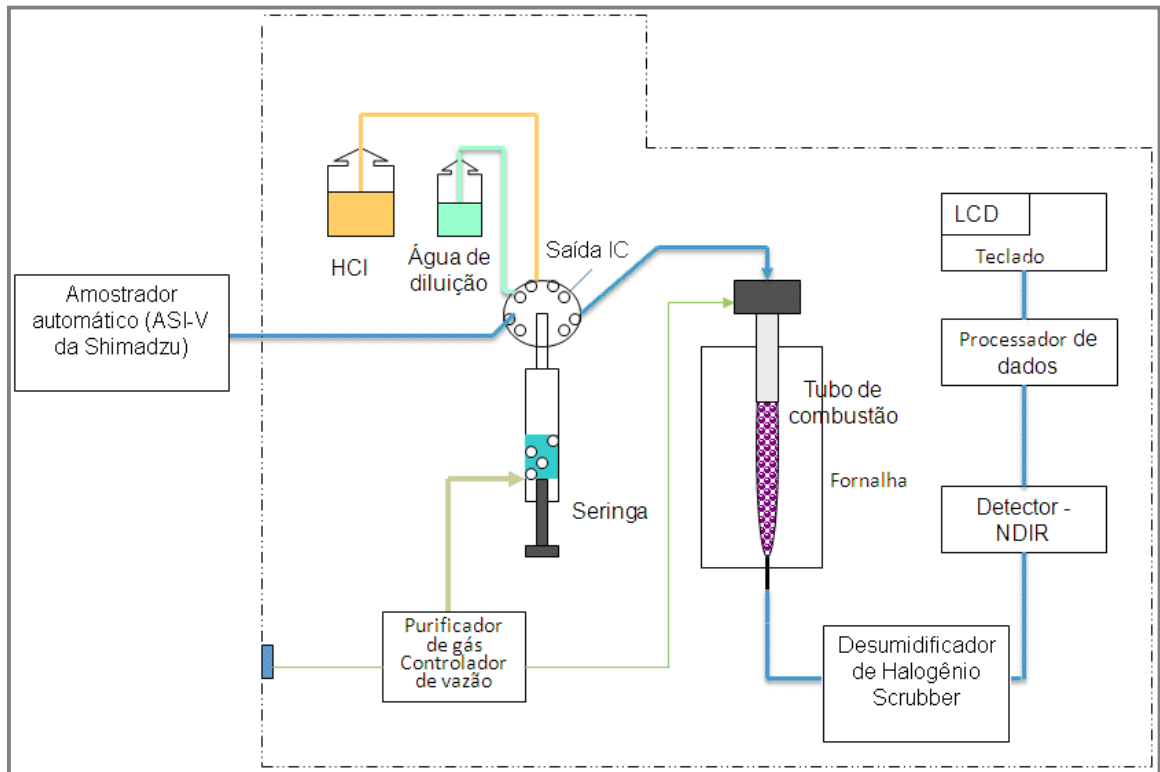


Figura 3 – Diagrama do princípio de funcionamento do TOC. (Fonte: Shimadzu, 2011)

Na determinação da concentração de NPOC pelo método direto, este equipamento disponibiliza três etapas:

1. Acidificação com sparging, que serve para remover o IC da amostra.
2. Combustão catalítica (para transformar o NPOC em CO_2 , possibilitando sua quantificação pela detecção no NDIR).
3. Detecção (quantificação da concentração de NPOC).

Descrição das etapas do processo de determinação da concentração do NPOC

1. Acidificação com sparging.

A amostra é aspirada por uma agulha de dentro do vial posicionado no amostrador automático e é injetada na seringa dentro do equipamento de TOC,

Figura 4. Nesta seringa existem válvulas que controlam a entrada da amostra, ácido e água de diluição e saída da amostra para o forno de combustão e para o NDIR.

Na seringa, ocorre a adição do HCl na amostra e através de uma técnica de borrifamento (*sparging*), onde o oxigênio ficará borbulhando na solução de amostra, para converter o carbono inorgânico em CO_2 e remove-lo da solução.

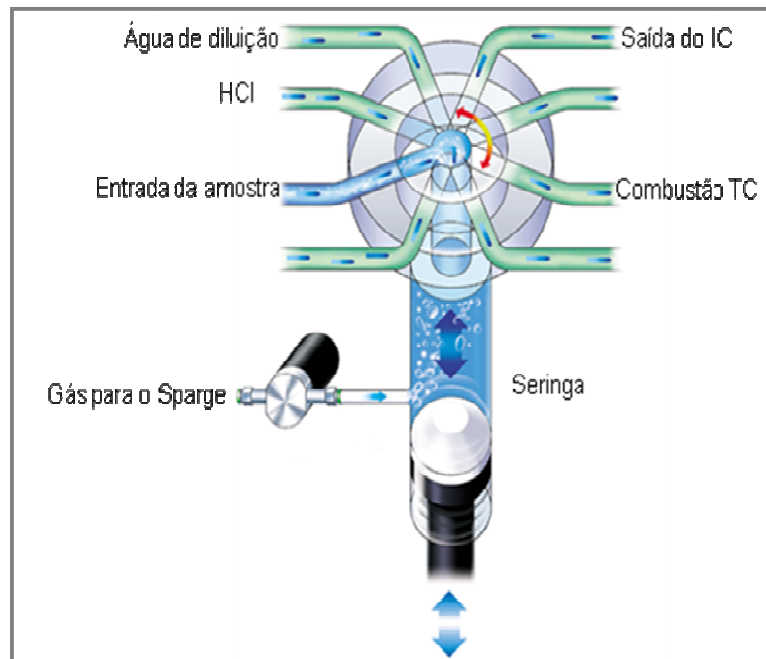
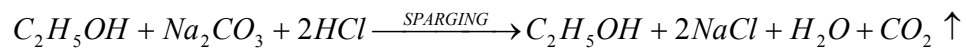


Figura 4 – Válvula de diluidor automático e seringa. (Fonte: Shimadzu, 2011)

Na Figura 4 apresenta-se o fluxo das amostras, partindo do amostrador automático para seringa, nela ocorre a lavagem do sistema (com a água de diluição a a amostra) seguido da adição do HCl com a amostra. Também é injetado na seringa o gás para *sparging* (gás oxigênio, O_2) na solução (de HCl com amostra), que irá transformar o IC em CO_2 e removê-lo da solução, que seguirá para a próxima etapa (combustão catalítica).

2. Combustão catalítica.

O NPOC é o carbono que permanece na solução (após a remoção do IC), segue para um tubo de combustão catalítica a 680° C, usando a Platina como catalisador. Para fornecer o NPOC na forma de CO_2 gasoso.

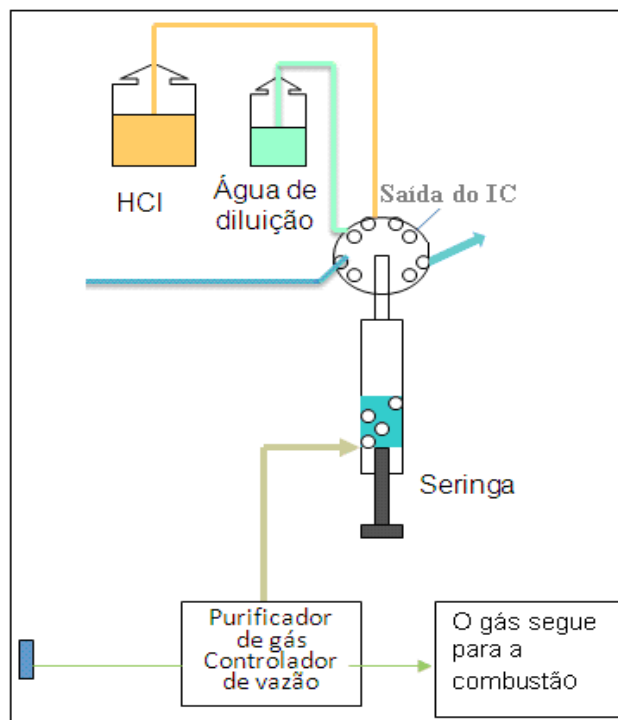
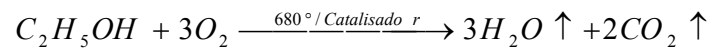


Figura 5 – Etapa da acidificação com *sparging* da amostra. (Fonte: Shimadzu, 2011)

Este CO_2 (NPOC) é levado a um desumidificador e purificador de halogênio (*scrubber*), que além de resfriar e extrair a umidade também realiza a purificação deste gás removendo as impurezas.

Na Figura 6 mostra-se a etapa em que as amostras são submetidas à combustão catalítica de alta temperatura, que ocorre dentro de um forno em cujo interior encontra-se o tubo de combustão com os catalisadores de Platina, representado na figura como bolinhas roxas, que servem para fornecer o NPOC

na forma de CO_2 gasoso, após a conversão, o gás segue para desumidificador e purificador de halogênio, que irá resfria-lo e purifica-lo.

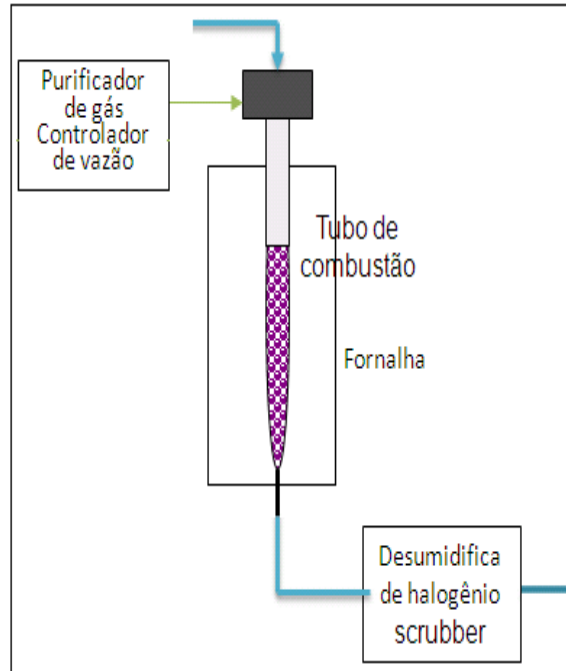


Figura 6 – Etapa da combustão catalítica da amostra. (Fonte: Shimadzu, 2011)

3. Detecção e quantificação

O NPOC na forma de CO_2 gasoso é direcionado para dentro da célula do detector NDIR (detector de absorção infravermelho não dispersivo), que contém uma região de luz infravermelha específica para o CO_2 . Geralmente o sinal específico do CO_2 é de 4,26 μm . Este sinal de detecção é medido em função do tempo que o gás flui pelo detector, como esse fluido é contínuo suas medidas serão somadas resultando em picos. A concentração de TOC é obtida por interpolação utilizando curvas analíticas (área do pico x concentração) feitas anteriormente por injeção de padrões. Esta concentração de TOC é considerada igual a concentração de NPOC pelo método direto, o qual apresenta maior eficiência e rapidez para análises de NPOC.

3 Análise no TOC.

Neste item será descrito o procedimento de análise no TOC, iniciando-se com os métodos de validação, seguido pelo procedimento de preparo de padrões, calibração do equipamento e análise.

Validação dos métodos analíticos

Métodos analíticos são procedimentos para determinar elementos ou substâncias, presentes em um determinado material. Os métodos analíticos dividem-se em dois tipos: o qualitativo que serve para identificar os elementos contidos em amostras, ou para analisar as impurezas de uma amostra e o quantitativo, que realiza a quantificação dos componentes presentes na amostra. Estas análises podem ser realizadas por meio dos métodos clássicos, os quais submetem as amostras a um processo de separação para se obter o analito de interesse. Esta separação pode ser feita por diversas técnicas, como a precipitação, a extração ou destilação.

Na análise qualitativa os analitos são identificados ou separados através de alguns fatores como sua cor, sua solubilidade, seu ponto de fusão e ebulição, entre outros. Já nos quantitativos são usadas técnicas de volumetria (titulação) e gravimétrica (medidas de massa), para se quantificar os componentes.

Além dos métodos clássicos, as análises quantitativas e qualitativas também podem ser desenvolvidas através dos métodos instrumentais. Nos métodos instrumentais, a separação e a determinação de espécies químicas são executadas por instrumentos de análise, no qual seu princípio de funcionamento utiliza as medidas de algumas propriedades físicas do analito (como condutividade elétrica, absorção ou emissão de luz), quantificando os compostos químicos contidos no analito.

Os métodos analíticos são importantes tanto nas indústrias (para obtenção da qualidade do produto final) com na área de pesquisa ambiental

(onde contribui na dosagem dos níveis de espécies químicas na água, no ar e no solo), principalmente os métodos analíticos quantitativos.

Antes de utilizar qualquer método analítico é necessário validar o mesmo, por meio de avaliações experimentais que irão definir alguns parâmetros (como a precisão, a exatidão, a linearidade, entre outros). Este processo de validação aumenta a confiabilidade dos resultados e a eficiência do método, tornando válidos os resultados por ele obtidos.

Para a realização do processo de validação é necessário quantificar os resultados desejados em uma análise, usando uma função que relaciona as medidas de grandeza de um material desconhecido com as medidas de um padrão. Esta função irá gerar uma curva de calibração.

Para construir a curva realizam-se os seguintes procedimentos.

1. Relacionar o sinal emitido com as concentrações informadas pelo operador.
2. Plotar estas informações em um gráfico, contendo em sua abscissa (eixo x) as concentrações dos constituintes presentes no material (neste caso os padrões) e na ordenada (eixo y) o sinal emitido pelo sistema.
3. Calcular o coeficiente de correlação linear (R) que informa o quanto a reta pode ser considerada adequada para este modelo matemático, ou seja, serve para verificar a relação linear entre x e y. Dado pela seguinte expressão (equação 1)

$$R = \frac{n \cdot \sum(x \cdot y) - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{[n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2][n \cdot \sum y^2 - (\sum y)^2]}} \quad (1)$$

Onde:

n = número de pares observados

Quando mais próximo da unidade for R, mais ajustado os pontos estão na reta. Após realizar estes ajustes da curva de calibração encontra-se a equação da reta, dada pela equação 2:

$$y = ax + b, (2)$$

Onde:

y= sinal emitido.

x= concentrações.

a=coeficiente angular.

b=interseção com eixo y, quando x=0.

Esta função servirá para calcular as concentrações (x) dos constituintes presentes em uma amostra. Para cada concentração (x) a ser calculada será obtido um valor do sinal (y) que aplicado na função (encontrada pela curva de calibração) fornecerá o valor x.

Em seguida, encontra-se a precisão e a exatidão com a finalidade de validar este método para tornar seus resultados mais confiáveis. A precisão é o grau de variação de uma série de medidas, ou seja, pela análise de vários padrões observa-se uma dispersão dos resultados. Baseando-se no cálculo do desvio padrão, quanto menor for este valor melhor será a precisão e, portanto, mais confiáveis serão estes resultados finais. Através da exatidão se obtém a confiabilidade ou a semelhança entre um valor verdadeiro e um valor observado. A exatidão é obtida pela comparação entre os resultados da análise de uma amostra com concentração conhecida e certificada e sua determinação através da calibração efetuada, quanto mais próxima do valor certificado mais exatas serão as medidas das amostras.

Preparo dos padrões

Antes de realizar as análises no TOC, validar o método, para isto será necessário a injeções de padrões seguida da calibração do equipamento.

Preparação dos padrões Carbono Inorgânico (IC) com 1000 ppm

A preparação do padrão primário do IC consiste nas pesagens dos dois reagentes e sua diluição. Para isto, são necessários exatamente 0,350g de NaHCO_3 , e de 0,441g de Na_2CO_3 . O NaHCO_3 deve ser levado ao dessecador por duas horas e o Na_2CO_3 em uma mufla por uma hora e a com a temperatura na faixa de 280 á 290°C. Após este tratamento térmico realizado no Na_2CO_3 , este deverá ser resfriado no dessecador. Em seguida, os dois reagentes deverão ser novamente pesados para verificação do peso exigido, que deverão ser exatos. Por fim o Na_2CO_3 e o NaHCO_3 deverão ser diluídos em 100 ml de água deionizada, com o auxílio de um bastão de vidro para dissolve-los em água.

Preparação dos padrões Carbono orgânico não purgável (NPOC) com 1000 ppm

Na preparação deste padrão são necessários de 0,2125 g de Hidrofitalato de Potássio seco previamente na temperatura entre 105 a 120°C por uma hora. Após seu resfriamento este reagente deverá ser repesado para conferir o peso e, em seguida diluído em 100ml água deionizada e com o auxílio de um bastão de vidro.

Preparação dos padrões Nitrogênio total (TN) com 1000 ppm

Deverão ser pesados 0,7219g de KNO_3 e secar na estufa a no mínimo 105°C e no máximo 110°C, após seu resfriamento no dessecador pesar novamente para se certificar da massa exigida. Em seguida diluir o reagente em 100 ml de água, utilizando um bastão de vidro para acelerar esta diluição.

Diluição dos padrões

Os padrões primários de IC, NPOC e TN serão diluídos em padrões secundários, seguindo o mesmo procedimento.

Para a preparação de padrões com a concentração de 10 mg.L^{-1} , é necessário diluir uma alíquota de 1ml do padrão primário para 100ml de solução com água deionizada. Para preparação de padrões secundários com a concentração de 1, 2,5 e 5 mg.L^{-1} , serão diluídas alíquotas de 5, 12,5 e 25ml, respectivamente, do padrão secundário de 10 mg.L^{-1} para 50 ml com água deionizada.

Preparação do equipamento

O analisador de carbono Shimadzu TOC-Vcph/cpn necessita de um preparo antes de se iniciar as análises, tais como: verificar os níveis da água de diluição e da água de limpeza; verificar a validade e o nível da ácido e a abertura do gás (oxigênio). Estes procedimentos estão detalhados no manual de funcionamento do equipamento.

Calibração do método de análise

A calibração do método inicia-se com a criação da curva de calibração, como descrito no manual de utilização do equipamento. Em seguida, os padrões são injetados no analisador de carbono. Os resultados obtidos nesta análise são inseridos na curva de calibração para a verificação da precisão e do desvio padrão da curva.

Injeção das amostras

As amostras são colocadas em vials dentro do amostrador automático (Auto-amostrador - ASI-V da Shimadzu), Figura 7, onde ocorre a injeção das amostras no aparelho para a análise..



Figura 7– Auto-amostrador - ASI-V da Shimadzu. (Fonte: Shimadzu, 2011)

Com esta injeção as amostras seguem para os três procedimentos de dosagens de carbono, como descrito anteriormente.

4 Referências

BRAGA, B. Engenharia Ambiental: O desafio do desenvolvimento sustentável. 2ª ed. Pearson Prentice Hall, 2005 pag.318.

CULTURA BRASIL, Revolução Industrial. Disponível em: <<http://www.culturabrasil.org/revolucaoindustrial.htm>> Acesso em: 06/jul/2011.

IDEMA (Instituto de Desenvolvimento Sustentável e Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Norte), IGARN (Instituto de Gestão das Águas do Estado do Rio Grande do Norte), EMPARN (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio Grande do Norte), com o apoio técnico-científico UFRN (Universidade Federal do Rio Grande do Norte), UERN (Universidade Estadual do Rio Grande do Norte) e do IFRN (Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia). Programa Água Azul. Carbono Orgânico total (COT) Disponível em: < http://www.programaaguaazul.rn.gov.br/indicadores/indicadores_10.php > Acesso em: 30/mai/2011.

INSTRUMENTAÇÃO. MÉTODOS INSTRUMENTAIS DE ANALISE. Slides 32. Disponível em: < <http://pt.scribd.com/doc/53369903/Instrumentacao-aula10>> Acesso em: 30/mai/2011

MELLO, R. O ciclo biogeoquímico. Disponível em: <<http://pt.shvoong.com/humanities/1746166-ciclos-biogeoquimicos/>> Acesso em: 14/ jul/2011.

MILLER, G. T.. Ciência Ambiental.1 ed. Editora Cengage Learning, 2007. pag.563

PORTAL SÃO FRANCISCO. Disponível em: <<http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/meio-ambiente-ciclos-biogeoquimicos/ciclo-do-carbono-5.php>> Acesso em: 12/jul/2011

SHIMADZU. Total Organic Carbon – Total Nitrogen.31/05/2011,117slides.

SIMÕES, F. Paulo. Ciclos Biogeoquímicos. Disponível em:<<http://www.pauloferraz.com.br> > Acesso em: 14/jul/2011.

FONSECA, J. C. L; SILVA, M. R. A; BAUTITZ, I. R; NOGUEIRA, R. F. P. MARCHI, M. R. R. Avaliação da confiabilidade analítica das determinações de carbono orgânico total (COT).2006, UNESP - Araraquara-SP. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf/eq/v31n3/06.pdf>> Acesso em: 20/abr/2011.

UNICAMP. Química Analítica. Classificação dos métodos analíticos. Disponível em:< <http://proquimica.iqm.unicamp.br/newpage11.htm>> Acesso em: 09/mai/2011.

UFV Universidade Federal de Viçosa, UFRV. Padrões de Lançamentos de Efluentes Líquidos. Disponível em:< <http://www.ufv.br/dea/lqa/padroes.htm>> Acesso em:11/jul/2011.

USP. Debert, MSc André Jean. Qualidade da água, 1997 Disponível em:<<http://educar.sc.usp.br/biologia/prociencias/qagua.htm>>Acesso: 06/jul/2011.

VOGUEL, I. A. Química Analítica Qualitativa.5°ed. São Paulo: Mestre Jou,1981. 665 p.

VOGUEL, I. A. Química Analítica Quantitativa. 6°ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2008.462 p