

MARIA ISABEL CRISTINA BATISTA MAYRINK

**AVALIAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE METAIS PESADOS ATRAVÉS DE  
CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do curso de Agroquímica, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
MAIO - 1999

A Deus, sempre presente,

À minha família,

Em especial, ao meu marido Rogério,

À minha esperada e querida filha Camille.

## AGRADECIMENTO

A Deus, pela constante presença.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela bolsa de estudos.

Ao professor Efraim Lázaro Reis, pela orientação, pela especial dedicação, pelo apoio, pela paciência, pelo trabalho sério e pela amizade.

Ao professor Cesar Reis, pelos conselhos, pelas sugestões e pela amizade ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Carlos Roberto Bellato, pela força e pela orientação nos momentos de necessidade.

Ao professor Cláudio Pereira Jordão, pelo incentivo e pelo apoio material na realização dos experimentos.

Aos meus pais, aos meus irmãos, em especial ao meu marido Rogério, ao meu cunhado Eriberto Magalhães e à irmã Rosely, pelo incentivo, sem os quais eu não conseguiria alcançar mais este objetivo.

Aos amigos José Luis e Lucinha, pela força e pela contribuição.

Aos colegas de curso Marcia, Paulo Henrique, Adriana, Neuza e Cláudia e ao inesquecível amigo Doriguetto, pelo companheirismo.

Enfim, a todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

MARIA ISABEL CRISTINA BATISTA MAYRINK, filha de José Batista Ferreira e Maria José Batista, nasceu em Ponte Nova, Estado de Minas Gerais, em 10 de julho de 1966.

Em 1994, concluiu o Curso de Bacharelado e Licenciatura em Química pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

No mesmo ano, foi bolsista de aperfeiçoamento da FAPEMIG, trabalhando no Projeto de “Avaliação da Mobilidade e Biodisponibilidade de Metais Pesados em Sedimentos Aquáticos”, sob a orientação do Professor Cláudio Pereira Jordão.

Em março de 1996, ingressou no Curso de Mestrado em Agroquímica da UFV, defendendo dissertação em junho de 1998.

Durante sua vida acadêmica participou efetivamente de Encontros Regionais e Nacionais da Sociedade Brasileira de Química, com apresentação de trabalhos.

## CONTEÚDO

	Página
EXTRATO.....	viii
ABSTRACT.....	X
.	
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1.Voltametria.....	4
2.2. Instrumento polarográfico.....	10
2.2.1. Introdução.....	10
2.2.2. Outras características do instrumento polarográfico.....	12
2.2.3. Apresentação de dados.....	12
2.2.4. Eletrodo auxiliar e de referência.....	14
2.2.5. Eletrodo de mercúrio.....	14
2.2.6. Armazenamento dos voltamogramas.....	16
2.3.Escolha do eletrólito de suporte.....	16
2.4.Desoxigenação da solução em análise.....	17
2.5. Linguagem QuickBasic.....	19
2.6. Interfaceamento serial.....	20
2.7. Calibração multivariada.....	23
2.7.1. Introdução.....	23

2.7.2. Análise das componentes principais (“PCA”).....	27
2.7.3. Métodos dos mínimos quadrados parciais (“PLS”).....	31
2.8. Ambiente computacional.....	35
2.9. Metais pesados.....	37
2.9.1. Introdução.....	37
2.9.2. Chumbo.....	38
2.9.3. Cádmio.....	39
2.9.4. Zinco.....	40
2.9.5. Cobre.....	41
2.9.6. Tálcio.....	42
3. MATERIAL e MÉTODOS.....	44
3.1. Instrumentação.....	44
3.1.1. Polarógrafo.....	44
3.1.2. Polarógrafo radelkis modelo OH102.....	45
3.1.3. Medidor de pH.....	45
3.1.4. Espectrofotômetro de absorção atômica.....	45
3.1.5. Microcomputador.....	45
3.1.6. Balança analítica.....	46
3.2. Aquisição e tratamento dos dados.....	46
3.3. Limpeza do material.....	46
3.4. Preparo das soluções.....	47
3.4.1. Soluções para a calibração multivariada.....	47
3.4.2. Soluções-padrão para leitura da amostra de sedimento.....	47
3.4.3. Abertura da amostra de sedimentos do rio Búfalo, material certificado nº 2704, do “National Institute of Standards & Technology”.....	49
3.4.4. Soluções empregadas como eletrólito de suporte.....	50
3.4.5. Outras soluções.....	50
3.5. Desoxigenação do eletrólito de suporte.....	51
3.6. Purificação do eletrólito de suporte.....	52
3.7. Planejamento experimental.....	56
4. RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	59

4.1. Desenvolvimento do “software” para controle instrumental e aquisição de dados.....	59
4.2. Determinação da concentração de Pb(II), Cd(II), Zn(II) e Cu(II) em sedimentos.....	73
4.3. Planejamento experimental para Cd(II), Pb(II) e Tl(I).....	80
4.4. Determinação simultânea de Cd(II), Pb(II) e Tl(I).....	81
4.5. Aplicação de calibração multivariada (PLS).....	84
5. RESUMO e CONCLUSÕES.....	110
6. PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	113
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114
APÊNDICES	

## EXTRATO

MAYRINK, Maria Isabel Cristina Batista, M. S., Universidade Federal de Viçosa, maio de 1999. **Avaliação voltamétrica de metais pesados através de calibração multivariada.** Orientador: Efraim Lázaro Reis. Conselheiros: Cesar Reis e Carlos Roberto Bellato.

Desenvolveu-se um programa em linguagem QuickBasic 4.5 para aquisição e gerenciamento de dados do polarógrafo PAR, modelo 384B. Esses dados foram adquiridos do polarógrafo através de uma interface serial padrão RS232C para um microcomputador PC 586,133 MHz. Dentre as técnicas disponíveis no polarógrafo, automatizou-se a Voltametria de Redissolução Anódica com Pulso Diferencial, com a ressalva de que suas características possibilitam, com poucas alterações no programa atual, implementar as outras técnicas. A escolha desta técnica foi em razão do fato de ela apresentar alta seletividade e sensibilidade, sendo, também, freqüentemente usada na rotina de análises de amostras como águas, solos e sedimentos. Métodos estatísticos de calibração multivariada, baseados nos Mínimos Quadrados Parciais (PLS), foram empregados para redução de dados e determinação das concentrações individuais de Cd (II), Tl (I) e Pb (II) em misturas. A razão da escolha deste conjunto de íons está no fato de eles apresentarem sobreposição em suas ondas voltamétricas, mesmo utilizando-se a técnica de



Voltametria de Redissolução Anódica com Pulso Diferencial. Em virtude dos resultados obtidos nas análises de Pb (II), Cd (II), Zn (II) e Cu (II) e nas de Cd (II), Pb (II) e Tl (I), verificou-se bom desempenho do “software” desenvolvido. A exatidão da metodologia foi verificada com as análises da amostra certificada de sedimento padrão, comparadas com as feitas por espectrofotometria de absorção atômica. Observaram-se maior versatilidade, rapidez e simplicidade durante o processo analítico. Os resultados obtidos para Cd (II), Pb (II) e Tl (I) na análise multivariada apresentaram coeficientes de correlação de 0,995; 0,988; e 0,989, respectivamente.

## ABSTRACT

MAYRINK, Maria Isabel Cristina Batista, M. S., Universidade Federal de Viçosa, may, 1999. **Voltammetric evaluation of heavy metals through multivariate calibration.** Adviser: Efraim Lázaro Reis. Committee Members: César Reis and Carlos Roberto Bellato.

A program was developed in QuickBasic 4.5 language for the acquisition and management of data from a PAR polarograph, model 384B. These data were gathered from the polarograph through a standard serial interface RS232C to a PC-586, 133 MHz microcomputer. Among the available techniques of the polarograph, the voltametric differential pulse anodic dissolution was automated, stressing, however, that its characteristics allows, with few changes in the current program, implementation of the other techniques as well. The choice of this particular technique was due to the fact that it exhibits high selectivity and sensitivity, being, also, frequently used in routine analysis of samples such as water, soils and sediments. Statistical methods of multivariate calibration, based on partial least squares (PLS), was employed for data reduction and determinations of individual concentrations of Cd(II), Tl(I) and Pb(II) in mixtures. The reason for the choice of this particular set of ions is due to the fact that they exhibit superposition of their voltametric waves, even using the voltametric differential pulse anodic redissolution technique. In view of the results obtained for the analysis of Pb(II), Cd(II), Zn(II) and Cu(II) and for the analysis of Cd(II), Pb(II) and Tl(I), good performance of the software was verified. The accuracy of the method was checked by analysis

of a certified standard sediment, compared with the results obtained by atomic absorption spectrophotometry, higher versatility, speed and simplicity was observed during the analytical process. The results obtained for Cd(II), Pb(II) and Tl(I) in the multivariate analysis exhibited correlation coefficients of 0.995; 0.988; and 0.989, respectively.

## 1. INTRODUÇÃO

Em modernos laboratórios analíticos, particularmente nos de ensino e pesquisa, os analistas confrontam-se com o problema de obtenção e processamento dos dados experimentais. Até a algumas décadas atrás, o principal problema enfrentado em um trabalho científico era como obter dados. Gastavam-se muito tempo, dinheiro e esforço para obter um pequeno conjunto de dados. Com o crescente desenvolvimento de instrumentos interfaceados em microcomputadores e programas computacionais especializados no tratamento de dados, o problema principal de aquisição de dados e, eventualmente, do tratamento eficiente destes vem sendo minimizado.

Os microprocessadores tornaram-se cada vez mais comuns nos laboratórios; hoje, métodos automatizados permitem procedimentos experimentais mais rápidos e minimizam os erros do operador, fornecendo imediatamente os resultados processados, além de armazenarem os dados para posterior tratamento. Os microcomputadores são, hoje, menos dispendiosos e mais poderosos, a memória é maior e o custo, menor. O uso de microcomputadores vem beneficiando a própria ciência e, em particular, a química, principalmente no processo de aquisição e tratamento de dados em laboratórios. Os instrumentos interfaceados permitem obter grandes conjuntos de dados, obrigando os pesquisadores a usarem métodos matemáticos e estatísticos eficientes para obtenção do máximo de informação. Muita ênfase

tem sido dada à quimiometria, que utiliza métodos matemáticos e estatísticos para definir ou selecionar as condições ótimas de medidas em um experimento. Permite, também, a obtenção do máximo de informação a partir da análise de dados químicos gerados por sistemas multielementares, nos quais se podem medir muitas variáveis seqüencialmente, com grande eficiência no estudo de uma amostra qualquer. A conversão da resposta instrumental na medida química de interesse requer a utilização de estatística multivariada. O emprego dessa técnica constitui-se na melhor alternativa para interpretação de dados e aquisição do máximo de informações sobre esse sistema (BRUNS e FAIGLE, 1985).

A produção e a utilização global de alguns metais pesados, como tálio, cádmio e chumbo, têm aumentado muito. O tálio, apesar de ser elemento relativamente raro, tem sua abundância na crosta terrestre estimada entre 0,3 e 1,3  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Esse elemento, assim como cádmio, chumbo e outros metais pesados, mesmo em pequenas concentrações no ambiente, é extremamente tóxico para qualquer organismo vivo, oferecendo-lhe elevados riscos à saúde. Portanto, são necessários métodos analíticos que apresentem alta sensibilidade, possibilitando determinar tais elementos com elevada exatidão e precisão.

A voltametria é uma técnica cujo princípio básico consiste na medida da corrente gerada em um eletrodo em solução, em função do potencial aplicado nesse eletrodo. Esta técnica, comparada com outras, caracteriza-se por possuir alta seletividade e sensibilidade, sendo, portanto, freqüentemente usada para determinações de metais pesados (cobre, cádmio, chumbo, zinco etc.) em matrizes diferentes, sem a necessidade de uma etapa de separação prévia (NEVADO e FLORES, 1992). No entanto, em certos casos, tal seletividade não é suficiente para determinar os componentes de algumas misturas de metais como Cd (II) e In (III) ou Pb (II) e Tl (I), que apresentam ondas voltamétricas consideravelmente sobrepostas. Para resolver problemas desse tipo, em que analitos diferentes interferem entre si através de sobreposição de respostas analíticas, são utilizados métodos de estatística multivariada.

Fundamentando-se na importância que é a determinação de metais pesados no ambiente através de técnicas mais práticas e métodos de tratamento de dados eficientes, um dos objetivos deste trabalho foi o estudo voltamétrico de íons que apresentam ondas voltamétricas sobrepostas, mediante o emprego de técnicas de estatística multivariada como método de calibração. A presente pesquisa foi dividida em quatro etapas. A primeira referiu-se ao interfaceamento do polarógrafo PAR, modelo 384B, via interface serial padrão RS232C, com um microcomputador PC-586 de 133 MHz, compatível com o padrão IBM-PC. A segunda relacionou-se ao desenvolvimento do “software” para gerenciamento e aquisição de dados, sendo utilizada a linguagem QuickBasic, versão 4.5. Na terceira etapa, utilizando a técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial, determinaram-se os íons metálicos Cd (II), Pb (II), Zn (II) e Cu (II) em amostra de sedimento fornecido pelo “National Institute of Standards & Technology”, para avaliação e verificação do desempenho do instrumento interfaceado. Na última etapa, utilizou-se a calibração multivariada, para determinação quantitativa individual de espécies químicas eletroativas, como o Pb (II), Cd (II) e Tl (I), que apresentam ondas voltamétricas sobrepostas.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2. 1. Voltametria**

O potencial analítico da voltametria, inicialmente denominada polarografia, foi reconhecido mundialmente quando o químico Heyrovsky, criador da técnica, ganhou o Prêmio Nobel no início dos anos 40. Ele definiu esta técnica como um método eletroquímico, no qual as mudanças da corrente resultante de processos de eletrólise da solução sob investigação são acompanhadas com o uso de um eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) e o aumento gradual da voltagem aplicada. Durante o período de 1920 a 1950, cerca de 3.000 artigos foram publicados, comprovando a sua aceitação como método instrumental, principalmente na análise de elementos-traço. Nos anos 60, a técnica praticamente desapareceu dos laboratórios de análise. Já os anos 70 foram considerados um período de renascimento da análise polarográfica. A principal razão para esse fato foi o avanço nas eletrônicas digital e analógica, permitindo que instrumentos relativamente simples, bastante confiáveis e não muito caros, se tornassem comercialmente disponíveis.

A década de 80, de acordo com BOND (1980), seria a “década da maturidade para a análise polarográfica em sua forma moderna”. A possibilidade de trocar o eletrodo gotejante de mercúrio por um eletrodo de

mercúrio de gota estática e a introdução da tecnologia dos microprocessadores para controle instrumental e aquisição de dados são os responsáveis pelo impacto substancial no futuro da técnica.

A polarografia é um tipo de voltametria em que o eletrodo utilizado é obrigatoriamente o eletrodo gotejante de mercúrio (**EGM**). O termo polarografia surgiu a partir do estudo do fenômeno de polarização do microeletrodo de mercúrio, polarização essa que é devida ao aumento gradativo e constante do potencial aplicado na cela eletroquímica. O registro de duas grandezas envolvidas no fenômeno, o potencial e a corrente são empregados na construção das curvas de potencial/corrente (que são bastante reprodutíveis). Como essas curvas representam a polarização do eletrodo de mercúrio, o aparelho foi chamado de polarógrafo, as curvas foram denominadas polarogramas e a técnica foi chamada de polarografia (NICOLA, 1992).

O que diferencia a polarografia das outras técnicas é o tipo de eletrodo utilizado (WANG, 1985). Quando se utiliza um eletrodo gotejante de mercúrio (**EGM**), o processo é conhecido como polarografia; quando se usa o eletrodo de mercúrio de gota suspensa (**HMDE**) ou qualquer outro, excetuando-se o eletrodo gotejante de mercúrio (**EGM**), o processo é conhecido como voltametria. De modo geral, considera-se a polarografia uma das técnicas voltamétricas.

A voltametria é essencialmente uma eletrólise em microescala, na qual é usado como eletrodo de trabalho um microeletrodo. O nome voltametria surgiu a partir da relação entre corrente e voltagem. O potencial no microeletrodo é aplicado de uma forma gradual, e a corrente gerada é registrada em função do potencial aplicado. Se na solução existirem espécies eletroativas (espécies redutíveis ou oxidáveis), a corrente surgirá quando o potencial aplicado for suficiente para reduzir ou oxidar as espécies. Por convenção, a corrente de redução (corrente catódica) é adotada com o sinal positivo (+) e a corrente de oxidação (corrente anódica) o é com o sinal negativo (-).

A diferença de potencial aplicada inicia o processo eletrolítico: os íons eletroativos na vizinhança do eletrodo são reduzidos, provocando a diminuição dessas espécies ao redor do eletrodo, o que gera um gradiente de



concentração entre a região vizinha do eletrodo e o resto da solução. Esse gradiente de concentração provoca a difusão dos íons até o eletrodo, onde são reduzidos. Esse processo contínuo mantém a corrente eletrolítica, também chamada de corrente faradáica, porque surge através de um fenômeno de oxirredução. Ao aumentar a diferença de potencial aplicada à cela eletrolítica, a corrente também aumenta, proporcionando diminuição na concentração das espécies em análise nas vizinhanças do eletrodo; isso, por sua vez, aumenta o gradiente de concentração, elevando, assim, a velocidade de difusão dos íons e mantendo a corrente fluindo através do sistema até um valor em que a diferença de potencial aumentará e não mais provocará incremento na velocidade de difusão dos íons. Quando isso acontece, diz-se que a taxa de difusão alcançou o valor máximo e, então, todos os íons que chegam ao eletrodo são imediatamente reduzidos. Nesse ponto, a corrente é máxima (corrente-limite) e o seu valor é determinado pela concentração do analito e velocidade com que ele chega ao eletrodo. A corrente que circula é muito baixa, da ordem de microamperes, devido ao tamanho do eletrodo. Desse modo, as quantidades de analitos eletrolisados são muito pequenas, e a concentração da solução em relação a esses analitos, após a análise, pode ser considerada praticamente igual à inicial.

A corrente-limite é formada por três componentes bastante distintas: corrente residual, formada pela redução de impurezas presentes na amostra e por processos capacitivos, já que o mercúrio, funcionando como capacitor, tem a propriedade de adquirir carga quando presente em solução de eletrólitos; corrente de migração, que surge em função da redução de quaisquer espécies eletroativas que migram em direção ao eletrodo de mercúrio; e corrente de difusão, associada à redução de íons no eletrodo por força única e exclusiva do efeito de difusão.

Somente após o desenvolvimento de novos eletrodos e das técnicas de modulação por pulsos (primeiro o de pulso diferencial e depois o de onda quadrada), assim como o uso de reações adsorptivas e também de técnicas de redissolução, é que a voltametria passou a ser amplamente discutida e utilizada em estudos de especificação química e de determinação de metais-traço, com grandes vantagens sobre outros métodos de análise (PANELI e VOUGARAPoulos, 1993).

Dentre as várias técnicas voltamétricas disponíveis, aquelas que apresentam melhor sensibilidade, em razão, principalmente, da eliminação da corrente capacitiva, são as técnicas de pulso. O potencial é mantido inicialmente num valor inicial  $E_0$ ; assim, um pulso é então aplicado e o potencial, elevado a  $E_1$ . Em um tempo  $t_m$ , após a aplicação do pulso, a corrente capacitiva decai rapidamente com o tempo, enquanto a corrente faradáica decai com lentidão. Com a amostragem de corrente próxima ao fim do pulso, a corrente passa a ser quase que totalmente faradáica. Assim, a variável principal para eliminação da corrente capacitiva é a largura do pulso que deve ser otimizada (OSTERYOUNG, 1983; WANG, 1988).

As técnicas principais voltamétricas de modulação por pulsos são: “staircase” (em forma de escada), pulso normal, pulso diferencial e onda quadrada. Todas são fundamentadas na cronoamperometria, que se baseia na medida de corrente como função do tempo, depois da aplicação de um pulso de potencial. Dessas técnicas, as que apresentam menor limite de detecção são a de pulso diferencial e a de onda quadrada. Na técnica de pulso, o menor limite é de tamanho fixo, imposto sobre uma rampa linear de potencial, aplicado a poucos milissegundos antes do final do tempo de vida da gota de mercúrio. A corrente é amostrada duas vezes, uma antes da aplicação do pulso e a outra imediatamente após a aplicação do pulso. A diferença entre essas correntes é registrada contra o potencial aplicado, e o polarograma resultante tem a forma de picos, cuja altura é proporcional à concentração do analito.

Novas técnicas foram desenvolvidas e aliadas às técnicas de pulsos, com o objetivo de diminuir ainda mais o limite de detecção e, assim, alcançar níveis cada vez menores; dentre essas técnicas, encontra-se a redissolução (“stripping”), que concentra o material em análise por redução ou por adsorção com reagentes seletivos.

Segundo WANG (1985), a análise por redissolução oferece as vantagens de caracterização de espécies, isto é, através de simples experimentos ela é capaz de determinar a natureza química exata de constituintes-traço.

Historicamente, a origem da voltametria de redissolução está associada ao desenvolvimento do eletrodo de mercúrio de gota pendente. Num

experimento pioneiro, a formação de amálgama no eletrodo de mercúrio (o passo da pré-concentração) foi descoberta ao se aplicarem potenciais catódicos e uma varredura anódica. Isso produziu uma corrente que permitiu a determinação de concentrações muito baixas de vários íons metálicos. Esse esquema é considerado como sendo voltametria de redissolução anódica, segundo ESTEBAN e CASANSSAS (1994). O termo também é explicado como sendo o acúmulo catódico de metais no eletrodo de mercúrio, na forma de amálgama, seguido por determinações anódicas.

A voltametria de redissolução é uma das técnicas mais sensíveis, disponíveis para determinação de íons em solução. Limites de detecção estão na faixa de partes por bilhão e são obtidos para muitos metais, desde que estes possam ser depositados eletroliticamente e formem amálgama com o mercúrio (WANG, 1985). Como exemplos importantes, podem ser citados Cu, Pb, Cd e Zn, que podem ser determinados diretamente em amostras de águas não poluídas organicamente. Esta técnica requer que representativa fração do analito seja inicialmente depositada no eletrodo. O analito (cátion metálico, no caso mais simples) é reduzido ao estado elementar e é amalgamado pelo mercúrio; em seguida, o metal é reoxidado e a corrente gerada nessa etapa é relacionada com a concentração. Devido à oxidação que ocorre durante a redissolução do analito anteriormente pré-concentrado, produzindo uma corrente elétrica, a técnica recebe o nome de voltametria de redissolução anódica. Vários metais importantes não são reduzidos ao estado elementar ou não são suficientemente solúveis no mercúrio, a exemplo do Mo, Co e U. Estes elementos podem formar compostos intermediários insolúveis e, ainda, sofrer interferências, que prejudicam ou impedem suas determinações (BERG, 1991).

As aplicações analíticas da voltametria são limitadas por três fatores principais (OSTERYOUNG, 1983). O primeiro é a sensibilidade da medida, que corresponde ao coeficiente angular (**a**) da reta; o segundo, a corrente de difusão (**i<sub>d</sub>**); e o terceiro, é a concentração (**c**).

$$i_d = a \cdot [c]$$

Quanto maior a sensibilidade, menor é a concentração necessária para obter a corrente que possa ser medida com a devida precisão. Outro fator se

refere às correntes de fundo, que não estão relacionadas com a reação eletroquímica do analito. Essas correntes de fundo, formadas principalmente pela corrente capacitiva, interferem na relação direta entre corrente e concentração, transformando-a em

$$i_d = a \cdot [c] + b$$

em que **b** é a corrente de fundo, que idealmente deve ser a menor possível. As técnicas de pulso têm como objetivo produzir os maiores valores para **a** e os menores para **b**.

Em análise de rotina, utiliza-se, por exemplo, a espectrofotometria de absorção atômica para determinação de metais pesados no solo. A voltametria de redissolução anódica, particularmente no modo de pulso diferencial, também constitui alternativa muito atraente para esse tipo de determinação. Isso porque a voltametria apresenta alta sensibilidade a vários metais pesados, boa precisão e possibilidade de determinação simultânea de dois ou mais metais em solução, obtendo-se linearidade entre corrente e concentração, em amplo intervalo de concentrações (BOND, 1980).

Essas técnicas voltamétricas, contudo, consomem um tempo consideravelmente maior na análise total das amostras. Em compensação, elas requerem custos menores para instrumentação, operação e manutenção quando comparadas com a espectrofotometria de absorção atômica.

Segundo NICOLA (1992), a aplicação da voltametria de redissolução anódica, normalmente, estende-se ao intervalo de concentrações de  $10^{-6}$  a  $10^{-10}$  mol L<sup>-1</sup>. É uma técnica mais sensível do que as técnicas polarográficas diretas, porque a quantidade da espécie eletroativa considerada para obtenção da corrente é pré-concentrada dentro ou sobre a superfície do eletrodo de trabalho.

Uma das características das técnicas eletroanalíticas é a ampla faixa de valores de sinais analíticos que podem ser medidos (CABANILLAS et al., 1994).

## **2.2. Instrumento polarográfico**

### **2.2.1. Introdução**

O instrumento polarográfico (EG & G Princeton Applied Research (PAR), modelo 384B) empregado neste trabalho foi lançado no mercado por volta de 1975, sendo um sucessor do polarográfico PAR, modelo 174. É um instrumento completamente controlado por um microprocessador 8085 da INTEL, apresentando internamente uma unidade de disco de 5 ¼”, com capacidade de armazenamento de 89 Kb. O painel frontal incorpora um mostrador alfa-numérico e 74 botões de contato para operação e controle (Figura 1); utilizado através de seu “software” incorporado, permite calcular, por exemplo, a concentração de espécies eletroativas pelo método da adição padrão.

O aparelho oferece oito técnicas polarográficas e voltamétricas: a voltametria de onda quadrada, polarografia de pulso diferencial, polarografia de pulso normal, polarografia DC amostrada, voltametria de redissolução com onda quadrada, voltametria de redissolução com pulso diferencial, voltametria de varredura linear e voltametria cíclica, com a possibilidade de alterações em seus parâmetros, flexibilizando, assim, o seu emprego em diversas amostras. Uma porta padrão serial RS232C facilita a comunicação entre o polarógrafo e um microcomputador, um “plotter” digital ou impressora. O polarógrafo, em seu modo normal de funcionamento, controla uma cela polarográfica (PAR, modelo 303A) e, também, o “plotter” (“Houston Instruments”, modelo DMP-40) (PIZETA e BRANICA, 1988).



Figura 1 - Polarógrafo PAR modelo 384B, interfaceado a um microcomputador PC-586, de 133 MHz.

## **2. 2. 2. Outras características do instrumento polarográfico**

- ⇒ Controle automático da cela polarográfica, possibilitando a relação de tempo de gotejamento de mercúrio, agitação e desoxigenação da solução.
- ⇒ Pré-programação de todas as formas de variação de potencial que são atualmente empregadas em diversas técnicas.
- ⇒ Unidade de disco flexível com capacidade de armazenamento de até nove rotinas diferentes, como novas programações de potencial, programas de análises, resultados de análises etc.
- ⇒ Unidade de tratamento automático de dados para construção da curva de linha de base tangencial e medida automática de altura do pico.
- ⇒ Armazenamento e subtração automática do branco.
- ⇒ Armazenamento para comparação automática de curvas de calibração.
- ⇒ Interfaceamento serial com “plotter digital”, o que permite apresentar o gráfico e imprimir os resultados de uma análise.

## **2. 2. 3. Apresentação de dados**

Os dados obtidos nas varreduras polarográficas, com o polarógrafo em seu modo normal de funcionamento, são vistos em gráficos de corrente vs. potencial, registrados de acordo com a programação pré-executada pelo operador. Cada gráfico de corrente vs. potencial deve ser impresso em uma nova folha de papel, de modo que não ocorra sobreposição deles em escalas diferentes. Isso dificulta a interpretação quando se observam os gráficos, proporcionando, além disso, consumo elevado de papel, pois cada análise fornece até seis voltamogramas. Um importante aspecto a considerar é a forma como são dispostas as informações no aparelho. Sendo a polarografia uma técnica eletroquímica que trabalha com mudanças de corrente resultantes do processo de eletrólise da solução, decorrentes de uma varredura de potencial, obtêm-se como resultado voltamogramas, que são apresentados na forma de picos (curvas voltamétricas). Porém, o aparelho só permite registrar os máximos dessas curvas, que são denominadas corrente de pico (Figura 2).

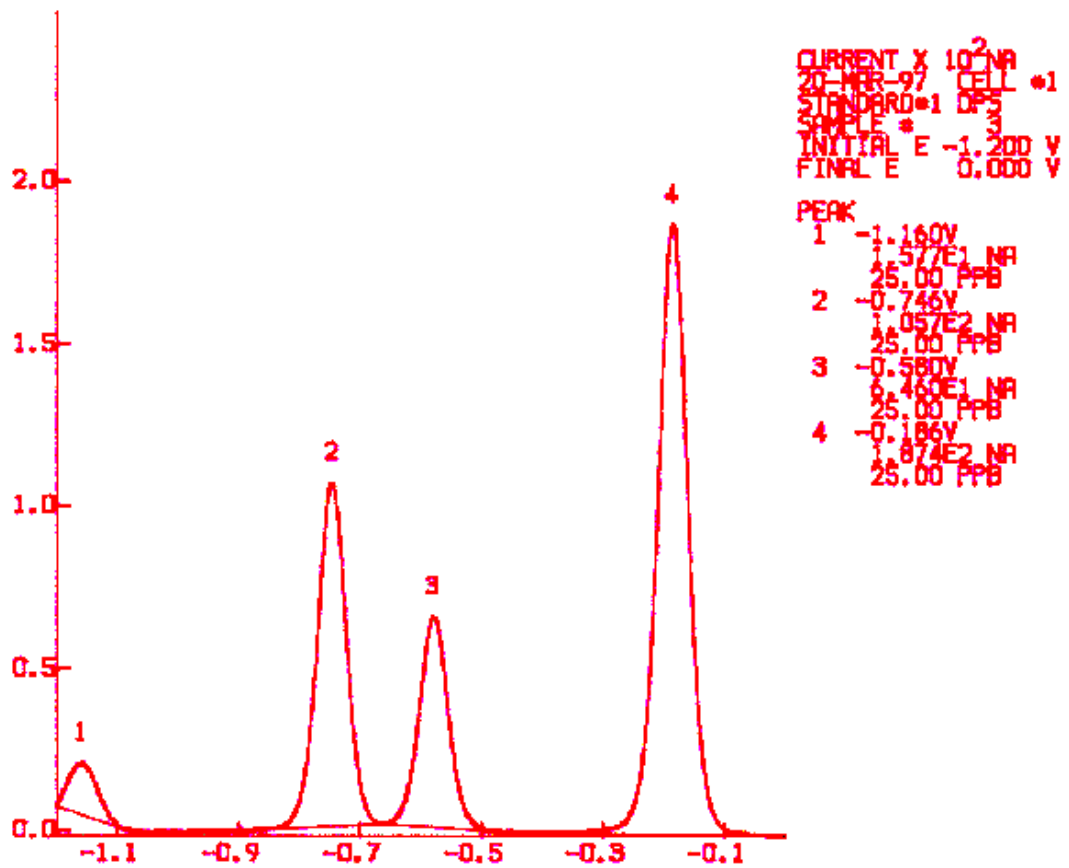


Figura 2 - Voltamograma original impresso pelo "plotter" antes do interfaceamento do polarógrafo com o microcomputador, sendo corrente em nA vs potencial em volts, em que 1 = zinco, 2 = cádmio, 3 = chumbo e 4 = cobre.



O aparelho não fornece no papel todas as correntes ao longo dos picos, ficando limitado para obtenção de dados para calibração multivariada, em que trabalha com todos os dados do voltamograma e não apenas com os valores máximos de cada pico. Conseqüentemente, não permite as determinações de componentes com sinais voltamétricos sobrepostos.

#### **2. 2. 4. Eletrodo auxiliar e de referência**

O eletrodo auxiliar é constituído de fio de platina e deve ser periodicamente lavado com solução de  $\text{HNO}_3$  1:1 e água destilada corrente. O eletrodo de referência é o  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ , que é separado da solução do eletrólito de suporte por uma camisa de vidro com membrana de poliestireno poroso semipermeável na extremidade inferior, apresentando vida útil de três a seis meses.

#### **2. 2. 5. Eletrodo de mercúrio**

O mercúrio é um metal que permanece no estado líquido para temperaturas na faixa de  $-39^\circ\text{C}$  a  $356^\circ\text{C}$ . Por isso, ele pode ser usado como eletrodo de trabalho nas formas de poço, gota, jato etc., além de assumir facilmente a geometria esférica, difícil de se conseguir com eletrodos sólidos. Ele também pode ser depositado em finas camadas sobre outros metais, denominados eletrodo de filme de mercúrio, que assim podem assumir propriedades parecidas com o mercúrio em sua forma líquida.

O eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) apresenta como principal vantagem uma provisão inesgotável de superfícies renovadas (para cada gota, uma nova superfície), o que praticamente elimina os problemas de absorção de impurezas contidas na solução de trabalho, ou de filmes superficiais resultantes da própria reação química em estudo. Além do que, sendo líquido, o mercúrio dispensa procedimentos de polimentos e desengraxe, que sempre são necessários nos eletrodos sólidos. Uma outra vantagem importante é que, devido ao alto valor do sobre potencial em relação ao hidrogênio (potencial no qual começa a ocorrer evolução contínua de gás da solução), o mercúrio é um

dos materiais de maior limite catódico que se conhece, sendo ideal para análise onde a reação é um processo de redução.

O mercúrio, para ser usado em polarografia, deve ser puro, seco e isento de partículas de poeira. Podendo, após seu emprego em uma análise, ser reaproveitado por lavagem com solução de  $\text{HNO}_3$  10% (v/v) ou por destilação a vácuo. Medidas de segurança devem ser tomadas ao se executarem estas operações, pois o mercúrio, sendo um metal pesado de alta toxicidade, deve ser manuseado sem o contato direto do operador.

Os eletrodos de mercúrio empregado na técnica voltamétrica de redissolução anódica são de gota pendente de mercúrio ou de filme fino de mercúrio. Este último apresenta uma relação entre a área superficial/volume bem mais alta do que o eletrodo de gota pendente, o que faz com que as concentrações das espécies eletroativas no filme sejam maiores do que na gota, quando as respectivas pré-concentrações são realizadas nas mesmas condições. Dessa forma, quando se emprega o eletrodo de filme de mercúrio, obtém-se maior sensibilidade. Em compensação, o eletrodo de filme de mercúrio, por apresentar concentração mais alta de metais eletrodepositados, é mais propenso à formação de compostos intermetálicos do que o eletrodo de gota pendente.

O sistema eletródico (cela polarográfica PAR, modelo 303A) utilizado consiste em um reservatório fechado em sua parte superior que alimenta um capilar, que é controlado por uma válvula solenóide magnética que uniformiza a pressão da coluna de mercúrio. Os refinamentos na eletrônica e na fabricação do tubo capilar de vidro pirex permitem alcançar um nível de repetibilidade bastante alto. Uma observação importante é que boa parte do funcionamento da polarografia está intrinsecamente ligada à preparação adequada do capilar, que deve ser lavado externamente com ácido nítrico, água destilada (várias vezes), secado e, se possível, siliconizado internamente antes da instalação.

Outras vantagens da utilização do mercúrio como eletrodo:

- ⇒ A sua superfície é bastante reprodutível, lisa e continuamente renovada, o que produz boa repetibilidade da curva potencial vs corrente e elimina efeitos de passividade e envenenamento; e
- ⇒ O mercúrio é capaz de formar amálgama com vários metais.

## **2. 2. 6. Armazenamento dos voltamogramas**

O equipamento tem dois tipos de memórias: uma chamada de imediata e outra chamada de arquivo. Assim, qualquer medida (varredura) é automaticamente armazenada na memória imediata, que tem a capacidade para um método completo, isto é, uma curva para o branco, três curvas para os padrões e uma curva para a amostra. Qualquer curva extra (um segundo branco, ou amostra ou um quarto padrão) irá apagar a antecessora na memória, sendo todas apagadas quando for desligado o equipamento ou apertado o botão de “Reset”. Para arquivar qualquer curva voltamétrica, o equipamento apresenta uma tecla de armazenamento (“store”), pela qual dados contidos na memória são gravados em um disquete, com capacidade para nove curvas e nove métodos completos, podendo ser recuperados pela tecla de busca (“recall”).

## **2.3. Escolha do eletrólito de suporte**

Os primeiros passos de uma análise polarográfica são a escolha do eletrólito de suporte e a preparação conveniente da amostra para este eletrólito. Eletrólito de suporte é a solução na qual se adicionam as amostras já prontas para análise; sua principal característica é estabilizar a espécie, ou espécies, que são analisadas, além de proporcionar um aumento no coeficiente de difusão, isto é, permitir um acréscimo no grau de movimento dos íons na solução, ou causar pouca resistência à migração destes. Isso significa que o eletrólito deve ter boa condutividade. Se possível, este eletrólito deverá ter característica extra de inibir, com o efeito exatamente oposto ao descrito acima, possíveis interferências na análise.

A principal exigência é que a amostra esteja solubilizada no eletrólito, ficando a espécie de interesse na forma iônica livre na solução.

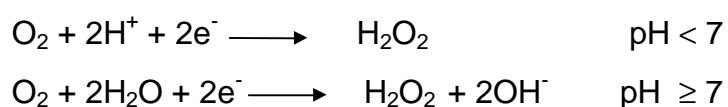
Outras características importantes do eletrólito de suporte que devem ser levadas em consideração são:

- ⇒ causa diferenças razoáveis de mobilidade entre íons diferentes para garantir boa separação entre os picos polarográficos;
- ⇒ boa estabilidade (com relação a exposição à luz, temperatura, pressão etc.); e
- ⇒ estabilidade de todos os ânions e cátions que se deseja analisar.

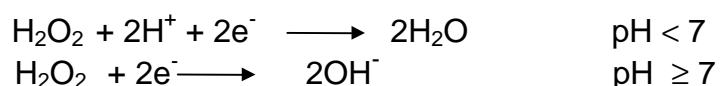
## 2. 4. Desoxigenação da solução em análise

O oxigênio se dissolve em água pura, que está em contato com a atmosfera a 25 °C, para formar uma solução de concentração aproximadamente igual a 0,5 mmol L<sup>-1</sup>. Nesta concentração, a corrente obtida na redução catódica pode obscurecer o sinal analítico de interesse. Conseqüentemente, o oxigênio deve ser removido da amostra antes de se executarem as medidas voltamétricas (HEYROVSKÝ e VAVRICKA, 1993).

A eletrorredução do oxigênio molecular, em soluções aquosas sobre eletrodo de mercúrio, ocorre em duas etapas conhecidas. Na primeira etapa, ocorre redução quase reversível a peróxido de hidrogênio, com troca de dois elétrons, dependendo do pH do meio, próximo a -0,5 volts vs eletrodo de calomelano saturado (ECS), segundo as equações



Na segunda etapa, uma redução irreversível do peróxido de hidrogênio, também com troca de dois elétrons e dependendo do pH do meio, ocorre segundo as equações



entre -0,5 e -1,3 volt vs ECS (EG&GPCARC, 1980; Heyrovsky e VAVRICKA, 1993). Para WANG (1985), os potenciais de meia-onda dessas etapas são de aproximadamente -0,5 e -0,9 volt vs ECS.

As reduções em meio ácido geram correntes que obscurecem as respostas analíticas. No entanto, reduções do oxigênio em meio neutro ou básico resultam em sistema não tamponados, formando íons hidroxilas, na precipitação de íons metálicos ao redor do eletrodo, diminuindo a corrente. Em análise por redissolução anódica, o contato do oxigênio com os metais depositados no eletrodo pode levar a reações de dissolução dos metais, afetando os valores de corrente. Portanto, não se removendo o oxigênio, poderá haver interferência na determinação das espécies eletroativas das seguintes formas: a) aumento de correntes de fundo devido à redução no eletrodo de mercúrio; b) oxidação dos metais no amálgama, com conseqüente diminuição da corrente medida; e c) precipitação dos íons metálicos a serem determinados pelos íons hidroxilas, formados, durante a sua redução, em meio neutro ou básico (NICOLA, 1992).

BUTLER et al. (1994) efetuaram estudos comparando quatro metodologias para remoção de oxigênio dissolvido: borbulhamento com nitrogênio, argônio ou outro gás inerte; aquecimento com ebulição à pressão de uma atmosfera; aplicação de ultra-som sob vácuo e aquecimento com ebulição sob vácuo. Verificaram que a melhor metodologia é o borbulhamento com nitrogênio, por minimizar a corrente do eletrólito de suporte.

Normalmente, a desoxigenação da solução para análise numa cela voltamétrica é feita, borbulhando-se nitrogênio purificado ou outro gás inerte. O oxigênio dissolvido também pode ser removido quimicamente de uma solução por adição de sulfito de sódio ou ácido ascórbico. No entanto, tais procedimentos são restritos para certos valores de pH das soluções e podem introduzir impurezas na amostra (WANG, 1985).

## 2. 5. Linguagem QuickBasic

Uma das linguagens, segundo ALBRECHT et al. (1991), mais utilizadas para programação é a QuickBasic, que é um aprimoramento do Basic (“Beginner’s All-purpose Symbolic Instruction Code” - Código de Instruções Simbólicas de Caráter Geral para Principiantes), sendo uma linguagem poderosa, fácil de aprender e usar. O QuickBasic inclui algumas das mais sofisticadas estruturas e recursos de edição e depuração disponíveis de todas as linguagens de programação.

Historicamente, a linguagem “basic” foi criada em 1963 por John Kemeny e Thomas Kurtz, no Colégio Dartmouth, que criaram o “basic”, com o propósito de ensinar conceitos de programação, enfatizando a clareza em prejuízo da velocidade e eficiência. Como resultado, o “basic” foi a primeira linguagem fácil de usar que permitia o usuário concentrar-se nos métodos e algoritmos para resolver tarefas de programação em vez de se preocupar com os métodos e algoritmos exigidos pela máquina para desenvolvimento e otimização dos programas (ALBRECHT et al.,1991).

As características originais do “basic” foram projetadas para:

- ⇒ serem de finalidades gerais por natureza e, assim, poderem ser usadas para escrever qualquer tipo de programa;
- ⇒ permitirem o acréscimo posterior de recursos avançados;
- ⇒ propiciarem a interação entre usuário e computador;
- ⇒ fornecerem respostas rápidas com programas pequenos; e
- ⇒ não exigirem nenhum conhecimento de “hardware”.

As primeiras versões do “basic” ganharam a reputação de serem linguagens não profissionais. Todavia, o “basic” evoluiu, através dos anos, de uma lenta linguagem interpretada para uma rápida e estruturada linguagem compilada, adequada para a criação de grande variedade de aplicações. O progresso do “basic” seguiu de perto a evolução do computador pessoal em meados dos anos 70 (CRAIG, 1994).

Em 1982, surgiu o QuickBasic, que revolucionou o “basic” e o legitimou como uma linguagem séria para o ambiente MS-DOS. Este combinou a natureza interativa e produtiva com o poder e a velocidade de uma

linguagem compilada. A capacidade gráfica e de sons avançados deu aos programadores em QuickBasic possibilidades além das normalmente disponíveis em linguagem C, Pascal e Fortran. Os programas em QuickBasic tinham outras vantagens: podiam ser executados nos modos interativos e interpretados ou ser compilados em programas executáveis adequados à comercialização.

## **2. 6. Interfaceamento serial**

Nos modernos laboratórios analíticos, e particularmente no ensino e na pesquisa, analistas são confrontados com o problema de processamento de dados experimentais. Na maioria das vezes, instrumentos já vêm acompanhados ou têm a capacidade de ser facilmente conectados a microcomputadores. Desse modo, fornecem ao usuário versões digitalizadas de sinais experimentais, os quais podem ser processados em uma variedade cada vez maior de programas computacionais para extrair tantas informações analíticas quanto possível (FENNEMA et al., 1993).

Com o advento de microcomputadores cada vez mais poderosos e o desenvolvimento de programas especializados, tornou-se possível nos laboratórios de química a simulação antecipada de alguns experimentos. Sua principal vantagem é que permitem realizar os experimentos rapidamente, controlar os parâmetros envolvidos, não consumir produtos químicos e, com isso, diminuir o custo da análise. Além disso, permitem o estudo de sistemas químicos em detalhes e a compreensão de fenômenos subjacentes (KELLER, 1992).

Segundo O'HAVER (1991), o processamento de sinais em microcomputadores com o uso de métodos numéricos reduz muito os ruídos e melhora a resolução de picos sobrepostos.

O interfaceamento de instrumentos analíticos em microcomputadores com o propósito de aquisição de dados "on-line" tornou-se, hoje, quase rotina nos modernos laboratórios de química (O'HAVER, 1991).

A interface entre dispositivos digitais pode ser dividida em duas categorias gerais: interface paralela e interface serial. A interface serial transfere dados de um "bit" (um dígito) por vez, enquanto a interface paralela

transfere dados de um “byte” (que é um arranjo de oito “bits”) por vez. Como resultado, a interface paralela é capaz de maiores índices de comunicação do que a interface serial; no entanto, a interface paralela requer mais linhas de dados (uma por “bit”), sendo mais complexa.

Sistemas-padrão de transferências de dados são usados em instrumentos para conectar periféricos, como microcomputadores ou impressoras, sendo a interface de transferência de dados mais utilizada em instrumentos a RS232C, considerada um padrão industrial de comunicação serial de dados. A RS232C é capaz de transferir dados bidirecionais entre dispositivos digitais, proporcionando um aspecto importante, que intensifica sua utilização.

A interface-padrão RS232C transfere dados em um formato no qual cada carácter é uma palavra. Esse formato é conhecido como ASCII (“American Standard Code for Information Interchange”). Por exemplo, em se tratando de análise voltamétrica, a seqüência de caracteres “-0,200 V” possui oito palavras. A RS232C transforma cada uma dessas oito palavras em um código binário e transmite cada uma seqüencialmente para o dispositivo receptor, em que o código binário é reconstruído, gerando-se a palavra transmitida.

Se dois dispositivos estão transferindo dados entre si, alguns métodos de determinação da leitura do dispositivo de recepção são necessários, especialmente para transferências rápidas de dados. O “handshaking” é um termo usado para descrever esses métodos. Como ilustração, considere dois dispositivos, **A** e **B**. O dispositivo **A** transfere dados para o **B**, sendo este preparado para receber dados, o qual envia sinal para **A** confirmando estar pronto; **A**, então, inicia a transmissão. Se **B** necessita fazer outras tarefas, como imprimir dados, ele pode parar o fluxo de dados temporariamente. **B** desliga o sinal “handshaking”, e **A** pára de transmitir. Quando **B** é preparado para receber mais dados, ele envia o sinal “handshaking” novamente. Assim, “handshaking” é usado para assegurar que o dado é transmitido somente quando o dispositivo receptor está preparado para aceitar o dado.

O polarógrafo EG & G, modelo 384B, é equipado com a interface RS232C, a qual pode ser usada para transferir ou receber dados de um



microcomputador externo. A maioria das teclas do painel frontal do modelo 384B pode ser acessada pelo caractere ASCII correspondente, enviado por um microcomputador externo através da interface RS232C (Apêndice B). Quando o polarógrafo recebe um carácter, ele o checa para determinar se o comando é válido; sendo válido, o polarógrafo o executa.

O conector RS232C está localizado no painel traseiro do modelo 384B. A conexão microcomputador/polarógrafo é feita através de um cabo com 25 pinos, padrão Amphenol. As linhas principais de comunicação serial de dados, entre o microcomputador e a interface RS232C, estão representadas na Figura 3.

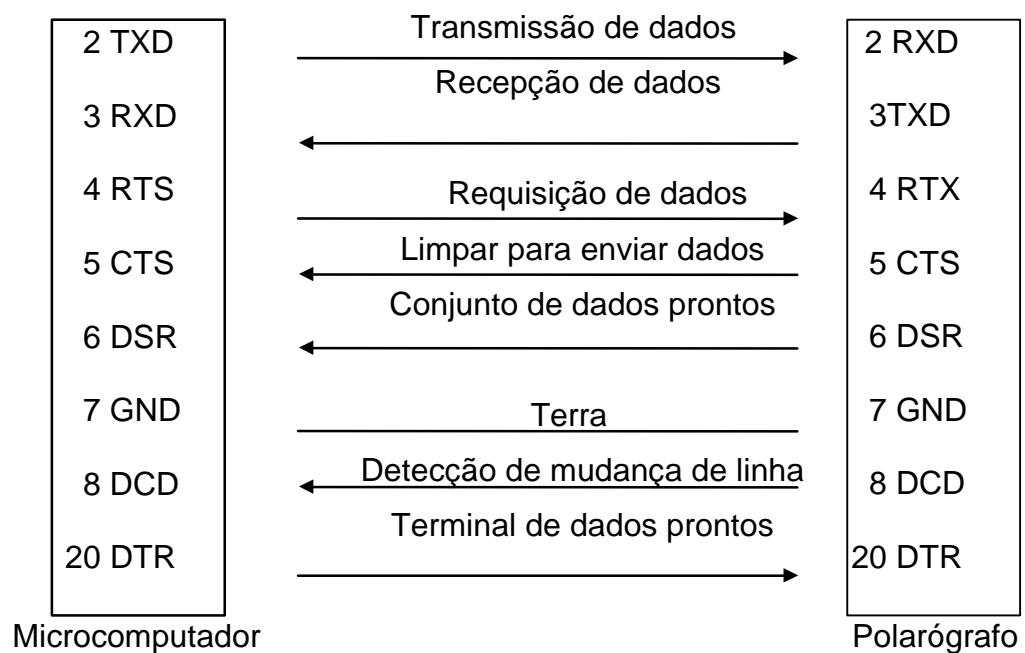


Figura 3 - Esquema das linhas da interface serial RS232C para transferência e aquisição de dados.

A transferência de dados ocorre em três estágios:

1. O polarógrafo e o microcomputador se habilitam à transferência de dados.
2. Os dados são transferidos.
3. O polarógrafo e o microcomputador se habilitam, informando que a transferência de dados terminou.

O número de programas desenvolvidos para envio e aquisição de dados em instrumentos analíticos tem aumentado muito nos últimos anos; provavelmente, a técnica que tem recebido mais aplicações é a cromatografia líquida de alta eficiência (BETTERIDGE et al., 1988). No entanto, na eletroquímica não houve grandes desenvolvimentos, pois alguns argumentos são o número e a diversidade de possíveis técnicas eletroquímicas, a complexidade da área relacionada aos parâmetros operacionais, o considerável número de analitos que pode ser determinado e o possível aparecimento de erros de sistemas devido à presença de muitos interferentes, principalmente com técnicas voltamétricas, em que determinações de misturas envolvem alguns metais, como Cd, Tl e Pb (RUISÁNCHEZ et al., 1992).

## **2. 7. Calibração multivariada**

### **2.7.1. Introdução**

A quimiometria é um ramo da química que se relaciona com as aplicações de estatística, matemática e outros métodos de lógica formal para análise geral de dados químicos (BROWN e BEAR, 1993). A atividade de pesquisa nesse campo vem crescendo, desde a metade dos anos 70, com a introdução de microcomputadores pessoais, fator-chave do desenvolvimento nessa área .

Segundo BRUNS e FAIGLE (1985), todas as medidas feitas em química analítica apresentam incerteza. A despeito disso, grandes quantidades de análises são feitas sem muita preocupação em expressar a incerteza dos resultados, através das ferramentas da análise estatística. Isso é particularmente verdadeiro quando os resultados analíticos são utilizados na solução de problemas em outras áreas da química, como na química

ambiental, forense etc. Recentemente, observou-se a relação entre as incertezas de alguns dados químicos e as decisões de impacto social tomadas com base nesses dados. Os estudos sobre precisão e exatidão, propagação de erros, caracterização da relação sinal/ruído, teoria de amostragem, otimização de experimentos utilizando esquemas fatoriais e análise de séries temporais estão todos fundamentados na estatística.

Diversos métodos quimiométricos têm sido aplicados para melhorar resultados em análises de multicomponentes por técnicas analíticas, principalmente as espectroscópicas (O'HAVER e GREEN, 1976). Várias aplicações em quimiometria estão descritas na literatura de química analítica, mas somente pequena fração é resultado de trabalhos desenvolvidos no campo da eletroquímica (BROWN e BEAR, 1993). Nos últimos anos, o tratamento quimiométrico de sinais oriundos de técnicas eletroanalíticas foi iniciado, possibilitando a diferenciação em polarografia de picos sobrepostos (CABANILLAS et al., 1994). O método multivariado de análise de componentes principais e o de análise de fatores, muito semelhante ao primeiro, são muito empregados em ciências sociais e vêm se tornando método-padrão na separação de picos sobrepostos em análise de misturas de muitos componentes (BRUNS e FAIGLE, 1985). A resolução de respostas sobrepostas é um problema que muitos pesquisadores vêm tentando solucionar pelo emprego de técnicas quimiométricas (BROWN e BEAR, 1993).

Os dados químicos multivariados podem ser arranjados na forma de uma tabela, em que objetos e variáveis são dispostos em linhas e colunas, respectivamente. Os objetos freqüentemente são compostos químicos (amostras), e as variáveis são valores de concentração, pH, condutividade, tempos em sistemas de fluxo, alturas (ou áreas) de bandas espectrais ou picos cromatográficos. A tabela de dados pode ser representada como uma matriz, do tipo mostrado na Figura 4, com  $n$  linhas e  $p$  colunas, em que o elemento  $X_{ki}$  da matriz indica o valor do  $k$ -ésimo objeto e da  $i$ -ésima variável.

		Variáveis →		
		1	i	p
o b j e t o s ↓	1	$X_{11}$	$X_{1i}$	$X_{1p}$
	k	$X_{k1}$	$X_{ki}$	$X_{kp}$
	n	$X_{n1}$	$X_{ni}$	$X_{np}$

Figura 4 - Matriz de dados químicos.

Para BEEBE e KOWALSKY (1987), é possível estabelecer relação entre duas matrizes de dados  $X$  e  $Y$  quando houver dependência entre as propriedades que descrevem cada uma delas. A forma de estabelecer essa relação é a base de calibração multivariada.

A calibração multivariada estende a idéia básica de modelagem e previsão, que são usadas na calibração univariada para diversas variáveis dependentes e independentes (BROWN e BEAR, 1993).

A calibração multivariada consiste basicamente de duas fases: a de calibração e a de previsão.

Na fase de calibração, tomando como exemplo o caso de determinações voltamétricas de espécies eletroativas em misturas, são obtidos  $n$  voltamogramas para  $n$  amostras de misturas ternárias de Cd (II) Pb (II) e Tl (I), de concentrações conhecidas, com  $p$  valores de potenciais. Assim, obtêm-se uma matriz  $X$ , com  $n$  linhas e  $p$  colunas, e uma matriz  $Y$ , com  $n$  linhas e  $q$  colunas dos componentes das misturas. A matriz  $X$  forma o **bloco das variáveis dependentes** e a matriz  $Y$ , o **bloco das variáveis independentes**. Os dados utilizados nesta etapa constituem o **conjunto de treinamento**. GELADI e KOWALSKI (1986) consideraram que, primeiramente, as características de um método ou instrumento são investigadas e uma tentativa

é feita para encontrar um modelo para seu comportamento (um modelo é uma relação de  $X = f(Y)$  entre dois grupos de variáveis, a independente  $Y$  e a dependente  $X$ ). Isso é chamado de calibração ou treinamento.

O próximo passo é desenvolver um modelo matemático apropriado que melhor possa reproduzir  $Y$  a partir dos dados da matriz  $X$ . Esse modelo é utilizado na fase de previsão para estimar as concentrações dos constituintes de novas amostras a partir de seus voltamogramas. Os dados nesta fase formam o **conjunto-teste**.

Os dados para calibração multivariada podem ser organizados conforme mostrado na Figura 5.

Existem vários métodos matemáticos para realização da calibração multivariada, como a Regressão Linear Múltipla, a Análise de Regressão de Componentes Principais e o Método dos Mínimos Quadrados Parciais (s - “Partial Least Squares”). Dentre esses métodos, destaca-se o PLS, que vem ganhando importância em razão, principalmente, da simplicidade do algoritmo e do seu excelente poder de previsão (GELADI e KOWALSKI, 1986).

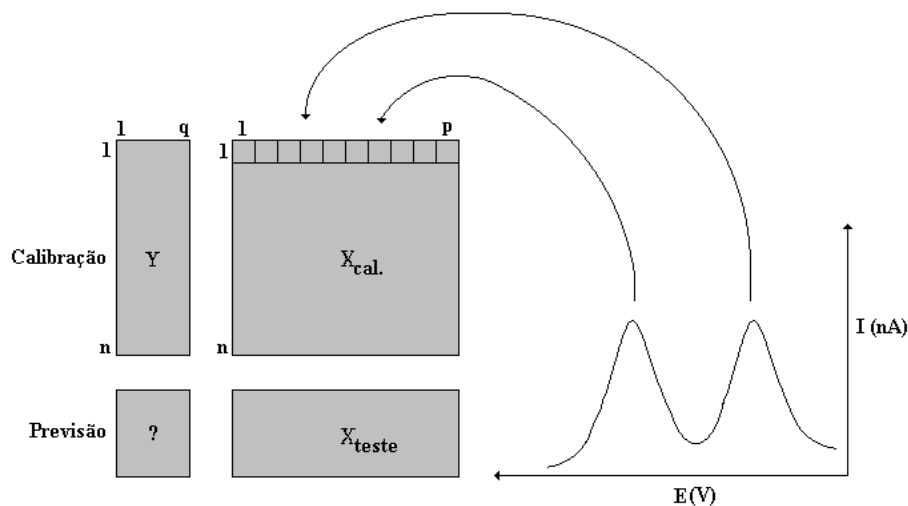


Figura 5 - Organização dos dados voltamétrico para calibração multivariada.

Quando se deseja construir uma curva de calibração é comum fazer a suposição, aliás perfeitamente razoável, de que a curva passe “o mais perto possível” dos pontos experimentais. O método mais empregado para obter corretamente essa máxima proximidade é o método dos Mínimos Quadrados, que fornece resultados não tendenciosos e com variância mínima, dentro de certas suposições de natureza estatística (AGTERDENBOS et al., 1981).

Para melhor compreensão do PLS, é necessário o entendimento da análise das componentes principais, que é a base deste método.

### **2.7.2. Análise das componentes principais (“PCA”)**

A análise das componentes principais foi originalmente descrita por Karl Pearson em 1901 e posteriormente consolidada por Hotelling em 1931 e 1936, com o propósito particular de analisar estruturas de correlações (LIBERATO et al., 1995). Aproximadamente 30 anos mais tarde, esta análise foi introduzida na química, com o nome de “Análise de fatores”, e a partir da década seguinte várias aplicações foram desenvolvidas (MALINOWSKI, 1991).

A análise das componentes principais possui os seguintes propósitos: a) examinar as correlações entre dados estudados; b) resumir grande conjunto de dados em um conjunto menor, ou seja, detectar amostras anômalas, que não devem pertencer a nenhuma das categorias conhecidas; c) promover a eliminação dos dados que pouco contribuem em termos de variação, o que é muito útil quando grandes quantidades de informações necessitam ser manipuladas; e d) permitir o agrupamento de dados similares, mediante exames visuais em dispersões gráficas no espaço bi ou tridimensional (LIBERATO et al., 1995).

A análise das componentes principais de acordo com SMITH (1991) faz o seguinte: (a) transforma as variáveis originais em novos eixos (componentes principais), que são ortogonais, de tal maneira que os dados expressos como os “scores” naqueles eixos não apresentam correlação entre si; (b) expressa tanto quanto possível a variação total dos dados em poucas componentes principais; e (c) cada componente principal derivado sucessivamente expressa quantidades decrescentes da variação.

No exemplo mostrado na Figura 6 (SMITH, 1991), as duas variáveis são substituídas pela primeira componente principal,  $CP_1$ , cuja direção está naquela de maior variância dos dados. A primeira componente principal é a combinação linear das variáveis para as quais os dados das novas coordenadas definidas pelos novos eixos, chamados de “scores”, têm máxima variação. A segunda componente principal é a combinação linear, ortogonal à primeira componente principal, sujeita à mesma restrição, dos “scores” não correlacionados com os “scores” de maior variação. Sucessivamente, as componentes principais de maiores ordens são derivadas no mesmo caminho com a requisição de serem ortogonais a todas as outras componentes principais anteriores.

Segundo LIBERATO et al. (1995), esta técnica é aplicada a um conjunto de  $p$  variáveis relativas a  $n$  amostras. O método consiste na transformação do conjunto original de variáveis em outro conjunto, as componentes principais, de dimensões equivalentes, porém com propriedades importantes.

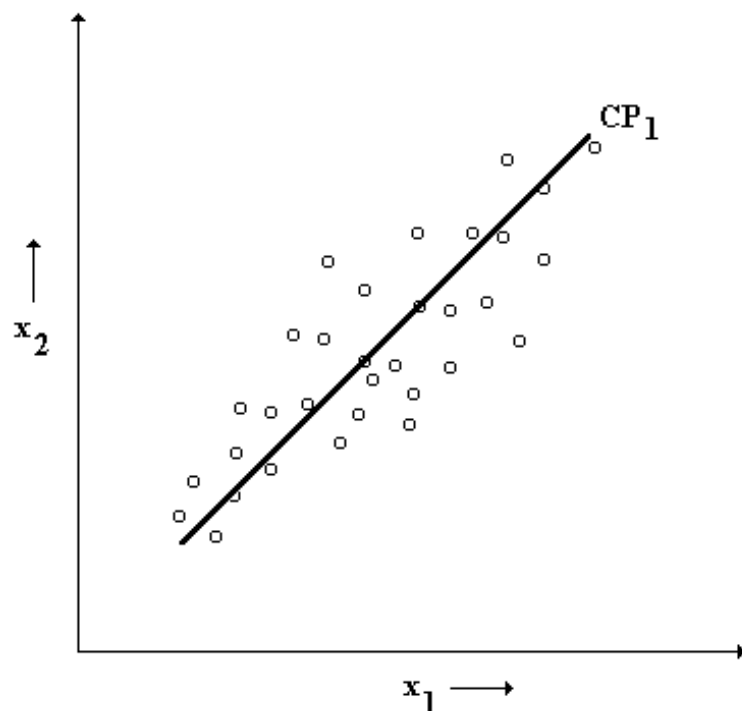


Figura 6 - Representação geométrica da primeira componente principal a partir das duas variáveis originais  $x_1$  e  $x_2$ .

Na realidade, a análise é uma troca de variáveis. As variáveis observadas são trocadas por novas variáveis abstratas, as componentes principais, esperando-se que as primeiras componentes guardem quase toda informação que possuem as variáveis originais. O objetivo é resumir a informação contida no complexo das variáveis originais, eliminando-se as informações redundantes existentes em decorrência da correlação entre variáveis, o que proporciona, assim, simplificação estrutural dos dados, de modo que a diversidade, influenciada em princípio por um conjunto  $p$ -dimensional, possa ser avaliada por um conjunto bi ou tridimensional de fácil interpretação geométrica.

Dados químicos contêm muitas fontes de variações não somente inerentes à composição química, mas também variações como a direção ou artefatos associados com o sistema de medidas e ruídos. A análise das componentes principais (PCA) separa essas fontes de variações, expressando os dados combinados linearmente. Isso é muito importante, porque reduz a



complexidade de grandes grupos de dados e simplifica o problema analítico (ARIES et al., 1991).

A análise das componentes principais consiste na aproximação de uma tabela de dados, uma matriz **X**, em termos da soma de várias matrizes **M<sub>i</sub>**, que não podem mais ser expandidas. As matrizes **M<sub>i</sub>** constituem as chamadas componentes principais e são formadas pelo produto de dois vetores, **t** (os “scores”) e **p** (os “loadings”):

$$\mathbf{X} = \mathbf{M}_1 + \mathbf{M}_2 + \dots + \mathbf{M}_a$$

$$\mathbf{X} = t_1 p_1^T + t_2 p_2^T + \dots + t_a p_a^T$$

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \mathbf{P}^T$$

em que **T** é a matriz dos “scores”, **P** a matriz dos “loadings” e **P<sup>T</sup>** a transposta de **P**. Uma representação gráfica dessas matrizes é mostrada na Figura 7.

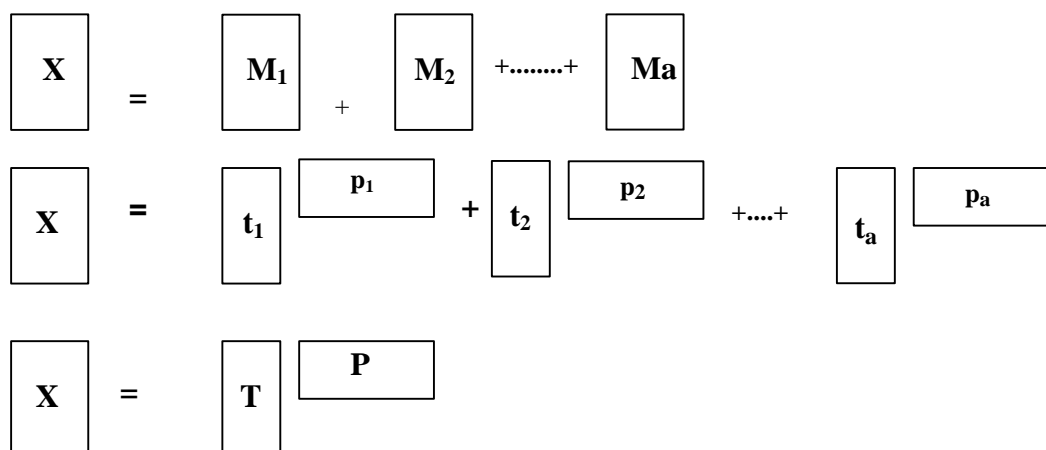


Figura 7 - Representação gráfica das matrizes na análise das componentes principais.

A dimensionalidade do espaço original é igual ao número de colunas em  $\mathbf{X}$ , ou seja, o número de variáveis originais. No novo modelo, a dimensionalidade é descrita pelo número de matrizes  $\mathbf{M}_i$  necessárias para descrever  $\mathbf{X}$ , o que corresponde ao número de colunas em  $\mathbf{T}$ , ou linhas em  $\mathbf{P}$ . Assim, se for possível descrever uma matriz  $\mathbf{X}$  que tenha muitas variáveis por um número pequeno dessas matrizes  $\mathbf{M}_i$ , haverá decréscimo na dimensionalidade, sem perda de informação.

A análise das componentes principais tem importantes aplicações em química, como análise de misturas, reconhecimento de padrões e calibração multivariada. A primeira dessas aplicações tenta determinar o número de componentes presentes em uma amostra desconhecida. Na aplicação dessa técnica no reconhecimento de padrões, faz-se uso dos “loadings”, o que constitui a orientação dos novos eixos no espaço dos eixos originais e dos “scores”, que são coordenadas dos pontos originais no novo espaço definido pelas componentes principais, indexando diferenças entre classes. Para aplicações em calibração multivariada, a análise de componentes principais é também utilizada como método para reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados, como dito anteriormente.

### **2.7.3. Métodos dos mínimos quadrados parciais (“PLS”)**

O primeiro trabalho com o PLS foi feito na década de 60, por WOLD (1966), no campo da econometria. O uso do PLS para aplicações em química iniciou-se com S. Wold e H. Martens nos anos 70 (SJÖSTRÖM et al., 1983).

Alguns trabalhos têm indicado que tais métodos são uma boa alternativa com relação aos mais clássicos, como Regressão Linear Múltipla e Regressão das Componentes Principais, pois os parâmetros do modelo não mudam muito quando diferentes amostras são utilizadas na calibração. Também, possuem vantagens na programação, pois seu algoritmo é relativamente curto e fácil de ser implementado. Estes métodos são baseados numa extensão do algoritmo NIPALS (“Nonlinear Iterative Partial Least

Squares”), desenvolvido por WOLD (1966), decompondo a matriz de dados originais em uma soma do produto de dois vetores.

O PLS é um método novo de construção de equações de regressão. Pode ser usado tanto como método multivariado quanto como regressão univariada, podendo, assim, ter várias variáveis dependentes,  $x_1, \dots, x_l$ . Para formar uma relação entre as variáveis  $x$  e as variáveis explicativas,  $y_1, \dots, y_m$ , o PLS constrói novas variáveis explicativas, depois chama de fatores variáveis ocultas, ou componentes, em que cada componente é uma combinação de  $y_1, \dots, y_m$ . Métodos-padrão de regressão são, então, usados para determinar equações relacionando componentes com variáveis  $x$ .

O objetivo do PLS é formar componentes que capturem mais informações das variáveis  $x$  que são utilizadas para prever  $y_1, \dots, y_l$ , quando reduz a dimensionalidade das variáveis do problema por usar menos componentes do que o número de variáveis  $y$ . O PLS é considerado muito útil, especialmente para prever equações quando existirem muitas variáveis explicativas e comparativamente poucos dados das amostras (HOSKULDSSON, 1995).

Para WANG (1995), o PLS é uma técnica de regressão linear de estatística multivariada para relacionar variáveis de saída e variáveis de entrada, em que existe alto grau de correlação entre elas. Alguns trabalhos indicam que esse método é uma boa alternativa com relação aos métodos mais clássicos de Regressão Linear Múltipla e Regressão de Componentes Principais, pois os parâmetros do modelo não mudam muito quando padrões diferentes são utilizados na calibração.

No PLS, tanto a matriz das variáveis independentes  $Y$  como a das variáveis dependentes  $X$  são representadas pela análise das componentes principais, ou seja:

$$X = TP^T + E$$

$$Y = UQ^T + F$$

em que  $T$  e  $U$  são as matrizes dos “scores” e  $P$  e  $Q$ , as matrizes dos “loadings”, enquanto  $E$  e  $F$  são as de resíduos.

Uma relação entre os dois blocos pode ser verificada, correlacionando-se os “scores” para cada componente de cada vez e utilizando um modelo linear, assim:

$$\begin{aligned} \mathbf{u}_h &= \mathbf{b}_h \mathbf{t}_h \\ \mathbf{b}_h &= \mathbf{u}_h \mathbf{t}_h^T / \mathbf{t}_h^T \mathbf{t}_h \end{aligned}$$

em que cada  $h = 1, 2, \dots, “a”$  componentes principais.

Esse modelo, entretanto, não é o melhor possível, porque a análise das componentes principais é realizada em cada matriz separadamente, podendo resultar numa relação não muito satisfatória (não-linear) entre os “scores” dos dois blocos. Deve-se buscar um modelo em que as matrizes de resíduos **E** e **F** sejam as menores possíveis e, ao mesmo tempo, consiga uma relação linear entre **t** e **u**. A Figura 8 ilustra a representação geométrica do modelo do PLS, em que **t** e **u** são representadas por vetores como linhas sólidas; elas estão inclinadas levemente em relação às componentes principais representadas por linhas pontilhadas, para estabelecerem uma correlação máxima entre a componente de respostas, **u**, e a componente de descrição, **t**.

No PLS, o estabelecimento de máxima correlação é realizado por uma leve mudança nos valores dos “scores”, de forma a produzir a melhor relação possível. Como pode ser notado, há um compromisso entre a habilidade das componentes principais em descrever as amostras nos espaços individuais (modelagem dos blocos **X** e **Y**) e o aumento na correlação entre **t** e **u**.

O tratamento estatístico dos resultados obtidos com o método dos mínimos quadrados parciais exige que sejam válidas (pelo menos aproximadamente) algumas suposições sobre a natureza dos erros associados às medidas. Na presença de violações grosseiras dessas suposições, amostras diferentes extraídas do mesmo sistema podem levar a equações bastante diferentes, isto é, a modelos sem estabilidade (AGTERDENBOS et al., 1981).

Uma das etapas fundamentais em calibração multivariada está na escolha correta do número de componentes principais, existindo o risco da

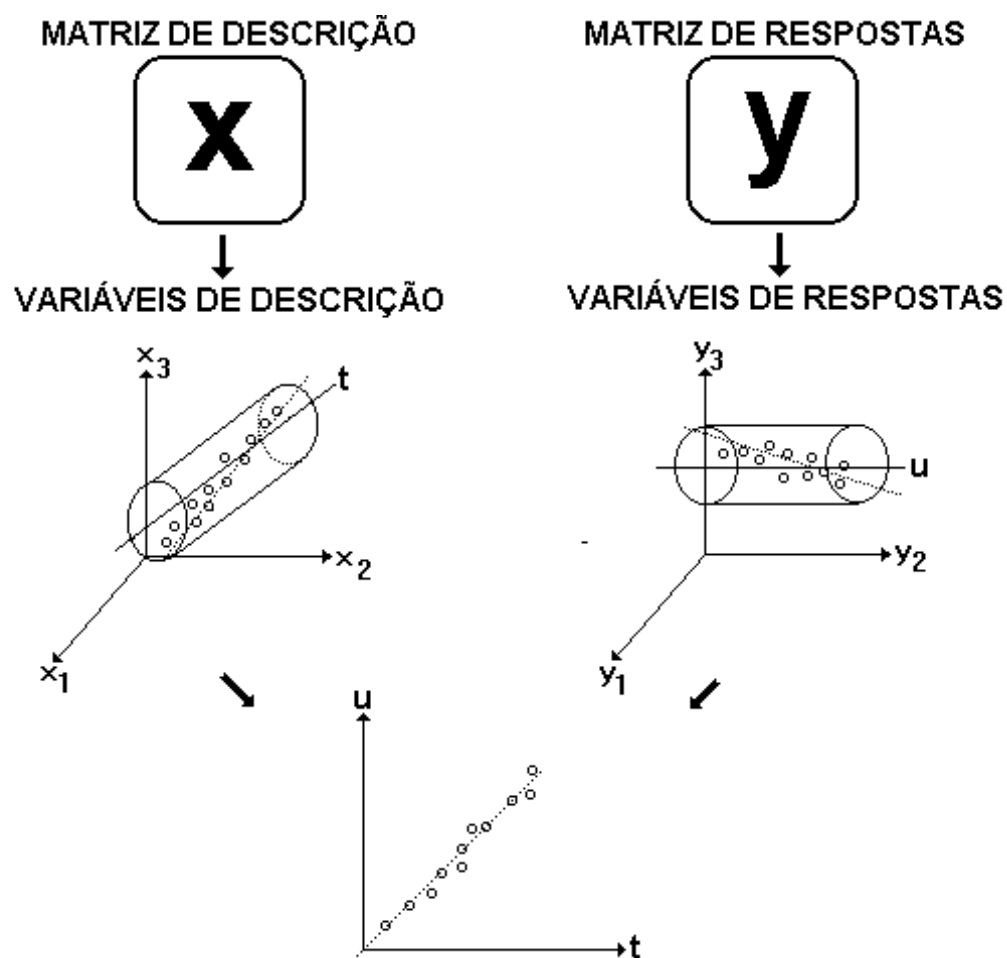


Figura 8 - Representação geométrica do modelo do PLS para  $h = 1, 2, \dots$ , a componentes principais.

perda de informação com a utilização de um número insuficiente. No entanto, o emprego de um número maior que o necessário introduz ruídos na modelagem.

Recentemente, foi relatada a utilização de calibração multivariada para determinação potenciométrica de misturas de ácidos fracos que apresentam pKas próximos (FIDÊNCIO, 1997). Destaca-se também o trabalho de DIAS (1997), que teve como objetivo determinar resíduos de pesticidas (Maneb, etilenobisditiocarbamatos de manganês - EBDC) em tomates. Utilizou-se o método espectrofotométrico da hidrólise ácida, do fungicida EBDC, liberando quantitativamente o  $CS_2$ , que era extraído com reagente quelante baseado em Cu (II) e dietanolamina. Foi verificada a necessidade de se aplicarem métodos de calibração multivariada, porque as bandas de absorção máxima a diferentes comprimentos de onda dos dois complexos formados de Cu (II) com  $CS_2$ , nas proporções 1:1 e 1:2, eram de 370 e 435 nm, respectivamente. Assim, utilizando-se todo o espectro de absorção, foi possível ignorar o problema de mudança de posição de absorção por formação de complexos diferentes.

## **2.8. Ambiente computacional MatLab**

O MatLab é um ambiente computacional poderoso e fácil de usar, fornecendo a engenheiros, cientistas e outros profissionais um sistema simples e interativo que integra computação numérica e visualização científica. Sendo eficientemente programável, proporciona um ambiente aberto, que promove enormes ganhos na produtividade e criatividade (MATWORKS,1993).

O MatLab fornece:

- ⇒ Gráficos avançados e visualização.
- ⇒ Alto nível de linguagem de programação.
- ⇒ Grande coleção de caixa de ferramentas para aplicações em campos especializados.

⇒ Poderoso ambiente para simulação de sistemas dinâmicos não-lineares.

⇒ Extensiva arquitetura, que suporta técnicas de computação de padrão industrial.

O nome “MaTLab” é um acrônimo para MATrix e LABoratory. Ele foi originalmente desenvolvido para fornecer acesso fácil ao desenvolvimento de “software” que trabalha com matrizes. É um sistema interativo, cujo elemento básico é uma matriz, permitindo a resolução de muitos problemas numéricos numa fração de tempo bem menor do que em um programa em linguagem de programação tradicional.

Matrizes podem ser reais ou complexas, e o MatLab as usa para reunir objetos tão variados quanto sinais (simples vetores), imagens, polinômios, dados estatísticos multivariados e sistemas lineares. A notação é natural, não existindo comandos complicados para aprender, o que transmite segurança nas respostas. As técnicas numéricas são baseadas em algoritmo robusto bem estabelecido e fortalecidas com os anos de uso por milhares de pessoas em várias aplicações.

O MatLab, portanto, integra computação matricial, análise numérica, processamento de sinais, análise de dados e gráficos em um ambiente fácil de usar, onde problemas e soluções são expressos exatamente como são escritos matematicamente. Em resumo, ele integra alta qualidade de visualização de dados com alta eficiência em computação numérica, como também fornece um grande ambiente flexível para escrever e testar novos métodos numéricos e novos algoritmos.

O MatLab caracteriza-se com uma família de produtos de aplicações específicas chamados de “toolboxes” (caixas de ferramentas), que são bibliotecas de funções que organizam o ambiente MatLab para classes de problemas e aplicações de área particular.

Um dos aplicativos das “caixas de ferramentas” do MatLab, o PLS\_Toolbox, é largamente utilizado por profissionais de química. As funções no PLS\_Toolbox podem ser usadas para obter modelos de calibração para vários sistemas multivariados.

O PLS\_ToolBox é um pacote que contém rotinas de análises de componentes principais (PCA), regressão de componentes principais (PCR),

método dos mínimos quadrados parciais (PLS), regressão contínua (CR) e algumas rotinas que aplicam métodos para alguns problemas específicos; como uma rotina que usa PLS para identificar modelos dinâmicos de processos químicos. Também, estão incluídas funções de escala de dados, rotinas de conduzir predição com PLS e uma visão do PLS, que usa uma relação interna não-linear (WISE,1991).

A aplicação desses pacotes denominados “toolboxes” no ambiente MatLab é fruto do esforço de pesquisadores no campo de processamento de sinais, controle automático, redes neurais e outros.

## **2.9. Metais pesados**

### **2.9.1. Introdução**

O monitoramento de substâncias tóxicas de alta periculosidade para o homem, a exemplo de alguns metais pesados em meio biológico, tornou-se obrigatório em medicina e toxicologia. Isso porque uma quantidade de metais tóxicos pode ser absorvida, ingerida ou inalada e, dependendo dos metais, estes podem ser excretados via urina, fezes, respiração e, em menor quantidade, transpiração.

O termo metal pesado não quer dizer necessariamente “metal tóxico”. Muitos deles, como Fe, Mn, Cu, Mo e vários outros, são nutrientes indispensáveis às plantas e aos seres humanos, quando em baixas concentrações (COKER e MATTHEWS, 1983; GARCIA et al., 1990; TAVARES e CARVALHO, 1992). Porém, esses mesmos autores alertaram para o fato de que a maioria deles, inclusive os nutrientes, adquire propriedades tóxicas quando em concentrações elevadas. Nos seres vivos, tais elementos reagem com ligantes presentes em membranas, o que, muitas vezes, confere propriedades de bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar, persistindo no ambiente e provocando distúrbios nos processos metabólicos (TAVARES e CARVALHO, 1992). Tais bioacumulações e biomagnificações transformam concentrações consideradas normais em concentrações tóxicas



para diferentes espécies da biota, incluindo o homem. A persistência desses elementos garantem os efeitos a longo prazo mesmo depois de interrompidas as emissões pelos organismos das diferentes espécies. Por isso existe grande interesse, do ponto de vista toxicológico, na determinação desses metais, principalmente cobre, chumbo, cádmio, zinco e, em especial, tálio. Cobre e zinco estão incluídos nos micronutrientes para plantas, homens e animais, mas desempenham ações tóxicas quando absorvidos em excesso; chumbo, cádmio e tálio são tóxicos. Assim, estudos desses metais, relacionados a sua detecção, quantificação, especificação quanto à contaminação de solos, águas e sedimentos, e busca de novas técnicas mais sensíveis e eficientes, como também métodos capazes de eliminar interferentes, garantem maior confiabilidade nas análises e tornam os estudos de extrema importância (NICOLA,1992).

### **2.9.2. Chumbo**

O chumbo é um elemento tóxico para o homem atinge-lhe os tecidos sendo absorvido por diversos meios. As vias de absorção mais importantes são as vias respiratória e oral, com a ressalva de que cerca de 30% do chumbo inalado e 10% do chumbo ingerido são absorvidos pelo trato gastrointestinal. A via cutânea assume importância principalmente nas exposições ocupacionais. Sua ocorrência está entre os operários da indústria extrativa de chumbo, em fábrica de acumuladores elétricos, tipografia, indústria de acabamentos de peças metálicas, soldas em geral e soldas elétricas para automóveis (NICOLA, 1992).

O chumbo absorvido acumula-se nos ossos, dentes, tecidos moles (principalmente fígado e rins) e no sangue, sendo sua excreção realizada principalmente pela urina e pelas fezes e, em menor quantidade, pelo suor, pelos cabelos, pelas unhas e pelo leite. A concentração no sangue é de fundamental importância na avaliação da exposição, e os valores são indicativos para o diagnóstico do quadro de intoxicação aguda.

As intoxicações agudas com sais de chumbo não são freqüentes e caracterizam-se por náuseas, vômitos, dores abdominais, gosto metálico na boca e fezes escuras; um exemplo é a doença conhecida como saturnismo, que causa anemia, cólicas, convulsões e leva ao coma (NICOLA, 1992). Já as intoxicações crônicas mais freqüentes são caracterizadas por manifestações variadas, que podem aparecer simultaneamente ou em seqüência.

Os limites ambientais máximos propostos para este elemento em ambiente ocupacional é de  $100 \mu\text{g m}^{-3}$ ; no ar, é de  $2 \mu\text{g m}^{-3}$ , enquanto nos alimentos é de 3 mg/pessoa adulta/semana, sendo o peso de 60 kg por pessoa como referência (PEREIRA,1995).

### **2.9.3. Cádmio**

O cádmio é um elemento tóxico que pode ser absorvido pelo organismo humano, principalmente pelas vias respiratórias e, ou, pela via oral. Após a absorção, ele penetra na corrente sangüínea e se concentra no plasma, alcançando os glóbulos vermelhos. Cerca de 50 a 75% do cádmio é absorvido e depositado no fígado e nos rins. Pequenas quantidades estão presentes nos intestinos, nos tecidos musculares e no sistema nervoso central, sendo os níveis no sangue extremamente baixos. Fatores dietéticos, como as quantidades de cálcio, ferro, vitamina D e proteínas, influem na absorção, de cádmio, ocorrendo aumento na sua absorção em dietas pobres desses nutrientes (NICOLA, 1992). Biologicamente, o cádmio não é considerado essencial e nem é benéfico ao homem. Não se conhecem, até o momento, as necessidades fisiológicas humanas deste metal, bem como o mecanismo regulador para mantê-lo em um nível de segurança constante no corpo.

A ocorrência do cádmio em atividades profissionais se dá no seu uso em revelação fotográfica, na fabricação de vidros, no seu emprego como antioxidante, em revestimento metálico e na preparação de ligas, dentre outros (BEDRIKOW, 1987).

O cádmio é um elemento altamente acumulativo e age, em parte, bloqueando grupamentos tiólicos e inibindo a respiração celular e sistemas

enzimáticos fundamentais. Pode ser etiológico para vários processos patológicos no homem, incluindo tumores nos testículos, disfunção renal, hipertensão, problemas cardiovasculares, retardo no crescimento e redução da digestão de proteínas, bem como carcinomas, edemas e efeitos proliferativos e fibrogênicos nos pulmões, além de doenças crônicas de envelhecimento. A exposição aguda de seres humanos a elevadas concentrações desse metal pode provocar edema e lesões permanentes nos pulmões. Nesse caso, observam-se irritação do tubo digestivo e, posteriormente, arrepios, dores de cabeça, depressão cardiovascular, paralisia etc. Geralmente, quando o fígado e os rins são atingidos, o indivíduo morre por parada respiratória e colapso cardiovascular (PEREIRA, 1995).

A concentração máxima tolerável em atmosferas industriais é de  $100 \mu\text{g m}^{-3}$ . A dose letal para um adulto de 60 kg é da ordem de 0,35 g de cádmio (PEREIRA, 1995).

No ano de 1950, em Fuchu, Japão, houve epidemia de uma doença dolorosa e mutilante, denominada “Itai Itai”, ou osteomalácia. Mais tarde, essa doença foi atribuída ao envenenamento crônico da população por cádmio, através da ingestão de arroz crescido em campos irrigados por água contaminada por esse metal. A ingestão prolongada de grandes quantidades de cádmio resultou em uma séria disfunção renal, acompanhada da excreção aumentada de proteína, glucose, aminoácidos e fósforo. A baixa ingestão de cálcio e vitamina D também contribuiu para o aparecimento da doença (NICOLA, 1992) naquele país.

#### **2.9.4. Zinco**

O zinco é um elemento essencial para o homem. Encontra-se presente em várias metalo-proteínas e enzimas, além de ser necessário nos processos de cicatrização da pele. Zinco é também um componente da DNA polimerase, enzima necessária para a divisão das células (NICOLA, 1992).

A deficiência de zinco provoca uma diminuição na síntese de ácidos nucléicos e proteínas. Ingestão de grandes quantidades de sais de zinco pode

causar problemas gastrointestinais, incluindo vômitos e diarréias. Ele se acumula no fígado, no pâncreas, na próstata, no suco pancreático e no líquido seminal. Seu conteúdo nos tecidos humanos varia de 10 a 200 mg L<sup>-1</sup>; na retina e na próstata, as concentrações são de 500 a 1.000 mg L<sup>-1</sup>; nos glóbulos brancos do sangue existe 3% de zinco. O homem ingere, aproximadamente, 15 mg de Zn/dia e elimina cerca de 10 mg/dia pelas fezes e 0,4 mg/dia pela urina. A necessidade média diária na criança em idade pré-escolar é de 0,3 mg kg<sup>-1</sup> de peso corporal, cuja deficiência causará o retardamento no crescimento. É tóxico ao homem em altas doses, na forma de sais solúveis (PEREIRA, 1995).

A concentração máxima tolerável admitida para fumaças de óxido de zinco em atmosferas industriais é de 15 mg m<sup>-3</sup>, em exposições repetidas (PEREIRA, 1995).

### **2.9.5. Cobre**

O cobre é um elemento essencial ao homem, pois é um constituinte de pigmentos transportadores de oxigênio e também de uma série de enzimas redox, como catalase, citocromo oxidase e outras.

O nível normal de cobre no corpo humano é mantido pelo mecanismo homeostático, sendo, por isso, menos tóxico ao homem do que a certos organismos, que não têm esse mecanismo de controle.

Inalação de pó e fumo de cobre pode causar irritação no trato respiratório e “febre de fumo de metal”, que é uma síndrome caracterizada por sintomas de gripe, que desaparecem, nesse caso, em 24 horas. A ingestão de grandes quantidades de sais de cobre pode causar hemólise e danos no fígado e nos rins (NICOLA, 1992).

O cobre é utilizado nos mais diversos processos industriais, em virtude de suas propriedades de condutividade, maleabilidade e durabilidade. É um elemento essencial de baixas concentrações. No sangue, o cobre forma uma ligação protéica muito complexa, sendo 98% dele ligado à alfa-2-globulina e o restante, à albumina. A maior parte do cobre absorvido é captada pelo fígado,

que induz a síntese de ceruloplasmina, com o qual forma um complexo, que é liberado na corrente sanguínea (PEREIRA, 1995).

#### **2.9.6. Tálíio**

O tálíio forma cátions uni e trivalentes. O tálíio univalente é uma espécie mais fácil de se determinar, pois é mais estável e tem pouca tendência à hidrólise, formando somente complexos fracos (CISZEWSKI, 1990). É um elemento altamente tóxico. No entanto, a atenção por parte dos pesquisadores não é maior do que com relação a outros metais pesados, porque seu conteúdo é extremamente baixo, ou seja, é um elemento raro e sua abundância na crosta terrestre é estimada em 0,3-1,3  $\mu\text{g g}^{-1}$  (CISZEWSKI et al., 1997), mas seu potencial de toxicidade é extremamente elevado (LUKASZEWSKI e ZEMBRZUSKI, 1992).

Seu nível de tolerância no ar é de 0,1  $\text{mg m}^{-3}$ , sendo extremamente tóxico aos organismos vivos quando presente no solo. A contaminação ambiental surge principalmente da combustão do carvão, processamento de materiais provenientes de minas de minerais não ferrosos e fábricas de cimento. Todavia, de tempos em tempos, o tálíio tem aparecido como sério contaminante ambiental. Por exemplo, em 1979 foi descoberto que o tálíio tinha sido emitido em considerável quantidade por uma fábrica de cimento no norte da Alemanha Ocidental. A emissão de tálíio foi causada por um resíduo de pirita calcinada contendo tálíio, que foi adicionado com o óxido de ferro (III) empregado como aditivo à pedra calcária bruta para a produção de um tipo especial de cimento (CISZEWSKI et al., 1997).

O tálíio possui efeito acumulativo no organismo, e é somente tolerado em níveis de traços em sistemas bioquímicos, sendo as conseqüências similares as do arsênio. O efeito de envenenamento do tálíio consiste em inativação dos grupos SH e outros centros ativos das enzimas. Além disso, ele causa certos distúrbios nas funções nervosas e circulatórias e no sistema digestivo. Há alguns anos, compostos de tálíio foram usados na medicina para tratamento de micoses e doenças venéreas, todavia hoje o seu uso tem sido

restringido. Contudo, o perigo de ser envenenado com tálio está ainda presente, por ser um elemento muito usado em alguns países como rodenticidas para ratos e outros roedores. (KUBASZEWSKI, 1992).

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Instrumentação**

#### **3.1.1. Polarógrafo**

As determinações voltamétricas foram realizadas em um analisador polarográfico PAR (“Princeton Applied Research”), modelo 384B, da EG & G (Figura 1), acoplado a uma cela polarográfica PAR, modelo 303A. Essa cela foi constituída de três eletrodos: eletrodo de mercúrio de gota estática (EMGE) como eletrodo de trabalho; eletrodo de prata/cloreto de prata saturado com KCl, como eletrodo de referência; e um fio de platina como eletrodo auxiliar. A técnica voltamétrica empregada foi a voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial. A agitação da amostra foi feita através do agitador modelo 305, da EG & G. Os voltamogramas anteriormente registrados no “plotter” da Houston Instruments, modelo DMP-40, foram obtidos pelo interfaceamento com um microcomputador especificado no item 3.1.5.

A cela polarográfica 303A incorpora um reservatório de mercúrio e um capilar de vidro (120  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno), através do qual flui o mercúrio para formar a gota. Uma válvula interna permite que o fluxo de mercúrio cessa a intervalos de tempo selecionados, originando uma gota estacionária de tamanho uniforme, definido pelo usuário, em vez de uma gota crescente. As

opções de tamanho da gota são: pequena, média e grande. A gota fica presa ao capilar por um período pré-determinado e é, então, dispensada mecanicamente.

### **3.1.2. Polarógrafo Radelkis, modelo OH102**

### **3.1.3. Medidor de pH**

As medições de pH foram realizadas em pHmetro da TECNOW, modelo IRIS, digital equipado com eletrodo de vidro e eletrodo combinado de prata/cloreto de prata saturado com KCl. A calibração foi feita com soluções-tampão da marca Merck, pH  $4,00 \pm 0,02$  e pH  $7,00 \pm 0,02$ .

### **3.1.4. Espectrofotômetro de absorção atômica**

As determinações das concentrações dos metais em estudo na amostra de sedimento, para efeito de comparação, foram feitas em espectrofotômetro de absorção atômica Carl Zeiss JENA, modelo AAS-3, de feixe duplo, equipado com corretor de absorção de fundo. As soluções foram aspiradas diretamente em chama de ar/acetileno.

### **3.1.5. Microcomputador**

O gerenciamento do instrumento voltamétrico e a aquisição de dados foram realizados através do interfaceamento com um microcomputador compatível com o padrão IBM-PC 586, 133 MHz, via interface serial padrão RS232C. O tratamento quimiométrico foi executado, posteriormente, no mesmo microcomputador.



### **3.1.6. Balança analítica**

Todas as pesagens foram feitas numa balança analítica da marca SHIMADZU LIBROR AEX - 200B, modelo OH -102.

## **3. 2. Aquisição e tratamento dos dados**

No controle do instrumento voltamétrico e na aquisição dos dados, utilizou-se um programa desenvolvido em linguagem QuickBasic 4.5, com os dados armazenados no formato ASCII. Os dados adquiridos foram processados por programas comerciais que operam dentro do ambiente windows, como o Origin versão 3.5 e os programas quimiométricos contidos no pacote “PLS\_Toolbox 2.0”, que operam dentro do ambiente MatLab, de acordo com o esquema da Figura 9.

## **3.3. Limpeza do material**

Inicialmente, toda a vidraria utilizada foi lavada com detergente. Esta vidraria foi, então, mergulhada em solução de  $\text{HNO}_3$  10% por 24 horas e, posteriormente, lavada com água deionizada. O tratamento com  $\text{HNO}_3$  foi realizado para evitar a contaminação da solução em contato com a vidraria, através da troca de íons metálicos possivelmente adsorvidos em sua superfície e que poderiam ser liberados para a solução por íons  $\text{H}^+$ .

Os recipientes de polietileno usados para armazenamento das amostras foram tratados com solução de  $\text{HNO}_3$  20% por 48 horas e, em seguida, lavados com água deionizada.

### **3.4. Preparo das soluções**

#### **3.4.1. Soluções para a calibração multivariada**

As soluções foram preparadas, usando-se reagentes de grau analítico, da marca Merck, ou equivalentes.

Chumbo (II) - Solução-estoque de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  de chumbo (II) preparada a partir de  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  e padronizada por titulação complexométrica com EDTA em tampão pH 10 de  $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ , usando-se Negro de Eriocromo-T como indicador, segundo FLASCHKA (1967).

Cádmio (II) - Solução-estoque de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  de cádmio (II) preparada a partir de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  e padronizada por titulação complexométrica com EDTA em tampão pH 10 de  $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ , usando-se Negro de Eriocromo - T como indicador, segundo FLASCHKA (1967).

Tálio (I) - Solução-estoque de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  de tálio (I) preparada a partir da dissolução de 0,1279 g de acetato de tálio(I) em ácido nítrico  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ . Transferiu-se a solução para balão volumétrico de 100 mL, completando o volume com solução de  $\text{HNO}_3$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ . A solução foi padronizada por titulação com permanganato de potássio em presença do íon fluoreto, segundo BEALE et al. (1941).

#### **3.4.2. Soluções-padrão para leitura da amostra de sedimento**

Zinco (II) - Solução-estoque de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  de zinco (II) preparada a partir de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e padronizada por titulação complexométrica com EDTA em tampão pH 10 de  $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ , usando-se Negro de Eriocromo - T como indicador, segundo FLASCHKA (1967).

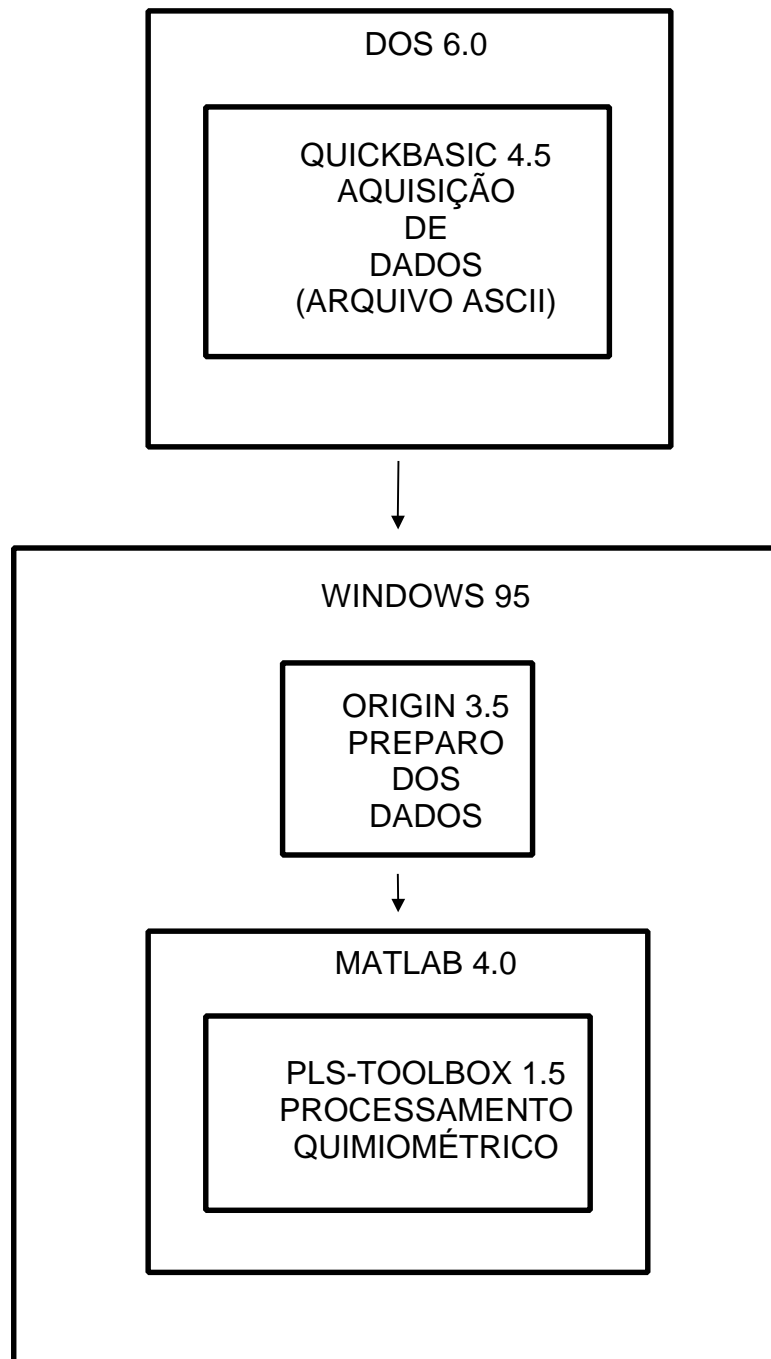


Figura 9 - Esquema da aquisição e tratamento de dados.

Cobre (II) - Solução-estoque de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  de cobre (II) preparada a partir de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e padronizada por titulação complexométrica com EDTA em tampão pH 10 de  $\text{NaOH}/\text{NH}_4\text{Cl}$ , usando-se Murexida como indicador, segundo FLASCHKA (1967).

As soluções de chumbo (II) e cádmio (II) seguiram procedimento semelhante ao descrito no item 3.4.1.

### **3.4.3. Abertura da amostra de sedimentos do rio Búfalo, material certificado nº 2704, do “National Institute of standards & technology”**

Foram pesadas quatro subamostras de 0,1000 g cada. As subamostras foram submetidas à seguinte metodologia:

- Em cadinho de teflon, adicionou-se 0,1000 g da amostra-padrão de sedimento de rio.
- Adicionaram-se 10 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, e aqueceu-se até quase à secura.
- Adicionaram-se 2 mL de  $\text{HClO}_4$  concentrado e na seqüência, 10 mL de HF concentrado, aquecendo até quase à secura. Tal procedimento foi repetido duas vezes.
- Adicionaram-se 10 ml de  $\text{HCl}$  concentrado e deixou-se reduzir o volume pela metade, com aquecimento.
- Filtrou-se a amostra, utilizando papel-filtro quantitativo (Whatman 125 mm  $\phi$ ) de filtração rápida.
- Aferiu-se o volume final para 10 mL.
- Uma abertura em branco foi executada para eliminar a interferência dos metais provenientes dos reagentes analíticos.

#### 3.4.4. Soluções empregadas como eletrólito de suporte

O eletrólito de suporte utilizado na parte analítica consistiu de solução-tampão de ácido acético  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  / acetato de sódio  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , utilizando-se ácido acético glacial ou solução de NaOH  $2 \text{ mol L}^{-1}$  para corrigir o pH para 4,5.

Foram feitos estudos de variação do pH do eletrólito de suporte, em que valores iguais a 4,00; 4,25; 4,75; e 5,00 foram testados, além daquele discutido acima.

#### 3.4.5. Outras soluções

Ácido nítrico - Solução de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada por diluição de solução de  $\text{HNO}_3$   $1 \text{ mol L}^{-1}$  em balão de 200 mL, preparada a partir de  $\text{HNO}_3$  concentrado, aferindo-se o volume com água deionizada.

EDTA - Solução de  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de EDTA foi preparada por dissolução de 18,6120 g do sal  $\text{NaH}_2\text{EDTA} \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$  em água deionizada. A solução foi transferida para um balão de 1 L, sendo o volume aferido com água deionizada.

Cloreto de cromo (III) - Solução contendo  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  em solução de  $\text{CrCl}_3$  e  $1 \text{ mol L}^{-1}$  em ácido clorídrico foi preparada conjuntamente a partir de  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e HCl concentrado.

Ácido clorídrico - Solução  $1 \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada a partir da diluição de 41,7 mL de ácido clorídrico concentrado, em balão de 500 mL, aferindo-se o volume com água deionizada.

### 3. 5. Desoxigenação do eletrólito de suporte

O nitrogênio utilizado para desoxigenação das soluções empregadas na voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial foi de grau “R” . Esse gás, antes de ser borbulhado na solução, foi purificado pela passagem através de um frasco de lavagem (Figura 10, frasco B) contendo solução redutora à base de crômio (II). Nesse frasco, acrescentou-se zinco granulado puro (isento de arsênio) previamente amalgamado (proporção 1:99, respectivamente para Hg:Zn) e, então, juntaram-se, em seqüência, soluções de cloreto de crômio (III)  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e HCl  $1 \text{ mol L}^{-1}$ . Dois outros frascos completaram a montagem, sendo um deles cheio com água (frasco A) para evitar que vestígios da solução redutora de cromo chegue assim à cela voltamétrica, enquanto o outro funciona como frasco de segurança (frasco C), evitando-se o retorno da solução ácida redutora às válvulas reguladoras da pressão de  $\text{N}_2$ .

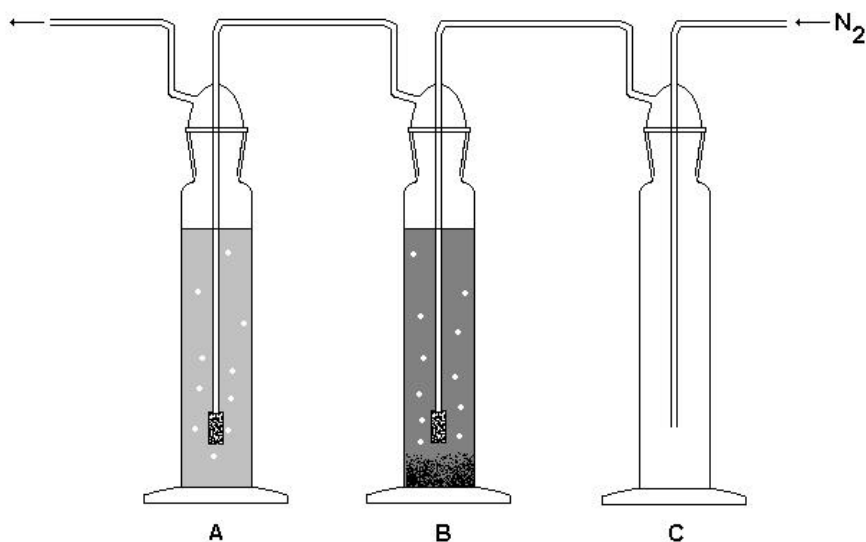


Figura 10 - Frascos lavadores para eliminar o oxigênio presente como impurezas contido no nitrogênio utilizado para desoxigenação das soluções a serem analisadas por voltametria. O frasco **A** contém água deionizada, o **B** solução redutora de crômio e o **C** frasco de segurança.

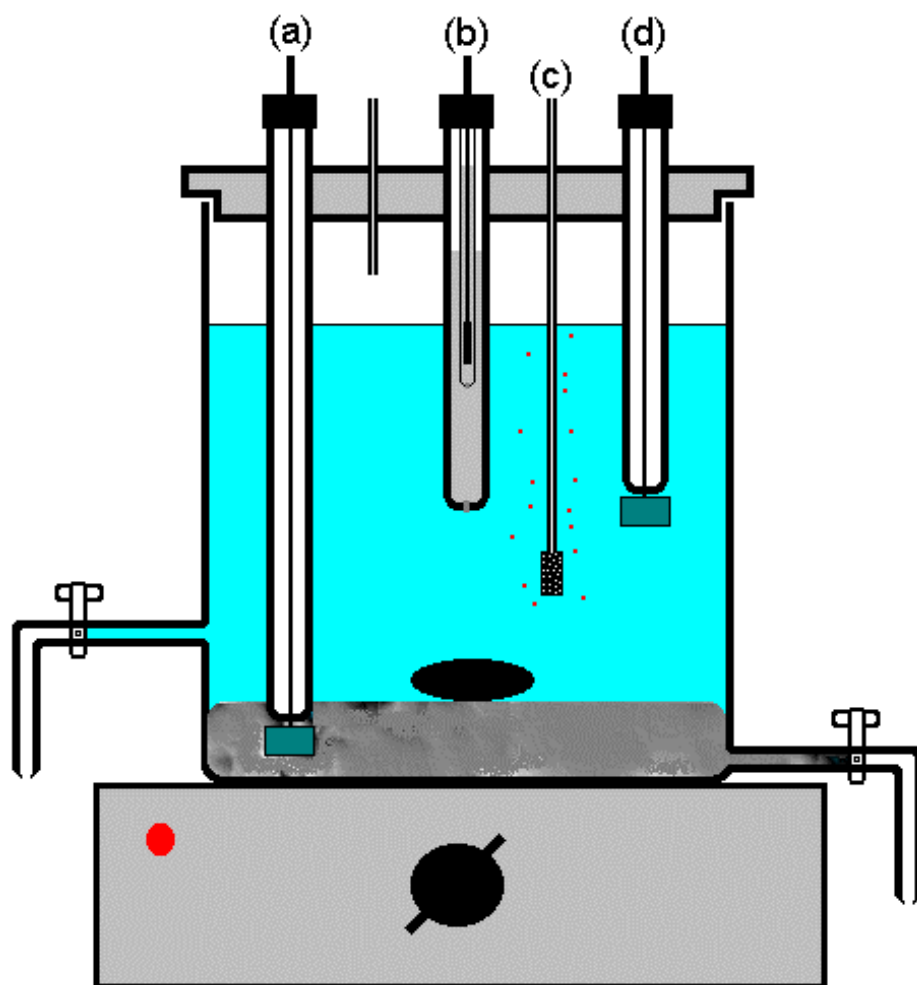
### 3.6. Purificação do eletrólito de suporte

Construiu-se uma cela eletroquímica, também chamada de cela de pré-eletrólise, que consiste de um recipiente de vidro com capacidade para 0,8 L, com uma tampa de acrílico com furos localizados para introdução dos eletrodos e entrada para nitrogênio na solução (Figura 11). O eletrodo de referência utilizado na cela eletroquímica é o de Ag/AgCl, separados da solução por uma ponte salina, prevenindo-se a contaminação da solução do eletrólito por íons eventualmente presentes na solução interna do eletrodo. O eletrodo auxiliar é um fio de platina, colocado diretamente na solução do eletrólito. O eletrodo de trabalho é um poço de mercúrio, purificado por lavagens sucessivas com solução de  $\text{HNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e, finalmente, com água deionizada.

O processo de purificação consiste em verter-se quantidade necessária do eletrólito a purificar dentro da cela; em seguida, ligam-se os eletrodos a um polarógrafo Radelkis, modelo OH102. Aplica-se uma diferença de potencial de -1,0 volt, e evolução de gás pode ser observada no eletrodo de platina (anodo). Os cátions são repelidos pelo anodo, dirigindo-se para o cátodo (poço de mercúrio) e formando a amálgama. Em seguida, a diferença de potencial é aumentada para -2,0 volts, de modo a assegurar que os íons Cd (II), Cu (II), Pb (II) e Zn (II) sejam removidos da solução do eletrólito. Períodos compreendidos entre um dia e duas semanas podem ser usados, diminuindo-se, conseqüentemente, o grau de contaminação do eletrólito com traços de metais e intensificando a pureza requerida; períodos de 7 a 10 dias são considerados mais adequados (WISE et al., 1985).

Para KISSINGERE e HEINEMAN (1984), o eletrólito estaria suficientemente purificado entre 48 e 72 horas. Para níveis de determinações extremamente baixos, vários dias seriam necessários, e isso depende da pureza dos reagentes usados.

Uma metodologia que também pode ser utilizada é aquela baseada em resina trocadora de ânion.



(a) eletrodo de platina para contato com o poço do mercúrio (b) eletrodo de referência de Ag/AgCl (c) entrada de nitrogênio (d) eletrodo auxiliar de platina

Figura 11- Cella eletrolítica para purificação de eletrólito de suporte.



É imprescindível que todas as conexões elétricas e a diferença de potencial sejam mantidas durante a limpeza da solução do eletrólito ou os metais amalgamados possam retornar à solução. Por essa razão, é importante que os dois eletrodos na camada aquosa mergulhados na solução estejam em profundidade suficientemente, tal que permaneçam submersos durante a ação de purificação da solução do eletrólito de suporte (KISSINGERE e HEINEMAN, 1984).

A solução do eletrólito pode ser removida em intervalos durante o procedimento de limpeza para se verificarem os níveis de contaminação metálica.

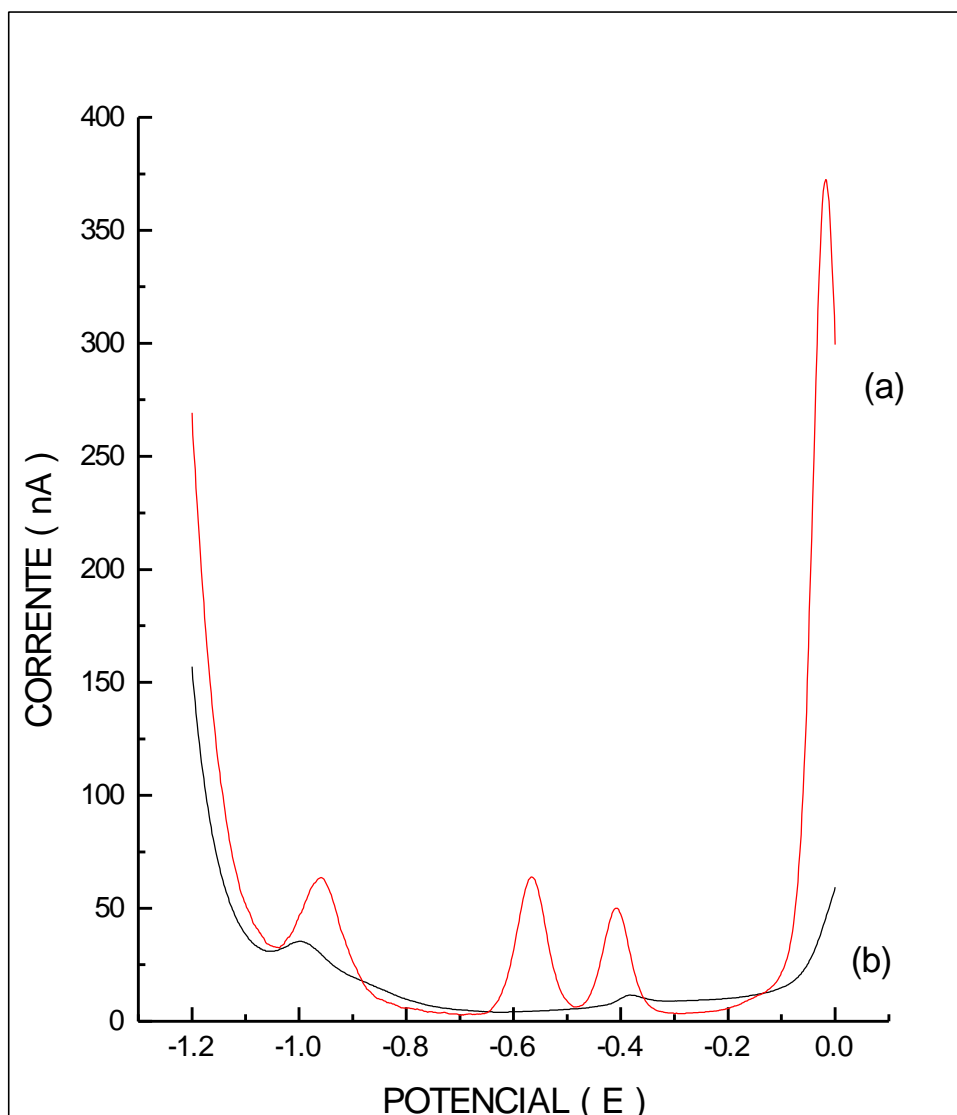


Figura 12 - Voltamogramas do eletrólito de suporte  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 4,50; pela técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial; faixa de potencial = -1,200 a 0,150 V; tempo de purga = 240 s; tempo de equilíbrio = 5 s; tempo de deposição = 60 s; amplitude de pulso = 20 mV; incremento de potencial de 2mV (a) antes do processo de purificação do eletrólito e (b) após a purificação eletrolítica por um período de 52 horas.

### 3. 7. Planejamento Experimental

Após a leitura dos voltamogramas individuais dos metais Pb (II), Cd (II) e Tl (I), verificou-se a sobreposição parcial dos picos voltamétricos (Figuras 28-29). Com base nas proporções em nível de volume utilizado no trabalho de REIS (1997), tomaram-se 16 ensaios representativos da mistura ternária dos três metais, distribuídos simetricamente num diagrama triangular (Figura 13). A mistura de volumes determinados dos três íons metálicos foi feita a partir da solução-estoque de  $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

No Quadro 1 mostram-se as proporções em volume de cada metal adicionado a partir de uma solução-estoque, seguido de suas concentrações em cada balão de 100 mL e de suas concentrações na cela voltamétrica após a adição de 200  $\mu\text{L}$  de cada solução a 5 mL de eletrólito de suporte.

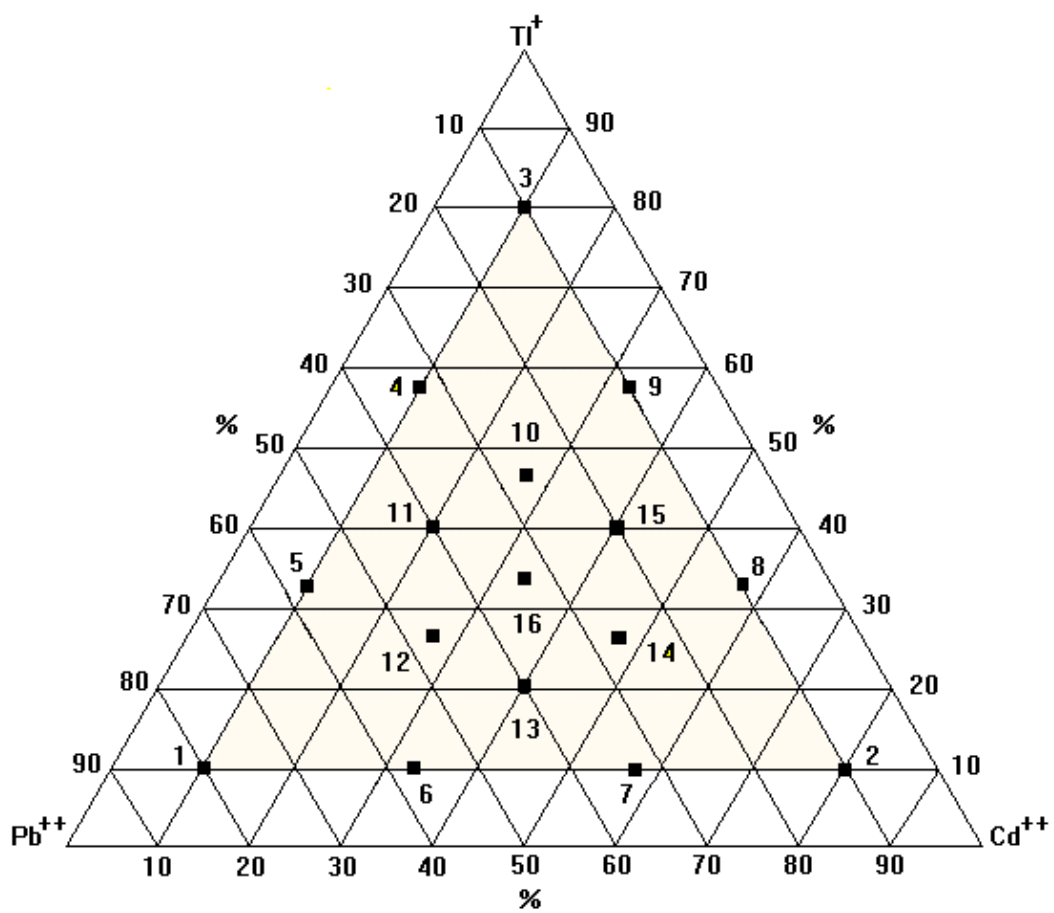


Figura 13 - Planejamento experimental para as misturas-padrão de Pb (II), Cd (II) e Tl (I).

Quadro 1 - Planejamento experimental para as misturas-padrão de Pb (II), Cd (II) e Tl (I)

Ensaio	Volume das soluções (mL)			Concentração dos metais ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		
	Pb (II)	Cd (II)	Tl (I)	Pb (II)	Cd (II)	Tl (I)
1	80,00	10,00	10,00	76,92	9,615	9,615
2	10,00	80,00	10,00	9,615	76,92	9,615
3	10,00	10,00	80,00	9,615	9,615	76,92
4	32,50	10,00	57,50	31,25	9,615	55,288
5	57,50	10,00	32,50	55,29	9,615	31,25
6	57,50	32,50	10,00	55,29	31,25	9,615
7	32,50	57,50	10,00	31,25	55,29	9,615
8	10,00	57,50	32,50	9,615	55,29	31,25
9	10,00	32,50	57,50	9,615	31,25	55,29
10	26,50	26,50	47,00	25,48	25,48	45,19
11	40,00	20,00	40,00	38,46	19,23	38,46
12	47,00	26,50	26,50	45,19	25,48	25,48
13	40,00	40,00	20,00	38,46	38,46	19,23
14	26,50	47,00	26,50	25,48	45,19	25,48
15	20,00	40,00	40,00	19,23	38,46	38,46
16	33,33	33,33	33,33	32,05	32,05	32,05

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Desenvolvimento do “software” para controle instrumental e aquisição de dados**

Um dos objetivos deste trabalho foi o interfaceamento entre polarógrafo com microcomputador, via interface serial padrão RS232C; para isso, desenvolveu-se um programa de gerenciamento e aquisição de dados do polarógrafo para o computador, na linguagem QuickBasic. Com essa implementação foi possível tornar mais rápidas e práticas as determinações analíticas de espécies eletroativas em amostras de água, sedimentos e solos. A diminuição no tempo de análise e a disponibilidade dos dados no microcomputador propiciaram o emprego da quimiometria para tratamento dos dados analíticos.

Foi possível constatar que, apesar do grande número de polarógrafos fabricados e equipados com microcomputadores dotados de tecnologias avançadas e sofisticados programas gerenciadores, é possível transformar, com simples implementações, aparelhos com tecnologia ultrapassada em aparelhos capazes de trabalhar com a mesma eficiência dos modelos mais atualizados.

Para o interfaceamento, inicialmente foi alterada a velocidade de comunicação da interface serial RS232C do polarógrafo de 1.200 bauds para

9.600 bauds, através de chaveamento interno do aparelho disponível na sua placa principal. O polarógrafo PAR, modelo 384B, apresenta uma porta de comunicação serial padrão RS232C bidirecional, que é empregada na transferência de informação a um “plotter” da Houston Instruments, modelo DMP-40. O mesmo cabo que liga o polarógrafo ao “plotter” foi empregado na conexão ao microcomputador. O cabo utilizado apresentou uma disposição padrão, conforme mostrado na Figura 3.

Para desenvolvimento do “software”, utilizaram-se os códigos constantes no Apêndice A. Cada parâmetro é relacionado a um caráter ASCII definido pelo fabricante, o qual é passado via comunicação serial, no formato hexadecimal, do microcomputador para o polarógrafo.

O programa utilizado consistia de um núcleo principal e um conjunto de 24 sub-rotinas, que executava as diversas funções previamente definidas, como tempo de desoxigenação do eletrólito de suporte e da solução em análise, faixa de potencial explorada, técnica voltamétrica, tempo de deposição etc. Cada sub-rotina exibia telas explicativas e demonstrativas, formando um conjunto simples e prático para se trabalhar.

As várias etapas no funcionamento do programa estabelecidas pelo fluxograma mostrado na Figura 14 são:

- ⇒ **Inicializar programa** - O programa é acionado, solicitando-se o diretório de trabalho (Figura 15).
- ⇒ **Menu principal** - Nesta tela existem vários comandos, em que a escolha em acioná-los depende da ordem da análise em questão, podendo-se retornar a ela a qualquer momento (Figura 16).
- ⇒ **Parâmetros** - Este comando é acionado dentro do menu principal alterando as funções: tempo de desoxigenação, de equilíbrio, de deposição e de condicionamento; e potenciais inicial e final de varredura, de condicionamento, de amplitude do pulso e de incremento (Figura 17). Após a alteração desses parâmetros, retorna-se ao menu principal.

- ⇒ **“Override”** - Este comando raramente é utilizado no decorrer de uma análise, uma vez que devem ter suas condições definidas previamente (Figura 18).
- ⇒ **Escolha do analito** - Selecionam-se nesta etapa o branco, a amostra e o número de padrões a serem utilizados (Figura 19).
- ⇒ **Obter voltamograma** - Nesta etapa, todas as operações são passadas ao microprocessador do polarógrafo, ficando o microcomputador em “stand-by” até o final da operação, quando o polarógrafo informará ao microcomputador o final do processo. Após essa etapa, transmitirá via comunicação serial os dados potencial/corrente, que são armazenados na memória do microcomputador. Ainda nesta etapa, após a visualização dos voltamogramas, pode-se optar pela gravação dos dados adquiridos (Figura 20).



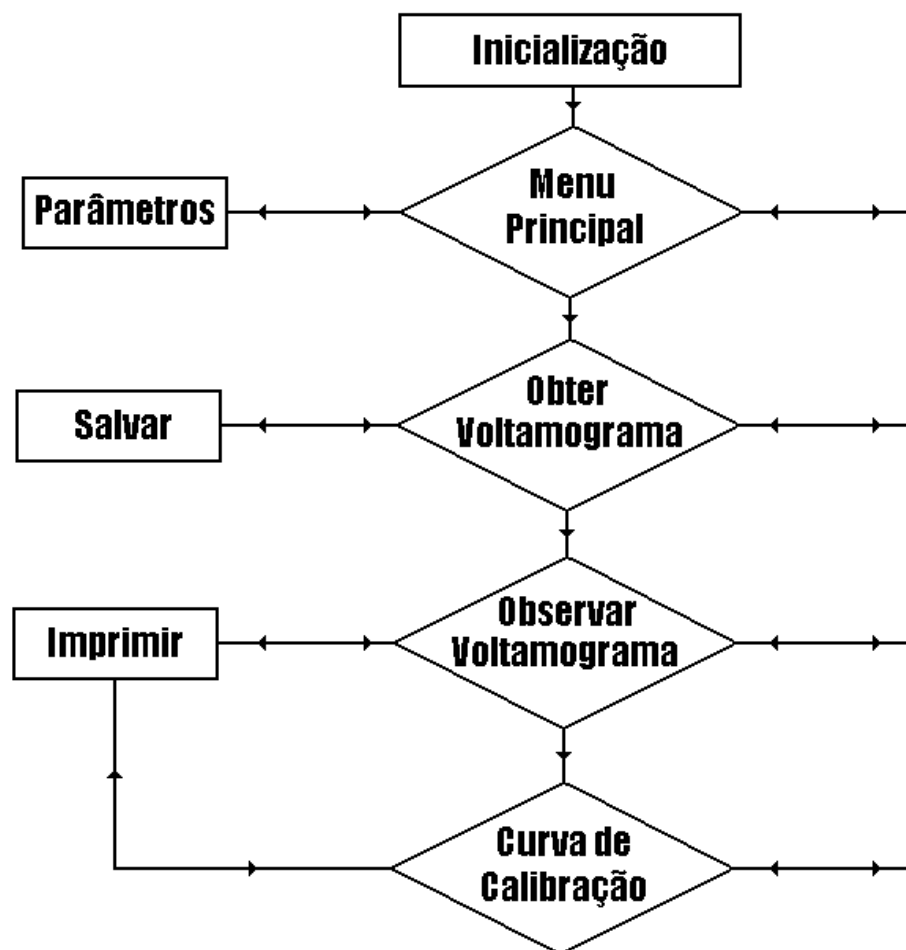


Figura 14 - Fluxograma básico do programa de aquisição de dados e gerenciamento instrumental.



Figura 15 - Inicialização na qual se define o diretório de trabalho.

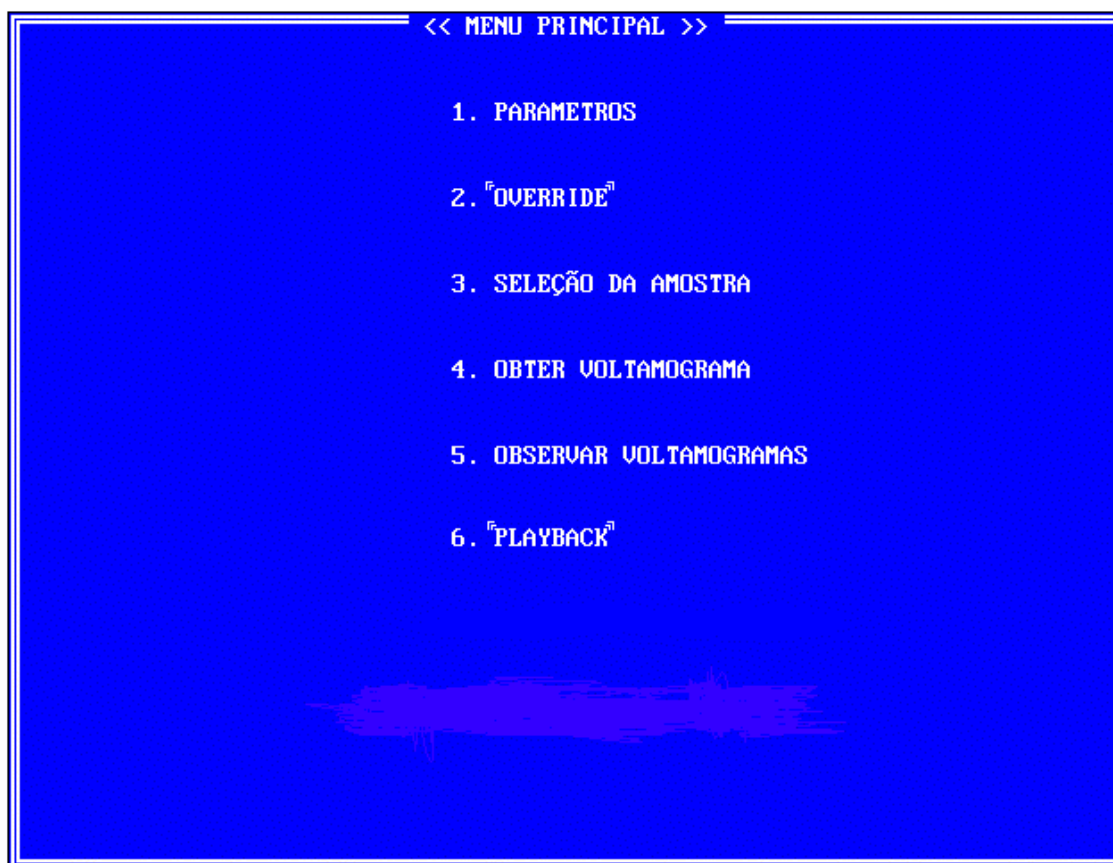


Figura 16 - Menu principal do programa gerenciador.

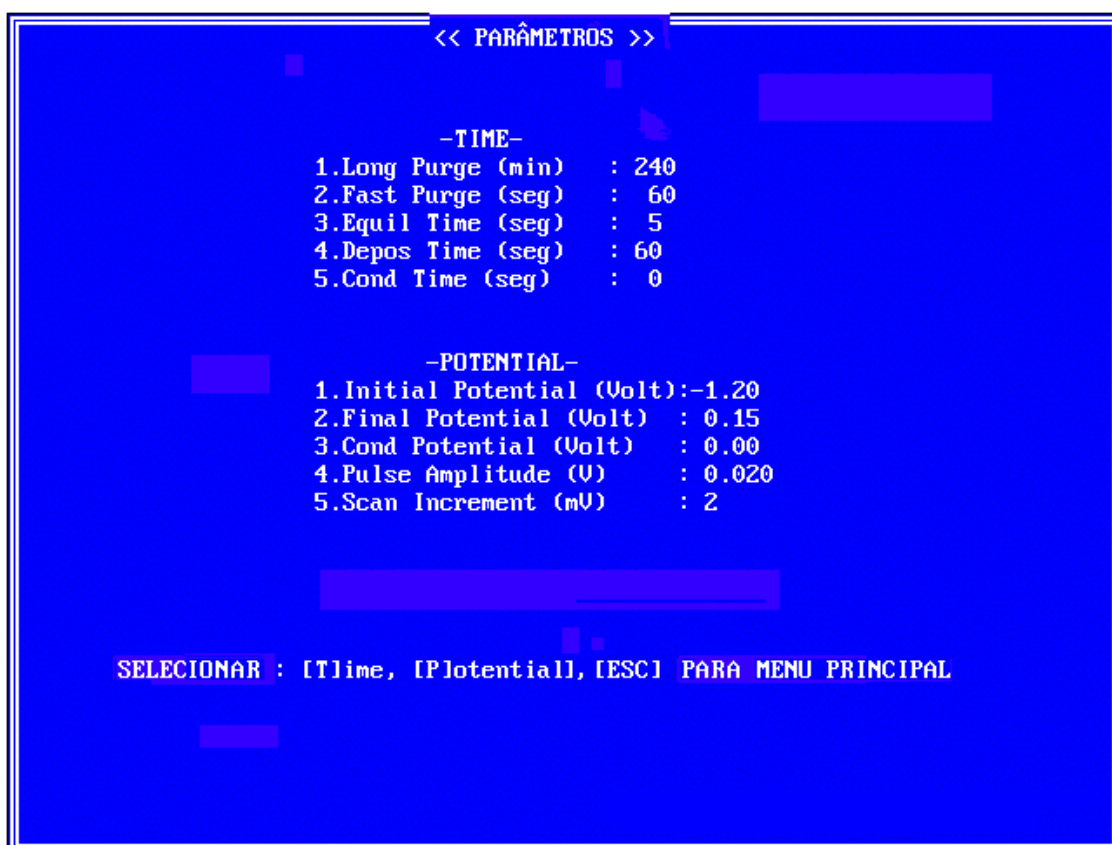


Figura 17 - Definições de parâmetros experimentais.

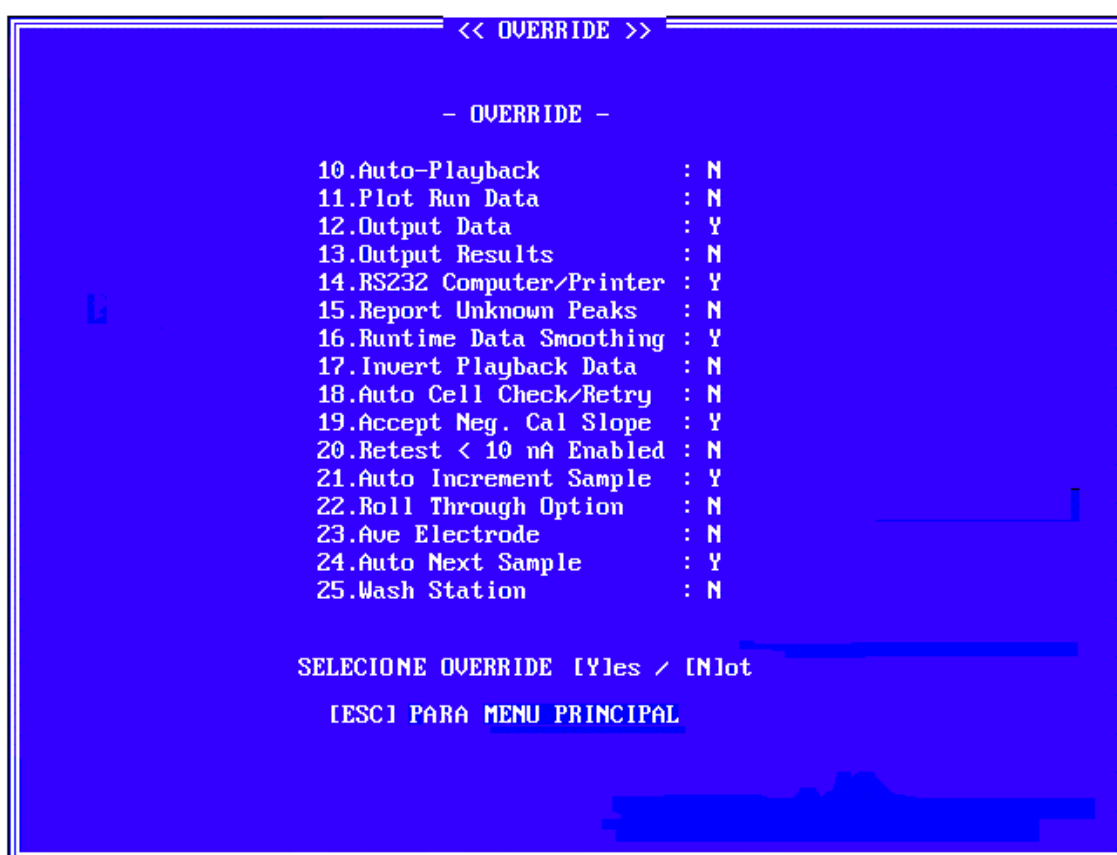


Figura 18 - Escolha de parâmetros internos e de comunicação.



Figura 19 - Seleção de varredura de branco, amostra ou padrões.

⇒ **Salvar** - Esta opção armazena toda informação adquirida no formato ASCII, que pode, posteriormente, ser processada em vários programas comerciais como Excel, Origin, MatLab etc.

⇒ **Observar voltamograma** - Após a gravação, qualquer voltamograma, ou um conjunto deles, pode ser visualizado, modificando-se as escalas de corrente e, ou, potenciais, para melhor observação; pode-se retornar ao voltamograma original. Nessa etapa podem ser selecionadas regiões de potencial para construção de curvas de calibração. Todos os valores de corrente ao longo de cada pico e seus potenciais são visualizados, utilizando-se um cursor gráfico (Figuras 20, 21 e 22).

⇒ **Curva de calibração** - Uma função linear é ajustada para um conjunto de dados, a qual é apresentada juntamente com alguns parâmetros estatísticos (Figura 23).

No Apêndice B é apresentada a parte essencial do programa em linguagem QuickBasic, responsável pelo gerenciamento instrumental e pela aquisição de dados.

<< ARQUIVOS >>					
No.	NOME	CONCENTRAÇÃO		TÉCNICA	DATA
1	BRANCO4.5	0.2	M/L	DPS	06-10-1997
2	BRPH45	0.2	M/L	DPS	06-10-1997
3	AM1A	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
4	AM1B	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
5	AM1C	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
6	AM2A	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
7	AM2B	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
8	AM2C	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
9	AM3A	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
10	AM3B	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
11	AM3C	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
12	AM4A	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
13	AM4B	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
14	AM4C	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
15	AM5A	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
16	AM5B	2.5	PM	DPS	06-10-1997
17	AM5C	2.5	PPM	DPS	06-10-1997
18	BRANCO45	0.2	M/L	DPS	07-10-1997
19	AM6A	2.5	PPM	DPS	07-10-1997
20	AM6B	2.5	PPM	DPS	07-10-1997

SELEC: [PgDn] [PgUp] [↑] [↓] [Enter] [S]elec. pag. [C]orreção [A]rq. [Esc] final de selec. [V]olt. média [M]enu	No. Arquivos selec: 0 PAG 1
---	--------------------------------

Figura 20 - Seleção de voltamogramas para processamento.



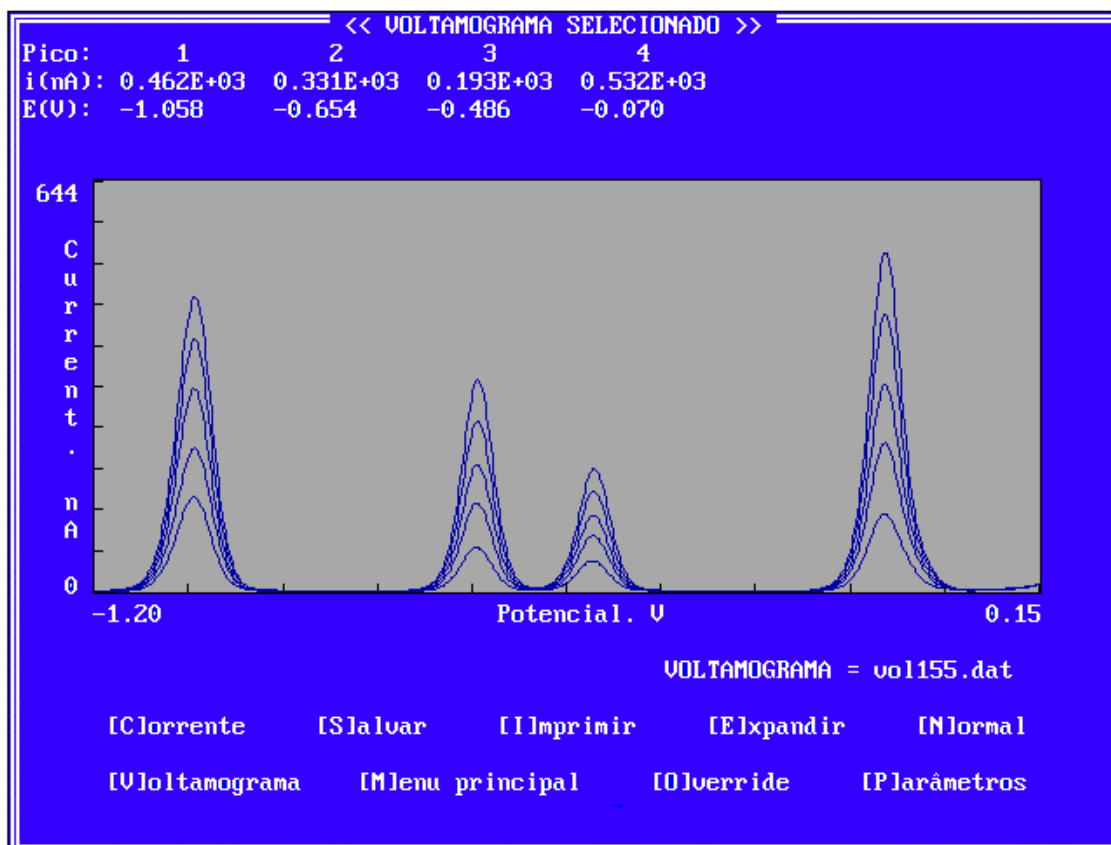


Figura 21 - Voltamogramas selecionados, mostrados em sobreposição.

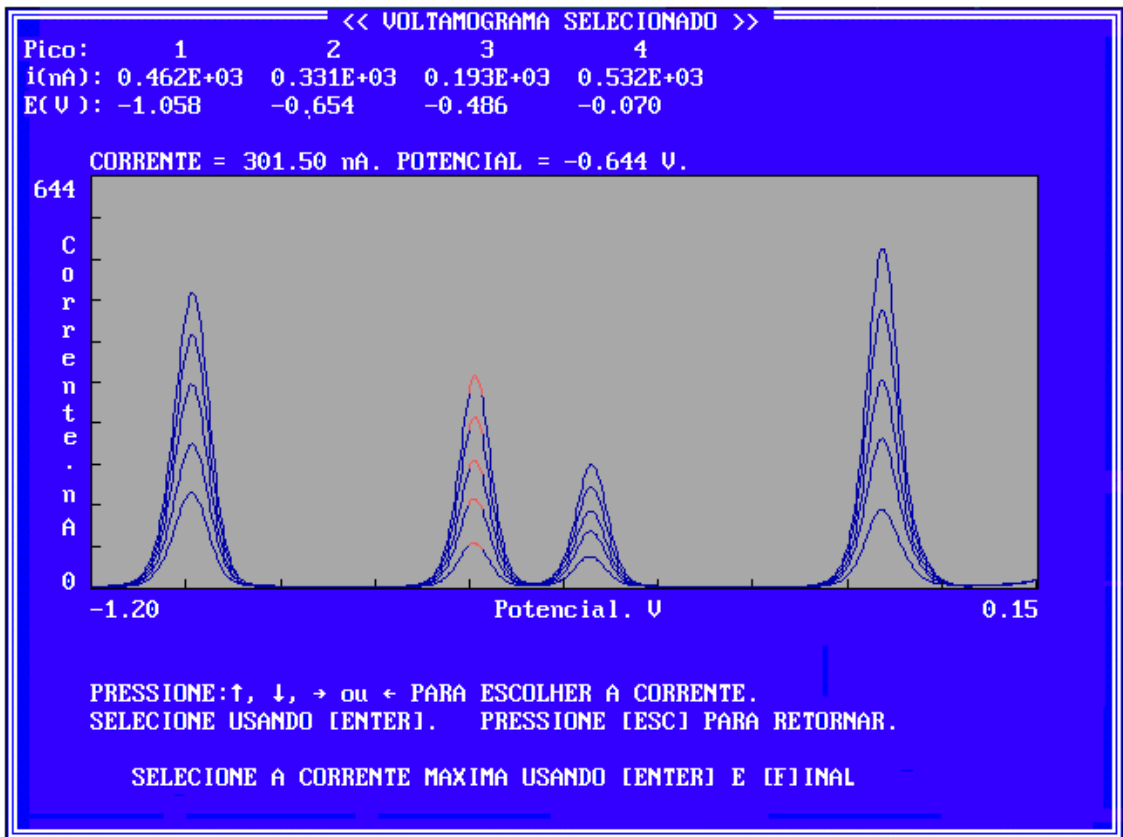


Figura 22 - Seleção de faixa de potencial para obtenção da curva de calibração com as respectivas correntes e concentrações.

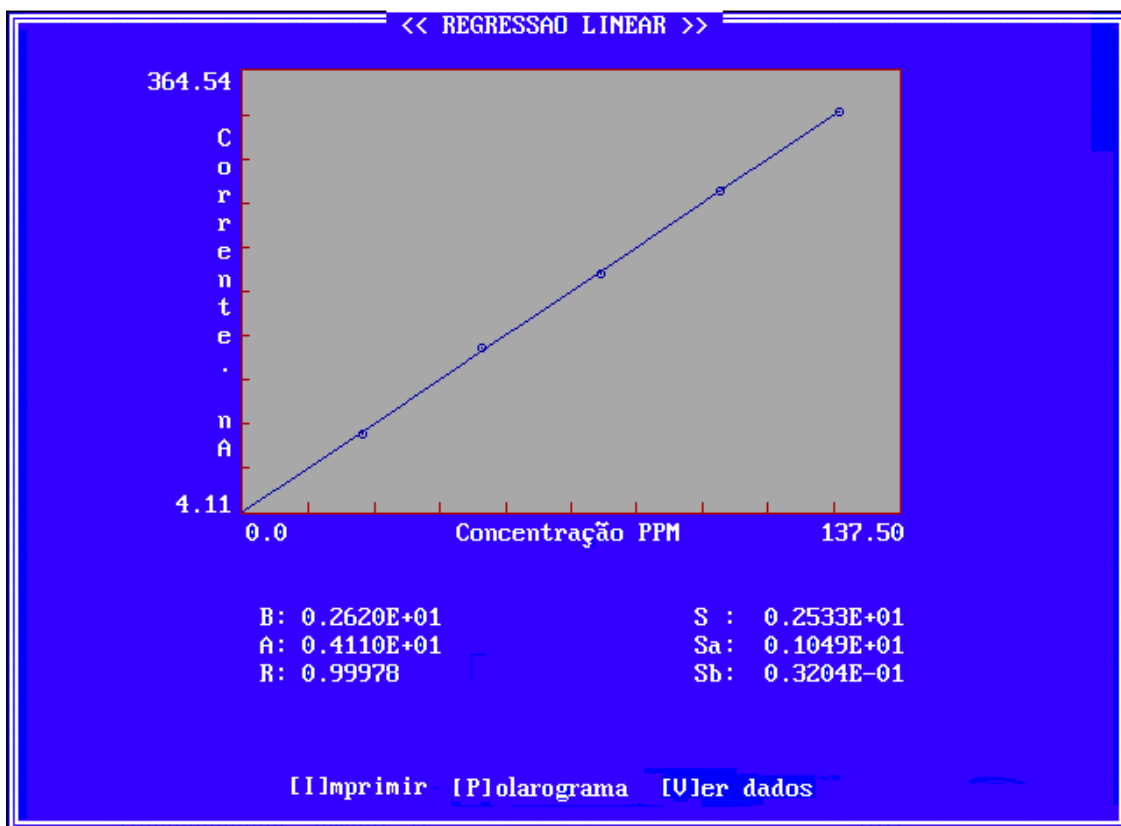


Figura 23 - Curva de calibração obtida após a seleção de correntes.

#### **4.2. Determinação da concentração de Pb (II), Cd (II), Zn (II) e Cu (II) em sedimentos**

Com o objetivo de testar o sistema desenvolvido, escolheu-se a técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial, devido à melhor sensibilidade por ela apresentada, uma vez que os metais presentes nas amostras de sedimento certificado estão em baixa concentração. Foram feitos testes preliminares para escolha do eletrólito de suporte, experimentando-se citrato de amônio e acetato de sódio, com a observação de que o segundo, tal como já demonstrado por NICOLA (1992), proporcionou melhor repetibilidade nas medidas. A escolha dessas duas substâncias como possíveis eletrólitos de suporte se devem ao fato de elas possibilitarem uma separação conveniente dos picos dos metais em estudo, evitando-se eventuais interferências.

Foram feitas determinações analíticas desses metais, no sedimento certificado por espectrofotometria de absorção atômica (EAA) (Quadro 2) e por polarografia (Quadro 3). A concentração de referência para cada metal presente no sedimento certificado do “National Institute of Standards & Technology” (N I S T) é mostrada no Quadro 4.

No Quadro 2 constam os resultados das determinações feitas em espectrofotômetro de absorção atômica dos elementos Zn (II), Cd (II), Pb (II) e Cu (II), com os valores expressos em  $\mu\text{g g}^{-1}$ . O valor obtido para cada sub-amostra é a média de três determinações. Comparando os Quadros 2 e 3, pode-se observar que os resultados estão dentro dos limites considerados no quadro de referência (Quadro 4). Com exceção do cádmio, cujos resultados obtidos por voltametria e absorção atômica foram concordantes, mas discordantes em relação ao valor certificado, os resultados parecem mostrar que tal discordância se origina na abertura das amostras, o que, enfim, não invalida a metodologia voltamétrica proposta.

As curvas representadas nas Figuras 24, 25, 26 e 27 mostram as determinações por adição-padrão, em uma das análises feitas em triplicata para cada íon.

Quadro 2 - Concentrações expressas em  $\mu\text{g g}^{-1}$  de Zn, Cd, Pb e Cu em amostra-padrão de sedimento do rio Buffalo, obtidas por espectrofotometria de absorção atômica

Subamostra	Zn(II)	Cd(II)	Pb(II)	Cu(II)
	$\mu\text{g g}^{-1}$			
1	399,76	13,714	135,55	88,809
3	434,62	10,809	128,85	91,678
4	451,52	17,351	157,69	96,051
Valor médio	428,22	13,899	140,70	91,93
Desvio-padrão	26,39	3,28	15,09	3,65

A comparação de médias entre aquela obtida por absorção atômica e descrita em material certificado não difere em nível de 95% de confiança, com exceção das médias feitas para cádmio.

No Quadro 3 constam os resultados das análises do polarógrafo, utilizando-se a técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial (DPSAV), para os elementos Zn (II), Cd (II), Pb (II) e Cu (II), com os valores expressos em  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Nesse caso, também cada subamostra é a média de três determinações voltamétricas.

Quadro 3 - Valores, expressos em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , obtidos em amostra-padrão de sedimento de rio, analisados por voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial

Subamostra	Zn(II)	Cd(II)	Pb(II)	Cu(II)
	$\mu\text{g g}^{-1}$			
1	429,67	11,51	126,56	92,21
2	440,38	12,84	156,95	99,08
3	441,60	14,13	158,27	87,95
Valor médio	437,22	12,83	147,26	93,08
Desvio-padrão	6,56	1,31	17,94	5,62

A comparação de médias entre aquela obtida na DPSAV e a do certificado não difere em nível de 95% confiança, com exceção das médias feitas para cádmio.

No Quadro 4 constam os resultados de referência originários da amostra-padrão de sedimento do “National Institute of Standards & Technology” (NIST). Esse material é originário de sedimento do rio Buffalo, coletado numa área próxima à ponte da Rua Ohio, na Cidade de Buffalo, no Estado norte-americano de New York. Os valores certificados de análises dos metais em estudo, Zn (II), Cd (II), Pb (II) e Cu (II), são expressos em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

Os resultados adversos obtidos para cádmio (II), diante dos valores de referência, provavelmente se devam ao diferente procedimento de abertura.

Quadro 4 - Valores de referência expressos em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , para a amostra-padrão de sedimento do rio Buffalo certificados pelo NIST

Zn (II)	Cd (II)	Pb (II)	Cu (II)
438 ± 12,0	3,45 ± 0,22	161 ± 17,0	98,6 ± 5,0

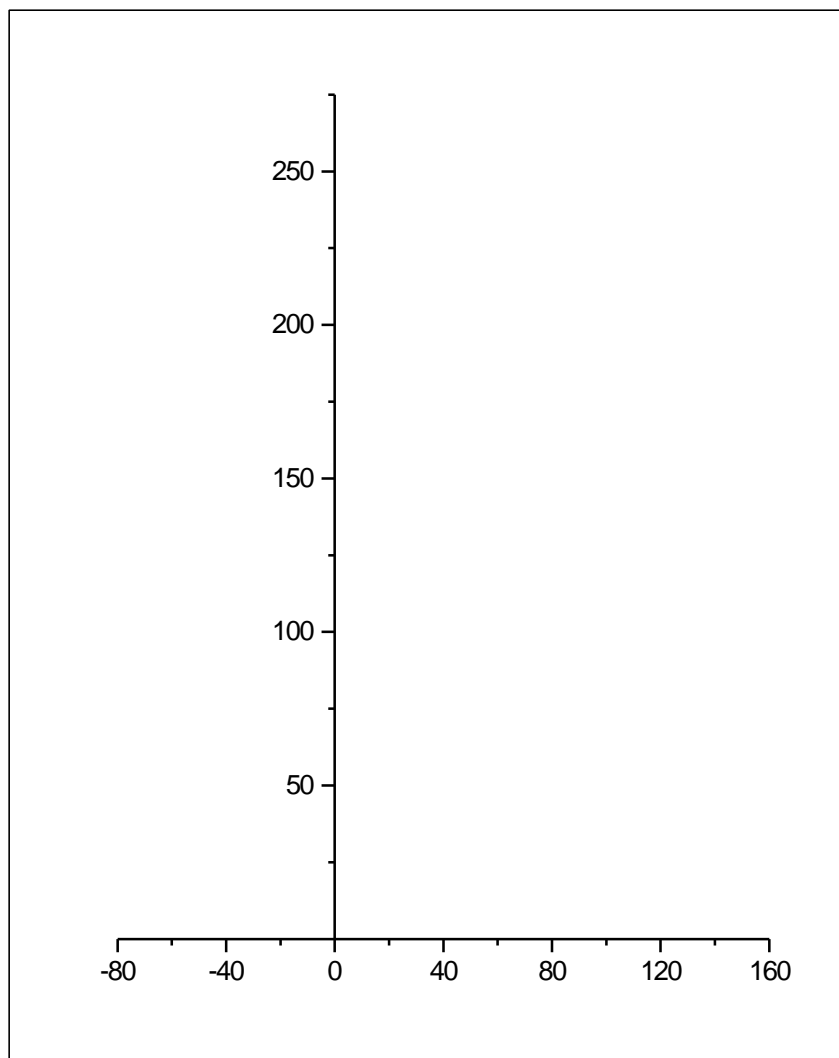


Figura 24 - Curva de calibração obtida por adição-padrão para Cd (II).

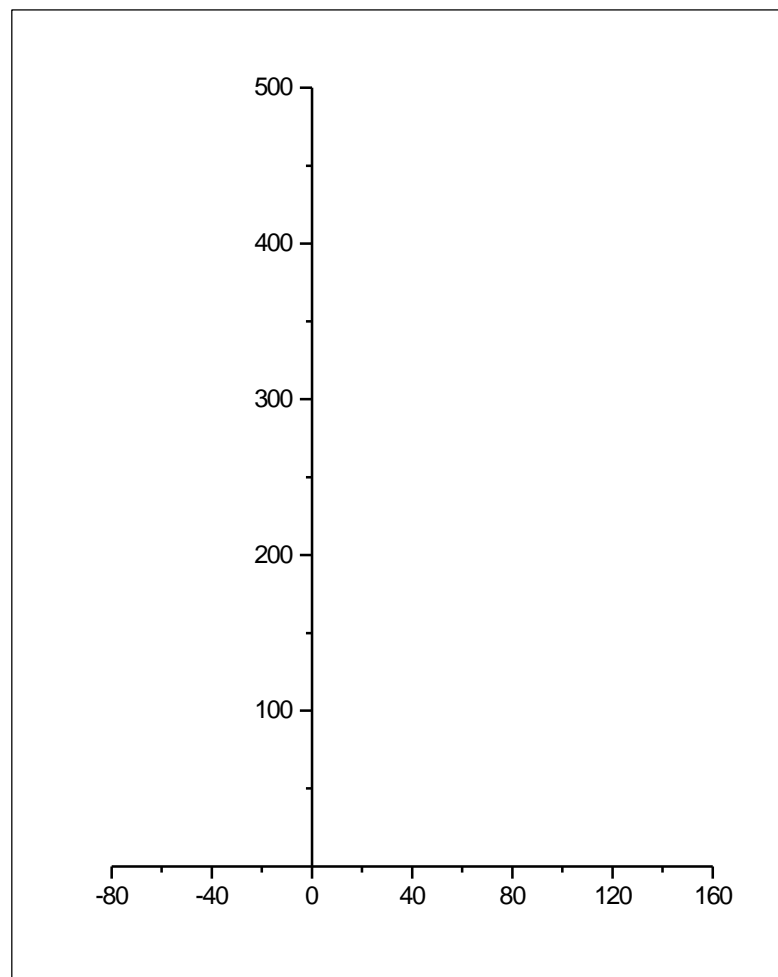


Figura 25 - Curva de calibração obtida por adição-padrão para Cu (II).



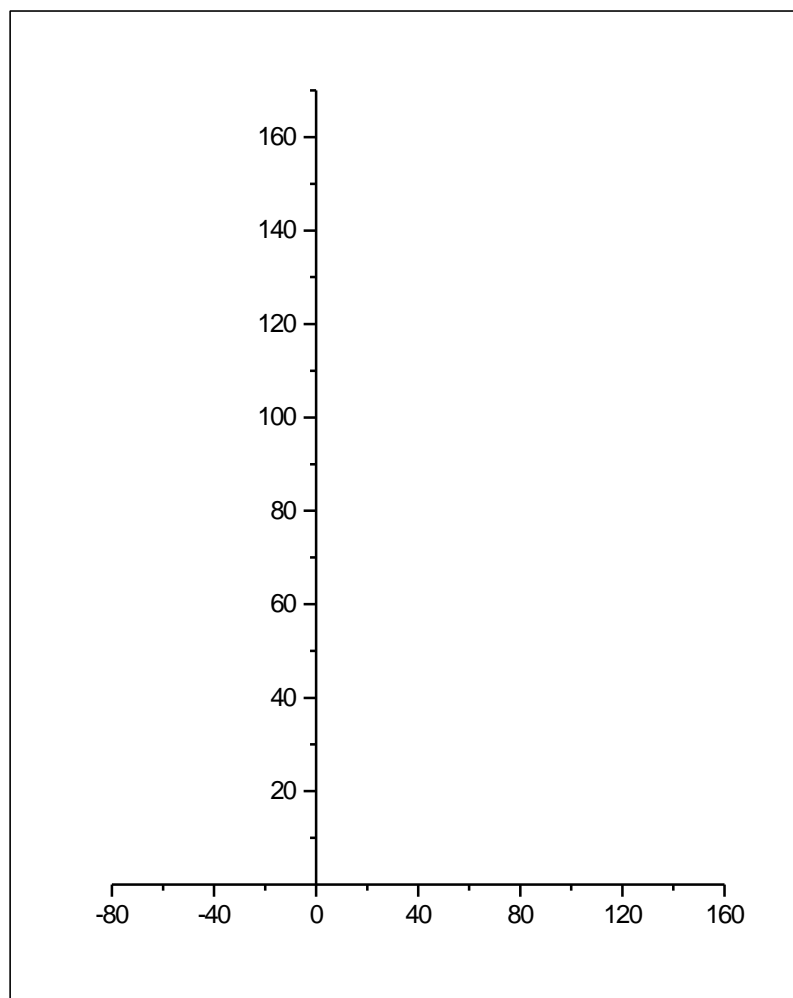


Figura 26 - Curva de calibração obtida por adição-padrão para Pb (II).

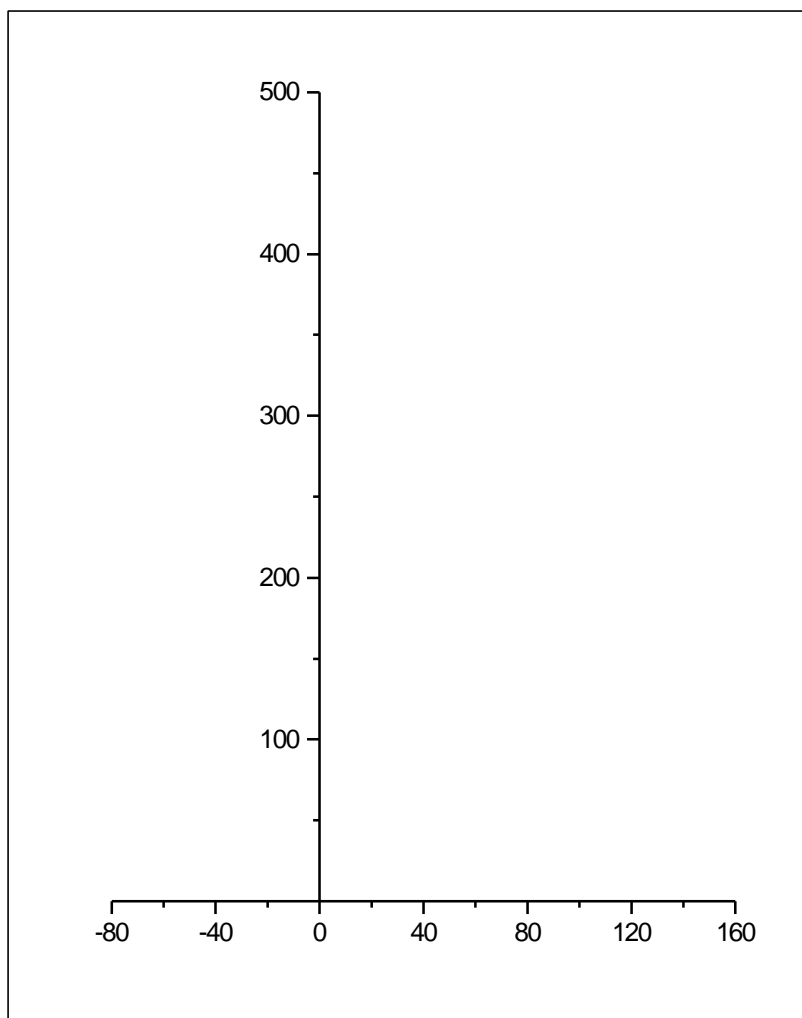


Figura 27 - Curva de calibração obtida por adição-padrão para Zn (II).

### 4.3. Planejamento experimental para Cd (II), Pb (II) e TI (I)

O objetivo de se fazer um planejamento experimental é conseguir o máximo de informações úteis a partir de poucos experimentos, fazendo combinações pré-selecionadas dos componentes em misturas, tais que o modelo estimado explique o comportamento do sistema quando os valores das variáveis são alterados. Isso proporciona economia de tempo e de reagentes, produzindo resultados mais satisfatórios.

Inicialmente, foi feito um planejamento experimental para quantificação das três espécies, mediante o uso de 16 ensaios com proporções diferentes para os três metais, distribuídas simetricamente num diagrama triangular, formando o conjunto de treinamento, conforme mostrado na Figura 12 (CAHN e COMPTON,1988). O mesmo conjunto foi utilizado como teste, trabalhando-se com “cross-validation”, que consiste em obter o modelo de calibração multivariada, mediante a retirada, para cada modelagem, de um ensaio e o teste de correlação para esse ensaio. Observou-se que a utilização de apenas 13 amostras que formam o núcleo do planejamento, sem as três que compõem os vértices do triângulo, leva a resultados com melhor correlação entre os valores reais e estimados. Isso talvez ocorra devido a uma distribuição mais homogênea das misturas-padrão no diagrama experimental, reduzindo-se o erro atribuído ao planejamento experimental.

REIS (1997), que trabalhou com a mesma mistura de metais, utilizando planejamentos contendo 16 e 13 misturas-padrão, à semelhança do planejamento aqui proposto, observou que a segunda opção leva a um modelo mais representativo das misturas reais.

#### 4. 4. Determinação simultânea de Cd (II), Pb (II) e Tl (I)

Observando as Figuras 28 e 29, verifica-se a sobreposição das ondas voltamétricas dos íons dos metais em estudo, em eletrólito de suporte  $\text{CH}_3\text{COONa}/\text{CH}_3\text{COOH}$   $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 4,5, na faixa de potencial de -1,200 a 0,0 volt vs Ag/AgCl (Figura 28). A expansão da escala na faixa de -0,750 a -0,300 volt (Figura 29) permitiu melhor visualização da sobreposição das ondas voltamétricas individuais de cada íon. Cada metal foi proveniente de solução-estoque de  $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

Em uma amostra contendo esses três íons metálicos, torna-se impossível a perfeita separação dos picos voltamétricos, ou em outras palavras, usando metodologia convencional sem mascaramento de um dos três íons, haverá interferência na determinação dos componentes individuais. A maioria dos trabalhos até hoje conduzidos se refere à sobreposição das ondas de tálio e chumbo (NEVADO e FLORES, 1992.; e SCOLARI, 1984). Recentemente, CISZEWSK et al. (1997), utilizando a técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial, determinaram tálio em cabelo de pessoas em constante contato com chumbo em ambiente ocupacional. Esse trabalho demonstrou a real importância, em medicina ocupacional e toxicológica, da determinação desses dois metais quando em mistura. A Figura 29 mostra, com clareza, que a sobreposição fica mais acentuada para o par chumbo e tálio, com potencial de pico de -0,430 volt para o chumbo e -0,454 para o tálio. Já o cádmio apresentou potencial de pico de -0,600 volt, não se sobrepondo à onda do chumbo, mas sofrendo a sobreposição da onda do tálio, que é mais larga. Tais observações levaram à necessidade de se aplicar a análise multivariada para determinação quantitativa dos três íons quando em misturas.

No trabalho desenvolvido por REIS (1997), observaram-se os potenciais de pico de -0,62; -0,45 e -0,57 volt para cádmio, chumbo e tálio, respectivamente, contra eletrodo de referência de Ag/AgCl, ocorrendo, portanto, sobreposição dos três íons de uma forma mais acentuada. Isso se deveu à pequena resolução do polarógrafo desenvolvido, já que naquele

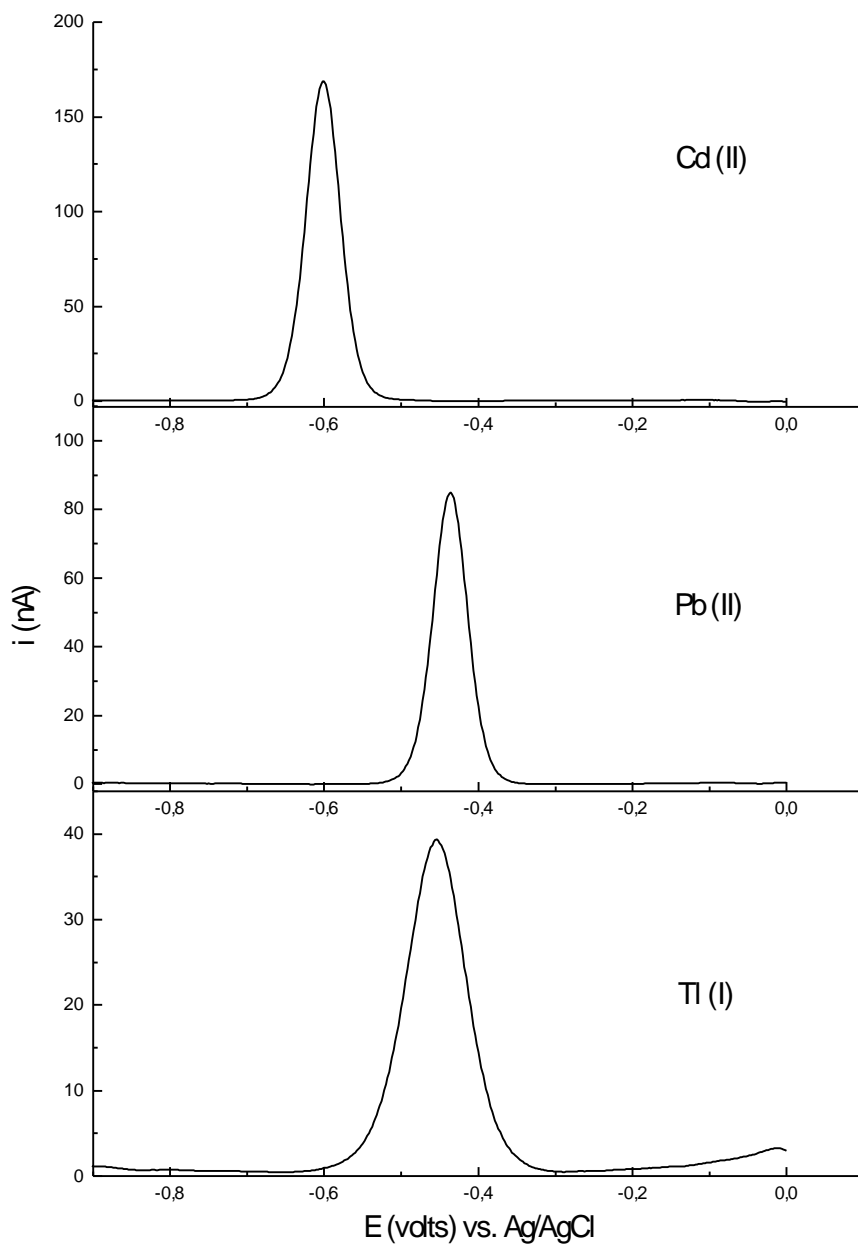


Figura 28 - Voltamogramas dos íons Cd (II), Tl (I) e Pb (II) na concentração de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , em eletrólito de suporte  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 4,5, pela técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial; faixa de potencial de -0,900 a -0,300 V; tempo de purga = 240 s; tempo de equilíbrio = 5 s; tempo de deposição = 60 s; amplitude de pulso = 20 mV; e incremento de potencial = 2 mV.

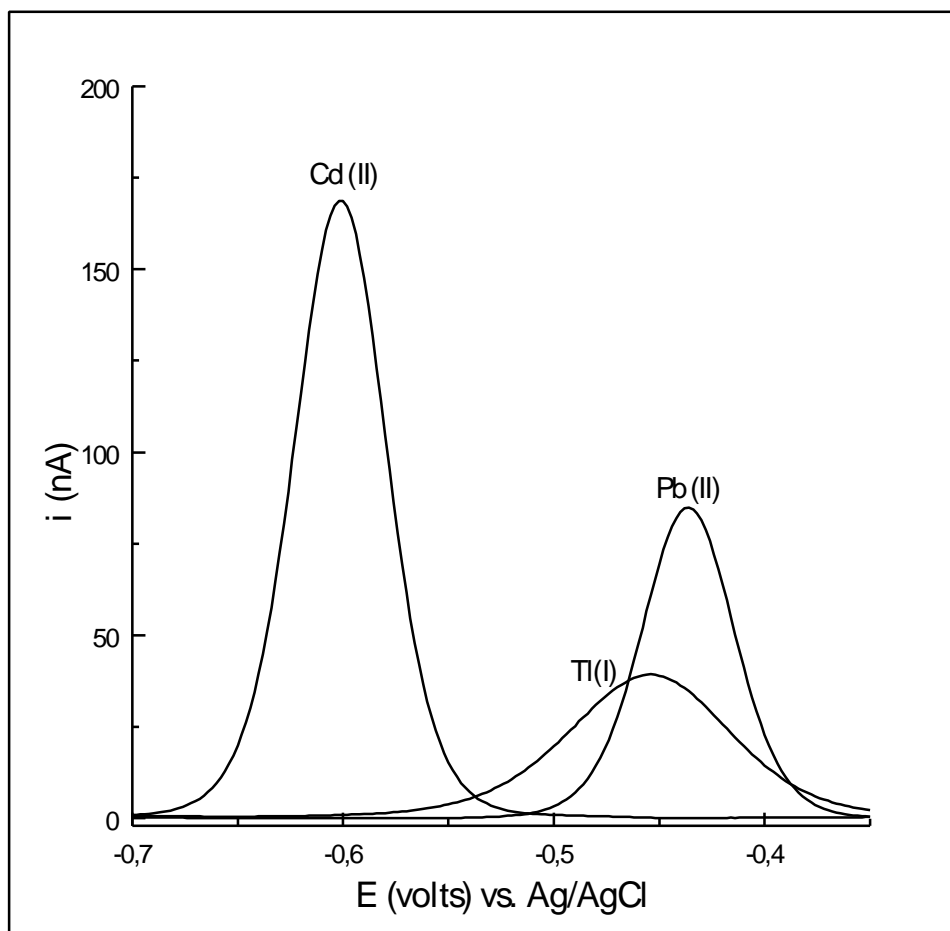


Figura 29 - Voltamogramas sobrepostos dos íons Cd (II), Tl (I) e Pb (II) na concentração de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , em eletrólito de suporte  $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 4,5, pela técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial; faixa de potencial de -0,700 a -0,300 V; tempo de purga = 240 s; tempo de equilíbrio = 5 s; tempo de deposição = 60 s; amplitude de pulso = 20 mV; incremento de potencial = 2 mV.

caso o importante era a rapidez de leitura dos analitos numa linha de fluxo. NEVADO e FLORES (1992), trabalhando com metodologia baseada em derivação dos voltamogramas obtidos por técnicas de pulso, verificaram que misturas de chumbo e tálio, apresentando potenciais de picos em -0,397 e -0,453 volt, respectivamente, podem ser resolvidas, obtendo-se resultados coerentes com a certificação.

#### **4.5. Aplicação de calibração multivariada (PLS)**

Os dados para calibração multivariada baseada no PLS são também baseados na média de três varreduras de cada uma das 16 misturas com diferentes proporções, nas concentrações para cada metal, de acordo com o planejamento experimental. Esses dados podem ser visualizados nas Figuras 30 a 34, cada uma delas é demonstrativa da determinação em valores de pH iguais a 4,00; 4,25; 4,50; 4,75; e 5,00, respectivamente, sendo o eletrólito de suporte sempre constituído de solução-tampão de  $\text{CH}_3\text{COONa}/\text{CH}_3\text{COOH}$  ( $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ) e preparado originalmente com pH igual a 4,50. Os valores de pH acima ou abaixo de 4,50 foram obtidos por adição de pequeno volume de alíquotas de solução de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glacial ou solução de  $\text{NaOH}$   $2 \text{ mol L}^{-1}$ . O objetivo foi, também, encontrar um valor de acidez para este eletrólito de suporte em que ocorresse o mínimo de sobreposição entre as ondas, com valor máximo de corrente. O problema da sobreposição de sinais na escala de potencial pode ser minimizado, por exemplo, pela alteração do pH ou pela mudança do eletrólito (HERION et al., 1990). LABUDA e VANICKOVÁ (1988) utilizaram perclorato de sódio como eletrólito de suporte para mistura cádmio, chumbo e tálio e acetato de sódio/brometo de potássio/ HCl para índio, na mesma mistura, usando sempre voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial. Para CISZEWSKI e LUKASZEWSKI (1983), a possibilidade de determinação voltamétrica do tálio em presença de alta concentração de chumbo necessitou de uma complexação seletiva de um deles, sem aplicação do PLS. Esses autores, porém, utilizaram a mesma técnica voltamétrica. Devido à baixa resolução do aparelho desenvolvido.

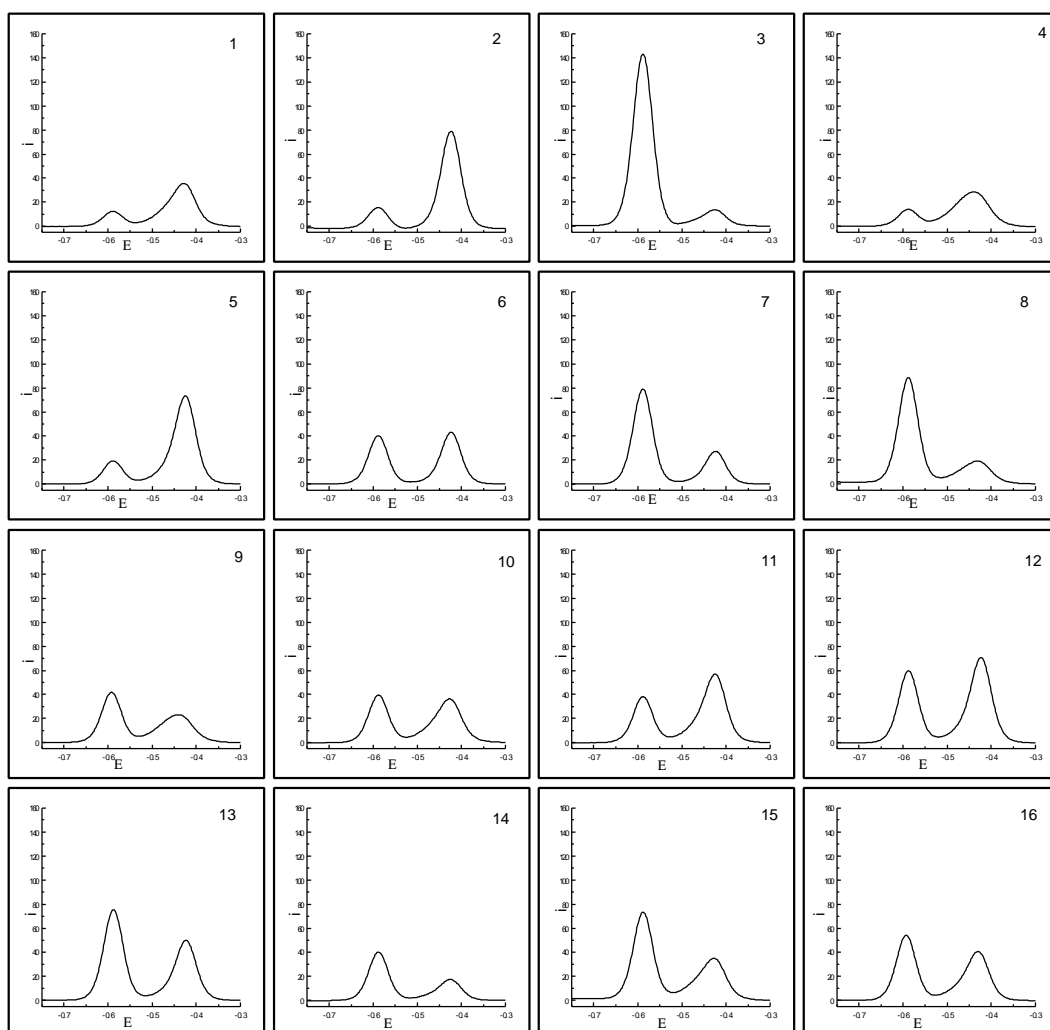


Figura 30 - Voltamogramas das misturas-padrão Cd (II), Tl (I) e Pb (II), de acordo com o planejamento experimental da Figura 12, emeletrólito de suporte  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 4,00, pela técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial; I = corrente em nA; E = potencial em volts; faixa de potencial = -0,750 a - 0,300 V; tempo de purga = 240 s; tempo de equilíbrio= 5 s; tempo de deposição = 60 s; amplitude de pulso = 20 mV; e incremento de potencial = 2 mV.



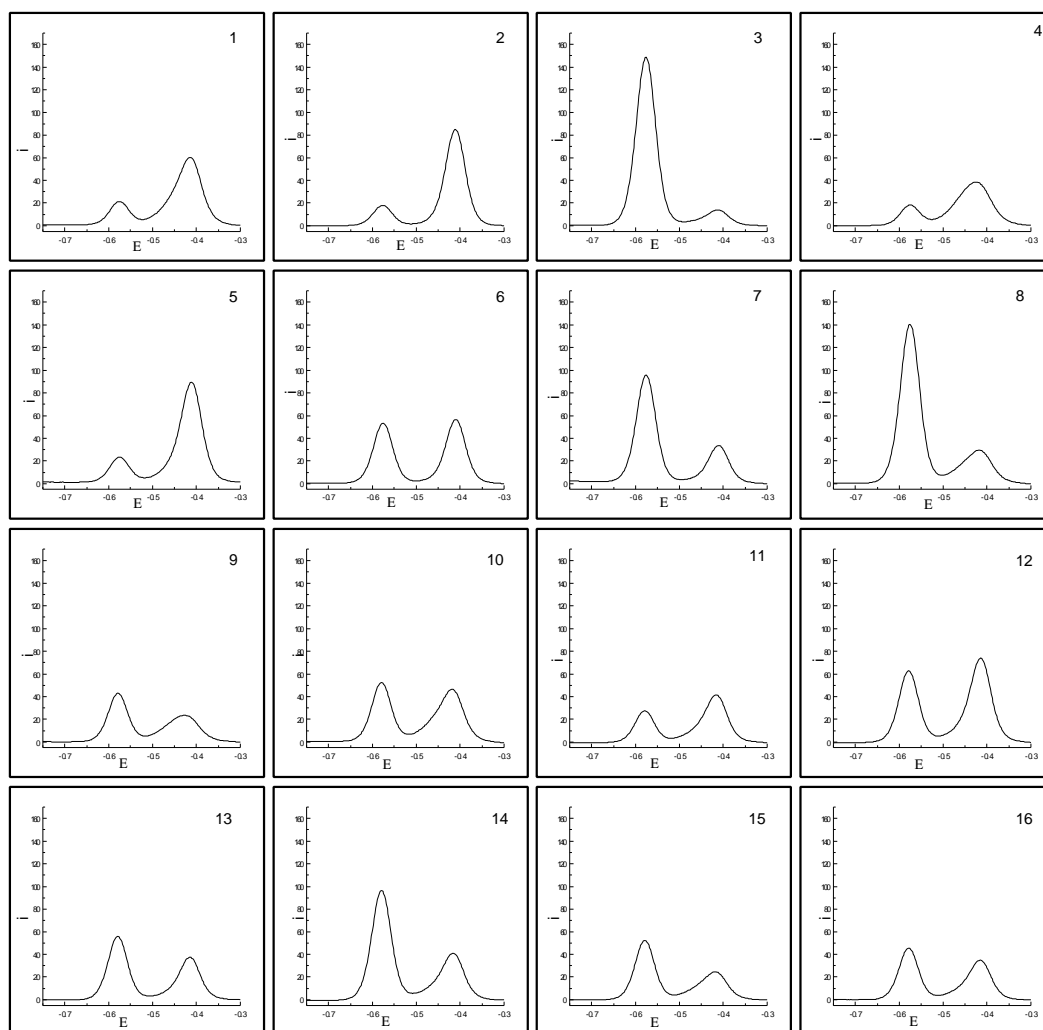


Figura 31 - Voltamogramas das misturas-padrão Cd (II), Tl (I) e Pb (II), de acordo com o planejamento experimental da Figura 12, em com o planejamento experimental da Figura 12, em eletrólito desuporte  $\text{CH}_3\text{COO}/\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 4,25, pela técnica de voltmetria de redissolução anódica com pulso diferencial: I = corrente em nA; E = potencial em volts; faixa de potencial = -0,750 a -0,300 V; tempo de purga = 240 s; tempo de equilíbrio = 5 s; tempo de deposição = 60 s; amplitude de pulso = 20 mV; e incremento de potencial = 2 mV.

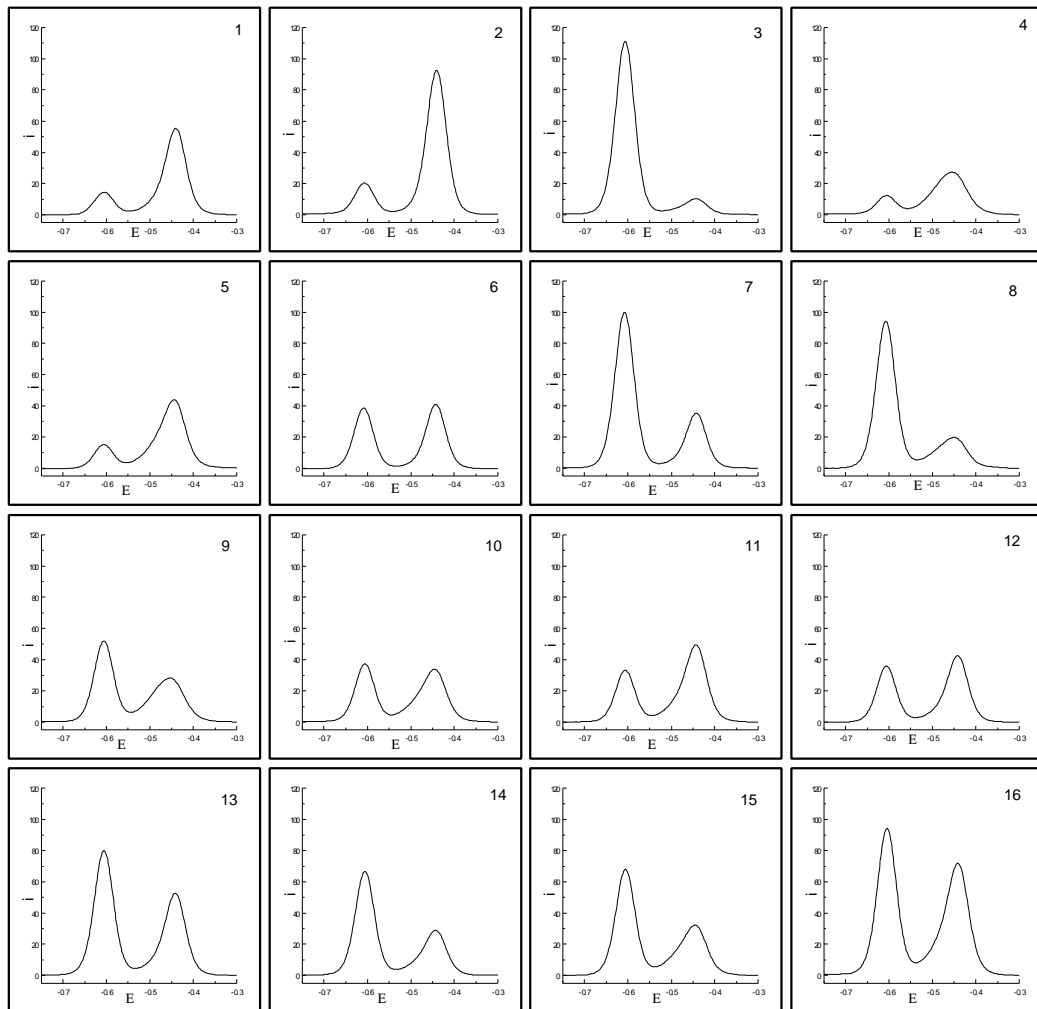


Figura 32 - Voltamogramas das misturas-padrão Cd (II), Tl (I) e Pb (II), de acordo com o planejamento experimental da Figura 12, em eletrólito de suporte  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 4,50, pela técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial; I = corrente em nA; E = potencial em volts; faixa de potencial = -0,750 a -0,300 V; tempo de purga = 240 s; tempo de equilíbrio = 5 s; tempo de deposição = 60 s; amplitude de pulso = 20 mV; e incremento de potencial = 2 mV.

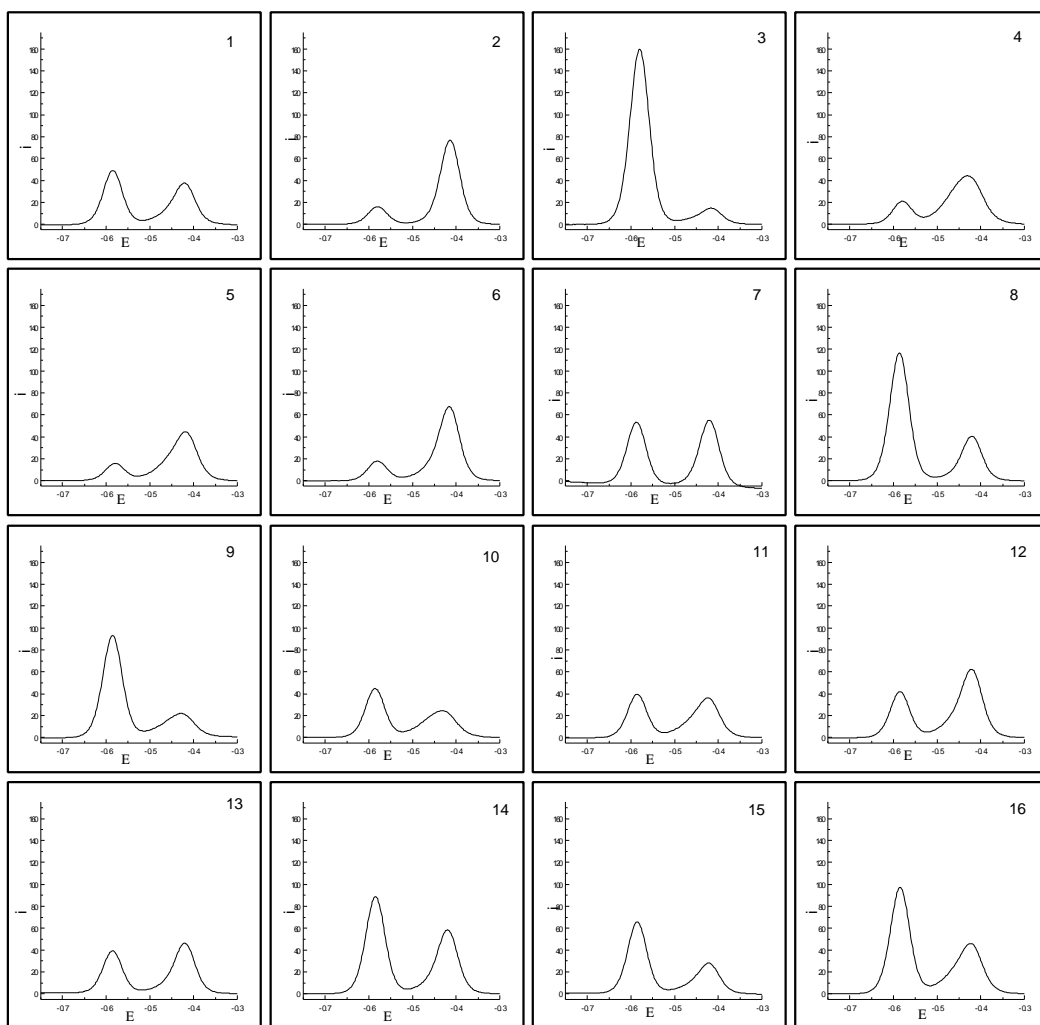


Figura 33 - Voltamogramas das misturas-padrão Cd (II), Tl (I) e Pb (II), de acordo com o planejamento experimental da Figura 12, em eletrólito de suporte  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 4,75, pela técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial: I = corrente em nA; E = potencial em volts, faixa de potencial = -0,750 a -0,300 V; tempo de purga = 240 s; tempo de equilíbrio = 5 s; tempo de deposição = 60 s; amplitude de pulso = 20 mV; e incremento de potencial = 2 mV.

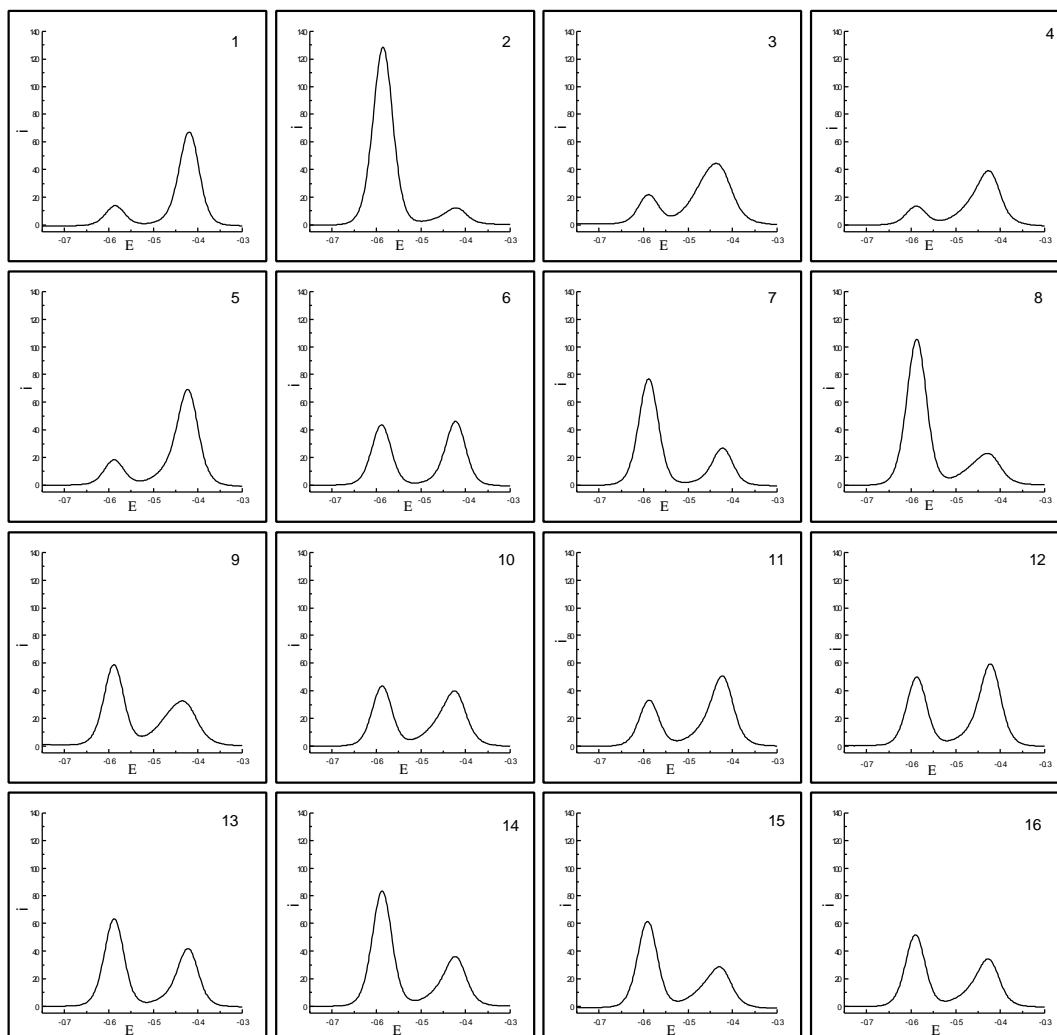


Figura 34 - Voltamogramas das misturas-padrão Cd (II), Tl (I) e Pb (II) de acordo com o planejamento experimental da Figura 12, em eletrólito de suporte  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 5,00, pela técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial: I = corrente em nA; E = potencial em volts; faixa de potencial = -0,750 a -0,300 V; tempo de purga = 240 s; tempo de equilíbrio = 5 s; tempo de deposição = 60 s; amplitude de pulso = 20 mV; e incremento de potencial = 2 mV.

NEVADO e FLORES (1992), trabalhando com a mesma mistura tálio e chumbo, no entanto, utilizaram solução de KCl  $1 \text{ mol l}^{-1}$  como eletrólito de suporte. REIS (1997) obteve melhores resultados com a mistura cádmio, chumbo e tálio, utilizando a solução-tampão  $\text{CH}_3\text{COONa}/\text{CH}_3\text{COOH}$ , pH 4,85.

Comparando os resultados mostrados nas Figuras 30 a 34, pode-se observar que estes não apresentaram diferenças significativas devido ao pH, daí ter-se optado, portanto, em trabalhar com o eletrólito de suporte com pH 4,50. Este valor de pH, além de ser o mesmo do eletrólito utilizado nas análises cotidianas no laboratório, é também um valor que está dentro da faixa usada na maioria dos trabalhos descritos na literatura (BRETT et al., 1997; HORNG, 1996; KOVACS, 1995). Outro aspecto importante a ser observado é o fato de todos os voltamogramas apresentarem, em comum, dois picos voltamétricos para uma mistura de três metais. Isso é explicado pela severa sobreposição das ondas voltamétricas de chumbo e tálio, mostradas anteriormente em voltamogramas individuais, ficando evidenciado também pela pequena assimetria da onda voltamétrica na região abrangida pelo tálio e chumbo. O eletrólito utilizado em todos os valores de pH mostrou-se ineficaz na resolução das três ondas voltamétricas.

O tratamento dos dados foi realizado através do método dos mínimos quadrados parciais (PLS) contido no pacote quimiométrico "PLS\_Toolbox", que opera dentro do ambiente MATLAB. Os dados foram arranjados em duas matrizes, uma com as concentrações dos três íons em estudo, num total de 13 padrões. A outra matriz foi empregada com valores de corrente com a média de três varreduras, no intervalo de potencial de -1,200 a 0,0 volt, optando-se por explorar uma faixa menor de potencial entre -0,898 e -0,300 volt, devido ao fato de ser esta a região onde apareceram as ondas dos três íons estudados, num total de 300 valores de corrente para cada voltamograma. Conseqüentemente, a matriz de concentração é uma matriz de 13 linhas por 3 colunas, também chamada de matriz **Y**, enquanto a matriz de resposta é formada por 13 linhas e 300 colunas, denominada matriz **X**.

Determinou-se o número de componentes principais utilizado na calibração multivariada, a partir dos autovalores reduzidos de Malinowski (Figura 35), conforme o programa PLSREV listado no Apêndice E.

Deve ser escolhido o número de componentes principais que forneça menor erro possível nas previsões. Neste trabalho, optou-se pelo PLSREV contra o número de componentes principais. Observando a Figura 35, após o terceiro componente principal, constata-se que os valores de PLSREV praticamente não mais se alteram, por isso apresentam um valor mínimo.

Esse resultado está de acordo com o número de espécies químicas determinadas, no caso os íons Pb (II), Cd (II) e Tl (I), confirmando-se pela Figura 35 que, com apenas três componentes principais, o modelo é explicado. Não é conveniente utilizar um número maior de componentes principais, porque apenas ruídos estarão sendo modelados. Apesar das evidências, foi feito o mesmo tratamento dos dados para dois, quatro e cinco componentes principais para cada metal. Nas Figuras 36, 37, 38 e 39 para Pb (II), nas Figuras 40, 41, 42 e 43 para Cd (II) e na Figuras 44, 45, 46 e 47 para Tl (I), mostra-se a correlação entre valores reais e estimados para as concentrações dos três íons estudados. No entanto, utilizando-se três componentes para todos os três metais, a correlação média apresentou  $R = 99,1\%$ , valor mais acentuado e bastante satisfatório com relação aos demais, que foram de  $87,8\%$ ;  $98,7\%$ ; e  $95,9\%$ , respectivamente. Foram feitos cálculos do EA (erro absoluto) para cada componente (Quadro 5).

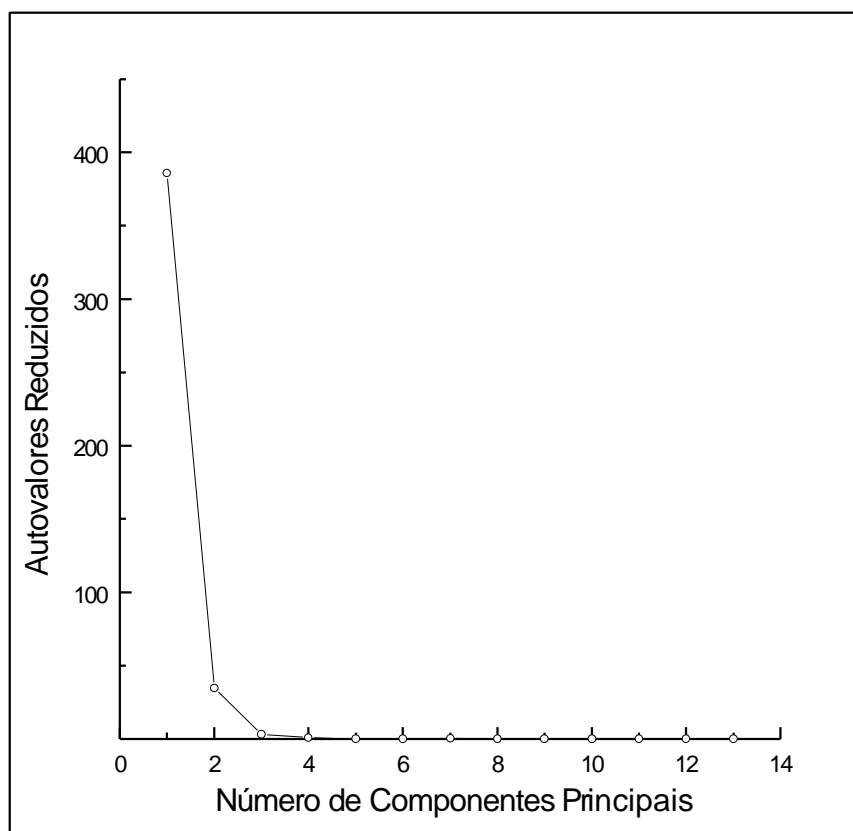


Figura 35 - Autovalores reduzidos em função do número de componentes principais na calibração multivariada, aplicando-se o PLS.

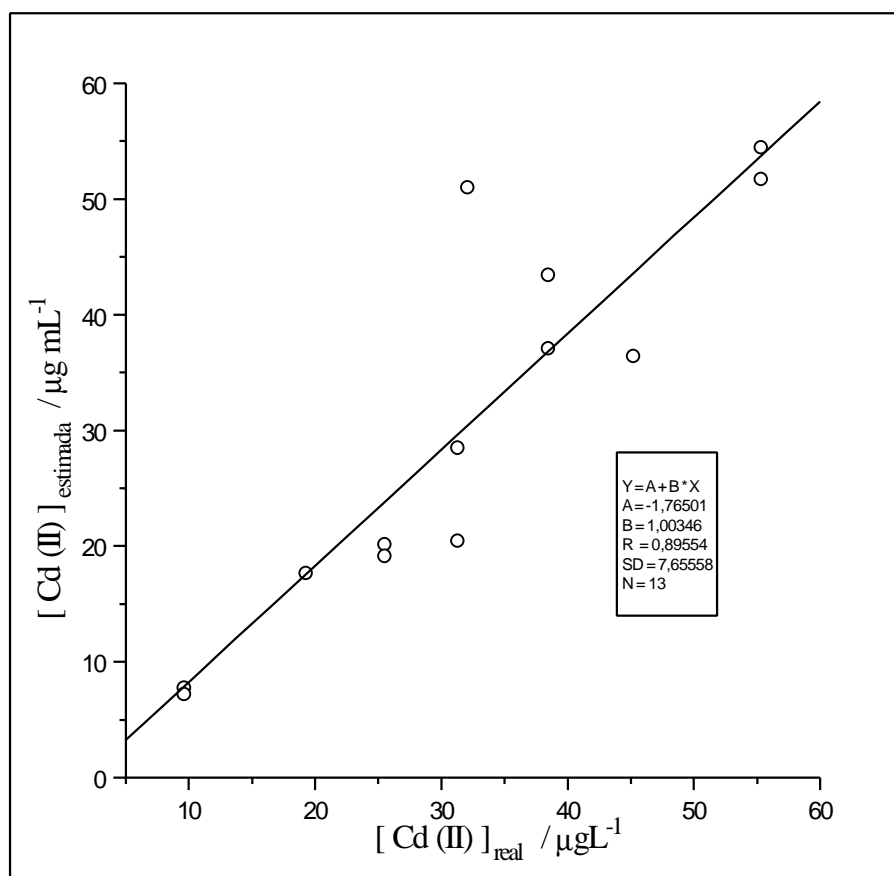


Figura 36 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para cádmio(II), utilizando-se dois componentes.



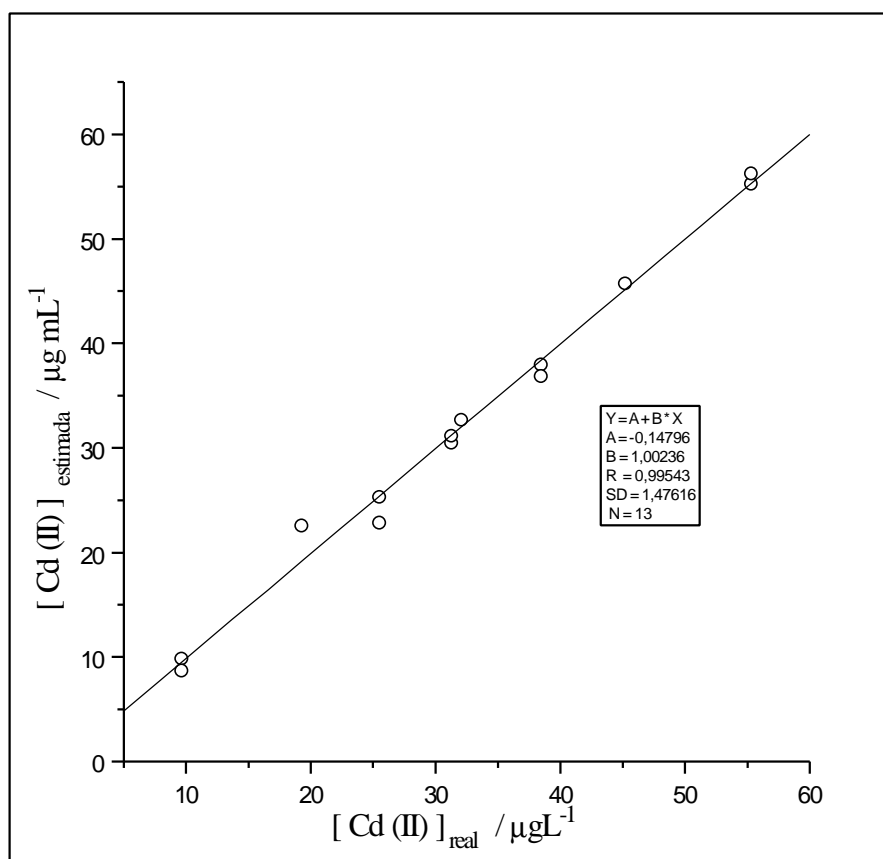


Figura 37 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para cádmio (II), utilizando-se três componentes.

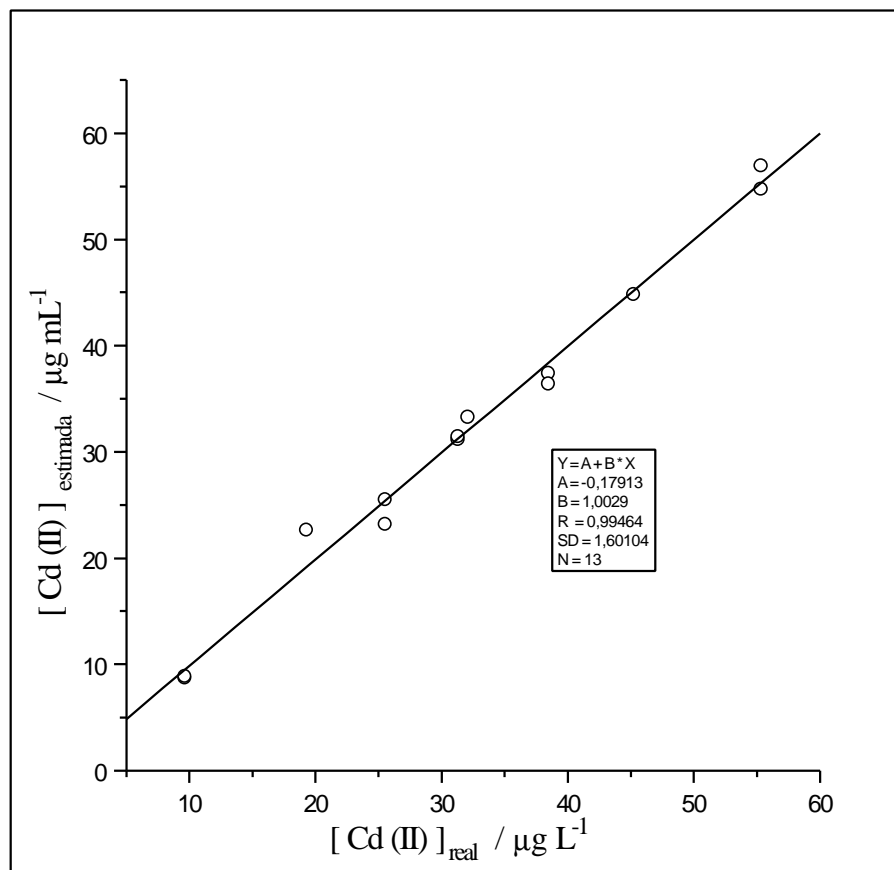


Figura 38 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para cádmio (II), utilizando-se quatro componentes.

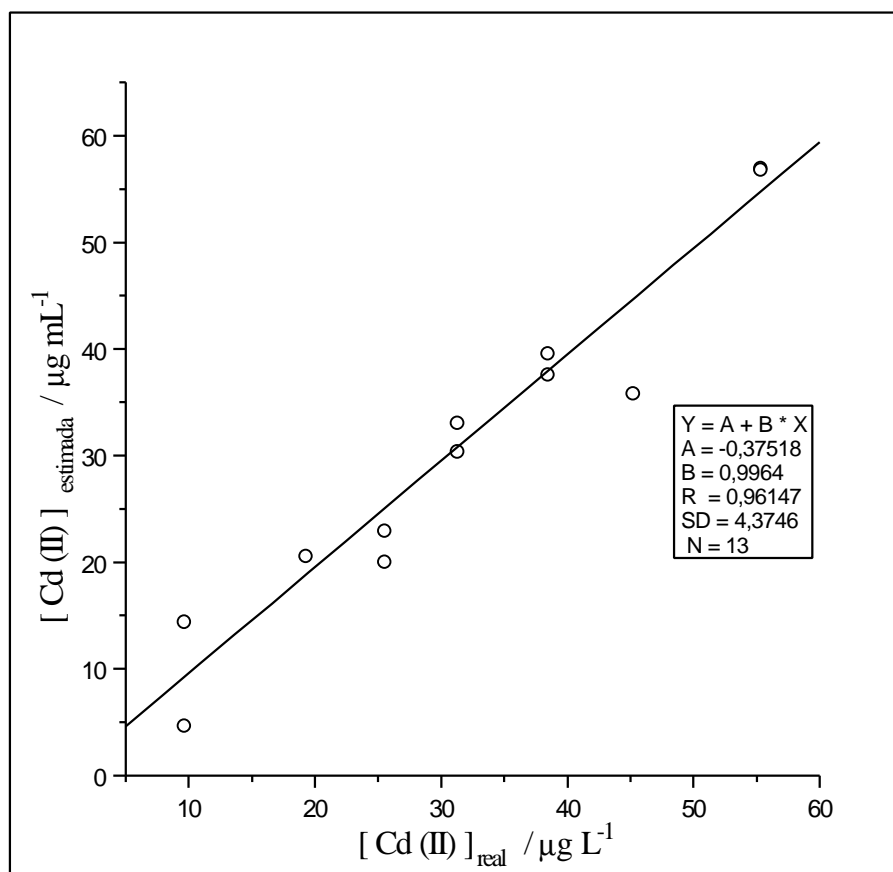


Figura 39 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para cádmio (II), utilizando-se cinco componentes.

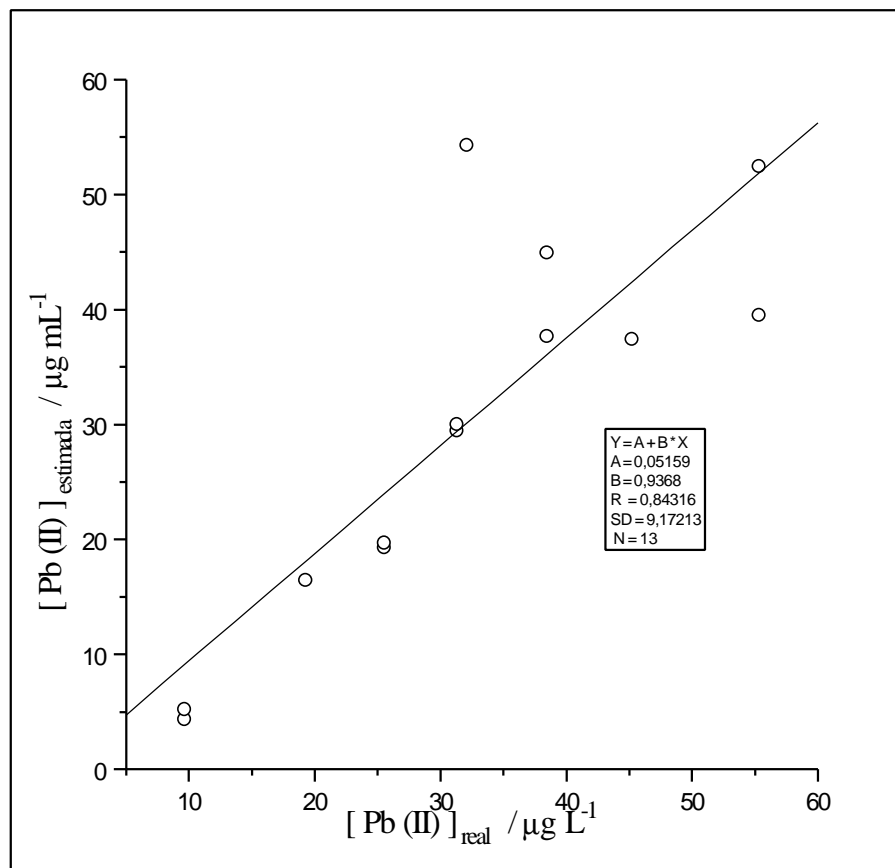


Figura 40 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para chumbo (II), utilizando-se dois componentes.

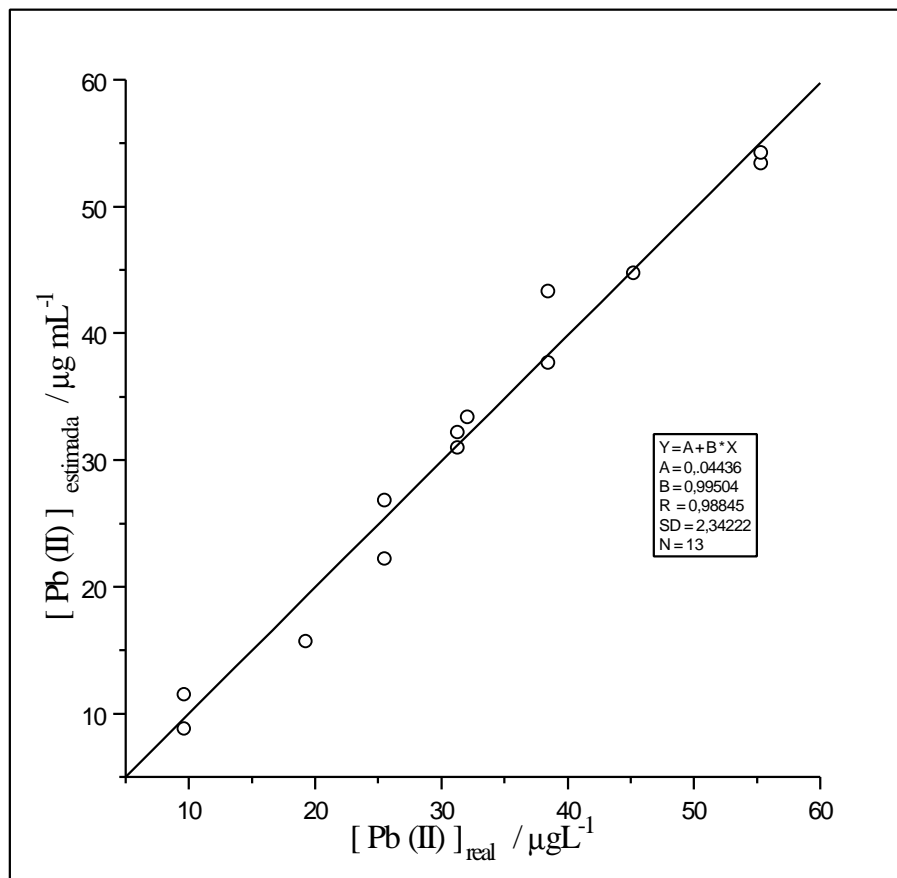


Figura 41 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para chumbo (II), utilizando-se três componentes.

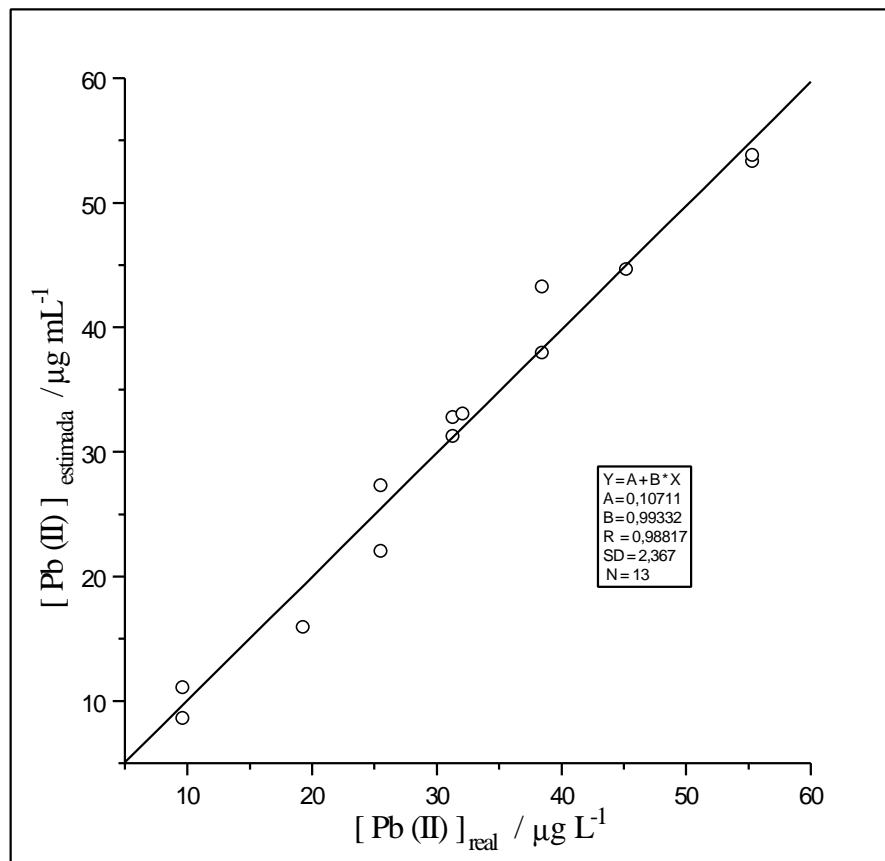


Figura 42 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para chumbo (II), utilizando-se quatro componentes.

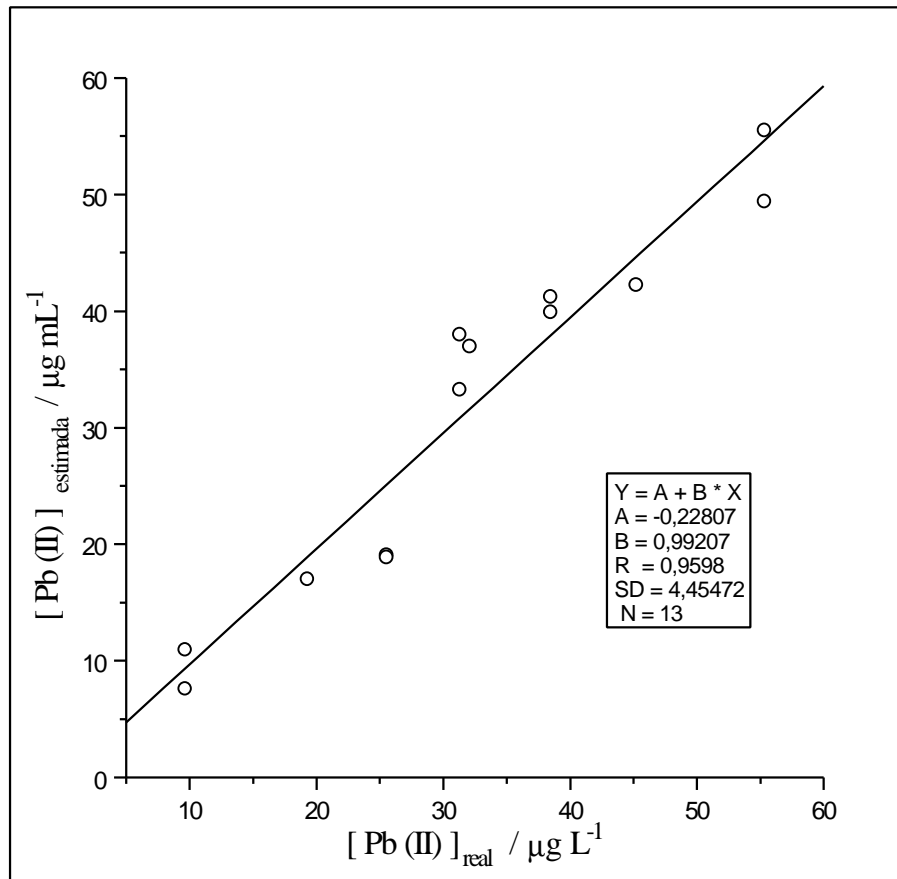


Figura 43 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para chumbo (II), utilizando-se cinco componentes.

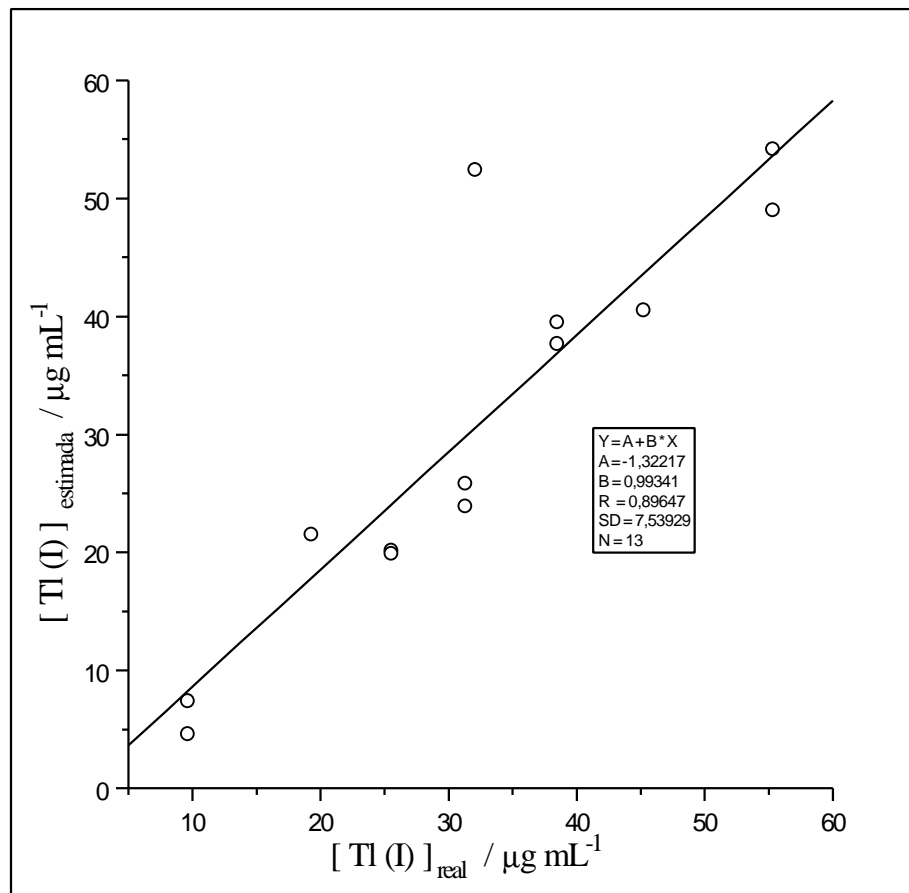


Figura 44 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para tálio (I), utilizando-se dois componentes.



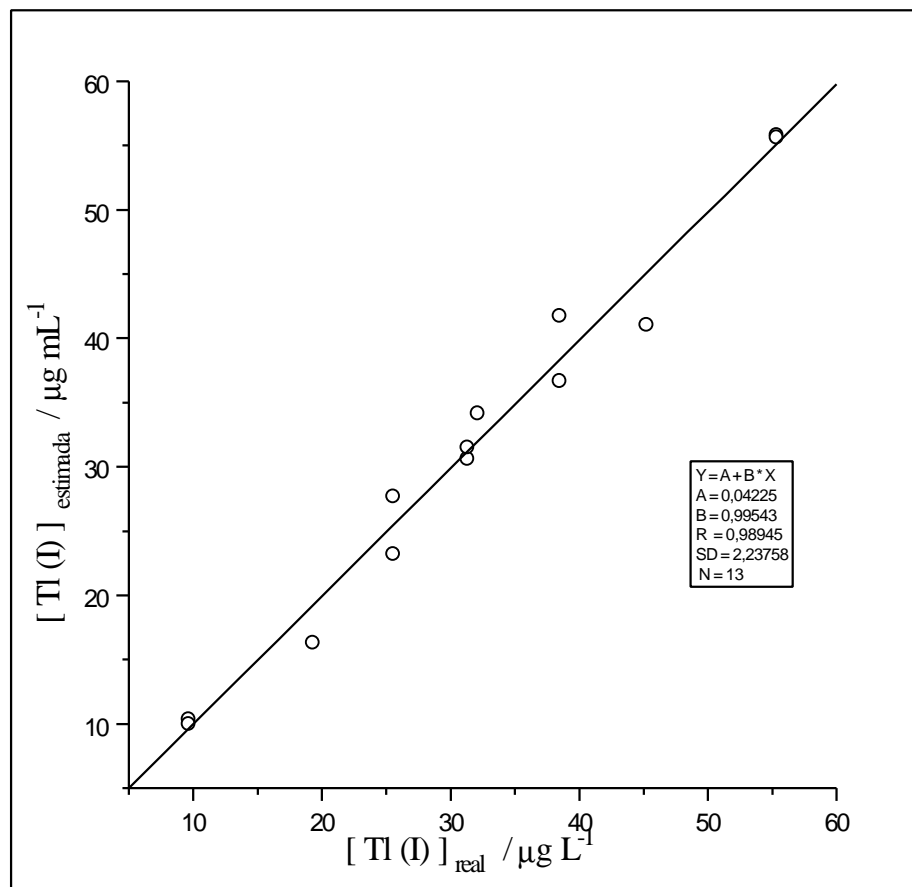


Figura 45 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para tálio (I), utilizando-se três componentes.

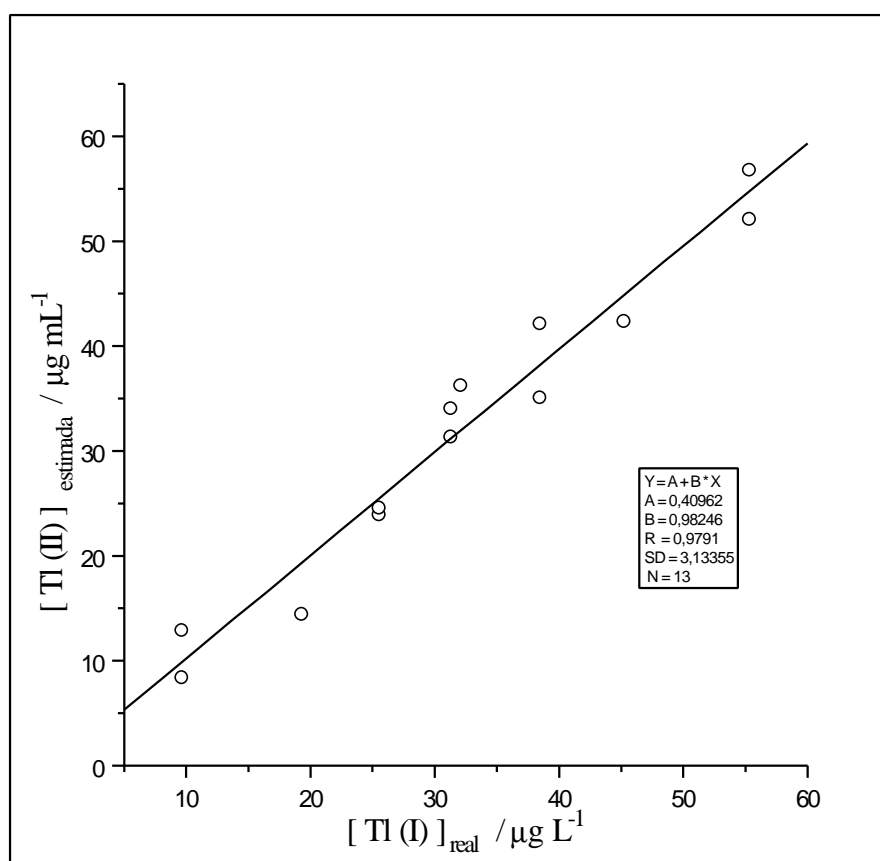


Figura 46 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para tálio (I), utilizando-se quatro componentes.

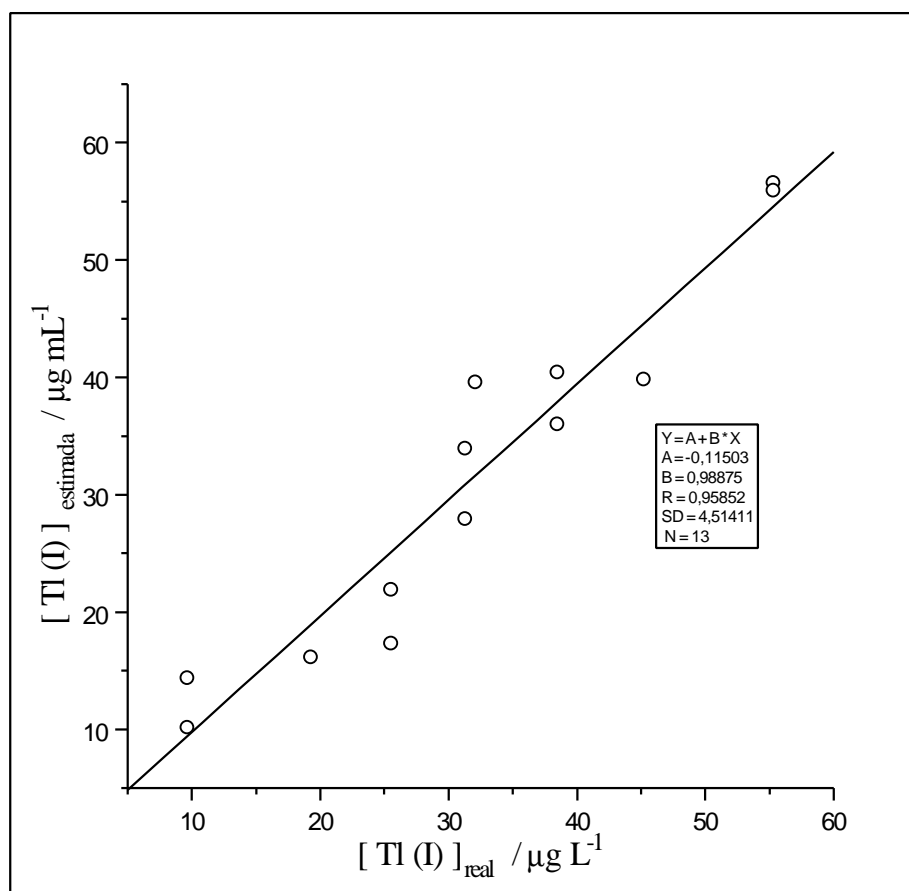


Figura 47 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para tálio (I), utilizando-se cinco componentes.

Uma representação das correlações envolvendo todas as variáveis estudadas, no caso Pb (II), Cd (II) e Tl (I), pode ser vista na Figura 48, mas para facilitar a interpretação foram feitas projeções bidimensionais, que mostram melhor as correlações, como se pode observar nas Figuras 49 a 51, em que são dispostos os valores reais e estimados para dois íons simultaneamente. No caso, a Figura 49 mostra as correlações entre os valores reais e estimados para Pb (II) e Tl (I); a Figura 50, Tl (I) e Cd (II); e a Figura 51, Cd (II) e Pb (II). Acredita-se que, com essas representações, um melhor perfil da amostra esteja sendo mostrado em vez de apenas discutir cada íon isoladamente.

Quadro 5 - Erros absolutos para Cd (II), Pb (II) e Tl (I)

Ensaio	Cd (II) real $\mu\text{g L}^{-1}$	Cd (II) estim. $\mu\text{g L}^{-1}$	EA	Pb (II) real $\mu\text{g L}^{-1}$	Pb (II) estim. $\mu\text{g L}^{-1}$	EA	Tl (I) real $\mu\text{g L}^{-1}$	Tl (I) estim. $\mu\text{g L}^{-1}$	EA
4	9,62	9,83	0,21	31,25	32,20	0,95	55,29	55,87	0,58
5	9,62	8,71	-0,91	55,29	53,45	-1,84	31,25	30,67	-0,58
6	31,25	30,51	-0,74	55,29	54,25	-1,04	9,62	10,41	0,79
7	55,29	55,24	-0,05	31,25	30,99	-0,26	9,62	10,05	0,43
8	55,29	56,23	0,94	9,62	11,50	1,88	31,25	31,53	0,28
9	31,25	31,15	-0,10	9,62	8,81	-0,81	55,29	55,65	0,36
10	25,48	22,85	-2,63	25,48	22,24	-3,24	45,19	41,11	-4,08
11	19,23	22,59	3,36	38,46	43,32	4,86	38,46	41,80	3,34
12	25,48	25,31	-0,17	45,19	44,9	-0,29	25,48	23,25	-2,23
13	38,46	37,97	-0,49	38,46	37,68	-0,78	19,23	16,36	-2,87
14	45,19	45,74	0,55	25,48	26,82	1,34	25,48	27,71	2,23
15	38,46	36,86	-1,60	19,23	15,70	-3,53	38,46	36,72	-1,74
16	32,05	32,71	0,66	32,05	33,42	1,37	32,05	34,20	2,15

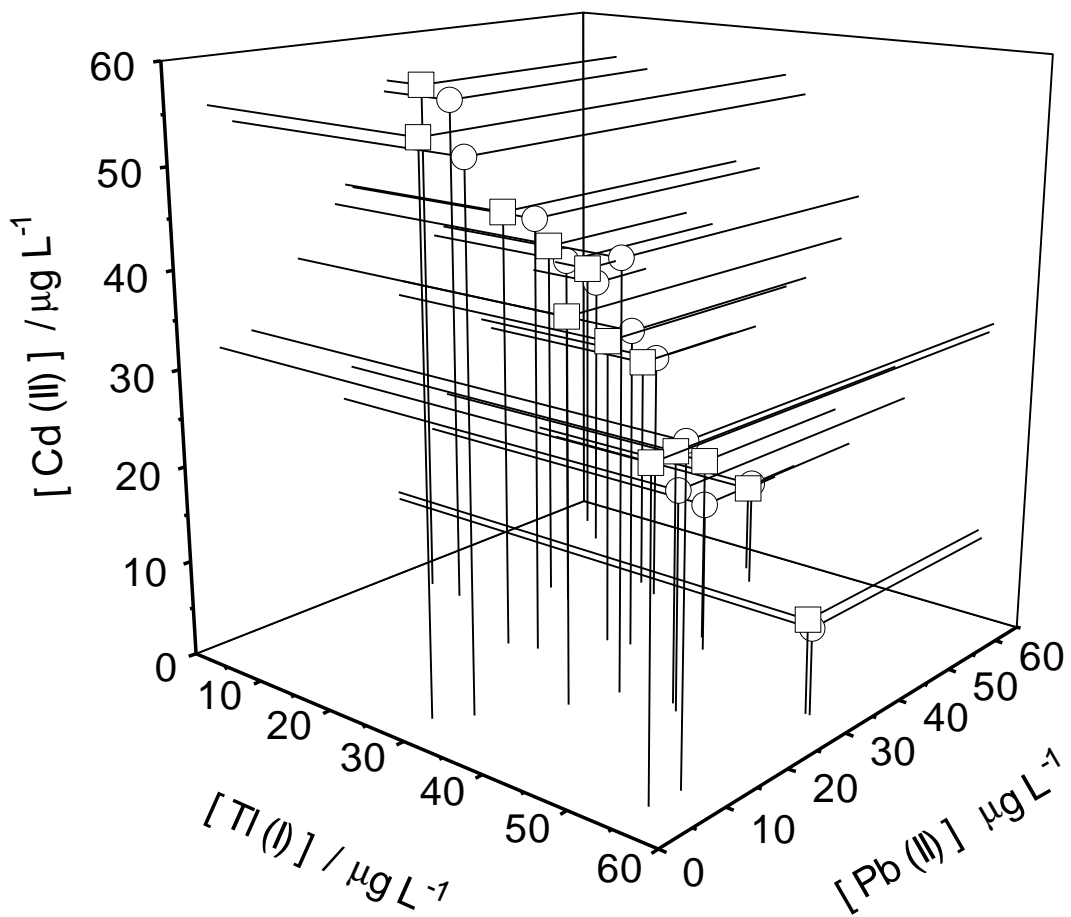


Figura 48 - Correlações entre as concentrações reais ( ) e estimadas (o) para Pb (II) vs Cd (II) vs Tl (I), determinadas por PLS.

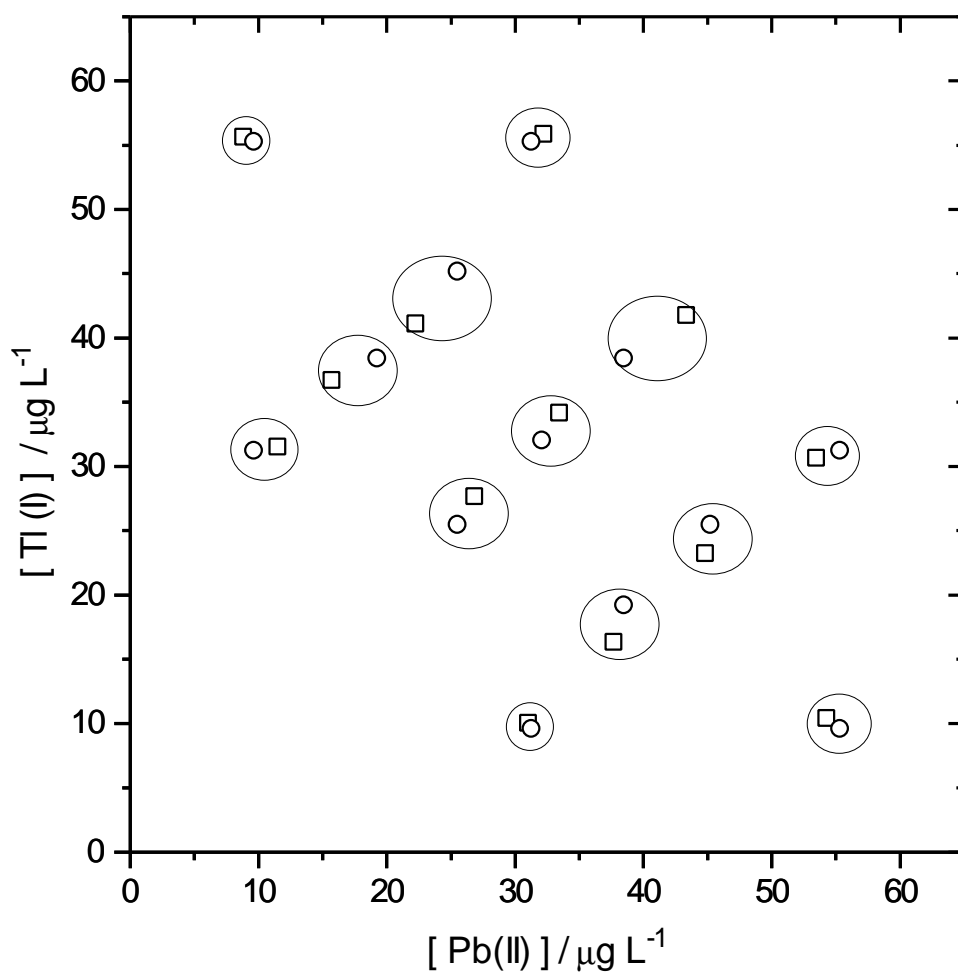


Figura 49 - Correlações entre as concentrações reais( $\hat{y}$ ) e estimadas (o) para Pb (II) vs TI (I), determinadas por PLS.

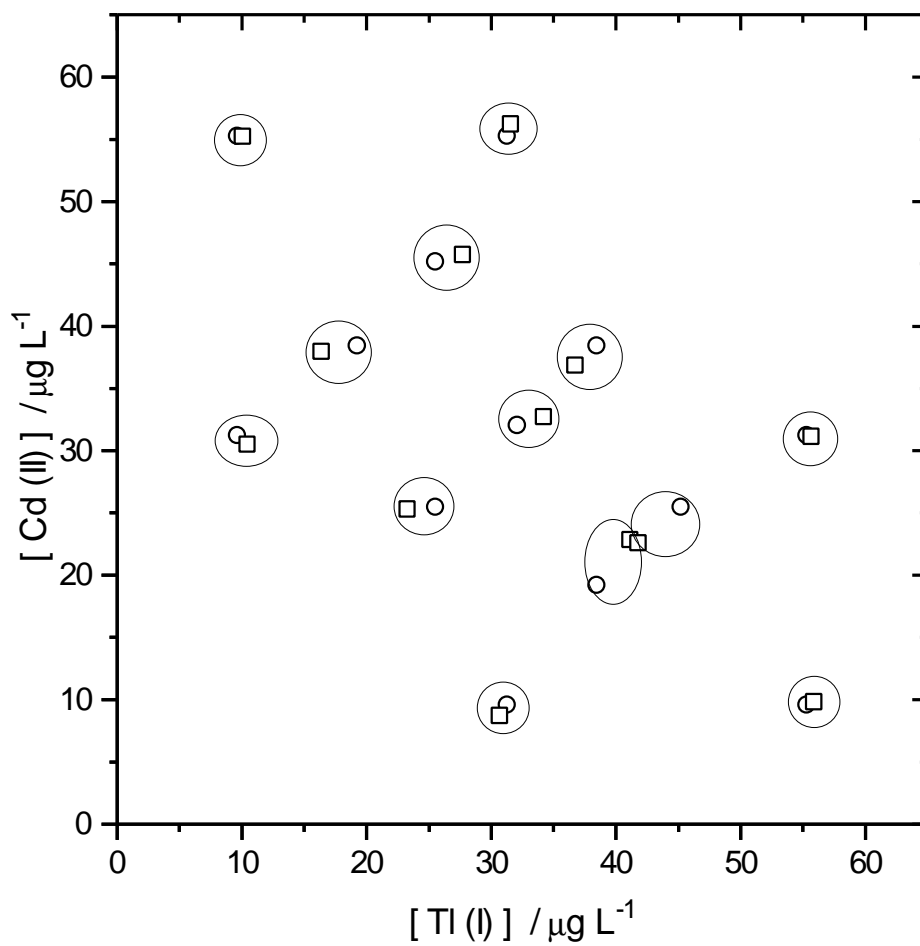


Figura 50 - Correlações entre as concentrações reais ( $\hat{y}$ ) e estimadas ( $o$ ) para Tl (I) vs Cd (II), determinadas por PLS.

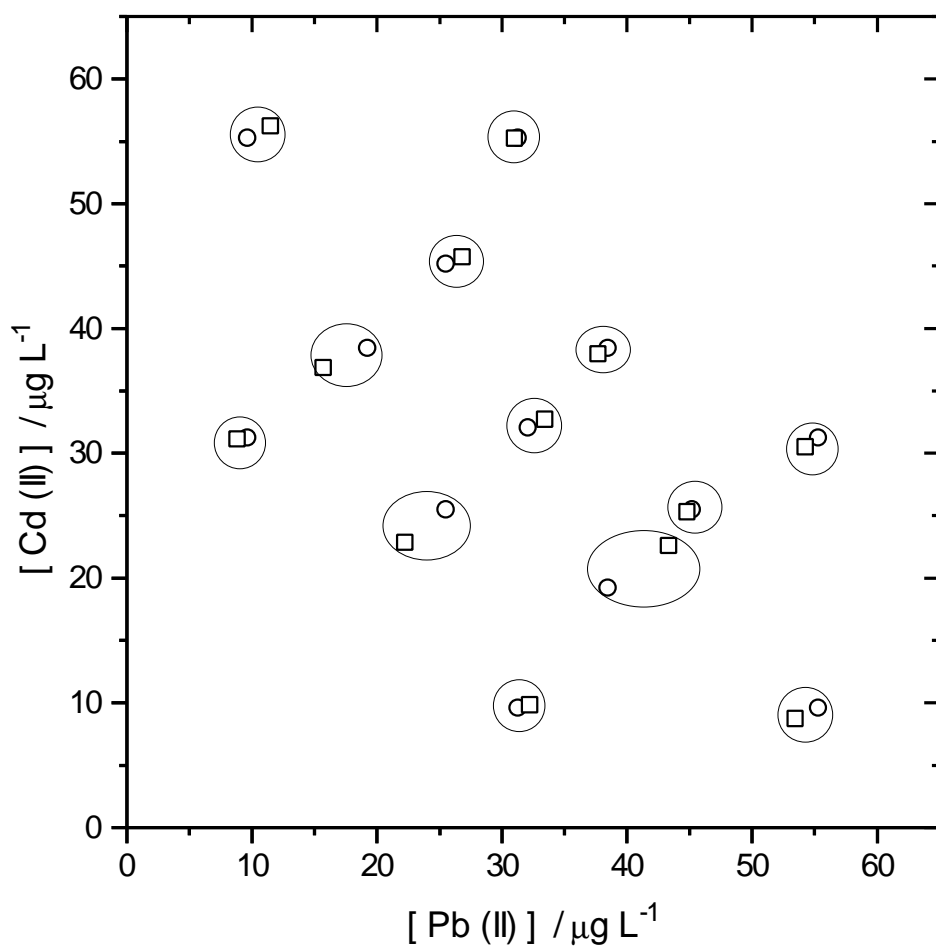


Figura 51 - Correlações entre as concentrações reais ( $\hat{y}$ ) e estimadas (o) para Pb (II) vs Cd (II), determinadas por PLS.



## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho objetivou a determinação de íons que apresentam ondas voltamétricas sobrepostas, utilizando-se técnicas de calibração multivariada. Para essa finalidade, em razão de a configuração do aparelho disponível, o polarógrafo PAR, modelo 384B, não oferecer condições de gravação ampla para os dados voltamétricos, foi feito o interfaceamento do polarógrafo, via interface serial padrão RS232C, com um microcomputador PC 586, de 133 MHz. Desenvolveu-se um algoritmo para gerenciamento e aquisição de dados, utilizando a linguagem QuickBasic, versão 4.5. Foi escolhida a técnica de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial para dois propósitos: primeiro, a determinação de íons metálicos Cd (II), Pb (II), Zn (II) e Cu (II), em amostra certificada de sedimento do rio Buffalo (SRM 2704), do “National Institute of Standards & Technology”; segundo, a determinação dos íons metálicos Cd (II), Tl (I) e Pb (II), que apresentam sobreposição em suas ondas voltamétricas, aplicando-se o PLS para trabalhar os dados.

O polarógrafo PAR, modelo 384B, é hoje um aparelho considerado obsoleto, do ponto de vista da parte computacional interna. Porém, associado a um microcomputador, permitiu a confecção de análises mais rápidas e tão eficientes quanto outros mais modernos.

Foi possível constatar que o processo total de obtenção dos voltamogramas via microcomputador é mais rápido, permitindo uma definição mais representativa e oferecendo condições para se obter o máximo de informações possíveis a partir de um voltamograma para análise multivariada. O desempenho do programa desenvolvido para a técnica utilizada facilitou o manuseio do instrumento, permitindo sua utilização sem a necessidade de conhecimento amplo sobre o método eletroquímico (isto é, a voltametria); permitiu também maior versatilidade no manuseio de cada voltamograma, favorecendo ao usuário a compreensão de conceitos analíticos, pelo fato de serem demonstrados, de maneira prática e em cada análise, na tela do microcomputador.

Trabalhando os dados voltamétricos pelo método estatístico de calibração multivariada, concluiu-se que o problema da sobreposição foi solucionado eficientemente. Os resultados indicaram claramente que a utilização de um planejamento experimental para quantificação das três espécies foi um passo importante para obtenção do máximo de informações úteis. A metodologia proposta na utilização do PLS pode promover a eliminação dos dados que pouco contribuem em termos de variação, o que se torna muito útil devido às grandes quantidades de informação inicialmente fornecidas e manipuladas, passando, também, por um processo de redução de dados. Na previsão, um número mínimo de componentes principais, igual a 3, evidenciou a maior parte da informação estatística, obtendo-se um modelo que pode fornecer uma correlação da ordem de 99% entre o valor real e o estimado das espécies estudadas.

Em aplicações que requerem análises de misturas de metais eletroativos, principalmente em casos de baixas concentrações, em níveis de partes por bilhão, a metodologia garantiu excelente precisão. Isso foi demonstrado nas leituras de amostras de sedimento de rio que, em comparação com os resultados da absorção atômica, mostrou sempre menor desvio-padrão.

Uma grande desvantagem que o sistema de análise desenvolvido ainda oferece é o fato de que não se podem adquirir os polarogramas em tempo real, o que seria um fator a mais para um melhor controle nas análises, e isso resultaria em menor tempo de trabalho

Outra possível desvantagem está no fato de o aparelho utilizar um sistema de formatação dos disquetes de 5 ¼' em padrão já em desuso, e dificilmente encontrável, não sendo possível sua reprodução; isso gera certa insegurança, porque, no caso de danos, as chances de obtenção de cópias são remotas.

A avaliação voltamétrica de metais pesados através de calibração multivariada foi o objetivo deste trabalho; aperfeiçoar o aparelho voltamétrico disponível no laboratório garantiu sua utilização com eficiência nas análises, bem como permitiu diminuir o tempo e futuros gastos. Desse modo, agilizaram-se as análises de rotina, implementando a área de automação no ensino de graduação e de pós-graduação.

## **6. PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS**

O algoritmo desenvolvido para gerenciamento e aquisição de dados do polarógrafo PAR, modelo 384B, foi desenvolvido de forma satisfatória e com grande confiabilidade, principalmente no processo de aquisição dos dados. Com isso, podem-se tornar possíveis determinações de outras espécies de interesse ambiental, como nitrato e nitrito, e resíduos de pesticidas e micronutrientes, como boro e molibdênio. Nesse aspecto, trabalhos em uma fase preliminar já foram desenvolvidos e deverão ser implementados.

Maior aperfeiçoamento da metodologia será possível, por transformação do programa em QuickBasic para VisualBasic, implementação essa que, se feita, tornará a interface microcomputador/usuário mais amigável.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGTERDENBOS, J., MAESSEN, F.J.M.J., BALKE, J. Calibration in quantitative analysis, **Anal. Chim. Acta**, v. 132, p. 132-127, 1981.
- ALBRECHT, B., WIEGAND, W., BROWN, D. **QuickBASIC guia do usuário Versão 4.5**, São Paulo: MAKRON Books do Brasil, 1991. 225 p.
- ARIES, R. E. LIDIARD, D.P., SPRAGG, R.A. Principal component analysis. **Chemistry in Britain**, september, V. 9, N. 27, p. 821-824, 1991.
- BEALE. S. R., HUTCHISON,W., CHANDLEE, G. C. Permanganate titration of thallosal salts, **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 13, n. 4, p. 240-242, 1941.
- BEDRIKOW, B. Doenças relacionadas ao Trabalho. **Saúde e Trabalho**, v. 1, p. 101 - 107, 1987.
- BEEBE, K. R., KOWALSKI, B. R. An Introduction to multivariate calibration and analysis *J. Anal. Chem.*, v. 59, n. 17, p. 1007-1017, 1987.
- BERG, C. M. G. Potentials and potentialities of cathodic stripping voltammetry of trace elements in natural waters. **Anal. Chim. Acta**, v. 250, n. 1, p. 265, 1991.
- BETTERIDGE, D., MACKISON, R., MOTTERSHEAD, C. M., TAYLOR, A. F., WADE, A. P. Development of expert system for the selection of sample point for moisture analysis. **Analytical Chemistry**, v. 60, n.15, p. 1534-1539, 1988.
- BOND, A. M. **Modern polarographic methods in analytical chemistry**. New York: Marcel Dekker Inc., 1980. 528p.

- BRETT, C.M.A., QUINAZ-GARCIA, M.B.L., LIMA, J.L.F.C. On the supression of zinc-copper interaction in square wave anodic-stripping voltammetric in flowing solution by addition of gallium ilons. **Anal. Chim. Acta**, v. 339, n. 1-2, p. 167-172, 1997.
- BROWN, S. D., BEAR, R. S. J. Chemometric in electrochemistry: A critical review. J. **Anal. Chem**, v. 24 n. 2, p. 99 -131, 1993.
- BRUNS, R. E., FAIGLE, J. F. G. Quimiometria. **Química Nova**, v. 8, n. 2, p. 84-99, 1985.
- BUTLER, B. I., SCHOONEN, M. A. A., RICKARD D. T. Removal of dissolved oxygen from water: A comparison of four common techniques. **Talanta**, v. 41, n. 2, p. 211-215, 1994.
- CABANILLAS, A. G., DIAZ, T. G., MANSILL, E. A., LOPEZ, F. S. Resolution of ternary mixtures of nitrofurantoin, furazolidone e squares analysis to the differential pulse polarographic signals. **Talanta**, v. 41, n. 11, p. 1821-1832, 1994.
- CAHN, F., COMPTON, S. Multivariate calibration of infrared spectral for quantitative analysis using designed experiments., **Applied Spectroscopy**, v. 42, n. 5, p. 865-872, 1988.
- COKER, E. G., MATTHEWS, P. J. Metais in sewage sludge and their potential effects in agriculture. **Wat. Sci. Tech**, v.15, n. 1, p. 209 -225, 1983.
- CISZEWSK, A. Determiation of thallic and thalious ions by differential pulse anodic stripping voltammetry without preliminary separation. **Talanta**, v. 37 n. 10, p. 995-999, 1990.
- CISZEWSK, A., LUKASZEWSKI, Z. Determiation of thallium in lead salts by differential pulse anodic-stripping voltammetry. **Talanta**, v. 30, n. 11, p. 873-875, 1983.
- CISZEWSK, A., WASIA, W., CISZEWSKA, W. A. Hair analysis. Part 2. differential pulse anodic stripping voltammometric determination of thalium in human hair sample of persons in permanent contact with lead in their workplace. **Anal. Chim. Acta**, v. 343, n. 3, p. 225-229, 1997.
- CRAIG, J, C. **Microsoft Visual Basic Versão 3.0** São Paulo: MAKRON Books do Brasil, 1994. 520p.
- DIAS, M. C. **Determinação espectrofotométrica de fungicidas ditiocarbamatos em frutos do tomateiro (*Lycotrsicon esculetun Mill*).** Viçosa, MG: UFV, 1997. 104p Dissertação ( Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.

- DÍAZ, T. G., VALENZUELA, F., SALINAS, F. Multicomponent determination of the pesticide naptalam and its metabolites in river water, by applying partial least squares calibration to the derivative spectrophotometric signals. **Frezenius. J. Anal. Chem**, v. 350, p. 692-701, 1994.
- EGREJA, F. B. **Avaliação da ocorrência e distribuição química de metais pesados na compostagem do lixo domiciliar urbano**. Viçosa, MG: UFV, 1993. 176p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1993.
- EG&G PARC, **Model 384B - Polarographic analyser instruction manual**, Princeton, 1988.
- ESTEBAN, M., CASANSSAS, E. Stripping electroanalytical techniques in environmental analysis. **Analytical Chemistry**, v. 13, n. 3, p. 110 -117, 1994.
- FENNEMA, B. D.J.R., FORSTER, R.J., VOZ, J.G., HUGHES, G., DIAMOND, D. Obtaining and processing data from laboratory instruments. **Analytical Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 1-3, 1993.
- FIDÊNCIO, P. H. **Avaliação potenciométrica de misturas de ácidos fracos através de calibração multivariada**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 116 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- FLASCHKA, H.A. **"EDTA Titrations - An introduction to theory and practice"** New York : Pergamon Press, 1967. 138p.
- GARCIA, C., HERNÁNDEZ, T. e COSTA, F. The influence of composting and maturation processes on the heavy metal extractibility from some organic wastes **Biological wast**, v. 31: p. 291-301, 1990.
- GELADI, P., KOWALSKI, B. R. Partial least-squares regression: A tutorial. **Anal. Chim. Acta**, v. 185, p. 1-17, 1986.
- HENRION, A., HENRION, R., HENRION, G. E., SCHOLZ, F. Application of partial least-squares regression for signal resolution in differential pulse anodic stripping voltammetry of thallium and lead. **Electroanalysis**, v. 2, p. 309-312, 1990.
- HEYROVSKY, M. e VAVRICKA, S. Electroreduction of molecular oxygen in one 4-electron step on mercury. **J. Electroanal. Chem**, v. 353, p. 335-340, 1993.
- HORNG, G.J. Simultaneous determination of zinc, cadmium, lead and copper concentrations in steel production workers by differential pulse anodic-stripping voltammetry. **Analyst**, v. 121, n. 10, p. 1511-1514, 1996.

- HOSKULDSSON, A. J. A combined theory for PCA and PLS. **J. Chemom**, v. 9, n. 2, p. 91-123, 1995.
- KISSINGERE, P.T., HEINEMAN, W. R. **Laboratory techniques in electroanalytical chemistry**. University of Texas, New York: 1984. 751p.
- KELLER, H. R. AGUIAR, F., MASSART, D. L. Simulations of analytical processes using visual basic. **Trends in Anal. chem**, v. 11, n. 4, p. 131-133, 1992.
- KOVACS, A.T.A., STORMENT, C.W. E., KOUNAVES, S. P. Microfabricated heavy metal Ion sensor, sens. **Actuators**, v. 23, n. 1, p. 41-47, 1995.
- KUBASZEWSKI, E. The Application of redox and Induced reations to the determination of thallium (III) in the presence of thallium(I). **J. Anal. Chem**, v. 342, n. 1-2, p. 58-60, 1992.
- LABUDA, J., VANICKOVÁ, M. Anodic stripping voltammetry with mercury electrodes in extracts of cadmium, lead, thallium and indium diethyldithiocarbamate complexes and analysis of mixtures. **Anal. Chim. Acta**, v. 208, n. 1-2, p. 219 -230, 1988.
- LIBERATO, J. R., CRUZ, C. D., VALE, F. X. R., ZAMBOLIM. L. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Viçosa, MG: UFV, 1995. v. 3, 430p.
- LUKASZEWSKI, Z., ZEMBRZUSKI, W. Determination of thallium in soils by flow-injection-differential pulse anodic stripping voltammetry. **Talanta**, v. 39 n. 3, p. 221-227, 1992.
- MALINOWSKI, E. R. **Factor analysis in chemistry**. 2. ed. New York: John Wiley, Wiley-Interscience Publication, 1991. 350p.
- MATHWORKS, **Matlab**, MathWorks, Natick, Ma, 1993.
- NEVADO, J. J. B., FLORES, R. Use of a data treatment software for the resolution of overlapping differential pulse polarographic peaks. **Fresen. J. Anal. Chem**, v. 342, n. 4-5, p. 273-275, 1992
- NICOLA, S. H. A. **Determinação de cobre, chumbo, cádmio e zinco por voltametria de redissolução anódica - pulso diferencial: estudo de uma metodologia visando a aplicação em amostra de solo**. São Paulo; USP, 1992. 84 p. Dissertação ( Mestrado em Química) - Universidade de São Paulo, 1992.
- O'HAVER, T. C., GREEN, G. L. Numerical error analysis of derivative spectrometry for the quantitative Analysis of mixtures. **Analytical Chemistry**, v. 48, n. 2, 312-318, 1976.
- O'HAVER, T. C. An Introduction to signal processing in chemical measurement. **Journal of Chemical Education**, v. 68, n. 6, p. 147-150, 1991.



- OSTERYOUNG, J. Pulse voltammetry. **Journal of Chemical Education** , v. 60, n.4, p. 296-298, 1983.
- PANELI, M. G., VOUGARAPOULOS, A. Applications of adsorptive stripping voltammetry in the determination of trace and ultratrace metais. **Electroanalysis**, v. 5, n.5-6, p. 355 - 373, 1993.
- PEREIRA, J. C. **Avaliação da contaminação do meio ambiente por metais pesados na região do vale do aço (MG)**. Viçosa, MG: UFV, 1995. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- PIZETA, I., BRANICA, M. Computer automation of polarographic analyzer PAR 384B and development of specific implementation software. **J. Electroanal. Chem**, v. n.2, 250, p. 293-299, 1988.
- REIS, E. L . **Voltametria multielementar em fluxo. Aplicação de técnicas de calibração multivariada**. São Paulo: Unicamp, 1997. 192p. Dissertação (Doutorado em Química). Universidade de Campinas, 1997.
- RUISÁNCHEZ, I., LARRECHI, M. S., RIUS, F. X. Computer-aided voltammetric method development employing a knowledge-based expert system. **Analytical Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 135-142, 1992.
- SCOLARI, C.A. Resolution of strongly overlapped response in square - wave voltammetry by using the kolman filter. **Anal. Chim. Acta**. v. 166, n. 1, p. 253 - 260, 1984.
- SJÖSTRÖM, M., WOLD, S., LINDBERG; PERSSON AND MARTENS, H. Multivariate calibration problem in analytical chemistry solved by partial-least-squares models in latent variables. **Anal. Chim. Acta**, v. 150, n. 1, p. 61-70, 1983.
- SMITH, G. L. Principal component analysis: an introduction. **Anal. Proc.** v. 28, n. 5, p. 150-151, 1991.
- TAVARES, T. M., CARVALHO, F. M. Avaliação da exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do Recôncavo Baiano. **Química Nova**, v. 15, n. 2, p. 147-153, 1992.
- WANG, J. **Electroanalytical techniques in clinical chemistry and laboratory medicine**, New York: VCH, 1988. 177 p.
- WANG, T. W. **An efficient algorithm for performing PLS**. Department of Computer Science the University of Tennessee, 1995. 200 p.
- WANG, J. **Stripping analysis principles, instrumentation and applications.**, 1985. 160 p.

- WILLIAMS, S. S. Application of expert systems programming to high-performance liquid chromatography method development. **Trends in Anal. Chem**, v. 9, n. 2, p. 63-65, 1990.
- WISE, B. M. **PLS-Toolbox for use with MATLAB**. Center for Process Analytical Chemistry and Department of Chemical Engineering BF-10 University of Washington Seattle, 1991. 150 p.
- WISE, J. A., Heineman, W. R., Kissinger, P. T. Flow injection system for stripping voltammetry. **Anal. Chim. Acta**, v. 172, n.1, p. 1-12, 1985.
- WOLD, H. **Non linear estimation by iterative least squares procedures**. Research Papers in Statistics. Wiley, New York, 1966, 271 p.

## **APÉNDICE**

## APÊNDICE A

M 384B Chave Equivalente	Hexadecimal	ASCII
NO	2E	·
YES	2F	/
O	30	0
1	31	1
2	32	2
3	33	3
4	34	4
5	35	5
6	36	6
7	37	7
8	38	8
9	39	9
·	3A	:
-	3B	,
PPM	3C	<
CLEAR	3D	=
RUM	46	F
CALIBRATION PLOT	47	G
PLABACK	48	H
DPP	4A	J
NPP	4B	K
DCP	4C	L
DPS	4E	N
CV	4F	O

DCS	50		P
LS		51	
Q			
DROP TIME	54		T
SCAN RATE	55		U
PULSE HEIGHT	56		V
INITIAL POTENTIAL	57		W
FINAL POTENTIAL	58		X
PEAK POTENTIAL	59		Y
PEAK CONCENTRATION	5A		Z
PURGE TIME	5B		[
EQUILIBRATION TIME	5C		\
DEPOSITION TIME	5D		]
CONDITIONING POTENTIAL	5E		^
CONDITIONING TIME	5F		-
REPLICATION	60		.
SCAN INCREMENT	61		a
SAMPLE NUMBER	62		b
DATE	63		c
BLANKE	64		d
STANDARD	65		e
SAMPLE	66		f
CLEAR STANDARD DATA	67		g
STANDARD CURVE	69		i
STANDARD ADDITION	6A		j
OVERRIDE	6B		k
BLANK SUBTRACT	6C		l
TANGENT FIT	6D		m
PEAK LOCATION	6E		n
DERIVATIVE	6F		o
STORE METHOD	78		x
RECALL METHOD	79		y
STORE CURVE	7A		z
RECALL CURVE	7B		{
LIST METHOD	7C		
TUNE	7D		}

## APÊNDICE B

### Programa Gerenciador em QuickBasic 4.5

\*\*\*\*\*

' ENVIAR PARÂMETROS AO POLARÓGRAFO

#### **INICIO:**

```
OPEN "COM2:2400, N, 8, 2, RS, CS0, DS0, CD0" FOR RANDOM AS #1
COM(2) ON
PRINT #1, A$
COM(2) OFF
CLOSE #1
```

#### **ESPERA:**

```
A$ = INKEY$: IF A$ = "" THEN GOTO ESPERA ELSE GOTO INICIO
```

\*\*\*\*\*

' RECEBER DADOS DO POLARÓGRAFO

#### **PROGRAMA:**

```
CLS
DIM E(2000), I(2000), L$(2000)
LOCATE 12, 35: PRINT "AQUISIÇÃO"
```

**INICIO:**

```
OPEN "COM2:2400, N, 8, 2, RS, CS0, DS0, CD0" FOR RANDOM AS #1
COM(2) ON
K = 0
```

**AQUISIÇÃO:**

```
K = K + 1
LINE INPUT #1, L$(K)
E$ = MID$(L$(K), 1, 7)
I$ = MID$(L$(K), 9, 17)
E(k) = VAL(E$)
I(k) = VAL(I$)
LOCATE 12, 20:
PRINT "E(";
PRINT USING "###"; K;
PRINT ") = ";
PRINT USING "##.###"; E(K);
PRINT "VOLTS "; "I(";
PRINT USING "###"; K;
PRINT ") = ";
PRINT USING "###.###"; I(K);
PRINT "nA"
IF E(K) = 0.2 THEN GOTO ARQUIVO ELSE GOTO AQUISIÇÃO
```

**ARQUIVO:**

```
COM(2) OFF
CLOSE #1
CLS
LOCATE 6, 28:
PRINT "NOME DO ARQUIVO"
LOCATE 10, 32:
INPUT ARQ$
CHDIR "C:\ARQUIVOS"
OPEN ARQ$ FOR OUTPUT AS #2
FOR X = 1 TO K
PRINT #2, X; E(X); I(X)
NEXT X
CLOSE #2
CHDIR "C:\"
CLEAR
GOTO PROGRAMA
```

\*\*\*\*\*

ARQUIVAR DADOS ADQUIRIDOS

```
INPUT ARQ$  
OPEN ARQ$ FOR OUTPUT AS #2  
FOR X = 1 TO K  
PRINT #3, X; E(X); I(X)  
NEXT X
```

\*\*\*\*\*



## APÊNDICE C

### Modelagem com o PLS

```
function [p, q, w, b, t, u, x, y] = pls(a, c, maxrank)
%PLS Partial Least Squares in latent variables.
% Uses the Matlab's SVD routine on the smallest
% covariance matrix for computational efficiency.
%
% [P, Q, W, B] = PLS(A, C, MAXRANK) or,
%
% [P, Q, W, B, T, U, X, Y] = PLS(A, C, MAXRANK)
%
% Where:
%
% P is the matrix of spectral factors
% Q is the matrix of concentration factors
% W is the matrix of weights
% B is the vector containing the inner relationships
% T is the matrix of spectral scores
% U is the matrix of concentration scores
% X is the matrix of spectral residuals
% Y is the matrix of concentration residuals
% A is the training set absorbance matrix
% C is the training set concentration matrix
% MAXRANK is optional limit to the number of factors calculated

% by Richard Kramer.
% Copyright (c) 1988-1993 by The MathWorks, Inc.
```

```

[m,n] = size(a);
[m,l] = size(c);
if nargin == 3, i = min([n, m, maxrank]); else i = min([n m]); end

x = a;
y = c;

for h = 1:i,
    xy = x' * y;
    [pt,s,qt] = svd(xy'*xy,0);
    q(h,:) = qt(:,1)';
    w(:,h) = (xy * qt(:,1)) / sqrt(s(1,1));

    t(:,h) = x * w(:,h);
    tsqr = t(:,h)' * t(:,h);

    u(:,h) = y * qt(:,1);
    p(h,:) = t(:,h)' * x / tsqr;
    b(1,h) = (u(:,h)' * t(:,h)) / tsqr;
    x = x - (t(:,h) * p(h,:));
    y = y - b(h) * t(:,h) * q(h,:);
end

```

## APÊNDICE D

### Previsão com o PLS

```
function [c, x] = pls_pred(a, p, q, w, b, n, amean, cmean, ascal, cscal)
%PLSPRED Predicts unknown concentrations using PLS.
% [c, x] = pls_pred(a, p, q, w, b, n, amean, cmean, ascal, cscal)
%
% c is the matrix of the unknown's concentrations
% x is the matrix of spectral residuals after decomposition
% a is the unknown spectrum (or spectra)
% p is the matrix of spectral factors
% q is the matrix of concentration factors
% w is the matrix of weights
% b is the vector containing the inner relationships
% n is the number of factors to use
%
% optional arguments:
%
% amean vector of means of mean-centered calibration spectra
% cmean vector of means of mean-centered calibration concentrations
% ascal vector of scaling factors of scaled calibration spectra
% scal vector of scaling factors of scaled calibration concentrations
%
% Specify 0 for amean, cmean, ascal, cscal if no scaling or centering
%
% by Richard Kramer.
% Copyright (c) 1988-1993 by The MathWorks, Inc.

[maxrank, h] = size(p);
if nargin > 5, maxrank = min([n, maxrank]); end
```

```

c=0;
[j, i] = size(a);
if nargin > 6,
    if amean ~= 0,
        a = a - amean * ones(1, j);
    end
    if nargin > 8,
        if ascal ~= 0,
            a = a ./ (ascal * ones(1, j));
        end
    end
end

x = a;
for h=1:maxrank
    t(:,h) = x * w(:,h);
    x = x - t(:,h) * p(h,:);
    c = c + b(h) * t(:,h) * q(h,:);
end
[l, k] = size(c);
if nargin > 9,
    if cscal ~= 0
        c = c .* (cscal * ones(1,l));
    end
end
end

```

## APÊNDICE E

### Cálculo dos Autovalores Reduzidos

```
function [rev, xrev, yrev] = plsrev(a, p, q, w, b, rank)
%PLSREV      PLS analog of Malinowski's reduced eigenvalues.
%      [REV, xrev, yrev] = plsrev(A, P, Q, W, B, RANK)
%
%      REV  is the vector of reduced eigenvalues
%      XREV is the vector of the x contribution to rev
%      YREV is the vector of the y contribution to rev
%      A    is matrix of training set spectra
%      P    is the matrix of spectral factors
%      Q    is the matrix of concentration factors
%      W    is the matrix of weights
%      B    is the vector containing the inner relationships
%      RANK is the number of reduced eigenvalues to calculate

%      by Richard Kramer.
%      Copyright (c) 1988-1993 by The MathWorks, Inc.

[m, n] = size(a);
[maxrank, h] = size(p);
if nargin > 5, maxrank = min([rank, maxrank]); end

xrev = 0;
yrev = 0;

x = a;
for h=1:maxrank
    t(:,h) = x * w(:,h);
    x = x - t(:,h) * p(h,:);
```

```
xrev(h) = t(:,h)'*t(:,h) / ( (n - h + 1) * (m - h + 1) );  
ct = b(h) * t(:,h) * q(h,:);  
yrev(h) = sum(sum(ct .* ct)) / ( (n - h + 1) * (m - h + 1) );  
rev(h,1) = xrev(h) + yrev(h);
```

end

## APÊNDICE F

### Determinação do Número de Componentes Principais

```
%PLSCROSS cross-validation vs. the number of factors used.
%   PLSCRS = PLSCROSS(A, C, MAXRANK)
%
%   Where:
%
%   PLSCRS   is the matrix containing cross
%   A        is the training set absorbance matrix
%   C        is the training set concentration matrix
%   MAXRANK  is optional limit to the number of factors tested

%   by Richard Kramer.
%   Copyright (c) 1988-1993 by The MathWorks, Inc.

[j, i] = size(a);
[nn, mm] = size(c);
if nargin > 2, i = min([i, j, maxrank]); else i = min(i, j); end
plscrs(i,1) = 0;

for n = 1:j

    x = a([1:(n-1), (n+1):j], :);
    y = c([1:(n-1), (n+1):j], :);

    k = 0;

    for h = 1:i,
```

```

xy = x' * y;
[pt,s,qt] = svd(xy'*xy,0);
q(h,:) = qt(:,1)';
w(:,h) = (xy * qt(:,1)) / sqrt(s(1,1));

t(:,h) = x * w(:,h);
tsqr = t(:,h)' * t(:,h);

u(:,h) = y * qt(:,1);
p(h,:) = t(:,h)' * x / tsqr;
b(1,h) = (u(:,h)' * t(:,h)) / tsqr;

x = x - (t(:,h) * p(h,:));
y = y - b(h) * t(:,h) * q(h,:);
end

for f = 1:i
    x = a(n,:);
    cr = 0;
    for h=1:f
        tr(:,h) = x * w(:,h);
        x = x - tr(:,h) * p(h,:);
        cr = cr + b(h) * tr(:,h) * q(h,:);
    end
    error = cr - c(n,:);
    plscrs(f) = plscrs(f) + sum(sum(error .* error));
end
end
plscrs = plscrs / (mm * nn);

```