

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Construção e aplicação de um Turbidímetro / Nefelômetro
Microcontrolado Portátil**

Vagner Bezerra dos Santos^{*}

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para a obtenção do título
de MESTRE EM QUÍMICA, área de
concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientador: Prof. Dr. Orlando Fatibello-Filho

*** bolsista CAPES**

São Carlos - SP
2009

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S237ca

Santos, Vagner Bezerra dos.

Construção e aplicação de um Turbidímetro / Nefelômetro
Microcontrolado Portátil / Vagner Bezerra dos Santos. -- São
Carlos : UFSCar, 2009.

122 f.

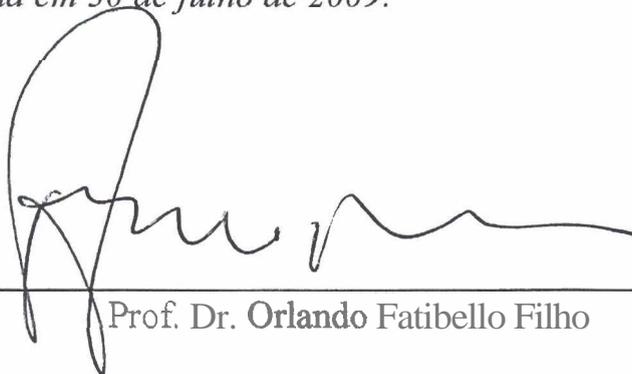
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2009.

1. Análise fotométrica. 2. Microcontrolador. 3.
Controladores programáveis. 4. Turbidez. 5. Nefelometria. 6.
LED. I. Título.

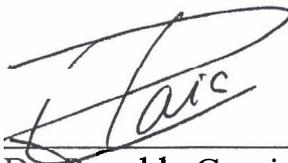
CDD: 543.0852 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado

Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado do candidato Vagner Bezerra dos Santos, realizada em 30 de julho de 2009:



Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho



Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria



Prof. Dr. Fabio Rodrigo Pievezani Rocha

Agradeço e dedico esta dissertação primeiramente ao
SENHOR JESUS CRISTO por todo o amor para
comigo em todos os momentos desta
minha caminhada.

Agradecimentos

A minha amada e virtuosa esposa Thayrlla Adrielle Coutinho Bezerra, por todo o amor que me faz sentir, por todo o apóio, ajuda e compreensão, pois sem você amor, certamente tudo seria mais difícil. Conhecer você foi o maior prêmio que Deus me deu, e nada que eu venha a conquistar será maior ou mais importante que Você. Eu te amo muito, e espero que possamos passar todos os dias das nossas vidas juntos realizando os planos que o bom Deus determinou para nós.

A minha Mãe (Maria José Bezerra Carneiro da Cunha) à qual eu tenho o maior orgulho do mundo de ser chamado de filho. Você é o maior exemplo de força e superação que já encontrei em toda minha vida. As dificuldades em que passamos só serviram para que eu me tornasse mais forte e isso aprendi com Você. Quando me sinto fraco lembro que você está me esperando e isso me dá mais forças. Te amo mãe acima de qualquer coisa nessa vida.

Ao meu Pai o qual aprendi a amar pelo poder de Deus, pelo exemplo de homem trabalhador e honesto.

As minhas jóias raras, Val e Vivi por todo o apoio em meus estudos o qual sacrificaram muito os seus sonhos pelo meu futuro. Espero que continue dando muitas alegrias e orgulho para vocês, pois isso eu coloquei como um colar no meu coração para que os seus esforços valessem à pena. Amo vocês.

Ao meu cunhado, irmão e amigo Naldo, pela amizade e por sempre estar atento para me ouvir. Não esqueço nunca de quanto nós somos brincalhões juntos.

Ao meu lindo sobrinho Esdras (TITIO), meu lindinho o titio viu você nascer e crescer, está longe de você é difícil, pois amo ver você sorrir. Quando você estiver crescidinho vai ver a homenagem que eu fiz para você.

Aos demais familiares que me ajudaram de todas as formas possíveis, muito obrigado.

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello-Filho pela orientação, ensinamento, amizade e confiabilidade a mim depositada. Pela paciência e por propiciar a realização desse trabalho. Agradeço o seu empenho em refinar e contornar as arestas desse trabalho valioso, pois muitas sugestões e idéias suas estão incorporadas nesse trabalho. Essas são minhas sinceras gratidões, obrigado.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria pelo apoio durante a ausência do professor Dr. Orlando Fatibello-Filho no período de seu pós-doutorado e pelos debates e discussões produtivas desencadeadas ao longo desse trabalho e por aceitar o convite como membro da comissão examinadora.

Ao professor Dr. Fábio R. P. Rocha, por ter dedicado uma parte de seu tempo na correção dessa dissertação como membro efetivo da banca examinadora, muito obrigado.

Aos professores Dr. Edenir R. Pereira Filho e Dra. Helena R. Pezza por aceitarem o convite como membros da comissão examinadora da banca de mestrado, muito obrigado.

Aos professor Dr. Joaquim A. Nóbrega e Dra. Regina Vincenzi Oliveira pelas idéias e sugestões durante o seminário de qualificação, aos quais sou grato.

Ao meu companheiro de trabalho, Tiago B. Guerreiro, por toda a ajuda incalculável e pela troca de idéias e conhecimento.

Aos meus amigos Amália G. G. Dionísio e Osmundo Dantas pôr terem me recebido em São Carlos com muito carinho e afeto. Sou muito grato a vocês, um abraço e que Deus abençoe vocês.

Ao meu amigo Willian Toito Suarez pela ajuda no experimental e pela amizade construída. Um abraço “metal” para você.

A todos os meus amigos do LABBES & LABBIE pela amizade adquirida nesses dois anos, muito obrigado à todos vocês.

A todos do Programa de Pós-graduação em Química da UFSCar.

A CAPES pelo financiamento desse trabalho e pela bolsa concedida.

Aos meus amigos da família LAQA-UFPB, o qual tenho enorme prazer de retornar sempre, onde construí muito do perfil como pessoa e como profissional. Muito obrigado a todos vocês.

Aos meus amigos Josué, Josinalva e família pela excelente amizade construída para toda a vida.

A todos da Igreja Batista Peniel pelas orações, comunhão, amizade, ajuda e compreensão.

Muito obrigado.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica (do inglês, <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>)
APV	Álcool polivinílico
ASTM	Sociedade Americana para teste e materiais (do inglês, <i>American Society for Testing and Materials</i>)
ASTG	Ácido Silicotungstico
AU	Unidades de Atenuação (do inglês, <i>Attenuation Units</i>)
BU	Unidade de retroespalhamento (do inglês, <i>Backscatter Unit</i>)
CCD	Dispositivo de carga acoplado (do inglês, <i>Charge Coupled Device</i>)
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo
CPU	Unidade de processamento central (Central Processing Unit)
EPROM	Memória apenas de leitura de programas que podem ser apagadas (do inglês, <i>Erasable Program Read Only Memory</i>)
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês, <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
FAU	Unidades de atenuação de formazina (do inglês, <i>Formazin Attenuation Units</i>)
FBU	Unidades de retroespalhamento de formazina (do inglês, <i>Formazin Backscatter Units</i>)
FIA	Análise por injeção em fluxo (do inglês, <i>Flow Injection Analysis</i>)
FNMU	Unidades de múltiplos feixes nefelométrico de formazina (do inglês, <i>Formazin Nephelometric multibeam Units</i>)
FNU	Unidade nefelométrica de formazina (do inglês, <i>Formazin Nephelometric Unit</i>)
FNRU	Unidades de razão nefelométrica de formazina (do inglês, <i>FNRU - Formazin Nephelometric Ratio Units</i>)
GND	Potencial de 0,0 V (terra) do inglês <i>Ground</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
ICP	Plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma</i>)
ICP AES	Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry</i>)
ICP AES-HG	Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado com geração de hidretos (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry Hydride</i>)

	<i>Generation)</i>
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
IR	Infravermelho (do inglês, <i>Infrared</i>)
ISO	Organização Internacional de Padronização (do inglês, <i>International Standard Organization</i>)
LASER	Luz amplificada por emissão estimulada de radiação (do inglês <i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>)
LCD	Amostrador de cristal líquido (do inglês, <i>Liquid Crystal Display</i>)
LED	Diodos que emitem luz (do inglês, <i>Light Emitting Diode</i>)
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MEBAK	Sigla Européia referente à (<i>Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission, Central European brew-technical analysis commission</i>)
PMTN	Portátil Microcontrolado Turbidímetro - Nefelômetro (<i>PMTN</i> do inglês, <i>Portable Microcontrolled Turbidimeter Nephelometer</i>)
NTMU	Unidade de múltiplos feixes de turbidez e Nefelométrica (do inglês, <i>Nephelometric Turbidity Multibeam Unit</i>)
NTRU	Unidade de razão de turbidez e nefelométrica (do inglês, <i>Nephelometric Turbidity Ratio Unit</i>)
NTU	Unidade de turbidez e nefelométrica (do inglês, <i>Nephelometric Turbidity Unit</i>)
PIC	Controlador de interface periférica (do inglês, <i>Peripheral Interface Controller</i>)
PEG	Polietilenoglicol
RAM	Memória de acesso randômico (do inglês, <i>Random Access Memory</i>)
RE	Erro relativo (do inglês, <i>Relative Error</i>)
REM	Radiação eletromagnética
RGB	Azul, verde e vermelho (do inglês, <i>Red, Green and Blue</i>)
RSD	Desvio padrão relativo (do inglês, <i>Relative Standard Deviation</i>)
USB	Do inglês <i>Universal Serial Bus</i>
USEPA	Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (do inglês, <i>United States Environmental Protection Agency</i>)
UV-Vis	Ultravioleta - Visível
WHO	Organização Mundial de Saúde (<i>World Health Organization</i>)

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1.1 - Espectro eletromagnético e fenômenos associados.....	4
TABELA 1.1.2 - Radiações do espectro visível e cor complementar	5
TABELA 1.1.3 - Classificação dos métodos espectroquímicos.....	6
TABELA 1.3 - Normas internacionais.....	16
TABELA 1.4.2 - Pesquisa realizada para o período de 1970 - 2009 envolvendo o conteúdo abordado no presente trabalho.....	19
TABELA 3.2 - Listagem dos equipamentos e acessórios utilizados.....	36
TABELA 3.2.1 - Lista de dispositivos e componentes eletrônicos utilizados.....	37
TABELA 3.7.1 - Modelo dos ensaios a serem realizados e os níveis das variáveis.....	52
TABELA 3.7.1.1 - Níveis das variáveis estudadas para sulfato.....	53
TABELA 3.7.1.2 - Variáveis estudadas para determinar N-act.....	53
TABELA 3.7.1.3 - Níveis das variáveis estudadas para determinar K ⁺	54
TABELA 3.7.1.4 - Níveis das variáveis estudadas para determinar tiamina.....	55
TABELA 3.7.2 - Níveis das variáveis para o planejamento de captopril.....	55
TABELA 3.7.2.1 - Variáveis estudadas para determinar captopril.....	56
TABELA 4.2 - Especificações técnicas do equipamento proposto.....	64
TABELA 4.3.1.2 - Efeito dos concomitantes na análise turbidimétrica de sulfato	67
TABELA 4.3.1.3 - Estudos de adição e recuperação para amostras de água da represa do Lago Monjolinho (UFSCar).....	68
TABELA 4.3.1.4 - Parâmetros da metodologia aplicada para a determinação de sulfato em águas.....	69
TABELA 4.3.1.4a - Parâmetros nefelométricos para a determinação de sulfato em águas.....	70
TABELA 4.3.1.5.1 - Parâmetros obtidos com o equipamento comercial da Shimadzu.....	72
TABELA 4.3.1.5.2 - Parâmetros referentes ao método turbidimétrico utilizando o equipamento da <i>Ocean Optics</i>	73
TABELA 4.3.1.5.2a - Parâmetros da metodologia aplicada para a determinação de sulfato em águas empregando um espectrofotômetro UV-Vis da Ocean Optics	74
TABELA 4.3.1.6.1 - Resultados obtidos pela aplicação do método turbidimétrico para a determinação de sulfato em amostras de águas de lago fortificadas.....	76
Tabela 4.3.1.6.1a - Teste F e Teste t pareado para as amostras de águas.....	76

TABELA 4.3.1.6.2 - Determinação de sulfato em amostras de água por nefelometria empregando-se os equipamentos <i>PMTN</i> e Ep2 (espectrofotômetro 2).....	77
TABELA 4.3.2.2 - Possíveis Interferentes para a determinação de N-acetilcisteína em módulo turbidimétrico (405 nm).....	79
TABELA 4.3.2.3 - Adição e recuperação de N-acetilcisteína em fármacos.....	80
TABELA 4.3.2.4 - Figuras de mérito referentes à aplicação do método turbidimétrico para determinação de N-acetilcisteína.....	82
TABELA- 4.3.2.4a - Figuras de mérito obtidas pelo emprego do método nefelométrico para determinação de N-acetilcisteína.....	83
TABELA 4.3.2.5 - Resultados obtidos com o método potenciométrico e com o <i>PMTN</i> em módulo turbidimétrico.....	84
TABELA 4.3.2.5a - Resultados obtidos com o método potenciométrico e o com o <i>PMTN</i> em módulo nefelométrico.....	84
Tabela 4.3.3.2 - Possíveis Interferentes de K^+ analisados por nefelometria.....	86
Tabela 4.3.3.3. - Adição e recuperação de K^+ em amostras de água de coco (A1) e energéticos A2 e A3.....	87
TABELA 4.3.3.4 - Principais parâmetros referentes à aplicação do método turbidimétrico para determinação de potássio (K^+).....	88
Tabela 4.3.3.4a - Principais figuras de mérito referentes à aplicação do método nefelométrico (470 nm) para determinação de potássio (K^+).....	89
TABELA 4.3.3.5 - Amostras de potássio em águas de coco (A1) e em amostras de energéticos (A2 e A3) determinadas por AAS e turbidimetria (405 nm).....	91
TABELA 4.3.3.5a - Amostras de potássio em águas de coco (A1) e em amostras de energéticos (A2 e A3) determinadas por AAS e nefelometria (470 nm).....	91
TABELA 4.3.4.2 - Possíveis Interferentes para análise de tiamina por nefelometria (470 nm).....	93
TABELA 4.3.4.3 - Adição e recuperação de tiamina em fármacos empregando o método nefelométrico (470 nm).....	94
TABELA 4.3.4.4 - Principais figuras de méritos referentes à aplicação do método turbidimétrico para a determinação de tiamina.....	95
TABELA 4.3.4.4a - Principais figuras de mérito referentes à aplicação nefelométrica (470 nm).....	96

TABELA 4.3.4.5 - Amostras de tiamina em fármacos analisadas por meio da aplicação dos métodos de voltametria de pulso diferencial (comparativo) e turbidimétrico (405 nm).....	98
TABELA 4.3.4.5a - Amostras de tiamina em fármacos analisadas por voltametria de pulso diferencial (comparativo) e nefelometria (470 nm).....	98
Tabela 4.3.5.2 - Possíveis interferentes para a determinação nefelométrica (470 nm) de captopril.....	100
TABELA 4.3.5.3 - Adição e recuperação utilizando o <i>PMTN</i> em módulo nefelométrico (470 nm).....	101
TABELA 4.3.5.4 - Figuras de méritos referentes ao emprego do <i>PMTN</i> operando por meio do método turbidimétrico (405 nm) para a determinação de captopril	102
TABELA 4.3.5.4a - Figuras de mérito para a determinação nefelométrica de captopril (CAP) em fármacos.....	103
TABELA 4.3.5.5 - Amostras de captopril em fármacos determinadas pelo método comparativo e por turbidimetria (405 nm) empregando o <i>PMTN</i>	105
TABELA 4.3.5.5a - Amostras de captopril em fármacos determinadas pelo método comparativo e por nefelometria (470 nm).....	106

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1.1 - Propagação da radiação eletromagnética.....	2
FIGURA 1.2 - Diagrama de blocos de instrumentos convencionais.....	10
FIGURA 1.3 - Ilustração mostrando o espalhamento de REM e a posição do detector em relação à fonte de radiação incidente.....	15
FIGURA 1.4.2 - Multidisciplinaridade referente aos diversos campos de trabalho...18	
FIGURA 1.5.2 - Fórmula estrutural da N-acetilcisteína.....	23
FIGURA 1.5.4 - Fórmula estrutura da molécula de tiamina.....	25
FIGURA 1.5.5 - Fórmula estrutural do captopril.....	26
FIGURA 3.3.1 - Espectro de emissão dos LEDs utilizados neste projeto.....	38
FIGURA 3.3.1a - Espectro de emissão do LED IR (880 nm).....	39
FIGURA 3.3.2 - Curva de resposta dos sensores da linha TSLX25721(TAOS).....	40
FIGURA 3.3.2a - Circuito equivalente do sensor TSLB257 TAOS.....	40
FIGURA 3.3.2b - Curva de resposta do sensor IR TSL260R-LF TAOS.....	41
FIGURA 3.3.3 - Configuração dos pinos do PIC18F4550.....	42
FIGURA 3.3.4 - Fotografia da placa de estudos.....	43
FIGURA 3.3.5 - Diagrama de blocos do circuito eletrônico do equipamento proposto (PMTN).....	44
FIGURA 3.3.6 - Fotografia do compartimento óptico desenvolvido.....	46
FIGURA 3.3.7 - Diagrama de bloco das funções do programa utilizado.....	48
FIGURA 3.3.8 - Fotografia do equipamento portátil construído com módulo de bateria.....	49
FIGURA 3.7.1.1 - Reação química entre íons sulfato e bário.....	52
FIGURA 3.7.1.2 - Reação química entre N-acetilcisteína e íons Cu^{2+}	53
FIGURA 3.7.1.3 - Reação química entre íons potássio e tetrafenilborato.....	54
FIGURA 3.7.1.4 - Reação entre os íons provenientes do cloridrato de tiamina e do ácido silicotungstico.....	55
FIGURA 3.7.2.1 - Reação entre os íons prata e captopril.....	56
FIGURA 4.1.1 - Avaliação da estabilidade do PMTN.....	58
FIGURA 4.1.1a - Avaliação da relação sinal ruído.....	59
FIGURA 4.1.2 - Avaliação da estabilidade para o PMTN em módulo de bateria.....	60
FIGURA 4.1.4 - Programa fornecido pela interface NI USB-6008 mostrando o sinal pulsado fornecido pelo PMTN.....	62

FIGURA 4.2 - Curva de calibração turbidimétrica e nefelométricas.....	63
FIGURA 4.3.1.1 – Gráfico dos efeitos do planejamento fatorial com ponto central para o estudo de sulfato em água.....	65
FIGURA 4.3.1.4 - Curva de calibração para determinação turbidimétrica (405 nm) de sulfato.....	69
FIGURA 4.3.1.4a - Curva de calibração para determinação de sulfato no módulo nefelométrico com medida em 470 nm.....	70
FIGURA 4.3.1.5.1 - Curva analítica para determinação de sulfato obtida com um espectrofotômetro de duplo feixe SHIMADZU com medida em 405 nm.....	71
FIGURA 4.3.1.5.2 - Curva de calibração para determinação de sulfato no espectrofotômetro Ocean Optics.....	73
FIGURA 4.3.1.5.2a - Curva de calibração para sulfato no espectrofotômetro Ocean Optics com medida nefelométrica em 470 nm.....	74
FIGURA 4.3.2.1 - Gráfico dos efeitos para o planejamento de N-acetilcisteína.....	78
FIGURA 4.3.2.4 - Curva de calibração para determinação de N-acetilcisteína no módulo turbidimétrico medido em 405 nm.....	81
FIGURA 4.3.2.4a - Curva de calibração para N-acetilcisteína no módulo nefelométrico (470 nm).....	82
FIGURA. 4.3.2.5 - Titulação condutométrica de N-acetilcisteína com Cu^{2+}	83
FIGURA 4.3.3.1 - Gráfico dos efeitos para o planejamento fatorial 2^4 com 3 réplicas no ponto central para a determinação de potássio.....	85
FIGURA 4.3.3.4 - Curva analítica para determinação de potássio no módulo turbidimétrico.....	88
FIGURA 4.3.3.4a - Curva de calibração para potássio no módulo nefelométrico.....	89
FIGURA 4.3.3.5 - Curva analítica para determinação de potássio pelo técnica de absorção atômica com chama.....	90
FIGURA 4.3.4.1 - Gráfico dos efeitos para a determinação de tiamina em fármacos, empregando o método turbidimétrico (405 nm).....	92
FIGURA 4.3.4.4 - Curva analítica para determinação de tiamina por meio da aplicação do método turbidimétrico (405 nm).....	95
FIGURA 4.3.4.4a - Curva analítica para determinação de tiamina aplicando o módulo nefelométrico.....	96
FIGURA 4.3.4.5 - Curva analítica para determinação de tiamina obtida com voltametria de pulso diferencial.....	97

FIGURA 4.3.5.1 - Gráfico dos efeitos utilizando o método turbidimétrico para análise de captopril em fármacos.....	99
FIGURA 4.3.5.4 - Curva analítica para a determinação de captopril em fármacos empregando o método turbidimétrico.....	102
FIGURA 4.3.5.4a - Curva analítica para a determinação de captopril por meio da aplicação do método nefelométrico em 470 nm.....	103
FIGURA 4.3.5.5 - Gráficos da primeira derivada do potencial obtido Vs. a adição do titulante.....	104

RESUMO

CONSTRUÇÃO E APLICAÇÃO DE UM TURBIDÍMETRO / NEFELÔMETRO MICROCONTROLADO PORTÁTIL. A necessidade de um equipamento portátil, simples, de baixo custo e com boa sensibilidade para análises turbidimétricas e/ou nefelométricas de modo praticamente simultâneo motivou o desenvolvimento da presente dissertação de mestrado. Com esse equipamento, foi possível a realização de determinações de substâncias químicas de interesse (analitos) *in-situ* e em tempo real. Esse tipo de determinação é requerido principalmente em situações onde o deslocamento ao local é difícil, ou até mesmo, em circunstâncias nas quais as características físico-químicas das amostras devem ser rigorosamente inalteradas. Neste contexto, o equipamento foi aplicado na determinação de sulfato em águas de lago com análise em tempo real e no local de coleta. Analitos de interesse como N-acetilcisteína, captopril e tiamina em amostras farmacêuticas e potássio em bebidas também foram determinados com o emprego da instrumentação desenvolvida. O equipamento, intitulado *PMTN* (do inglês *Portable Microcontrolled Turbidimeter Nephelometer*), é composto principalmente por *LEDs* (do inglês *Light Emitting Diodes*), fototransistores como sensores ópticos e um microcontrolador *PIC* (*Peripheral Interface Controller*) como unidade de processamento, controle e aquisição de dados. O *PMTN* foi devidamente testado e calibrado conforme as normas exigidas pela ISO 7027 para equipamento à base de *LEDs* como fonte de radiação. Devidamente calibrado, o *PMTN* foi aplicado para determinações dos analitos supracitados e comparado com os métodos de referência ou métodos validados para cada analito descritos na literatura. Em todas as aplicações, os resultados obtidos empregando-se o equipamento foram concordantes a um nível de confiança de 95 %. Os limites de detecção e de quantificação para a determinação dos diversos analitos foram compatíveis e em alguns casos melhores que os encontrados na literatura. Em média duas décadas de faixa linear de concentração e uma reprodutibilidade (*RSD*) menor que 3,0 % com erros relativos em média menores que 5,0 % também foram obtidos.

ABSTRACT

CONSTRUCTION AND APPLICATION OF A PORTABLE MICROCONTROLLED TURBIDIMETER NEPHELOMETER. Development of a portable, simple and inexpensive equipment with adequate sensitivity for turbidimetric and/or nephelometric sequential analyses practically simultaneous is the aim of this study. In fact, *in-situ* and on-line analysis of chemical substances of interest (analytes) can be accomplished. This is requested mainly in situations in which the place is difficult to access or even in circumstances in which the physical- chemical characteristics of the samples should be unchanged. Thus, the equipment was applied *in-situ* sulfate determination in lake samples. Analytes of interest such as N-acetylcysteine, captopril and thiamine in pharmaceutical samples and potassium in isotonic beverages were also analyzed with the developed instrumentation. The PMTN (Portable Microcontrolled Turbidimeter Nephelometer) is made of LEDs (Light Emitting Diodes) as radiation sources, phototransistors as optical sensors and a PIC microcontroller (Peripheral Interface Controller) as processing unit for control and data acquisition. The PMTN was tested and calibrated properly according to the norms establish by ISO 7027 for equipment base on LEDs as radiation source. The PMTN was applied to determine the concentration of analytes and compared with the reference or validated methods for each analyte, as described in the literature. In general, results agreed at the 95% confidence level were obtained. The detection limits and quantification for the determination of the several analytes were agreed with in some better cases than those found in the literature. On average, the PMTN furnished two decades of linear range of concentration and a reproducibility (RSD) lower than 3.0 % with an average error of less than 5.0 % were also obtained.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	1
1.1- Fundamentação teórica.....	2
1.1.1 - Radiação eletromagnética (REM).....	2
1.1.2 - Cor complementar.....	4
1.1.3 - Métodos Espectrométricos.....	5
1.1.3.1 - Análise Turbidimétrica.....	7
1.1.3.2 - Análise Nefelométrica.....	9
1.2 - Instrumentação convencional utilizada nas determinações turbidimétricas e nefelométricas.....	9
1.2.1 - Fontes de radiação.....	10
1.2.1.1 - Definição e funcionamento dos diodos emissores de luz.....	11
1.2.2 - Sistema seletor de comprimento de onda.....	12
1.2.3 - Dispositivo para conter a amostra (cubeta).....	12
1.2.4 - Principais características dos fotodetectores.....	13
1.2.4.1 - Fototransistores e mecanismo de funcionamento.....	14
1.2.5 - Dispositivo para aquisição de dados, interface e comunicação máquina - usuário.....	14
1.3 - Instrumentação específica para determinações turbidimétrica ou nefelométrica com calibração internacional.....	14
1.4 - Introdução a sistemas microcontrolados.....	17
1.4.1 - Campo de aplicação dos microcontroladores.....	18
1.4.2 - Revisão bibliográfica referente ao uso de <i>LED</i> e <i>PIC</i>	18
1.5 - Revisão bibliográfica dos analitos estudados.....	21
1.5.1 - Determinação de sulfato.....	21
1.5.2 - Determinação de N-acetilcisteína.....	23
1.5.3 - Determinação de potássio.....	24
1.5.4 - Determinação de tiamina.....	25
1.5.5 - Determinação de captopril.....	26
1.6 - Introdução a planejamentos quimiométricos.....	28
CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS.....	29
2.1 - Objetivos gerais.....	30
2.2 - Objetivos específicos.....	30
CAPÍTULO 3 - EXPERIMENTAL.....	31

3.1 - Reagentes, soluções e preparo das amostras.....	32
3.1.1 - Determinação de sulfato.....	32
3.1.2 - Determinação de N-acetilcisteína.....	32
3.1.3 - Determinação de potássio.....	33
3.1.4 - Determinação de vitamina B ₁	34
3.1.5 - Determinação de captopril usando íons prata (Ag ⁺) como reagente.....	34
3.1.6 - Reagentes e soluções de utilização comum.....	35
3.2 - Equipamentos e acessórios.....	36
3.2.1 - Componentes eletrônicos e materiais em geral para a confecção do <i>PMTN</i>	36
3.3 - Construção e desenvolvimento do Turbidímetro / Nefelômetro Microcontrolado Portátil.....	37
3.3.1 - Estudo sobre <i>LEDs</i>	37
3.3.2 - Estudos sobre os sensores do <i>PMTN</i>	40
3.3.3 - Microcontrolador <i>PIC</i> utilizado.....	42
3.3.4 - Placa de estudos.....	43
3.3.5 - Circuito eletrônico de <i>PMTN</i>	43
3.3.6 - Compartimento óptico.....	46
3.3.7 - Programa TURB03 desenvolvido para o <i>PMTN</i>	47
3.3.8 - Equipamento construído - <i>PMTN</i>	49
3.4 - Teste de estabilidade de sinal.....	50
3.5 - Procedimento de análise.....	50
3.6 - Calibração do equipamento com padrão turbidimétrico.....	51
3.7 - Aplicações analíticas.....	51
3.7.1 - Planejamento experimental 2 ⁴ com ponto central para a determinação de sulfato, N-acetilcisteína, potássio e tiamina.....	51
3.7.1.1 - Determinação de sulfato em amostras de água de lago.....	52
3.7.1.2- Determinação de N- acetilcisteína em fármacos comerciais.....	53
3.7.1.3 - Determinação de potássio em alimentos.....	54
3.7.1.4 - Determinação de tiamina em fármacos comerciais.....	54
3.7.2 - Planejamento fatorial 2 ³ com ponto central para otimização das variáveis na determinação de Captopril.....	55
3.7.2.1 - Determinação de captopril em fármacos comerciais.....	56
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57

4.1 - Teste de estabilidade do <i>PMTN</i>	58
4.1.1 - <i>PMTN</i> ligado a rede elétrica.....	58
4.1.2 - <i>PMTN</i> em módulo de bateria.....	60
4.1.3 - Teste de estabilidade com um multímetro digital.....	61
4.1.4 - Teste de estabilidade com um microcomputador.....	62
4.2 - Calibração do <i>PMTN</i>	63
4.3 - Resultados das aplicações analíticas no <i>PMTN</i>	65
4.3.1 - Determinação de sulfato em águas.....	65
4.3.1.1 - Planejamento fatorial 2^4 com ponto central.....	65
4.3.1.2 - Estudo de interferentes em potencial em amostras de água.....	67
4.3.1.3 - Estudo de adição e recuperação	68
4.3.1.4 - Curvas analíticas para a determinação de sulfato em águas.....	68
4.3.1.5 - Método de referência.....	71
4.3.1.5.1 - Curva analítica para a determinação de sulfato aplicando o método turbidimétrico empregando utilizando equipamento comercial.....	71
4.3.1.5.2 - Curva analítica para a determinação de sulfato aplicando os métodos turbidimétrico e nefelométricos empregando outro espectrofotômetro comercial.....	72
4.3.1.6 - Determinações turbidimétricas e nefelométricas de sulfato em amostras de águas de lago.....	75
4.3.1.6.1 - Amostras analisadas pelo método turbidimétrico.....	76
4.3.1.6.2 - Determinação de sulfato em água empregando-se o método nefelométrico com equipamento em campo.....	77
4.3.2 - Determinação de N-acetilcisteína.....	78
4.3.2.1 - Planejamento quimiométrico.....	78
4.3.2.2 - Estudo de interferentes em potencial para a determinação de N-acetilcisteína em amostras farmacêuticas.....	79
4.3.2.3 - Estudos de adição e recuperação.....	80
4.3.2.4 - Curvas analíticas para a determinação de N-acetilcisteína.....	81
4.3.2.5 - Determinação de N-acetilcisteína em amostras farmacêuticas.....	83
4.3.3 - Determinação de potássio.....	85
4.3.3.1 - Planejamento fatorial 2^4 com ponto central.....	85
4.3.3.2 - Estudo de interferentes em potencial na determinação de potássio em amostras de água de coco e energéticos.....	86

4.3.3.3 - Estudos de adição e recuperação.....	87
4.3.3.4 - Curvas analíticas para a determinação de potássio.....	88
4.3.3.5 - Determinação de potássio em amostras de água de coco e energéticos.....	90
4.3.4 - Determinação de tiamina.....	92
4.3.4.1 - Planejamento fatorial.....	92
4.3.4.2 - Estudo de interferentes em potencial na determinação de tiamina em fármacos.....	93
4.3.4.3 - Estudo de adição e recuperação.....	94
4.3.4.4 - Curvas analíticas para a determinação de tiamina.....	95
4.3.4.5 - Determinação de tiamina em amostras farmacêuticas.....	97
4.3.5 - Determinação de captopil.....	99
4.3.5.1 - Planejamento fatorial completo 2^3 com ponto central.....	99
4.3.5.2 - Estudos de possíveis Interferentes em potencial.....	100
4.3.5.3 - Adição e recuperação de captopril em fármacos.....	101
4.3.5.4 - Curvas analíticas para a determinação de captopril.....	102
4.3.5.5 - Determinação de captopril em amostras farmacêuticas.....	104
CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES.....	107
5. Conclusões.....	108
CAPÍTULO 6 - TRATAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS E PROPORSTAS FUTURAS.....	110
6.1 - Tratamento dos resíduos gerados.....	111
6.2 - Propostas futuras - análise com micro-fluídica.....	111
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	112
APÊNDICES.....	123

Capítulo 1: Introdução

1- Introdução

1.1 - Fundamentação teórica

A radiação eletromagnética e suas propriedades fornecem embasamento teórico para muitos fenômenos descritos nessa dissertação de mestrado e, portanto, é necessária uma breve elucidação de suas principais características¹.

1.1.1 - Radiação eletromagnética (REM)

A REM pode ser definida como uma forma de energia que se propaga de um ponto a outro em um meio material. Em determinadas situações, pode apresentar características de onda (ondulatórias), como interferência e espalhamento ou de partícula (corpúsculares) como efeito fotoelétrico e absorção molecular, apresentando, portanto, um comportamento dual. A física clássica considera a REM como sendo composta por ondas e a física moderna como composta por partículas, cada uma dessas observam suas propriedades em diferentes fenômenos e em situações distintas nas quais cada teoria é melhor definida².

A definição clássica da REM a representa como sendo uma onda que possui um campo elétrico (E) e magnético (B) que oscilam de forma senoidal em planos ortogonais entre si e em relação ao plano de propagação da onda em fase, como são mostrados na Figura 1.1.1 a seguir:

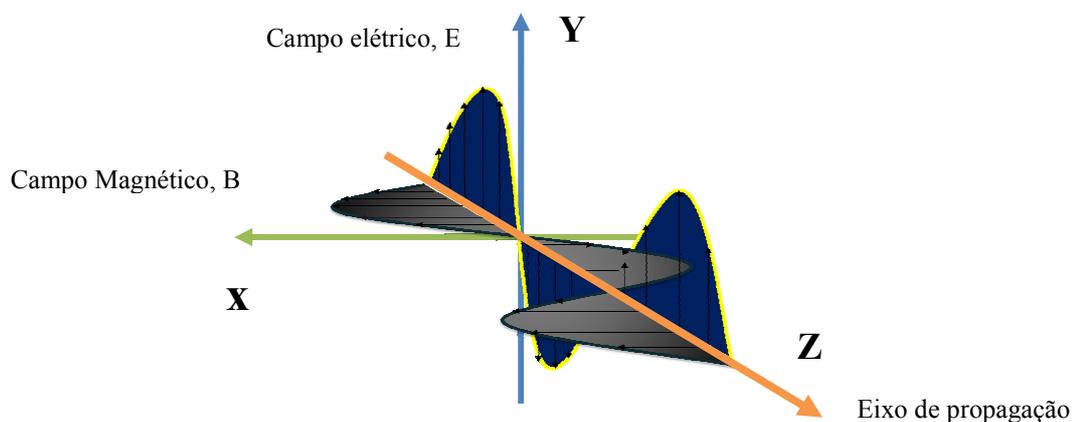


FIGURA 1.1.1 - Propagação da radiação eletromagnética.

O movimento ondulatório é caracterizado por alguns parâmetros como comprimento de onda (λ), período (p), frequência (ν), velocidade da onda (V), sendo que no vácuo a velocidade de uma onda independe de ν e alcança o seu valor máximo em 299. 792. 458 m / s, índice de refração (η), amplitude (A) e potência radiante (P).

As propriedades corpusculares da REM são definidas e explicadas por alguns experimentos que comprovam sua interação com a matéria. Os fenômenos de efeito Compton, efeito fotoelétrico, absorção e emissão de radiação por um átomo ou por uma molécula (absorção e emissão atômica e molecular) são exemplos dos fenômenos que caracterizam a teoria corpuscular da REM. Segundo a teoria moderna, a REM é constituída por pacotes de energia denominados de fótons, cuja equação é a seguinte:

$$E = h\nu \text{ (equação de Planck) Equação - 1.1.1}$$

Sendo h a constante de Planck ($h = 6,6256 \times 10^{-34}$ J s) e ν a frequência de radiação (em s^{-1} ou Hz).

Concernente às discussões referidas acima, o comportamento dual é um fato comprovado e a REM apresenta diferentes comportamentos mediante a natureza do fenômeno experimental observado.

Ao longo da presente dissertação de mestrado ambos os comportamentos ondulatórios e corpusculares são observados, pois os fenômenos de espalhamento devido à presença de partículas em suspensão e absorção de REM por moléculas absorventes são corriqueiramente estudados.

A seguir é mostrado na Tabela 1.1.1 o espectro das REMs descritas na presente dissertação.

TABELA 1.1.1 - Espectro eletromagnético e fenômenos associados³.

REM	Comprimento de onda (λ)	Frequência (ν) em Hertz (Hz)	Transição
Raios- γ	$< 0,05 \text{ \AA}^{\circ}$	$> 6,0 \times 10^{19}$	Nuclear
Raios-X	$0,05 - 100 \text{ \AA}^{\circ}$	$3,0 \times 10^{16} - 6,0 \times 10^{19}$	Elétrons K e L fortemente atraídos pelo núcleo
Ultra-violeta	$10 - 400 \text{ nm}$	$7,5 \times 10^{14} - 3,0 \times 10^{16}$	Elétrons de média atração e elétrons de Valência
Visível	$400 - 770 \text{ nm}$	$3,9 \times 10^{14} - 7,5 \times 10^{14}$	Elétrons de valência
Infravermelho	$0,77 - 1000 \text{ }\mu\text{m}$	$3,0 \times 10^{11} - 3,9 \times 10^{14}$	Vibração molecular à rotação molecular
Microondas	$1 - 300 \text{ mm}$	$1,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{11}$	Rotação molecular
Ondas de rádio	$> 300 \text{ mm}$	$< 1,0 \times 10^9$	Elétrons e spin nuclear

As regiões definidas como visível e infravermelho do espectro eletromagnético apresentadas na Tabela 1.1.1 constituem o principal foco das discussões encontradas na dissertação, pois fornecem o embasamento teórico para a descrição das técnicas ópticas de análises aplicadas no presente trabalho.

A seguir é dada uma breve descrição do conceito de complementar. Discutido no âmbito da radiação visível, o conhecimento desse conceito é de fundamental importância para a interpretação de muitos fenômenos de absorção. Nesse trabalho, esse conceito será aplicado no estudo dos interferentes em potencial.

1.1.2 - Cor complementar^{1, 3, 4}

A luz branca que enxergamos é composta por radiações de vários comprimentos de onda, sendo assim chamada de luz policromática, como a luz do sol ou aquela emitida por um filamento incandescente de tungstênio em uma lâmpada. A luz antes de chegar aos nossos olhos é parcialmente absorvida e refletida pelas substâncias e objetos que visualizamos. A cor que enxergamos é a luz complementar da luz branca, ou seja, se o objeto é azul (vemos o objeto azul) ele absorve com maior intensidade a luz entre 465 - 482 nm (amarela) e absorve menos

os demais comprimentos de onda, sendo refletida assim com maior intensidade a luz azul. Na Tabela 1.1.2 é mostrado esse conceito para as demais cores da região do visível.

TABELA 1.1.2 - Radiações do espectro visível e a correspondente cor complementar (absorção mais intensa).

Faixas de λ (nm)	Cor visualizada	<i>Principal absorção</i>
400 – 465	Violeta	Verde-amarelo
465 – 482	Azul	Amarelo
482 – 487	Azul-esverdeado	Alaranjado
487 – 493	Turquesa	Vermelho-alaranjado
493 – 498	Verde-azulado	Vermelho
498 – 530	Verde	Vermelho-púrpura
530 – 559	Verde-amarelado	Púrpura-avermelhado
559 – 571	Amarelo-verde	Púrpura
571 – 576	Amarelo-esverdeado	Violeta
576 – 580	Amarelo	Azul
580 – 587	Laranja-amarelado	Azul
587 – 597	Alaranjado	Azul-esverdeado
597 – 617	Laranja-avermelhado	Turquesa
617 – 780	Vermelho	Turquesa

A cor complementar é um conceito importante para que o analista saiba e compreenda previamente em que região da radiação visível os experimentos devem ser conduzidos de forma rápida e prática. Entretanto, para determinar o comprimento de onda de máxima absorção de uma substância com apreciável exatidão, o analista pode recorrer a uma análise espectrofotométrica e registrar um espectro de absorção da substância em estudo. A seguir é mostrada uma classificação dos métodos espectroquímicos.

1.1. 3 - Métodos Espectrométricos³

A espectroscopia é um termo da ciência que detalha a interação dos diversos tipos de radiação eletromagnética com a matéria. Essa interação pode estar relacionada com uma variedade de fenômenos físico-químicos. Entretanto, esses métodos podem ser classificados em cinco classes principais, quatro dessas são baseadas na determinação direta da radiação eletromagnética (REM) e a outra é

chamada de método indireto, o qual usa propriedades não-ópticas para obter informações a respeito dos fenômenos ópticos, como mostrado na Tabela 1.1.3.

TABELA 1.1.3. Classificação dos métodos espectroquímicos.

Classe	Fenômeno medido	Exemplos de Técnicas
Emissão	Potência da radiação emitida, Φ_E	Emissão em chama e <i>ICP</i>
Absorção	Absorbância ou razão entre potência incidente e transmitida, $A = -\log(\Phi/\Phi_0)$	Absorção atômica e absorção no UV-Vis e IR
Luminescência	Potência da radiação luminescente, Φ_L	Fluorescência e fosforescência molecular, quimioluminescência e fluorescência atômica
Espalhamento	Potência da radiação espalhada, Φ_{Esp}	Turbidimetria, nefelometria e espalhamento Raman
Indireto	Varição de índice de refração, ondas acústicas, corrente iônica	Fotoacústica e fotoionização

ICP = Sigla em inglês referente à *Inductively Coupled Plasma* (Plasma indutivamente acoplado). UV-Vis e IR = Ultravioleta – Visível e infravermelho.

Emissão – As espécies do analito emitem específicas radiações eletromagnéticas em resposta a algum estímulo de excitação realizado em uma etapa anterior. Esta excitação pode ser estimulada por diversas formas dando origem as diferentes técnicas de emissão. Conforme as técnicas apresentadas na Tabela 1.1.3.

Absorção – Neste caso, as espécies absorvem a REM emitida por uma determinada fonte de radiação causando uma atenuação da mesma. De acordo com o tipo de espécie absorvente e de radiação envolvida dar-se origem às técnicas como absorção atômica e molecular no UV-Vis ou no IR.

Luminescência – É um grupo de técnicas baseadas na radiação emitida por uma espécie excitada, geralmente por uma fonte de radiação ou por uma reação química. As principais técnicas são citadas na Tabela 1.1.3.

Espalhamento – Quando o fenômeno de interesse está associado a medidas diretas ou indiretas da intensidade de radiação espalhada por uma solução, sem alterar a frequência da radiação incidente (espalhamento elástico), tem-se a

turbidimetria e a nefelometria. Por outro lado, a espectrofotometria Raman utiliza principalmente a radiação inelástica produzida pela interação entre a matéria e a REM (quando a frequência da REM incidente é alterada). O espalhamento elástico de REM por pequenas partículas, de mesma ordem de grandeza do comprimento de onda da radiação incidente é chamado de espalhamento Rayleigh. Nesse contexto, será dada ênfase para turbidimetria e nefelometria.

1.1.3.1 - Análise Turbidimétrica

A turbidimetria³ é uma técnica óptica essencialmente quantitativa baseada na atenuação da radiação incidente devido ao espalhamento da REM por partículas que se encontram em suspensão em um meio não absorvente. Para ser considerado um turbidímetro, o instrumento deve ter o detector posicionado em linha reta (180°) em relação à fonte de radiação utilizada.

Para que ocorra o fenômeno de espalhamento de REM, as partículas em suspensão devem possuir dimensões da ordem de grandeza do comprimento de onda da radiação incidente, normalmente com comprimento entre (10⁻⁹ e 10⁻⁶ m). Este espalhamento é proporcional à quantidade (concentração) das partículas que se encontram em suspensão⁵.

As medidas turbidimétricas têm como principais variáveis: comprimento de onda da radiação incidente, tamanho e forma das partículas e quantidade de matéria em suspensão. A expressão que relaciona a intensidade da radiação incidente com o coeficiente de turbidez é dada por⁶:

$$I = I_0 \cdot e^{-\tau r} \quad \text{Equação – 1.1.3.1}$$

Sendo, I a intensidade da radiação emergente, I₀ a intensidade da radiação incidente, τ a turbidez, ou coeficiente de turbidez e r o caminho óptico. O coeficiente de turbidez é um termo definido por:

$$\tau = \frac{16\pi}{3} R_{90^\circ} \quad \text{Equação – 1.1.3.1a}$$

Sendo R_{90°} o ângulo ou espalhamento Rayleigh, determinado pela Equação 1.1.3.1b.

$$\frac{I_r^2}{I_0} = \frac{8\pi^4\alpha^2}{\lambda^4} (1 + \cos^2\theta) = R_\theta(1 + \cos^2\theta) \text{ Equação – 1.1.3.1b}$$

Sendo, α a polarizabilidade da radiação (constante para uma fonte estável), λ o comprimento de onda da radiação incidente, θ o ângulo de medida (geralmente 90° ou 180°) e $R_\theta(1 + \cos^2\theta)$ é conhecido como razão de Rayleigh.

De acordo com as Equações 1.1.3.1a e b mantendo-se os devidos fatores constantes, o coeficiente de turbidez para uma determinada suspensão é mantido inalterado ao longo das análises e, portanto, a intensidade da radiação incidente varia apenas com a quantidade de matéria.

Correlacionando a Equação 1.1.3.1 com a lei de Lambert-Beer ^{1, 3} para absorção, pois a turbidez é freqüentemente linear para uma determinada faixa de concentração C , tem-se:

$$S = -\log\frac{I}{I_0} = K_p b C \text{ Equação – 1.1.3.1c}$$

Sendo, S a absorbância e k_p o coeficiente de partição, onde:

$$K_p = 2,303 \frac{\tau}{C} \text{ Equação – 1.1.3.1d}$$

Com uma dada solução padrão se determina a razão I / I_0 , pois b é fixo e C é conhecido. Uma curva analítica é normalmente utilizada para se determinar a concentração da espécie de interesse C que está relacionada com o coeficiente de turbidez τ .

Para que uma suspensão seja um padrão turbidimétrico é necessário que a mesma possua uma homogeneidade de tamanho das partículas semelhantes às encontradas nas amostras reais, de modo que as análises das soluções padrão sejam representativas das amostras. Uma suspensão padrão normalmente utilizada para calibração de particulado em água é a formazina⁷.

1.1.3.2 - Análise Nefelométrica

Diferentemente da turbidimetria, que é uma técnica baseada na atenuação da radiação incidente devido a partículas em suspensão, a nefelometria é uma técnica que mede a quantidade de radiação espalhada que chega ao detector localizado a um ângulo de 90° em relação à fonte de radiação^{1, 3, 5}.

Como pode ser visto na Equação 1.1.3.1c para a turbidimetria, a intensidade da radiação incidente não é proporcional à concentração, e sim o termo $-\log(I/I_0)$. Assim como I e I_0 variam proporcionalmente, um aumento na intensidade da fonte não aumentará o sinal analítico turbidimétrico. Todavia, para análises nefelométricas, existe uma relação linear entre a intensidade da radiação incidente (I_0) e a concentração, como mostrado na seguinte equação:

$$I = KI_0C \quad \text{Equação – 1.1.3.2}$$

Sendo K uma constante para um dado equipamento. Dessa forma, quanto mais intensa for a radiação incidente, maior será a magnitude da radiação espalhada que atingirá o detector localizado a 90° em relação à fonte de REM. Contudo, a sensibilidade do método analítico não depende exclusivamente da potência da radiação incidente e da sensibilidade do sensor, mas também das características da suspensão, como a forma e o tamanho das partículas em suspensão. Não obstante, a análise nefelométrica é indicada para suspensões diluídas, enquanto análise turbidimétrica para as suspensões mais concentradas^{5, 8}.

1.2- Instrumentação convencional utilizada nas determinações turbidimétricas e nefelométricas^{1, 3, 9}

A instrumentação aplicada nas determinações turbidimétricas é semelhante àquela adotada para as medidas de absorção molecular UV-Vis com comprimentos de onda geralmente entre 400 - 470 nm para os equipamentos convencionais. Em equipamentos mais modernos, as determinações são feitas naquele intervalo de comprimento de onda ou na região do Infravermelho (IR), geralmente próximo a 800 nm, conforme a necessidade do analista⁵. Todavia, para

nefelometria a configuração é um pouco diferente, o detector deve estar localizado a um ângulo de 90° em relação à fonte de radiação, portanto a instrumentação é semelhante à utilizada em equipamentos de fluorescência molecular. Contudo, a região espectral de análise é similar aquela empregada nas determinações turbidimétricas. Assim, salvo poucas diferenças, os equipamentos apresentam de forma geral, uma fonte de radiação estabilizada (1), um seletor de comprimento de onda (2), um dispositivo para conter a amostra (cubeta) – (3), um fotodetector (4) e um dispositivo para aquisição de dados, interface e comunicação máquina-usuário (5), conforme visto no diagrama da Figura 1.2.

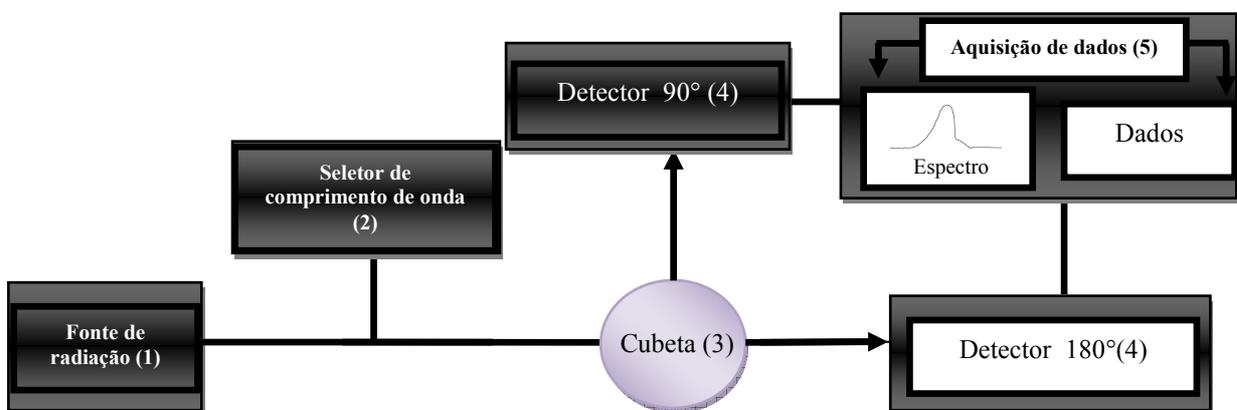


FIGURA 1.2 - Diagrama de blocos de instrumentos convencionais.

1.2.1 - Fontes de radiação

A fonte de radiação deve ser necessariamente estabilizada para não ocorrer oscilações da intensidade da REM ao longo das análises. Isso pode acarretar erros significativos e prejudicar a confiabilidade dos resultados. Além da estabilidade requerida, uma fonte de REM deve ter potência suficiente para garantir satisfatória luminosidade sobre a superfície do detector.

As fontes de REMs⁴ são classificadas como contínuas, aquelas que emitem radiações com diversas frequências (lâmpada com filamento de tungstênio – Vis -IR, lâmpadas de deutério e lâmpadas de arco de xenônio e argônio – UV-Vis) e as fontes de linha, aquelas que emitem um número limitado de radiações de diferentes frequências (lâmpadas de cátodo oco usadas em espectrofotômetros de absorção atômica). Além dessas, novas fontes de REM com alta tecnologia têm sido desenvolvidas como *LASER* (do inglês, *Light Amplification by Stimulated Emission of*

Radiation) e diodos emissores de luz (*LEDs*, do inglês *Light Emitting Diodes*) para a região do visível e infravermelho.

As fontes supramencionadas podem operar em dois regimes de tempo, o modo pulsado e o contínuo por meio de um sincronizador adequado.

Será dada ênfase em seguida as fontes de radiação a base de *LED*, fontes de REMs utilizadas na construção do equipamento proposto neste trabalho de mestrado.

1.2.1.1 - Definição e funcionamento dos diodos emissores de luz ³

LED é um dispositivo semicondutor eletroluminescente que quando submetido à passagem de corrente elétrica emite REM em uma estreita faixa de freqüências. Esse é caracterizado por possuir uma junção *p-n* (excesso (p) – falta de elétrons (n) em relação à camada de valência). Algumas dopagens tipo p são Al, Ga, In, Tl e do tipo n são Ar, Sb quando comparadas com o semicondutor.

Uma junção desse tipo permite assim o movimento dos pares elétrons-buracos (semicondutor com excesso e região com falta de elétrons) e o movimento dos elétrons na direção inversa sempre que o dispositivo é adequadamente polarizado. A difusão em direções opostas cria uma barreira à passagem dos portadores de carga gerando uma elevada resistência no dispositivo. Em outras palavras, essa elevada resistência causada pelo fluxo das espécies em direções opostas cria uma corrente chamada de corrente retificada. Corrente esta que só existe quando um potencial é aplicado e os elétrons migram em apenas um sentido haja vista a elevada resistência em percorrer no sentido contrário. Essa passagem de corrente excita os elétrons da banda de condução formando pares do tipo elétrons – espécies com falta de elétrons. Quando esses elétrons relaxam e retornam aos níveis de menor energia emitem luz na forma de REM, com $E = hv$.

Os *LEDs* são dispositivos caracterizados por emitirem REMs praticamente monocromáticas, com largura de banda geralmente da ordem de 20 nm. Baixo custo, facilidade de aquisição e manuseio são outras características desses dispositivos. Para acionar um *LED* é necessária apenas uma fonte de alimentação que polarize o catodo (-) e o anodo (+) normalmente entre 3,0 a 9,0 V e uma resistência para limitar a corrente geralmente na faixa de 10 – 300 mA. Atualmente, os *LEDs* apresentam suficiente eficiência luminosa, baixo consumo de

corrente e elevada vida útil (por volta de 100.000 horas), devido principalmente aos avanços nas ciências de materiais.

1.2.2 - Sistema seletor de comprimento de onda^{3, 4}

Para serem utilizadas em fotômetros ou espectrômetros, as radiações oriundas das fontes de radiação citadas na seção anterior necessitam ser a mais monocromática possível, conforme descrita na lei de Lambert-Beer. Para tal, sistemas seletores de comprimento de onda a base de filtros ópticos (absorção e interferência) como nos fotômetros e colorímetros ou monocromadores (a base de grades de difração, prismas ou redes holográficas) como nos espectrofotômetros podem ser utilizados. Esses últimos são normalmente utilizados em equipamentos que fazem a varredura de comprimento de onda e são capazes de fornecer um espectro eletromagnético em uma faixa de comprimento de onda variável. Contudo, são os principais responsáveis por encarecer diversos dos equipamentos comerciais.

Os filtros de absorção e interferência possuem baixa transmitância (geralmente entre 20 - 80 %) e apresentam uma largura de banda da ordem de 50 - 250 nm que pode ser relativamente larga para algumas aplicações, contribuindo assim no aumento da substituição dos mesmos pelos monocromadores. Os monocromadores possuem além dos elementos dispersores de REM citados acima, aparatos ópticos tais como lentes focalizadoras e colimadoras, fendas e arranjos de espelhos.

1.2.3 - Dispositivo para conter a amostra (cubeta)

Os dispositivos que contém as amostras podem ser de vidro, quartzo ou plásticos transparentes e incolores, uma vez que as análises turbidimétricas e nefelométricas convencionais são realizadas geralmente no intervalo de comprimento de ondas de 400 a 470 nm.

A cubeta deve estar sempre limpa, desengordurada e com menor quantidade de arranhões e ranhuras possíveis. Os arranhões e as ranhuras espalham a radiação incidente e podem provocar erros experimentais. As cubetas podem ser em fluxo ou em batelada e devem estar preferencialmente em um

compartimento separado para evitar a avaria do equipamento nos casos de vazamento das soluções.

1.2.4 - Principais características dos fotodetectores

A radiação ao ser emitida pela fonte apropriada é submetida a um sistema seletor de comprimento de onda como descrito anteriormente na seção 1.2.2, antes de interagir com o material contido na cubeta. Todavia, no caso de *LAZER* e *LED* como fontes de REM não há necessidade de tal dispositivo seletor devido à característica intrínseca dos mesmos de serem praticamente monocromáticos³. A REM emitida pela fonte interage com a amostra e atinge a superfície foto-sensível dos fototransdutores, produzindo uma corrente no canal emissor¹⁰. Atualmente, existem diversos tipos de fotodetectores que podem ser divididos entre dispositivo foto - emissivos (fotomultiplicadoras, fototubos), dispositivo de junção *p-n* (fotodiodos e fototransistores), células foto-condutivas, células fotovoltaicas e transdutores de transferência de carga tipo *CCD* do inglês, *Charge Coupled Device* ou do tipo *CID* do inglês, *Charge Injection Device*.

Para que o foto-sensor seja empregado em aplicações analíticas é necessário que o mesmo apresente uma relação linear entre a intensidade da REM incidente sobre sua superfície e a corrente gerada no canal emissor. Além disso, o detector deve ter uma sensibilidade coerente com a aplicação em questão, resposta rápida, facilidade de amplificação e interface com outros periféricos. Outro fator importante é que a variação da REM incidente sobre a superfície do detector deve ser exclusivamente da interação com a matéria em análise para evitar que radiações espúrias sejam detectadas. Dessa maneira, os sensores ópticos devem ser rigorosamente protegidos de REM externas. Entre os tipos de fotodetectores mencionados será dada ênfase a fototransistores como sensor óptico.

1.2.4.1 - Fototransistores e mecanismo de funcionamento^{3, 9}

No fotodiodo a absorção de REM dar-se-á na junção *p-n*. A REM incidente causa uma excitação dos elétrons da banda de valência para a banda de condução, levando a formação de pares elétrons-buracos (semicondutor com excesso e região com falta de elétrons). Nesse contexto, os portadores de carga

majoritários gerados, migram em direções opostas, criando uma camada de depleção com poucas cargas. Uma baixa concentração de portadores de carga minoritários presentes em cada região movimenta-se em direção à camada de junção criando uma corrente. Essa corrente é proporcional à intensidade de luz incidente sobre sua superfície. Em muitos casos, a carga é medida diretamente ou convertida em voltagem proporcional à potência da radiação incidente, fazendo a corrente transpassar por um resistor de resistência relativamente elevada (geralmente de 10 k Ω), dando origem aos fototransistores. Assim, sempre que for utilizado o termo fototransistor, entende-se que o sinal analítico medido não é a corrente gerada e sim a diferença de potencial nos terminais do dispositivo.

1.2.5 - Dispositivo para aquisição de dados, interface e comunicação máquina- usuário⁴

Logo após o fotodetector converter a REM incidente sobre sua superfície, em um sinal elétrico mensurável, este deve ser processado e apresentado ao usuário da forma mais conveniente e prática possível para uma melhor interpretação dos dados obtidos. Os dispositivos eletrônicos de comunicação mais antigos eram os registradores xy que usavam papel milimetrado para registrar os dados obtidos. Outros dispositivos também foram e continuam sendo usados, como osciloscópios e multímetros. Com o advento do computador, com todos os seus periféricos, esse se tornou o instrumento de interface e comunicação mais utilizado para obtenção, interpretação e visualização dos dados. Entretanto, será utilizado nessa presente dissertação outro tipo de dispositivo para a aquisição, interface e comunicação entre o usuário e a máquina, os chamados microcontroladores com mostradores digitais a base de *display* de LCD (do inglês *Liquid Crystal Display*).

1.3 - Instrumentação específica para determinações turbidimétrica ou nefelométrica com calibração internacional

Existem no mercado equipamentos que operam exclusivamente como turbidímetros ou nefelômetros¹¹. Esses para serem comercializados de acordo com alguns órgãos internacionais devem possuir configurações pré-estabelecidas e

serem devidamente calibrados. Primeiramente aplicados para determinação de turbidez dos diversos tipos de águas, agências nacionais de muitos países vêm tentando padronizar, uniformizar e internacionalizar os métodos turbidimétricos e nefelométricos para a determinação de particulados em diversas amostras aquosas^{12,13}. Uma forma de padronizar¹² as análises é categorizar os muitos equipamentos que existem no mercado, em função de três parâmetros importantes, a saber: tipo de luz incidente (luz incandescente, *LED* ou *LASER*), ângulo entre o detector e a fonte de luz ($90^\circ \pm 20^\circ$, 180° e $30^\circ \pm 15^\circ$ e, o menos comum, *forward scatter*, espalhamento posterior, detector localizado entre 90 e 180°) e a terceira é a presença de múltiplos detectores e múltiplos feixes de luz que utilizam um algoritmo de combinações para obter o resultado final, os chamados *multibeam* (múltiplos feixes).

A Figura 1.3 mostra às configurações dos equipamentos com relação ao arranjo angular entre o detector a fonte de REM.

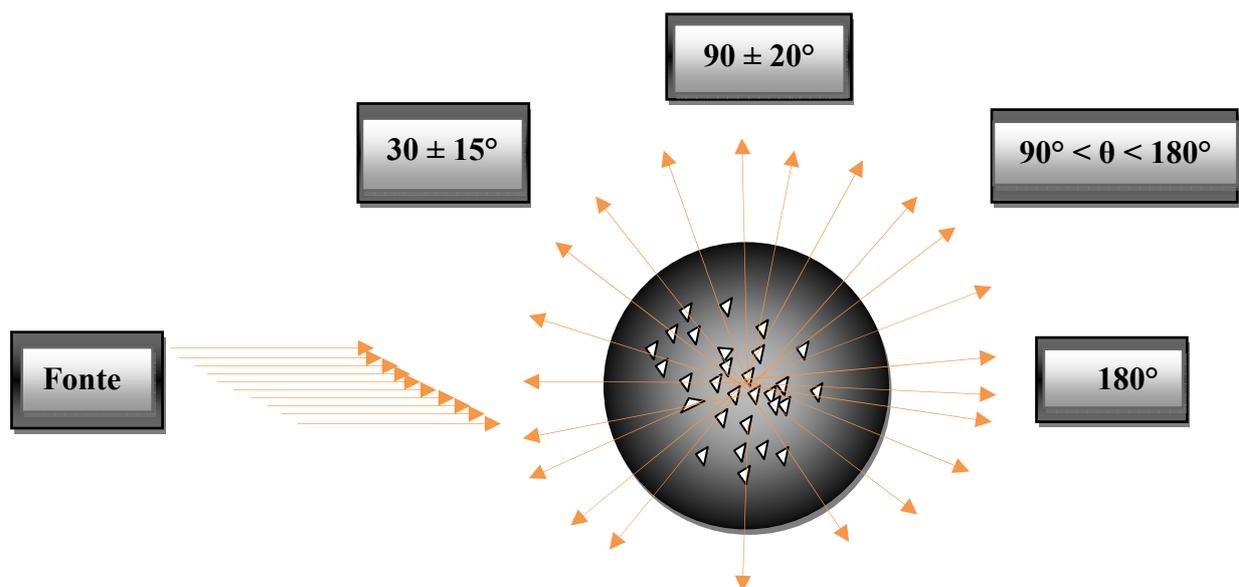


FIGURA 1.3 - Ilustração mostrando o espalhamento de REM e a posição do detector em relação à fonte de radiação incidente.

O padrão de turbidez utilizado para a calibração dos equipamentos é outro fator importante, pois os resultados das análises podem ter um elevado coeficiente de variação devido a diferentes formas de calibração, utilização e manipulação dos dados¹¹. Na Tabela 1.3 são mostrados alguns métodos internacionalmente aceitos com as configurações de cada equipamento.

TABELA 1.3 - Normas internacionais de formato, calibração e manuseio dos dados.

Geometria do detector	Comprimento de onda	
	Luz branca, ou com pico de emissão entre 400-680nm	Monocromador ou emissão em torno de 780- 900 nm (infravermelho)
Uso de apenas um feixe de luz		
90° em relação ao feixe	Unidade de Turbidez Nefelométrica (<i>NTU - Nephelometric Turbidity Unit</i>) ^a	Unidade Nefelométrica de Formazina (<i>FNU – Formazin Nephelometric Unit</i>) ^b
90° e outros ângulos em relação ao feixe com um algoritmo para combinação dos resultados	Unidade de Razão Turbidez Nefelométrica (<i>NTRU - Nephelometric Turbidity Ratio Unit</i>)	Unidade de Razão Nefelométrica de Formazina (<i>FNRU - Formazin Nephelometric Ratio Unit</i>)
30° ± 15° <i>backscatter</i> (retroespalhamento)	Unidade de Retroespalhamento (<i>BU- Backscatter Unit</i>)	Unidade de Retroespalhamento de Formazina (<i>FBU- Formazin Backscatter Unit</i>)
180° (Atenuação)	Unidades de Atenuação (<i>AU – Attenuation Units</i>)	Unidades de Atenuação Formazina (<i>FAU – Formazin Attenuation Units</i>)
Uso de múltiplos feixes de luz e detectores		
90° e outros ângulos em relação ao feixe, com um algoritmo para combinação das respostas de cada feixe.	Unidade de Múltiplos Feixes de Turbidez Nefelométrico (<i>NTMU - Nephelometric Turbidity Multibeam Unit</i>) ^{c,d}	Unidade de Múltiplos Feixes Nefelométrico Formazina (<i>FNMU - Formazin Nephelometric Multibeam Unit</i>)

- a. *USEPA* método 180.1 define a geometria óptica para medidas usando *NTU*. O detector deve estar posicionado 90° ± 30° em relação ao feixe de luz incidente. A fonte de REM deve ser à base de filamento de tungstênio como temperatura de trabalho entre 2.200- 3000 K. Com formazina como padrão de turbidez (fonte: *U.S. Environmental Protection Agency, 1993*)¹⁴.
- b. *ISO 7027* define a geometria óptica para medidas usando *FNU*. O detector deve estar a um ângulo de 90° ± 2.5° em relação ao feixe de luz incidente. Feixe esse que deve ser emitido por um diodo emissor de luz (*LED*) na região do infravermelho entre 860 ± 60 nm. Com formazina como padrão de turbidez (fonte: *International Organization for Standardization*)¹⁵.

- c. *MEBAK: Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission, Central European brew-technical analysis commission*. Segundo esse órgão, as medidas são feitas utilizando monocromador com pico de emissão em comprimento de onda em 650 ± 30 nm. O padrão de turbidez é formazina, como alternativa pode-se utilizar estireno - divinil benzeno ou dióxido de silício¹⁶.
- d. *ASTM – International* (do inglês, *American Society for Testing and Materials*): As análises devem ser realizadas com equipamento operando com lâmpada de tungstênio e com o detector localizado a 90° em relação à mesma. O padrão de turbidez é a base de formazina. (fonte: *ASTM International*, 2003a, D1889–00)¹⁷.

Além dessas unidades, tem-se a *LASER Turbidity Units* dada em (mNTU), para equipamentos que utilizam *LASER* como fonte de REM. Esses são caracterizados por apresentarem elevada sensibilidade e resolução¹⁴.

1.4 – Introdução a sistemas microcontrolados

Os microcontroladores¹⁸ foram desenvolvidos à medida que circuitos integrados (CI) com uma quantidade cada vez maior de transistores foram incorporados em uma única unidade denominada *chip*. Esta unidade é a base da tecnologia utilizada em microprocessadores. Os microprocessadores integrados a periféricos tais como memória, linhas de entrada e de saída, temporizadores em elevado grau de integração dão origem aos conhecidos microcontroladores.

Um microcontrolador é um dispositivo de dimensões da ordem de dezenas de centímetros que é capaz de realizar várias funções de controle, como o faz um microcomputador. Nele está inserido uma unidade de memória, uma *CPU* (*Central Processing Unit*), unidade de entrada e saída, unidade de temporização, conversor analógico digital (A / D) e um programa que controla todos os periféricos interligados às suas portas de entrada e saída.

Dentre os microcontroladores existentes no mercado, a série *PIC*[®] (*Peripheral Interface Controller*) produzidas pela *Microchip Technology Inc.*, possui total autonomia para realizar um completo sistema digital programável. Existem diferentes tipos de *PIC* das famílias 10MCU, 12MCU, 14MCU, 16MCU e 18MCU. Cada família difere entre si pelo número de portas de entrada e saída, do tipo de

memória *FLASH*, *EPROM*, do número de portas, capacidade da memória *RAM* e outros aplicativos. A família 18MCU é a única que possui comunicação *USB*^{18, 19}.

1.4.1 – Campo de aplicação dos microcontroladores

Microcontroladores são empregados no sensoriamento de parâmetros físico-químicos²⁰ e biológicos²¹, tendo também aplicação nas áreas de computação²² e engenharia eletrônica^{22, 23}. Sua utilização torna muitos processos rápidos, com maior grau de automação que os convencionais^{22, 24}. Assim, sistemas microcontrolados vêm ganhando espaço, devido principalmente ao avanço tecnológico que permitem que os mesmos possuam uma maior capacidade de armazenamento, velocidade de processamento e a possibilidade de realização de múltiplas tarefas simultaneamente^{22, 24, 25}. O emprego destes sistemas em química é evidenciado pela redução de tempo e de custos por análises e pela possibilidade de miniaturização devido às suas pequenas dimensões^{26, 27}.

1.4.2 - Revisão bibliográfica referente ao uso de *LED* e *PIC*.

Na Figura 1.4.2 é mostrada uma ilustração dos diversos temas envolvidos na presente dissertação de mestrado, com o intuito de formular uma pesquisa bibliográfica concisa no âmbito do contexto do trabalho.

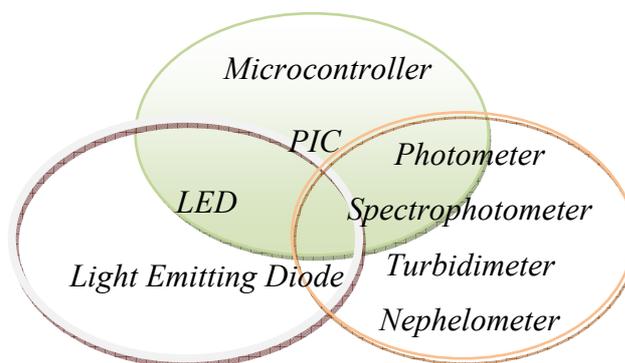


FIGURA 1.4.2 – Multidiversidade referente aos diversos campos de trabalho.

Realizando uma pesquisa no portal *ISI web knowledge* sobre os itens mostrados na Figura 1.4.2, formulou-se a Tabela 1.4.2.

TABELA 1.4.2 - Pesquisa realizada para o período de 1970 - 2009 explorando as palavras chaves de forma individual, aos pares e em trio. Os valores entre parênteses são os resultados das pesquisas em números de artigos encontrados. O símbolo (/) significa o uso de uma ou outra palavra utilizada na pesquisa.

Individual	Em pares
<i>Microcontroller</i> (1476)	<i>Microcontroller / PIC - LED</i> (97)
<i>Microcontrolled - analytical</i> (20)	<i>LED - Spectrophotometer</i> (85)
<i>LED</i> (112.116)	<i>LED - Photometer</i> (67)
<i>Spectrophotometer</i> (6487)	<i>Microcontrolled photometer</i> (8)
<i>Photometer</i> (2822)	<i>Microcontrolled spectrophotometer</i> (5)
<i>Turbidimeter</i> (122)	<i>Microcontroller / PIC turbidimeter</i> (0)
<i>Microcontroller PIC 16F877</i> (8)	<i>Microcontroller / PIC nephelometer</i> (0)
<i>Microcontroller PIC 18F4550</i> (0)	<i>LED turbidimeter</i> (1)
<i>Nephelometer</i> (663)	<i>LED nephelometer</i> (6)
Em trio	
<i>Microcontroller - LED - photometer</i> (6)	
<i>Microcontroller - LED - Spectrophotometer</i> (2)	
<i>PIC- LED- photometer</i> (3)	
<i>PIC- LED- Spectrophotometer</i> (2)	
<i>Microcontrolled / PIC - LED- turbidimeter / nephelometer</i> (0)	

Fonte: *web of science*²⁸, último acesso em 15 de maio de 2009.

Como pode ser observado na Tabela 1.4.2, poucos são os trabalhos na área de instrumentação analítica que utilizam microcontroladores como unidade de processamento e aquisição de dados, principalmente em equipamentos que empregam análises turbidimétrica e nefelométrica. Dentre os poucos trabalhos que abordam sistemas portáteis de baixo custo constituídos por esses dispositivos, a totalidade utiliza microcontroladores baseados na comunicação serial RS232 (como os microcontroladores *PIC* da família 16MCU) que não mais acompanham os microcomputadores mais modernos^{21, 29-33}.

Há descrito na literatura equipamentos que utilizam *LED* como fonte de radiação em fotômetros ou em espectrofotômetros, entretanto, poucos foram dedicados a construção de turbidímetros ou nefelômetros³⁴. Artigos referentes a equipamentos microcontrolados que usam *LED* como fonte de REM para instrumentação específica de turbidímetros ou nefelômetros não são encontrados no portal ISI *web knowledge*. Entretanto, pesquisando na rede mundial (*internet*) encontram-se alguns artigos que utilizam microcontroladores e *LEDs* para análise

turbidimétrica, porém fazem uso de fibras ópticas que aumentam um pouco o custo do equipamento e não fazem menção à análise seqüencial turbidimétrica e/ou nefelométrica e nem tão pouco usam microcontroladores programáveis pelo protocolo *USB* como o 18F4550 utilizado na presente dissertação de mestrado^{35, 36}.

Diante dessas circunstâncias, utilizou-se o PIC18F4550¹⁸ para controlar todas as funções do turbidímetro- nefelômetro microcontrolado portátil (*PMTN- Portable Microcontrolled Turbidimeter Nephelometer*). Assim, pode-se dizer com segurança que o trabalho é pioneiro na aplicação de tal instrumentação para análises turbidimétricas e nefelométricas seqüencial de substâncias químicas de interesse empregando um microcontrolador programável pelo protocolo *USB*. A seguir são relatados alguns trabalhos pertinentes às discussões feitas acima, lembrando que os equipamentos que utilizam microcontroladores apresentam apenas a comunicação serial para interface com periféricos.

Mesmo não utilizando microcontroladores, Liu & Dasgupta, desenvolveram em 1996 um equipamento a base de *LED*, fibras ópticas e fotodiodos (sensores) para análises turbidimétrica e nefelométrica de sulfato empregando a técnica de *spot test*. Eles concluíram, nesse caso, que ambas as técnicas se completavam no que se refere à faixa linear de trabalho e que os limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) são dependentes dos sistemas químicos e não apenas do sistema de detecção utilizados. A foto-corrente produzida foi correlacionada com o sinal que eles chamaram de sinal analítico de absorbância e sinal analítico nefelométrico. Ambos os dados em unidades arbitrárias, pois o equipamento não foi devidamente calibrado e não se enquadra nas normas internacionais de padronização descritas pelos órgãos da seção 1.3⁸.

Gaião et al.^{30, 31} desenvolveram instrumentos microcontrolados que utilizam *LEDs* para aplicações analíticas. Eles construíram um fotômetro microcontrolado com *PIC 16F887* (*PIC* com comunicação serial) e o aplicaram para análises clínicas de proteínas totais, ferro e albumina com resultados compatíveis com os fotocolorímetros e espectrofotômetros comerciais. Em outro trabalho, construíram um fotômetro *NIR* (do inglês, *Near Infrared*), fotômetro com *LED* infravermelho, para análise tipo *screening* (análise discriminatória do tipo sim ou não) para o controle da qualidade de gasolinas com bons resultados, e tempo de análise reduzido em relação aos métodos oficiais de análise.

Veras et al.³² desenvolveram um espectrofotômetro microcontrolado com comunicação serial usando *LED* branco como fonte de radiação e mídia de *CD* (sigla do inglês, *Compact Disc*) como dispersor de REM para análise multivariada de corantes alimentícios. Resultados consistentes com boas figuras de mérito foram obtidos empregando esse equipamento, mesmo possuindo uma instrumentação simples e de baixo custo.

Cantrell & Ingle³⁷ desenvolveram um espectrômetro que utiliza um sensor a base de fotodiodo tipo *RGB* (sigla do inglês para *Red, Green, Blue*). O equipamento foi calibrado com corantes alimentícios para explorar três regiões de comprimentos de onda distintos, a saber: região azul (400 - 540 nm) verde (500 - 640 nm) e vermelha (600 - 910 nm), sendo que o sensor possui fotodiodos específicos para cada região espectral. Entretanto, o equipamento apresentou baixa sensibilidade e baixa precisão analítica para as análises estudadas.

Garcia et al.³⁵ desenvolveram um turbidímetro com múltiplos feixes para análise turbidimétrica de água. Esses pesquisadores utilizaram um microcontrolador com comunicação serial para acionamento dos *LEDs* infravermelhos como fonte de radiação em 860 nm. Entretanto, o uso de fibras ópticas pode encarecer um pouco mais o equipamento construído. O uso apenas de radiação *IR* pode causar perda de sensibilidade em alguns casos, pois a sensibilidade em tais comprimentos de onda é um pouco menor do que usando medidas convencionais entre 400 - 470 nm (região do azul)^{6, 38}.

1.5 - Revisão bibliográfica dos analitos estudados

1.5.1 - Determinação de sulfato

A *USEPA* (*United States Environmental Protection Agency*) com as normas publicadas em *EPA 822-R-02-033* e a *WHO* (*World Health Organization*)³⁹ descrevem alguns estudos referentes às concentrações de sulfato ingeridas. Segundo esses órgãos, sulfato não apresenta até o momento indícios de toxicidade, bio-acumulação, atividades cancerígenas ou irritabilidade em níveis de concentração abaixo de 400 mg / L. Entretanto, estudos têm mostrado que altas concentrações de sulfato > 1500 mg / L podem causar efeitos laxativos, irritabilidade da pele, ou em casos extremos, a diarreia não patológica. Contudo, um controle na concentração de

sulfato em águas é importante sobre o ponto de vista da qualidade dos corpos hídricos sujeitos a utilização humana⁴⁰.

Concentrações de sulfato podem levar a modificações irreversíveis em muitos ecossistemas devido ao mesmo ser um micronutriente em potencial. Estudos têm mostrado que pequenas variações na alteração no nível de sulfato podem levar a morte de uma espécie de musgo aquático *Fontinalis antipyretica*, que é uma espécie de planta muito utilizada como marcador biológico por ser sensível a variação na concentração de sulfato. Uma variação elevada na concentração de sulfato pode estar relacionada à atividade de poluição dos ecossistemas aquáticos, decorrente de atividades humanas, como despejo de lixo de indústrias químicas, alimentícias e até mesmo da excreção humana, atividades que aumentam a concentração de sulfato nos corpos d'água⁴¹.

Sulfato tem sido determinado por um procedimento clássico gravimétrico empregando cloreto de bário como precipitante. Entretanto, esse método é muito lento e trabalhoso⁴². Diante disso, pesquisadores vêm adaptando essa reação química de precipitação em métodos turbidimétricos^{43, 44}.

A CETESB⁴⁵ (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo) emprega o método turbidimétrico como referência para análise de sulfato em águas destinadas ao consumo da população. Outros procedimentos, visando aumentar a sensibilidade ou a praticidade destas determinações têm sido desenvolvidos.

Elenkova et al.⁴⁶ desenvolveram um método gravimétrico com precipitação do sulfato na forma de sulfato de chumbo alternativamente ao método convencional, melhorando assim a sensibilidade do método, contudo introduzindo um reagente de alta toxicidade. Outros pesquisadores, como Santelli et al.⁴⁷ e Krug et al.⁴⁸ têm buscado melhorar as condições de análise desenvolvendo sistemas em fluxo com o objetivo de diminuir o tempo de análise e a quantidade de reagentes utilizados.

As técnicas como eletroforese capilar⁴⁹, nefelometria usando espectrofluorímetro com duplo monocromador⁵⁰, AAS (do inglês, *Atomic Absorption Spectrometry*)⁵¹, ICP AES - HG (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy - Hydride Generation*)⁵² e potenciometria com eletrodos íon-seletivos a sulfato⁵³ e bário⁵⁴ também têm sido utilizadas para medidas diretas e indiretas de sulfato.

1.5.2 - Determinação de N-acetilcisteína

A N-acetilcisteína é um fármaco utilizado devido principalmente ao grupo tiol que lhe confere propriedades redutoras (SHO). Este composto de nome (L- α -acetamido- β -ácido mercaptopropiônico), cuja fórmula química é mostrada na Figura 1.5.2, possui diversas propriedades, sobretudo como agente mucolítico e antioxidante^{55, 56}.

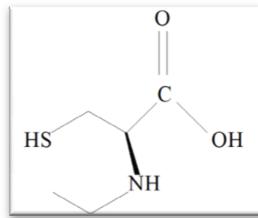


FIGURA 1.5.2 – Fórmula estrutural da N-acetilcisteína.

Devido a essas características, a N-acetilcisteína tem sido utilizada no tratamento de câncer⁵⁷, HIV⁵⁸ e disfunção mitocondrial⁵⁹. Dentre as muitas aplicações, a desintoxicação de metais pesados (Pb)⁶⁰ e paracetamol também são importantes aplicações desse fármaco relatadas na literatura⁶¹.

Diversos métodos foram desenvolvidos para a determinação deste analito, dentre eles podem ser destacados aqueles empregando *HPLC* (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*) com detectores amperométricos⁶², fluorimétricos⁶³ e espectrômetros de massa⁶⁴. Outras técnicas como eletroforese capilar com detecção por quimiluminescência⁶⁵, espectrofotometria UV-Vis^{66, 67} e técnicas eletroanalíticas também têm sido empregadas⁶⁸. Entretanto, poucos são os trabalhos na literatura que exploram os métodos turbidimétricos.

A Farmacopéia Brasileira⁶⁹ recomenda a titulação potenciométrica da N-acetilcisteína com nitrato de mercúrio II usando um fio de ouro como eletrodo indicador e um eletrodo de calomelano saturado como referência. Entretanto, além de ser um método laborioso, esse faz uso de reagentes e eletrodos à base de mercúrio, sendo assim, um método com elevada toxicidade e atualmente pouco empregado.

Uma alternativa ao método recomendado pela Farmacopéia Brasileira foi proposta por nosso grupo de pesquisa. O método desenvolvido por Janegitz et al.⁷⁰, é baseado na titulação condutométrica de N-acetilcisteína com cobre II usando

um condutivímetro com cela condutométrica de vidro termostatzada e uma bureta automática para a inserção de titulante (sulfato de cobre II) na referida cela. Com esse método simples e rápido foi possível determinar N-acetilcisteína com um erro relativo em torno de 0,8 % quando comparado com o método recomendado pela Farmacopéia Brasileira.

Suarez et al.⁷¹ propuseram um método turbidimétrico para a determinação de N-acetilcisteína com íons prata como agente precipitante. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ com um LD de $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

1.5.3 - Determinação de potássio

Potássio é conhecido como um importante micronutriente para o desenvolvimento de plantas, por participar de alguns processos metabólicos tais como ativação, controle osmótico de economia de água, produção de carboidratos e equilíbrio iônico²⁶. Para os seres humanos o potássio é um importante cátion intracelular⁷². Noventa por cento da totalidade de potássio no organismo está livre. Os 10 % restantes estão associados a células vermelhas do sangue, ossos e tecidos do cérebro. Apenas 2% estão disponíveis no fluido extracelular. O principal órgão regulador da concentração de potássio no corpo é o rim, e a principal via de eliminação é urinária.

Uma doença conhecida como hipocalemia está associada à baixa concentração de minerais no organismo, principalmente potássio. Essa baixa concentração de potássio altera o equilíbrio iônico entre o meio extracelular e intracelular causando distúrbios principalmente nas células do miocárdio. Esse distúrbio pode causar uma arritmia no tecido muscular cardíaco e ao evoluir o quadro clínico pode levar o paciente a uma parada cardíaca e, conseqüentemente, a morte^{73, 74}. Para prevenir o organismo de tal doença, o consumo equilibrado de potássio pode ser realizado por meio de fontes, a saber: frutas como uvas passas, damasco e água de coco, peixes (bacalhau) e feijão.

Devido à sua importância, potássio tem sido determinado principalmente por: espectrometria de absorção e emissão atômica⁷⁵, ICP OES (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy*)⁷⁶, ICP MS (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)⁷⁶, eletroforese capilar⁷⁷ e

eletrodos íon-seletivos (potenciometria direta)⁷⁸. No entanto, poucos são os trabalhos que utilizam métodos turbidimétricos ou nefelométricos.

Tubino et al. desenvolveram um método turbidimétrico baseado na reação entre potássio e tetrafenilborato de sódio para a determinação de potássio em plantas⁷⁹ e soro sanguíneo⁷³. O método apresentou elevada seletividade em ambos os trabalhos, sobretudo quando realizado em solução fortemente básica.

Zagatto et al.⁸⁰ utilizaram a reação empregando tetrafenilborato de sódio para a determinação de potássio em vegetais explorando sistemas de análise em fluxo (*FIA – Flow Injection Analysis*) para aumentar a frequência analítica do método. De fato, 70 determinações por hora foram conseguidas com o sistema *FIA* utilizado.

1.5.4 – Determinação de tiamina

A tiamina ou vitamina B₁ (Figura 1.5.4) é um pó branco solúvel em água e de fundamental importância para evitar uma doença conhecida como Beriberi⁸¹, cujos sintomas frequentes são: Insônia, nervosismo, irritação, fadiga, depressão, perda de apetite, dores no abdômen e no peito, e problemas associados à falta de memória e concentração⁸².

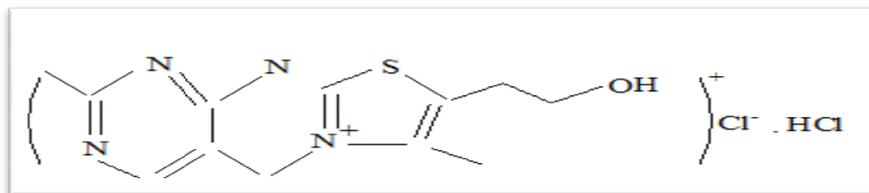


FIGURA 1.5.4 – Fórmula estrutural da molécula de tiamina.

Uma alimentação balanceada a base de feijão, fígado, alimentos integrais (pão, arroz), ovo, legumes, verduras amargas e peixe suprem a necessidade da vitamina pelo organismo. Essa doença é corriqueira em anêmicos, alcoólicos e fumantes, pois o álcool e o tabaco são os principais responsáveis pela não absorção dessa substância pelo organismo.

A Farmacopéia Americana⁸³ recomenda o método espectrofluorimétrico por meio da reação entre a tiamina e hexacianoferrato de potássio para gerar o tiocromo, uma espécie fluorescente com emissão de luz azul medida entre 400 - 450 nm. A Farmacopéia Britânica recomenda um procedimento gravimétrico pela reação

da tiamina com ácido silicotungstico^{82,84-85}. Métodos polarográficos⁸⁶, potenciométricos⁸⁷, cromatográficos⁸⁸, eletroforéticos⁸⁹, fluorescentes⁹⁰ e espectrofotométricos⁹¹ também têm sido utilizados.

Lingane & Davies⁸⁶ aplicaram a técnica eletroanalítica de pulso diferencial polarográfico para a determinação simultânea de algumas vitaminas do complexo B. Esse método é uma alternativa simples e eficiente ao método clássico gravimétrico utilizado pela Farmacopéia Britânica⁸⁵ e ao fluorimétrico recomendado pela Farmacopéia Americana⁸³. Contudo, métodos baseados na utilização de mercúrio, mesmo que sejam em baixas concentrações, estão sendo gradativamente substituídos devido à elevada toxicidade⁹².

Costa-Neto et al.⁸⁴ desenvolveram um método turbidimétrico baseado na reação entre o ácido silicotungstico com vitamina B₁ em meio ácido com detecção em fluxo. Esse método em fluxo desenvolvido foi uma adaptação do método recomendado pela Farmacopéia Britânica, tendo como principais vantagens a elevada seletividade e sensibilidade, devido à formação de um complexo bastante insolúvel medido em 420 nm. Com esse método foi possível obter uma faixa linear de $5,0 \times 10^{-5}$ a $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com um LD de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

1.5.5 - Determinação de captopril

A fórmula estrutural do captopril, cuja nomenclatura química é 1-[(2S)-3-mercaptopropionil]-L-prolina, é mostrada na Figura 1.5.5.

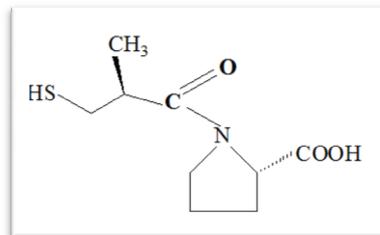


FIGURA 1.5.5 – Fórmula estrutural do captopril.

O captopril foi uma das primeiras drogas utilizadas para controlar a pressão arterial de pacientes no Brasil⁹³. Essa droga é um anti-hipertensivo que atua no mecanismo de bloqueio da enzima conversora de angiotensina (AS). Este bloqueio permite um relaxamento das paredes das artérias, reduzindo a pressão sanguínea e melhorando a eficiência do bombeamento do sangue pelo coração^{94, 95}.

Tal como a N-acetilcisteína, o captopril têm propriedades redutoras e pode agir no combate a radicais livres. Tratamentos a base de captopril também têm sido estudados em pacientes diabéticos, principalmente aqueles com diabetes tipo II⁹⁶.

Devido à sua importância, muitos métodos analíticos têm sido desenvolvidos para identificar e quantificar essa droga em diversas matrizes, desde aquelas mais simples, como formulações farmacêuticas, como também em urina⁹⁷ e sangue⁹⁸. Nesse âmbito, *HPLC* com detectores UV⁹⁸ e fluorimétricos⁹⁹ constituem os métodos mais utilizados. Contudo, outros métodos analíticos têm sido usados como eletroforese capilar com detecção UV¹⁰⁰, espectrofotometria¹⁰¹, quimiluminescência¹⁰² e técnicas eletroquímicas⁹⁷.

O método recomendado pela Farmacopéia Americana é baseado na titulação iodimétrica com detecção espectrofotométrica em 350 nm¹⁰³.

Ribeiro et al.^{101, 104} desenvolveram um método baseado na titulação potenciométrica empregando a reação ácido-base entre o captopril e hidróxido de sódio. Para esse método, foi utilizado um potenciômetro e um eletrodo de vidro combinado. Esse método mostrou-se bastante simples e rápido, para a determinação de captopril, com resultados compatíveis aos obtidos por meio da aplicação do método recomendado pela Farmacopéia Americana.

Lourenção et al.⁹⁴ desenvolveram um método alternativo ao recomendado pela Farmacopéia Americana para a determinação de captopril. O método é baseado na titulação condutométrica de captopril por meio da reação de precipitação desse fármaco com íons cobre II. Com esse método simples e preciso foi possível determinar captopril em formulações farmacêuticas com um desvio padrão relativo menor que 5,0 %.

Schmidt Jr. et al.⁹³ adaptaram o método recomendado pela Farmacopéia Americana para a determinação de captopril em um sistema de análises em fluxo. A implementação do sistema *FIA* permitiu uma maior economia dos reagentes utilizados e um aumento considerável da frequência analítica, pois 72 determinações por hora foram realizadas. Com esse método foi possível obter um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e um coeficiente de variação de 1,2%.

1.6 - Introdução a planejamentos quimiométricos

A utilização de planejamentos univariados no objetivo de se atingir uma condição ótima de um dado experimento poderá ser exaustivamente buscada ou testada. Diante disso, a quimiometria utiliza a estatística e a matemática para auxiliar nas interpretações químicas podendo direcionar os experimentos no intuito de encontrar, com um menor número de experimentos as melhores condições químicas para a análise requerida. Em quimiometria, uma forma bastante prática e útil de encontrar essas melhores condições experimentais são por meio da aplicação de planejamentos fatoriais¹⁰⁵.

Os planejamentos fatoriais completos com réplicas no ponto central são expressos na forma 2^n , onde a base (número 2) representa dois níveis distintos estudados, por exemplo, o nível maior (+) e o nível menor (-) de uma determinada variável, enquanto o termo n representa a quantidade de variáveis estudadas nesses níveis. As réplicas no ponto central são formas de estudar um nível médio entre esses supracitados com uma determinada quantidade de réplicas necessárias para obtenção de alguns parâmetros estatísticos importantes, como desvio padrão do método.

Esses planejamentos serão aplicados aleatoriamente e os resultados serão expostos em termos do gráfico dos efeitos para observar quais variáveis são mais importantes estatisticamente. No gráfico dos efeitos, cada variável e suas combinações revelam o peso que apresentam na correspondente resposta analítica. De modo que, quanto mais distantes do ponto de probabilidade zero, maior será a importância estatística da variável e de suas combinações estudadas. As variáveis mais importantes e seus respectivos níveis serão utilizados ao longo de todos os experimentos.

Poucos são os trabalhos que empregam planejamentos quimiométricos¹⁰⁶ para a determinação de condições ótimas de análise em procedimentos que envolvem métodos turbidimétricos ou nefelométricos.

Capítulo 2:

Objetivos

2 – Objetivos

2.1 - Objetivos gerais

Desenvolver equipamento portátil e de baixo custo utilizando microcontrolador *PIC* com tecnologia *USB* para análises turbidimétricas e nefelométricas.

2.2 - Objetivos específicos

✓ *Hardware* (parte física): Emprego de *LEDs* de elevada intensidade como fonte de radiação e avaliação do sensor mais apropriado para as análises. Desenvolvimento do circuito eletrônico do equipamento proposto, compartimento óptico e conclusão final do equipamento.

✓ *Software* (programa): Com a parte física concluída (*LEDs*, sensores, dispositivos eletrônicos, circuito eletrônico) foi iniciado o desenvolvimento do programa em linguagem C gravado na memória *EPROM* do microcontrolador *PIC* 18F4550 que controla e gerencia todas as funções do *PMTN*.

✓ *Aplicação*: Calibração do equipamento construído com um padrão de turbidez internacionalmente aceito e recomendado à base de solução de formazina. Calibrado o *PMTN*, esse está apto para a determinação de analitos de interesse e os resultados obtidos são comparados com diferentes técnicas utilizadas como métodos comparativos para atestar a qualidade do *PMTN*.

Capítulo 3: Experimental

3 - Experimental

3.1 – Reagentes, soluções e preparo das amostras

3.1.1 – Determinação de sulfato

Soluções estoque (100 mL) 500 mg / L de sulfato de sódio (Synth), soluções estoque (250 mL) 15 % (m / v) de cloreto de bário (Merck) e uma solução (100 mL) 1,5 % (m / v) de álcool polivinílico (Sigma) foram preparadas por dissoluções apropriadas de suas respectivas massas com água deionizada. O ácido clorídrico (Merck) concentrado (20 mL) (37 % (v / v)) foi utilizado para ajustar o pH das soluções preparadas. O preparo da solução de álcool polivinílico necessitou de aquecimento por 30 minutos para melhor dissolução.

Soluções (25 mL) utilizadas na avaliação do efeito de concomitantes: cloreto de sódio (Dinâmica), cloreto de potássio (Synth), carbonato de cálcio (Rield), cloreto de magnésio (Synth), nitrato de sódio (Synth), brometo de potássio (Vetec), fosfato di-ácido de potássio (Synth), cloreto férrico hexahidratado (Synth) e fluoreto de sódio (Merk).

As amostras (500 mL) de água foram adquiridas em dois pontos distintos da represa do Lago Monjolinho da cidade de São Carlos- SP, na entrada e na saída das dependências da UFSCar. Acondicionadas em recipientes de PVC (cloreto de polivinila), filtradas com papel de filtro de porosidade de 0,5 µm e analisadas em campo.

3.1.2 –Determinação de N-acetilcisteína

Soluções estoque (100 mL) $8,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de N-acetilcisteína (Sigma) e soluções estoque (100 mL) 0,1 mol L⁻¹ de sulfato de cobre (Merck) foram preparadas por dissoluções apropriadas de suas respectivas massas com água deionizada. Uma solução (100 mL) de polietilenoglicol (Synth) de concentração 1,5 % (v / v) e ácido clorídrico (Merck) concentrado também foram usados.

As seguintes soluções (25 mL) foram utilizadas nos testes referentes a estudos de concomitantes: Soluções de sacarina sódica (Synth), fosfato di-ácido de

potássio (Synth), celulose cristalina (Aldrich), benzoato de sódio (Vetec), frutose (Sigma), sacarose (Aldrich), sal dissódico do ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) adquirido da Synth e tartrazina (Sigma).

As amostras de N-acetilcisteína foram adquiridas em farmácias do comércio local. Os comprimidos (10 de cada uma das amostras) foram macerados e posteriormente, massas de 2 e 6 g foram pesadas e dissolvidas para preparar 100 mL de soluções desse analito utilizando água deionizada. As soluções contendo o princípio ativo foram submetidas ao ultra-som por 30 minutos e em seguida filtradas.

3.1.3 –Determinação de potássio

Soluções estoque (100 mL) $8,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de cloreto de potássio (Synth), soluções estoque (50 mL) 3,5 % (m / v) de tetrafenilborato de sódio (Sigma) e solução (100 mL) 1,5 % (m / v) de álcool polivinílico (Sigma) foram preparadas por dissoluções apropriadas de suas respectivas massas com água deionizada. Para o preparo das soluções de tampão borato foram utilizadas uma solução (100 mL) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido bórico (Merck) e uma solução (100 mL) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio (Synth). Para o preparo da solução de álcool polivinílico necessitou-se de aquecimento por 30 minutos.

Soluções (25 mL) utilizadas para estudos de concomitantes: cloreto de sódio (Dinâmica), carbonato de cálcio (Rield), cloreto de magnésio (Synth), frutose (Sigma), benzoato de sódio (Vetec), citrato de sódio anidro (Synth), sacarose (Aldrich), tartrazina (Sigma), EDTA (Synth), amaramth (Sigma), fast green (Sigma-Aldrich) e azul brilhante (Sigma-Aldrich).

Para uma melhor homogeneização da solução de tetrafenilborato de sódio foi necessária a utilização de banho ultra-sônico por 1 h, com posterior filtração em papel de filtro de porosidade de $0,5 \mu\text{m}$.

As amostras contendo potássio (água de coco e bebidas energéticas) foram adquiridas em supermercados do comércio local. Apenas as amostras de água de coco necessitaram ser filtradas.

3.1.4 –Determinação de vitamina B₁

Soluções estoque (100 mL) $7,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de tiamina (Sigma), soluções estoque (100 mL) $7,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de ácido silicotungstico (Aldrich) foram preparadas por dissoluções apropriadas de suas respectivas massas com água deionizada. Uma solução (100 mL) de polietilenoglicol (Synth) de concentração 1,5 % (v / v) e 20 mL de ácido clorídrico (Merck) concentrado (37 % (v / v)) também foram usados.

Soluções (25 mL) utilizadas para avaliação de concomitantes: Povidona (Aldrich), amido (Merck), vitamina B₁₂ (cianocobalamina) da Sigma, ácido ascórbico (vitamina C) da Sigma, riboflavina (Sigma), lactose (Aldrich), sulfato ferroso (Reagen) e sulfato de zinco (Vetec).

As amostras de tiamina e de fármacos do complexo B foram adquiridas em drogarias do comércio local. Os comprimidos (1 de cada uma das amostras) foram macerados e posteriormente, massas de 300 mg foram pesadas e dissolvidas para preparar 500 mL de soluções desse analito utilizando água deionizada.

As soluções contendo o princípio ativo foram submetidas ao ultra-som por 30 minutos e em seguida filtradas.

3.1.5 –Determinação de captopril usando íons prata (Ag⁺) como reagente

Soluções estoque (100 mL) $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de captopril (Magistral) e soluções estoque (100 mL) $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ nitrato de prata (Nuclear) foram preparadas por diluições apropriadas de suas respectivas massas com água deionizada. Uma solução (100 mL) 1,5 % (v / v) de polietilenoglicol (Synth) foi preparada por dissolução apropriada com água deionizada.

Soluções (25 mL) utilizadas para estudos de interferentes: Solução de manitol (Sigma), ácido esteárico (Carlo Erba), amido (Merck), celulose cristalina (Aldrich), frutose (Sigma), sacarose (Aldrich), lactose (Aldrich) e glicose (Aldrich).

As amostras de captopril foram adquiridas em farmácias do comércio local. Os comprimidos (6 de cada uma das amostras) foram macerados e posteriormente, massas de 75 mg foram pesadas e dissolvidas para preparar 25 mL de soluções desse analito utilizando água deionizada.

As soluções contendo o princípio ativo foram submetidas ao ultra-som por 30 minutos e em seguida filtradas.

3.1.6 – Reagentes e soluções de utilização comum

Solução concentrada de perclorato férrico para corrosão das placas de cobre de circuito impresso.

Suspensões de alumina (Al_2O_3) 5 % (m / v) necessária para polimento das cubetas de plástico.

Solução estoque (1 L) de formazina (4000 *NTU*). Preparada pela mistura equitativa de uma solução de hexaetilenotetramina (hexamina) de concentração 125 g / L (previamente filtrada com papel de filtro de 0,5 μm) e uma solução de sulfato de hidrazina 12,5 g / L. A solução de formazina foi mantida em repouso por 24 h em temperatura ambiente (25°C) e armazenada em frasco âmbar antes do uso. Conservada em temperatura de 20 - 25 °C, a solução é estável por um ano. Ambos os reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

Para o preparo de todas as soluções e diluições foi utilizada água devidamente deionizada (Milli-Q Plus, Millipore, Bedford, EUA).

3.2 - Equipamentos e acessórios

Na Tabela 3.2 estão listados os equipamentos e acessórios utilizados para o desenvolvimento experimental.

TABELA 3.2 – Listagem dos equipamentos e acessórios utilizados.

✓ Espectrofotômetro Shimadzu modelo 2550 UV-Vis com duplo feixe, com cubeta de quartzo de 1 cm	✓ Espectrofotômetro Ocean Optics modelo USB 2000, com fibra ótica Ps 50-2 e cubeta de quartzo de 1 cm
✓ Espectrofotômetro de absorção atômica GEMINI Intralab modelo AA 12/1475, com lâmpada de cátodo oco de potássio L 233	✓ Potenciostato / galvanostato Autolab, com uma cela eletroquímica convencional, com: contra-eletrodo (fio de platina), referência (Ag / AgCl, 3,0 mol L ⁻¹ / KCl) e eletrodo de trabalho (eletrodo de mercúrio de gota pendente)
✓ Potenciômetro Orion modelo EA 940 equipado com um eletrodo de vidro combinado	✓ Condutivímetro micronal B330 com com cela condutométrica de vidro termostatizada
✓ Bureta automática Schott Gerate modelo T80/20 com capacidade de inserção de 0,5 mL	✓ Termômetro digital INSTRUTHERM® modelo TE- 400
✓ Cronômetro digital Casio HS-3	✓ Multímetro digital GoldStar DM-341
✓ Balança analítica Quimis AS 210	✓ Interface USB NI USB-6008
✓ Ultra-som Unique modelo 1400A	✓ Placa de estudo PICGÊNIOS
✓ Agitador magnético HANNA HI 190M	✓ Carregador de bateria 110 V GOLDEN TIME modelo GT 804 ^a
✓ Aquecedor EquipaLABOR TE- 085	✓ Microcomputador Intel Pentium 4

3.2.1 – Componentes eletrônicos e materiais em geral para a confecção do *PMTN (Portable Microcontrolled Turbidimeter Nephelometer)*

- Componentes e materiais utilizados na construção do *PMTN*, Tabela 3.2.1.

TABELA 3.2.1 – Lista de dispositivos e componentes eletrônicos utilizados.

✓ <i>LEDs</i> com máxima emissão em 405 nm, 470 nm e 880 nm (IR)	✓ 1 conector de bateria
✓ 2 fototransistores	✓ 3 potenciômetros de 5 k Ω e 1 potenciômetro de 1 k Ω
✓ 1 microcontrolador PIC18F4550	✓ 1 cristal oscilador de 8 MHz
✓ 1 <i>LCD</i> 16 x 2	✓ Resistores de 1k Ω (4), 10k Ω (3) e 5k2 Ω
✓ 2 caixas pretas, uma de dimensões 21 x 15 x 10 cm e outra de 17 x 12 x 9 cm	✓ Capacitores cerâmicos de 22 μ F (3) e 10 μ F (6) e eletrolíticos de 100 μ F (4) e 50 μ F (2)
✓ 1 circuito integrado Max232	✓ 1 regulador de tensão 7805
✓ 1 conector USB	✓ 5 diodos 4001
✓ 4 chaves eletromecânicas	✓ 1 placa de cobre de fibra de vidro 20 x 15 cm
✓ 1 CI BC548	✓ Fios flexíveis
✓ 1 bateria recarregável de 8,4 V	✓ 2 blocos de acrílico
✓ <i>TRANSFER</i> de circuito impresso	✓ Parafusos com rosca
✓ Solda	✓ Cubeta de plástico de 1 cm de caminho óptico

3.3 - Construção e desenvolvimento do Turbidímetro / Nefelômetro Microcontrolado Portátil

3.3.1 – Seleção dos *LEDs*

Inicialmente foi realizada a seleção das melhores fontes de REMs existentes no mercado a base de *LED para o PMTN*. A seguir, na Figura 3.3.1 são mostrados os espectros de emissão dos *LEDs (LED1)*, cujo comprimento de onda de máxima emissão ($\lambda_{\text{máx.}}$) é 405 nm e *LED2* ($\lambda_{\text{máx.}}$ = 470 nm).

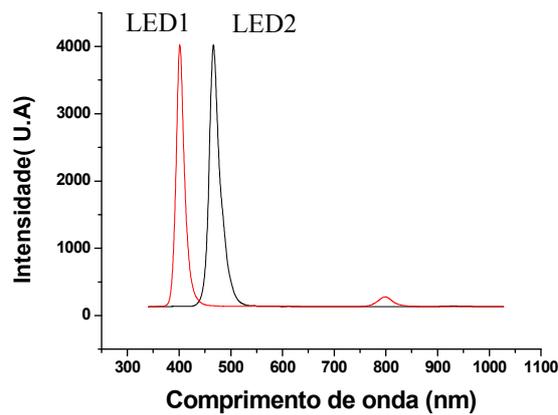


FIGURA 3.3.1 - Espectro de emissão dos LEDs utilizados neste projeto. LED1 (InGaN, 405 nm, 80 mcd) modelo L200CUV405-8D e LED2 (InGaN, 470 nm) modelo L200CWR3KF-15D¹⁰⁷ de alto brilho (do inglês, *ultrabright*, 4.500 mcd) ambos da LEDtronics[®]. Os espectros foram obtidos utilizando um espectrofotômetro Ocean Optics USB 2000 com fibra óptica modelo ps50-2.

Os LEDs apresentam máxima intensidade de emissão na região violeta - azul do espectro eletromagnético. Escolheram-se esses LEDs, pois a maioria das análises turbidimétricas encontradas na literatura⁵ utiliza fontes de radiação que emitem na faixa de 400 - 480 nm. Os valores de intensidade da Figura 3.3.1 são dados numa unidade arbitraria (U.A.) e foram normalizados em 4.000 U.A. Vale salientar que, o LED2 é muito mais intenso que o LED1 e foi utilizado no módulo nefelométrico do equipamento. A unidade mcd (milicandela) expressa a intensidade de radiação por unidade de área incidente^{3, 107}.

Os LEDs são diretamente comunicados com o PIC e são acionados via *software*. O LED1 possui uma resistência de limitação de corrente para que no máximo 2 mA passem pelo mesmo para evitar aquecimento o qual compromete a qualidade das medidas em termos de reprodutibilidade, precisão e exatidão. A baixa corrente utilizada permite determinações turbidimétricas sem saturar o sensor. O LED2 será acoplado a um BC548, que tem a função de fornecer uma maior corrente ao LED2 e com isso um elevado brilho (elevada potência luminosa), necessário para medidas nefelométricas. Os LEDs utilizados com fonte de radiação apresentam uma largura de banda ($\lambda_{1/2máx.}$) de 15 nm, relativamente estreitas para este tipo de fonte de radiação.

Como discutido anteriormente, para o equipamento atender às normas ISO 7027, o mesmo deve também ser operado usando a faixa espectral na região do infravermelho. Sendo assim, também foram acoplados dois *LEDs IR* e um sensor *IR* para tais finalidades. As medidas com *IR* também são necessárias para evitar possíveis interferências da cor das amostras, conforme será discutido na seção resultados e discussão (capítulo 4). Na Figura 3.3.1a é mostrado o espectro de emissão do *LED IR*.

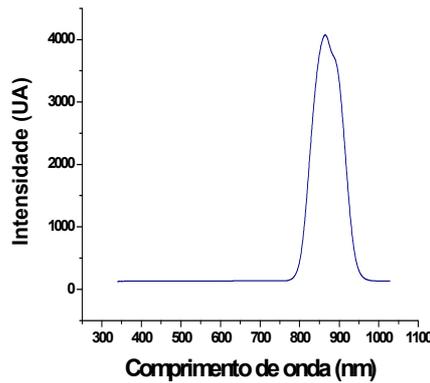


FIGURA 3.3.1a - Espectro de emissão do *LED IR* (880 nm) modelo QED 223 (AlGaAs) da *Fairchild*¹⁰⁸ *semiconductor*[®], cujo espectro foi obtido com o mesmo equipamento da *Ocean Optics* citado na Figura 3.3.1.

Observa-se que a largura de banda ($\lambda_{1/2m\acute{a}x.}$) é maior do que para os *LEDs 1 e 2* (80 nm). Essa maior largura de banda é uma limitação intrínseca dos materiais utilizados na confecção de *LEDs IR*.

Para realizar as análises com *IR* no *PMTN* os *LEDs 1 e 2* devem ser substituídos pelos respectivos *LEDs IR*, simplesmente tirando o *plug* (conector) que conecta os seus terminais. A mesma posição e corrente elétrica operacionais são conseguidas, pois a resistência não é alterada e existem algumas peças móveis em acrílico que permitem a substituição e o encaixe dos *LEDs* sempre na mesma posição. Isso é importante para manter inalterada a potência da REM incidente e o caminho óptico. Mais detalhes são discutidos na seção 3.3.6. Outra forma de garantir essa característica padrão é observar os valores mostrados no *LCD* do equipamento, pois um *default* (condição padrão) é mostrado quando opta-se pela função 1 no *menu* principal, ver seção 3.3.7. Essa função permite que o equipamento faça leituras dos dois sensores, mostrando os valores zerados em

termos de sinal turbidimétrico e nefelométrico. Caso isso não ocorra, potenciômetros de ajuste são utilizados até zerar os valores, como discutido na seção 3.3.6.

3.3.2 - Estudos sobre os sensores do *PMTN*

Concomitantemente às pesquisas realizadas sobre as fontes de REM, foram realizadas pesquisas referentes aos sensores mais adequados para a confecção do *PMTN*. Na Figura 3.3.2 é mostrada a curva de resposta do sensor utilizado.

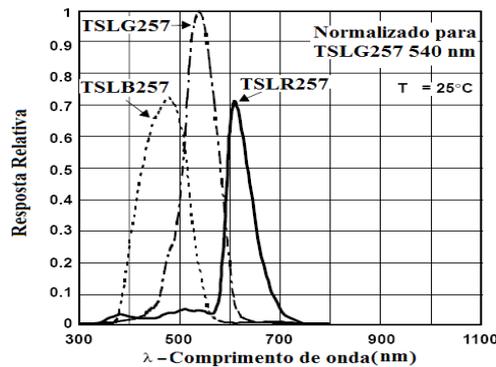


FIGURA 3.3.2 – Curva de resposta dos sensores da linha TSLX257²¹(TAOS)[®]. O sensor TSLB257 é aquele que melhor responde na região azul. Dados fornecidos pelo *datasheet* do fabricante (TAOS[®])¹⁰⁹.

O sensor TSLB257 apresenta uma resposta linear (potencial em V) com a intensidade da radiação incidente e, além disso, apresenta filtros que cortam as demais frequências associadas a outras REMs da região visível, sendo específico para análises em comprimentos de onda próximos na região azul. O circuito equivalente é apresentado na FIGURA 3.3.2a.

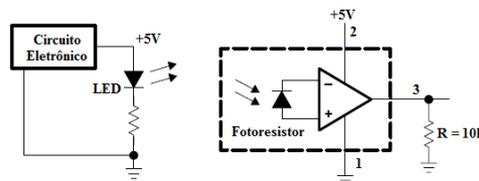


FIGURA 3.3.2a – Circuito equivalente do sensor TSLB257 TAOS[®]. Pino 1, 2 e 3 são respectivamente *GND* (terra), alimentação (5 V) e saída de sinal em *volts* (V). Com R = resistor de 10 kΩ.

A radiação emitida pelos *LEDs* atinge a superfície fotossensível do sensor e gera uma corrente elétrica que é convertida em potencial no canal emissor (pino 3). Este sensor apresenta baixo ruído (4 mV) e consumo de corrente (10 mA) com uma ampla faixa linear de resposta. O sensor será acoplado ao microcontrolador e a resposta analógica será convertida a digital através do conversor analógico digital (A / D) interno do *PIC* com resolução de 10 *bits*, via *software* escrito em linguagem C, ver seção 3.3.7.

O *LED2 ultrabright* (azul 470 nm, 4.500 mcd) deve ficar a 90° em relação à fonte de radiação, pois é utilizado no módulo nefelométrico. Esse *LED* quando posicionado em 180° (turbidimétrico), conduz a uma saturação indesejada do sensor, mesmo utilizando baixa corrente elétrica (1 mA) na alimentação. Uma baixa corrente de trabalho (menor que 1 mA) no *LED2* ocasiona uma instabilidade na luminosidade do mesmo, de modo que esse foi calibrado para operar com 100 mA de corrente em módulo pulsado.

Conforme justificado e discutido na seção 3.3.1, o uso de *LED IR* no *PMTN* requer um sensor *IR* necessário para realizar tais análises. Abaixo na Figura 3.3.2b é mostrada a curva de resposta do sensor Infravermelho.

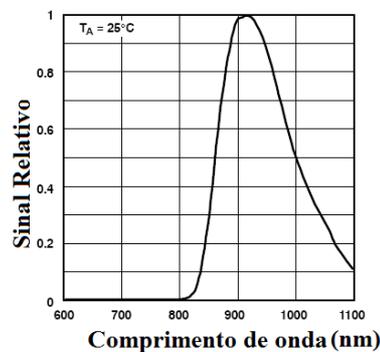


FIGURA 3.3.2b – Curva de resposta do sensor IR TSL260R-LF (TAOS)®, com máxima sensibilidade exatamente na mesma região de maior intensidade luminosa do *LED IR* em 880 nm.

O sensor IR apresenta um circuito equivalente com configuração semelhante ao do sensor TSL257 (Figura 3.3.2a).

Como pode ser observado, ambos os sensores apresentam máxima sensibilidade exatamente na máxima emissão dos *LEDs* utilizados. Esse conjunto óptico certamente permitirá resultados satisfatórios, pois estão sendo explorados os melhores parâmetros de cada um desses componentes.

3.3.3 - Microcontrolador *PIC* utilizado

O microcontrolador *PIC* (Figura 3.3.3) utilizado no projeto é do tipo 18F4550 como as seguintes características principais:

- Memória *RAM*: 2048 bytes;
- Tamanho da memória: 32 k bytes;
- Memória *EPROM*: 256 bytes;
- Número de portas de entrada e saída: 35;
- Interface *USB 2.0* com velocidade de 12 Mbit/s;
- Número de instruções 16.384.

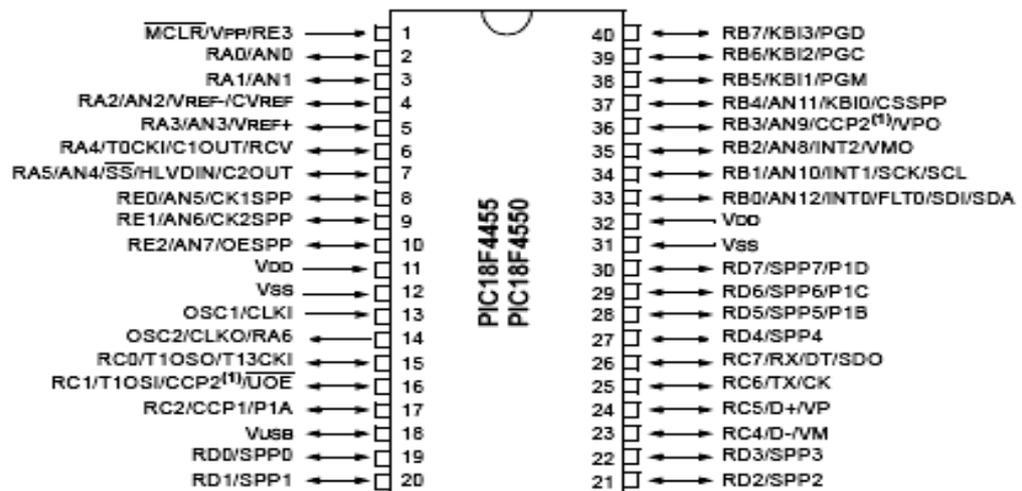


FIGURA 3.3.3 - Configuração dos pinos do *PIC18F4550*. Dos pinos 2 a 10 são para as portas analógicas A; as portas B (33 - 40); C (15 - 17 e de 23 - 26) e D (19 - 22 e 27 - 30) devem ser configuradas para portas de entrada, saída ou entrada/saída, V_{DD} é alimentação positiva, V_{SS} é alimentação negativa, V_{USB} é a alimentação do sistema *USB*, *osc1* e *osc2* são os pinos que recebem o cristal oscilador do *PIC*.

O *PIC* é controlado utilizando um programa escrito em linguagem $C^{110, 111}$ através do *software* mikroC 8.0 da mikroelektronika^{®112}. Este programa será gravado no *PIC* através de um compilador apropriado que converte o conteúdo do programa em linguagem de máquina em hexadecimal e grava o conteúdo na memória *EPROM* do *PIC*, este compilador é o Winpic800 3.60 fornecido pela MICROGENIOS^{®19}, o programa é mostrado na seção 3.3.7.

3.3.4 - Placa de estudos

É uma ferramenta importante para auxiliar no desenvolvimento do projeto. Com esta placa é possível testar alguns dispositivos eletrônicos a serem utilizados na construção do *PMTN* como os *LEDs*, sensores e o *PIC*, além da gravação do *software* escrito em linguagem C. Na Figura 3.3.4 tem-se uma fotografia da placa de estudo PICGÊNIOS da MICROGENIOS®.



FIGURA 3.3.4 - Fotografia da placa de estudos MICROGENIOS utilizada.

Essa placa de estudos é completa e possui todos periféricos úteis para elaboração de projetos, podendo ser comunicada com o computador pelo endereço serial (RS232) ou pela porta *USB*. Com a placa de estudos foram gravados todos os programas de teste e o programa principal do *PMTN* proposto. Essa placa pode ser operada em sistemas operacionais desde Windows® 98 até Windows vista®, sem problema de compatibilidade de *software*.

Com a parte óptica e *software* concluída, foi inicializada a construção do circuito eletrônico do equipamento.

3.3.5 - Circuito eletrônico do *PMTN*

O circuito eletrônico projetado para o *PMTN* é mostrado na Figura 3.3.5, na forma de diagrama de blocos com o intuito de simplificar o entendimento, dividindo-o em diversas unidades. As unidades são definidas conforme a função que desempenham no circuito eletrônico.

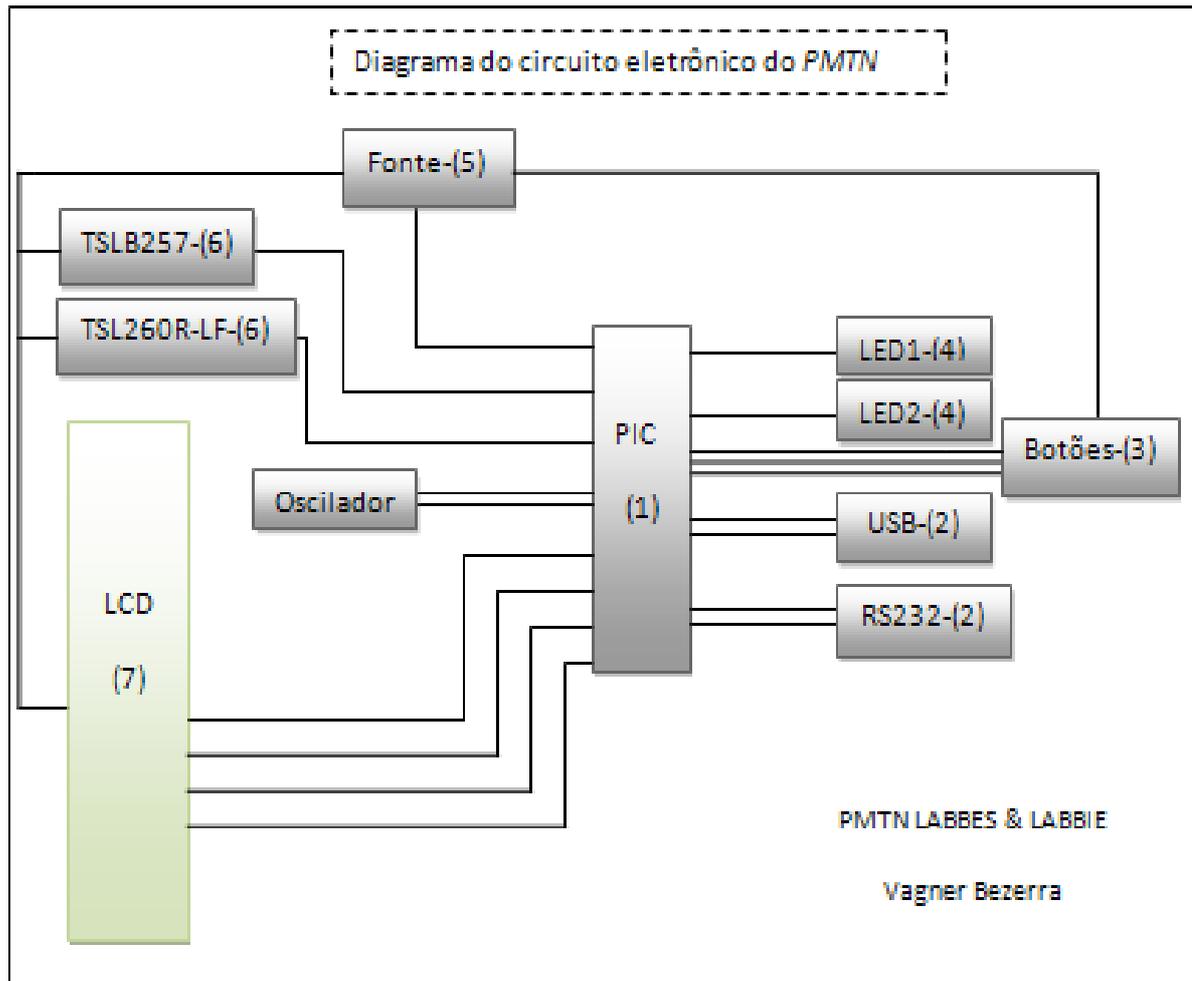


FIGURA 3.3.5 - Diagrama de blocos do circuito eletrônico do equipamento proposto (PMTN). PIC (1), comunicação (serial e USB - (2)), controle (3), LEDs (4), fonte de alimentação +5 V (5), sensores (6) e LCD (7).

O circuito eletrônico é formado pelas seguintes unidades principais:

- ✓ Unidade de controle central (1) → O PIC controla todas as funções do equipamento, desde funções mais simples como: ligar LEDs e acionar o sensor em módulo pulsado, até funções mais complexas como fazer a comunicação serial ou USB, armazenamento de dados, acionar o LCD e receber os comandos dos botões de controle. Uma vez gravado o programa em um computador, esse microcontrolador gerencia todas as funções do equipamento sendo o principal responsável pela portabilidade e automação do mesmo. Um cristal oscilador de 8 MHz é o dispositivo encarregado de sincronizar as funções do PIC;

- ✓ Unidade de comunicação (2) → O equipamento pode ser comunicado com um microcomputador pela porta USB ou pela serial. Esta

comunicação é para a transmissão e recepção de dados entre ambos, conforme simbolizado pelas linhas paralelas mostradas na FIGURA 3.3.5;

✓ Unidade de controle (3) → Existem três botões no equipamento aptos à comunicação com o usuário. Os botões 1 e 3 servem para retroceder ou avançar as opções mostradas do *menu* (itens) principal e o botão 2 (central) foi ajustado para receber o comando de *enter* (confirmação) de qualquer função do *menu* principal escrito no *software*, discutido com mais detalhes nas seções 3.3.7 e 3.3.8. Esses são acoplados a porta C do *PIC* (nos pinos 15, 16 e 17);

✓ Fonte de radiação (4) → Para o *PMTN* estão sendo utilizados *LEDs* como fontes de radiação praticamente monocromáticas, cujas características foram mostradas na seção 3.3.1. Os *LEDs* operam em regime pulsado (50 ms) para evitar o aquecimento dos mesmos. Um potenciômetro de 5 k Ω controla a corrente dos *LEDs* para que 100 mA sejam usados no módulo nefelométrico e 2 mA no módulo turbidimétrico, os quais estão ligados aos pinos 27 e 28 do *PIC*, respectivamente. Os *LEDs* do módulo nefelométrico foram acoplados a um dispositivo conhecido como BC548 com o objetivo de aumentar a luminosidade dos mesmos;

✓ Unidade de alimentação (5) → O *PMTN* apresenta uma fonte de alimentação composta por um transformador de 110 V / \pm 9 V que fornece uma corrente de 300 mA quando o equipamento é ligado em rede elétrica convencional. Uma ponte de diodo, um regulador de tensão (7805) 5V e dois capacitores eletrolíticos de 1000 μ F (35 V) também compõem a fonte de alimentação. O equipamento também pode ser alimentado externamente, pois um conector de bateria foi adaptado logo após a ponte de diodo na fonte de alimentação. Com isso, uma fonte de potencial constante entre 5 a 30 V pode ser acoplada sem danos ao circuito eletrônico. Com essas fontes, é possível alimentar adequadamente todo o circuito eletrônico e o *PIC* como mostrado na Figura 3.3.5;

✓ Unidades dos sensores (6) → Os sensores 1 (TSLB257) e 2 (TSL260R-LF) ambos da TAOS[®] convertem a luz que atingem suas superfícies em um potencial (fototransistor). O potencial é medido no pino 3 de cada sensor. Os valores em potencial (mV) são digitalizados pelo converso interno de 10 *bits* do *PIC* (A / D) e mostrados no *LCD* do equipamento. Os sensores têm o *GND* (terra) no pino 1 e alimentação no pino 2 (5 V). Os sensores estão ligados nos pinos 2 e 3 do *PIC*, como representados na Figura 3.3.5;

✓ Unidade de visualização (7) → Os dados obtidos pelo turbidímetro / nefelômetro são vistos num *display* digital (visualizador). Este permite que o usuário perceba o fenômeno de interesse e o visualize na tela do mesmo. Optou-se por este pela simplicidade e baixo custo, devido à proposta inicial da instrumentação. Os valores digitais mostrados no *LCD* são convertidos para as correspondentes unidades requeridas nas análises turbidimétricas e nefelométricas. O *LCD* está ligado à porta B do *PIC* dos pinos 35 a 40, os chamados pinos de transmissão de dados, como devidamente indicados por meio das linhas mostradas na Figura 3.3.5. Os demais pinos do *LCD* são aterrados (*GND*), o pino 1 é alimentado a 5 V pela fonte de alimentação.

O circuito eletrônico foi acondicionado em uma caixa preta de dimensões 21 x 15 x 20 cm, conforme mostrado na seção 3.3.8.

3.3.6 – Compartimento óptico

Um compartimento óptico externo ao módulo que contém o circuito eletrônico foi construído com o objetivo de evitar que possíveis vazamentos de soluções ou algum tipo de acidente pudessem gerar curto-circuito no equipamento, como pode ser visto na Figura 3.3.6.

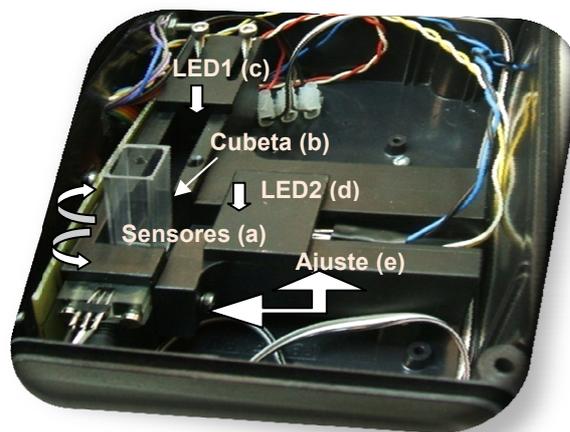


FIGURA 3.3.6 - Fotografia do compartimento óptico desenvolvido para este projeto. (a) sensores, com o sensor TSLB257 frontal com *LED1* e TSL260R - LF frontal com *LED2*, (b) cubeta de plástico (descartável), (c) *LED1* módulo turbidimétrico, (d) *LED2* nefelométrico e (e) ajuste de posicionamento da cubeta e dos *LEDs*. Para evitar reflexões da luz, o compartimento foi pintado com tinta preta fosco.

O compartimento óptico foi confeccionado totalmente em acrílico e possui duas peças móveis também do mesmo material que deslizam sobre um suporte. Os blocos de acrílico foram acondicionados numa caixa preta de 17 x 12 x 9 cm com uma tampa superior que veda perfeitamente o compartimento de radiações espúrias.

Os sensores, Figura 3.3.6 (a), foram acoplados e fixados por meio de parafusos ao suporte de acrílico que constitui o compartimento óptico. A cubeta de plástico foi devidamente polida com lixas de 400, 800 e 1200 e alumina 5% para permitir que ambas as faces estivessem transparentes e límpidas, possibilitando análises turbidimétricas e nefelométricas seqüencialmente. A cubeta é sempre posicionada na mesma posição mediante o uso de um parafuso tipo rosca que pressiona a cubeta na parede do bloco de acrílico.

Os *LEDs* estão fixos em uma peça móvel de acrílico com um furo central de 1 cm de diâmetro para permitir que as radiações dos mesmos atinjam os sensores. A movimentação dos *LEDs* permite um ajuste de intensidade e focalização sobre os sensores, pois os mesmos são caracterizados por apresentar um ângulo de abertura de 20° o qual possibilita o ajuste. O *LED1* foi fixado a uma distância de 8 cm em relação ao sensor TSLB257 (sensor azul) e o *LED2* a 4 cm do sensor TSL260R-LF (sensor *IR*). Essas medidas foram fixas para todos os experimentos. Para substituir os *LEDs* 1 e 2 por *LEDs IR* em análises por *IR*, basta simplesmente seguir o procedimento discutido na seção 3.3.1. Nesse compartimento óptico foram realizadas as análises em batelada, entretanto ela pode ser adaptada para análises em fluxo.

3.3.7 – Programa TURB03 desenvolvido para o *PMTN*

O *PMTN* possui um programa de gerenciamento de todas as suas funções escrito em linguagem de programação C. Outros tipos de linguagem podem ser utilizados, como por exemplo: *Assembly*, *Visual Basic*, C++. Entretanto, optou-se por esta pela facilidade de programação^{110, 111}.

Um diagrama de blocos do programa TUR03 desenvolvido é mostrado na Figura 3.3.7.

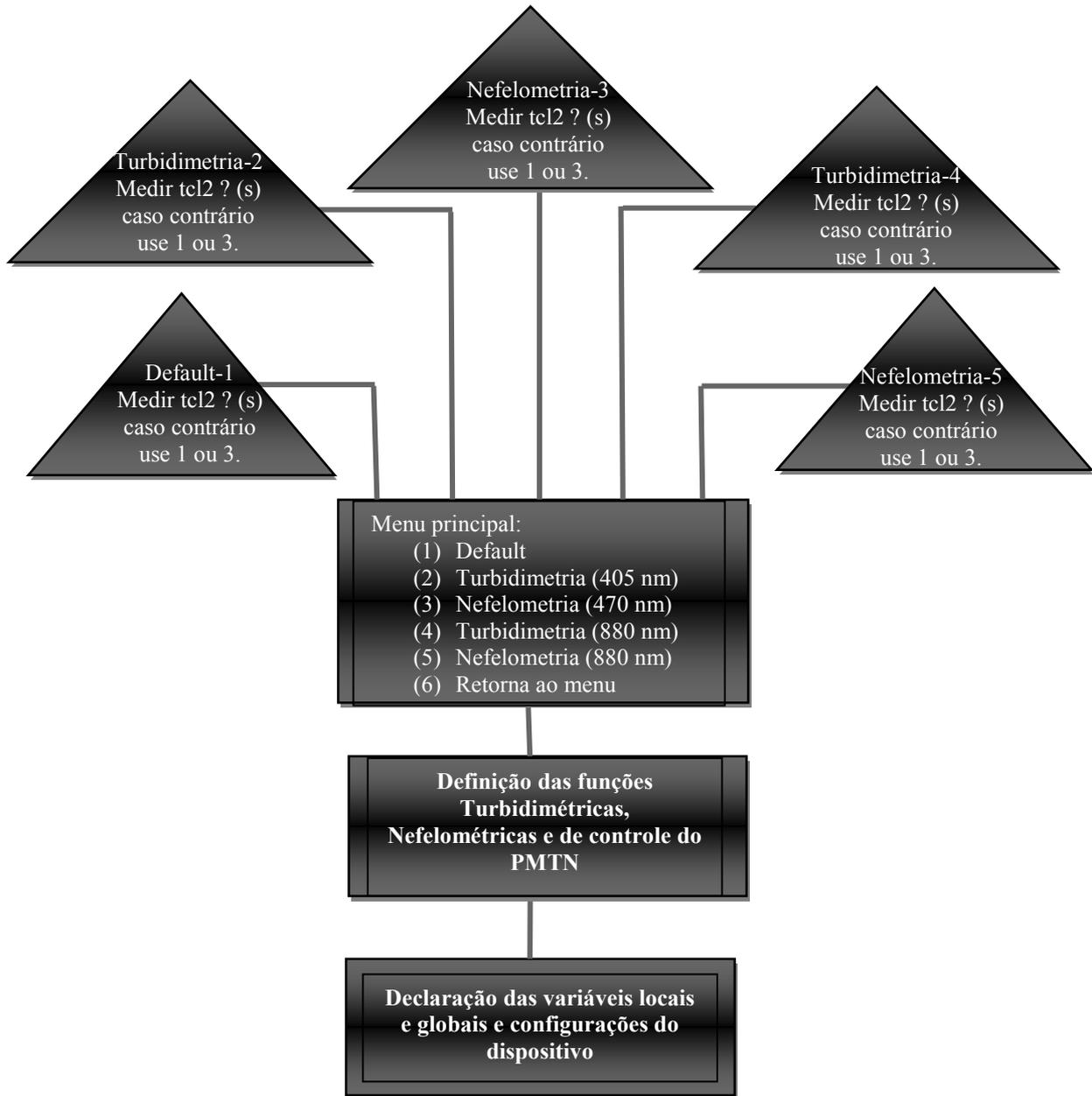


FIGURA 3.3.7 - Diagrama de bloco das funções do programa utilizado.

O programa funciona da seguinte forma: quando o usuário liga o equipamento, o *PIC* faz uma verificação das suas portas analógicas e digitais e em seguida mostra no *LCD* uma mensagem de apresentação do equipamento. Em seguida, automaticamente, é inicializada a função de controle do dispositivo. Essa função de controle é realizada por meio de três botões situados na face superior do equipamento. Uma mensagem é mostrada no *LCD* do equipamento como *menu* principal, onde são listadas as funções as quais o equipamento foi programado para executar (funções de 1 – 6). O equipamento foi feito de modo que o botão 1 (da esquerda para a direita) seja responsável por diminuir em 1 unidade o valor

mostrado cada vez que é pressionado, o botão central (tecla 2 ou tcl2) é o botão de *enter* (confirmação) e o 3 incrementa uma unidade a variável de controle. Dessa forma pode-se escolher qualquer função do menu. Selecionar e confirmar o botão no número 6 retorna ao menu principal.

Quando se escolhe uma função determinada (turbidimetria ou nefelometria) todos os cálculos de conversão de unidade são realizados mediante o uso das equações 1.3.1.1c e 1.3.1.2 mostrados nas seções 1.3.1.1 e 1.3.1.2. Os dados são mostrados em unidades arbitrárias para as funções turbidimétricas (405 nm) e nefelométricas (470 nm). Apenas quando se utiliza o módulo em nefelometria com infravermelho é que o equipamento fornece o valor em *FNU* (*Formazin Nephelometric Units*) que é uma unidade internacionalmente aceita para análises de particulado em suspensão aquosa. Pode-se optar por fazer várias análises seqüencialmente para explorar ambos os fenômenos de interesse. A resposta adquirida mostrada no *LCD* é uma média de 60.200 dados coletados durante 50 ms através de um processo prévio de integração realizado pelo *PIC*. Isso permite uma média bastante representativa das análises em questão. Isso é possível devido à elevada frequência de oscilação do cristal utilizado (8 MHz).

3.3.8 – Equipamento construído - *PMTN*

Na Figura 3.3.8, tem-se uma fotografia do estágio final no qual se encontra o *PMTN*, com o compartimento óptico embutido lateralmente.

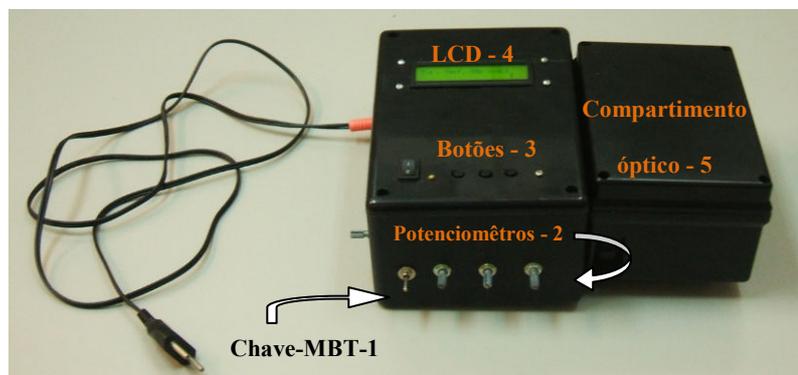


FIGURA 3.3.8 - Fotografia do equipamento portátil construído com módulo de bateria. (1) chave eletro-mecânica do módulo de bateria (MBT), (2) potenciômetros de ajuste de corrente do sistema óptico, (3) botões de controle, (4) *LCD* e (5) compartimento óptico.

Devido ao baixo consumo de energia e a rapidez na tomada de dados, o equipamento é capaz de realizar uma calibração rapidamente. Pensando-se na relação custo benefício, uma bateria recarregável LEXEL[®] Ni-MH de 8.4 V com capacidade de gerar 160 mAh foi utilizada.

3.4 – Teste de estabilidade de sinal

Um dos testes mais utilizados para comprovar a qualidade dos resultados fornecidos por um equipamento é a estabilidade de sinal. Esse foi testado com o próprio equipamento devidamente isolado de REMs externas e com os *LEDs* operando em modo pulsado. Também foram utilizados um multímetro comercial e um computador através de uma interface *USB* para observação dos dados.

3.5 – Procedimento de análise

O analista liga o equipamento em módulo de bateria ou na rede elétrica convencional em 110 V, coloca a cubeta no compartimento óptico e em seguida fecha o compartimento. Depois, de acordo com a opção do *menu* desejado pode-se realizar as medidas turbidimétricas ou nefelométricas na região do azul ou no infravermelho. Esses são os passos feitos pelo analista. O microcontrolador recebe o sinal de confirmação e aciona os *LEDs* conforme a escolha do usuário. A radiação é devidamente espalhada e atinge o detector. O sinal de corrente é convertido a um potencial de até 5 V e o disponibiliza na porta analógica do *PIC* para posterior conversão analógica / digital (A/D). O sinal é integrado em 60.200 dados digitais (Unidades Arbitrárias, UA) durante 50 ms e, por fim, o disponibiliza no *display* do equipamento. Uma vez calibrado os resultados são apresentados em termos de unidades nefelométricas de formazina (*FNU*) para análise *IR*, sinal turbidimétrico (unidades arbitrárias - UA) ou sinal nefelométrico (unidades arbitrárias - UA). Todos esses passos são realizados pelo *PIC* automaticamente via TURB03.

Lembrando que o equipamento opera como padrão com os *LEDs* na região do azul. Ao escolher a função *IR*, o usuário deve efetuar a troca das respectivas fontes de REMs.

3.6 – Calibração do equipamento com padrão turbidimétrico

Uma calibração com padrão de turbidez (material de referência internacional) é necessária. Pode-se utilizar estireno - divinil benzeno, sílica ou formazina. Devido à uniformidade da suspensão gerada e o tamanho das partículas formadas serem apropriados, o padrão de turbidez a base de formazina é o mais aceitável e recomendado por instituições internacionais como *ASTM*, *ISO*, *EPA*, *ASTM* e *MEBAK* para análise de turbidez de água e bebidas. Armazenado corretamente, esse apresenta bons resultados na calibração de equipamentos⁷.

3.7. – Aplicações analíticas

Uma vez realizados os estudos de estabilidade, relação sinal-ruído e calibração prévia, o turbidímetro / nefelômetro pode ser posto em funcionamento para análises num sistema químico de interesse. Serão abordados estudos de interferência, adição e recuperação, limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), faixa linear e reprodutibilidade em três dias distintos medidos em triplicata. Amostras de sulfato em águas de lago, N-acetilcisteína, captopril e tiamina em fármacos e potássio em energéticos e alimentos foram analisadas seqüencialmente por turbidimetria e nefelometria.

As medidas turbidimétricas e nefelométricas são baseadas no espalhamento de REM incidente devido à formação de uma suspensão formada pela interação entre o reagente e o analito em determinadas concentrações e num certo pH da solução. Portanto, a concentração do reagente (R) e do analito (A), pH da solução (pH), e a concentração do surfactante (S) são importantes variáveis a serem estudadas simultaneamente.

3.7.1 – Planejamento experimental 2⁴ com ponto central para a determinação de sulfato, N-acetilcisteína, potássio e tiamina

Na Tabela 3.7.1 são mostrados os coeficientes de contrastes das variáveis para cada experimento. O planejamento fornece um total de 19 experimentos sendo 16 do planejamento fatorial 2⁴ e 3 do ponto central.

TABELA 3.7.1 - Modelo dos ensaios a serem realizados e os níveis das variáveis.

Ensaio	Var1	Var2	Var3	Var4
1	+	+	+	+
2	-	+	+	+
3	+	-	+	+
4	-	-	+	+
5	+	+	-	+
6	-	+	-	+
7	+	-	-	+
8	-	-	-	+
9	+	+	+	-
10	-	+	+	-
11	+	-	+	-
12	-	-	+	-
13	+	+	-	-
14	-	+	-	-
15	+	-	-	-
16	-	-	-	-
17	0	0	0	0
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0

A nomenclatura das variáveis pode alterar-se entre um método e outro, por exemplo, para o estudo de N-acetilcisteína a variável 1 pode ser A (analito) e para a determinação de sulfato a variável 1 pode ser S (surfactante), porém a estrutura e a seqüência dos contrastes na Tabela 3.7.1 deve ser mantida rigorosamente.

3.7.1.1 - Determinação de sulfato em amostras de águas de lago

A reação química:

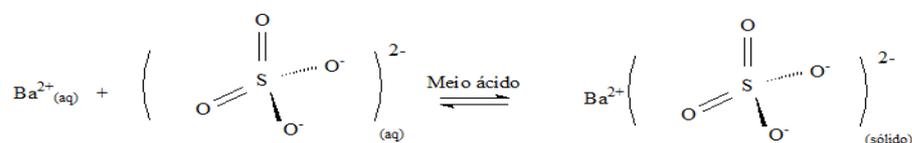


FIGURA 3.7.1.1 – Reação química entre íons sulfato e bário.

Variáveis a estudar:

- Concentração de reagente (R), cloreto de bário (Ba);
- Concentração de surfactante (S), álcool polivinílico (APV);

- pH da solução final (pH);
- Concentração do analito (A), sulfato de sódio (Na).

Variáveis codificadas:

TABELA 3.7.1.1 - Níveis das variáveis estudadas para determinação de sulfato.

Nível	Sulfato (A)	Ba ²⁺ (R)	APV (S)	pH
-1	10 mg L ⁻¹	0,1% (m / v)	0,01% (m / v)	3,0
0	60 mg L ⁻¹	3,0% (m / v)	0,05% (m / v)	2,0
1	110 mg L ⁻¹	5,9% (m / v)	0,09% (m / v)	1,0

3.7.1.2- Determinação de N- acetilcisteína em fármacos comerciais

Reação química:

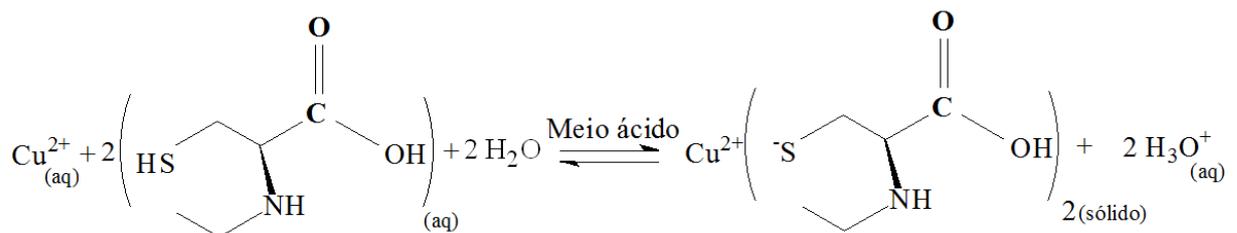


FIGURA 3.7.1.2 – Reação química entre N-acetilcisteína e íons Cu²⁺.

Variáveis a estudar:

- Concentração de reagente (R), sulfato de cobre (Cu²⁺);
- Concentração de surfactante (S), polietilenoglicol (PEG);
- pH da solução final (pH);
- Concentração do analito (A), N-acetilcisteína (N-act.).

Variáveis codificadas:

TABELA 3.7.1.2 - Variáveis estudadas para determinar N-act.

Nível	N-act. (A)	Cu ²⁺ (R)	PEG (S)	pH
-1	5,0 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹	0,01%(v / v)	2,0
0	1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹	2,0 x 10 ⁻² mol L ⁻¹	0,05%(v / v)	1,5
1	1,5 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹	3,9 x 10 ⁻² mol L ⁻¹	0,09%(v / v)	1,0

3.7.1.3 - Determinação de potássio em alimentos

Reação química:

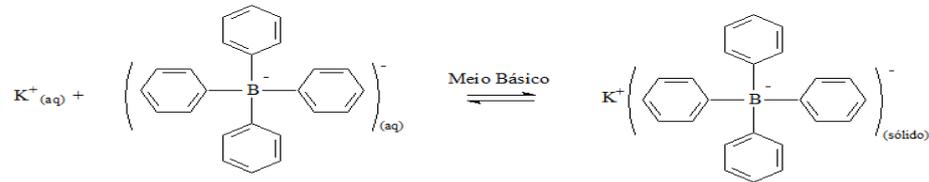


FIGURA 3.7.1.3 – Reação química entre íons potássio e tetrafenilborato.

Variáveis a estudar:

- Concentração de reagente (R), tetrafenilborato de sódio (TFB-Na);
- Concentração de surfactante (S), APV;
- pH da solução final (pH) – Tampão borato;
- Concentração do analito (A), cloreto de potássio (K^+).

Variáveis codificadas:

TABELA 3.7.1.3 - Níveis das variáveis estudadas para determinar K^+ .

Nível	K^+ (A)	TFB-Na(R)	PVA (S)	pH
-1	$1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	0,5% (m / v)	0,01% (m / v)	11,1
0	$7,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	1,5% (m / v)	0,05% (m / v)	9,2
1	$1,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	2,5% (m / v)	0,09% (m / v)	7,0

3.7.1.4 - Determinação de tiamina em fármacos comerciais

Reação química:

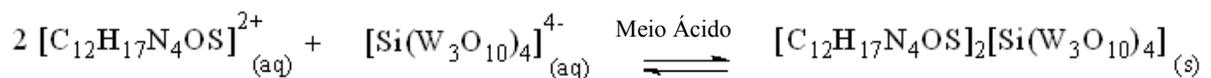


FIGURA 3.7.1.4 – Reação entre os íons provenientes do cloridrato de tiamina e do ácido silicotungstico.

Variáveis a estudar:

- Concentração de reagente (R), ácido silicotungstico (ASTG);
- Concentração de surfactante (S), PEG;

- pH da solução final (pH) em termos da concentração de HCl;
- Concentração do analito (A), tiamina.

Variáveis codificadas:

TABELA 3.7.1.4 - Níveis das variáveis estudadas para determinar tiamina.

Nível	Tiamina (A)	ASTG(R)	PEG (S)	HCl(pH)
-1	$2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	$9,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	0,01%(v / v)	$0,1 \text{ mol L}^{-1}$
0	$7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	$1,60 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	0,05%(v / v)	$0,6 \text{ mol L}^{-1}$
1	$1,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	$2,30 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	0,09%(v / v)	$1,1 \text{ mol L}^{-1}$

3.7.2 – Planejamento fatorial 2^3 com ponto central para otimização das variáveis na determinação de captopril

Diferentemente do apresentado anteriormente, para o caso do captopril são necessários apenas três variáveis, pois o pH da solução foi mantido fixo em pH 7,0. O reagente (Ag^+) sofre hidrólise em soluções básicas ($\text{pH} > 7$). Em soluções ácidas ($\text{pH} < 7$) o precipitado formado apresenta-se mais solúvel e instável, assim soluções de pH neutro ($\text{pH} = 7,0$) foram utilizadas como pH ótimo. Portanto, a Tabela 3.7.2 possui a seguinte configuração em termos dos coeficientes de contrastes:

TABELA 3.7.2 - Níveis das variáveis para o planejamento de captopril em fármacos.

Ensaios	R. (mol L^{-1})	S. (mol L^{-1})	A. (mol L^{-1})
1	+	+	+
2	-	+	+
3	+	-	+
4	-	-	+
5	+	+	-
6	-	+	-
7	+	-	-
8	-	-	-
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

Tem-se um total de 11 experimentos, sendo 8 do planejamento fatorial e 3 da réplica no ponto central.

3.7.2.1 - Determinação de captopril em fármacos comerciais

Reação química:

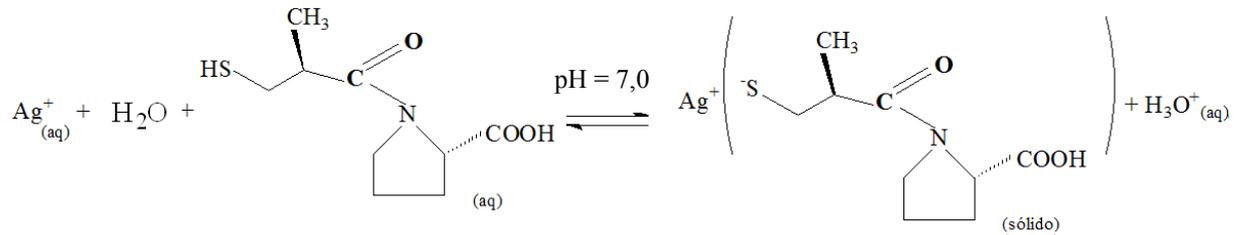


FIGURA 3.7.2.1 – Reação entre os íons prata e captopril.

Variáveis a estudar:

- Concentração de reagente (R), nitrato de prata (Ag^+);
- Concentração de surfactante (S), PEG;
- Concentração do analito (A), captopril.

Variáveis codificadas:

TABELA 3.7.2.1 - Variáveis estudadas para determinar captopril.

Nível	Captopril (A)	Ag^+ (R)	PEG (S)
-1	$4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	$1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	0,01%(v / v)
0	$7,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	$2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$	0,05%(v / v)
1	$1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	$3,9 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$	0,09%(v / v)

Os níveis de concentração das variáveis são utilizados conforme apresentados nas Tabelas 3.7.1 e 3.7.2. A ordem de adição de cada substância foi mantida na seguinte seqüência: Primeiro adicionou-se o reagente em determinado pH (o reagente estará com pH determinado pelo planejamento), depois o analito e por último o surfactante. Após a adição dessas substâncias, uma agitação por um tempo de 30 segundos foi utilizada para melhor homogeneização da suspensão formada. Posteriormente, em média após 2 minutos, foram registrados os sinais turbidimétricos e nefelométricos e mostrados no *display* do equipamento desenvolvido. Esse procedimento foi realizado para todos os analitos estudados, conforme discutido na seção 4.3.1.6.2 em resultados e discussão (capítulo 4).

Capítulo 4:

Resultados e discussão

4 - Resultados e discussão

4.1 - Teste de estabilidade do *PMTN*

4.1.1 - *PMTN* ligado a rede elétrica

Na Figura 4.1.1 é mostrado o teste de estabilidade para uma série de medidas realizadas num intervalo de seis horas e, em três dias diferentes. Os resultados mostrados são referentes ao equipamento operando em módulo nefelométrico (470 nm) com dados em unidades arbitrárias, apenas com a cubeta no compartimento óptico.

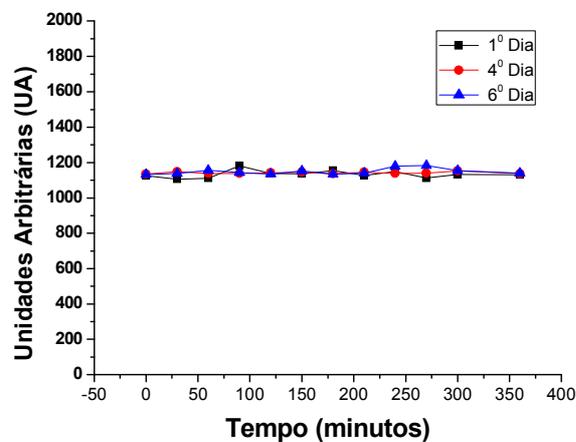


FIGURA 4.1.1 – Avaliação da estabilidade do *PMTN*. Monitoramento realizado por um período de seis horas em três diferentes dias.

Analisando o gráfico da Figura 4.1.1 pode-se observar que o equipamento é estável, independente do tempo e do dia no qual foi operado. De fato, pouca flutuação (*drift*) é percebida entre as medidas, gerando um desvio padrão relativo, do inglês, *RSD* (*Relative Standard Deviation*) de 0,05 %. Nesse estudo de estabilidade, o equipamento foi operado no módulo nefelométrico, com a fonte de radiação (*LED2*) acionada e utilizando a cubeta (sem solução) no compartimento óptico. Nessa etapa de testes preliminares é necessário apenas conhecer a estabilidade do equipamento e não do sistema químico, de modo que, apenas a cubeta sem solução foi posta no caminho óptico. O sinal nefelométrico ficou por volta de 1100 U.A. devido principalmente a luz espalhada pela cubeta e posteriormente detectada à 90°.

Na Figura 4.1.1a são mostrados os dados em unidades arbitrárias (UA) referentes às medidas turbidimétricas (405 nm) para a estimativa da relação sinal

ruído. Na primeira série de medidas, Figura 4.1.1a (a), o equipamento estava com a fonte de REM desligada com o objetivo de obter o nível de ruído detectado, esse é conhecido na literatura como *dark*, termo em inglês referente ao sinal obtido na ausência de radiação³. A segunda série de medidas, Figura 4.1.1a (b), refere-se ao sinal analítico total (sinal turbidimétrico sem qualquer tratamento dos dados), apenas com a cubeta no compartimento óptico.

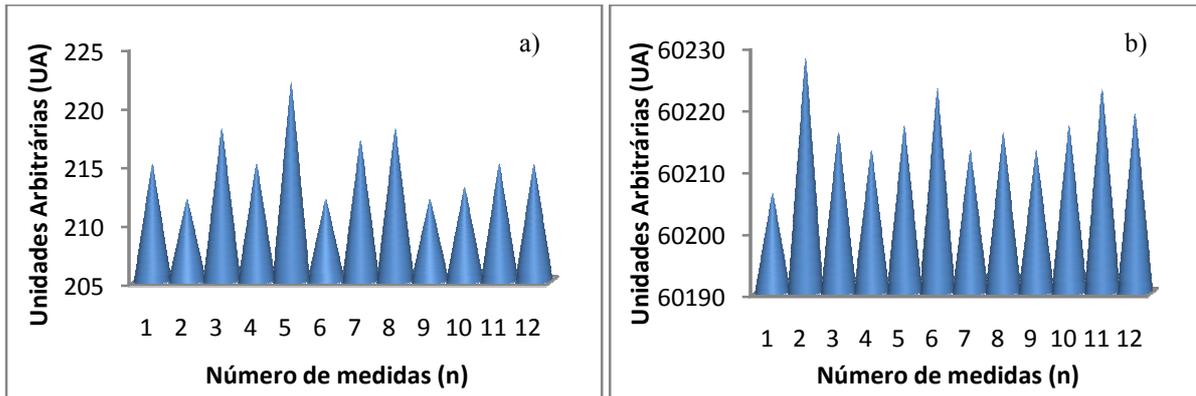


FIGURA 4.1.1a – Avaliação da relação sinal ruído para 12 medidas realizadas no intervalo de 30 minutos (6 horas). (a) série de medidas do sinal espúrio (*dark*, em média 215 UA) e (b) série de medidas do sinal turbidimétrico total (em média 60.200 UA, em condições próximas a da saturação do sensor).

Foi observado que o sinal espúrio (*dark*) corresponde apenas a 0,36 % do sinal total. Portanto têm-se uma ampla faixa de trabalho empregando esse equipamento. O equipamento ficou ligado por um período de 6 h e um baixo valor de *RSD* (0,03%, calculado para o sinal turbidimétrico total) comprova a baixa variabilidade dos dados. Independente da técnica utilizada, como foi comprovado pelos valores de *RSD* obtidos. A estabilidade do equipamento é perceptível e ambas as técnicas podem ser utilizadas para as determinações dos analitos de interesse. Variações nos valores de *RSD* acima desses encontrados podem ser creditadas aos fatores físicos e químicos nas quais as determinações dos analitos foram realizadas.

Os dados apresentados são referentes ao detector TSLB257 (detector sensível a REMs na região do azul). Entretanto, os dados fornecidos pelo sensor TSL260R-LF *IR* são compatíveis (*RSD* = 0,05%), pois apresentam semelhantes níveis de ruído devido à similaridade no sistema de aquisição de dados, como visto na seção 3.3.2. Segundo os *datasheets*^{107, 109} do fabricante (manuais), os sensores têm um nível de ruído de apenas 0,08 % (4 mV ruído / 5000 mV de sinal).

O equipamento forneceu um valor de 0,36 %, esse valor um pouco acima do nível de ruído fornecido pelos sensores é devido ao somatório do ruído fornecido por todos os componentes eletrônicos e materiais os quais constituem o equipamento (*LEDs*, sensores, resistores, *LCD*, *PIC*, capacitores, diodos, retificadores, fios, solda entre outros). Entretanto, o valor encontrado é bastante aceitável, haja vista a utilização de componentes eletrônicos de baixo custo.

Os valores de *dark* são sempre descontados via TURB03 antes de realizar cada análise, de modo que, os dados analíticos são exclusivamente referentes aos fenômenos de interesse.

Todos os resultados mostrados foram obtidos em uma sala aclimatizada com temperatura estável e constante em $(18 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ e com o equipamento ligado em rede elétrica convencional (110 V).

Em seguida, são apresentados os resultados dos testes de estabilidade obtidos com o equipamento em módulo de bateria.

4.1.2 - *PMTN* em módulo de bateria

O módulo de bateria foi acionado para verificação da portabilidade do equipamento construído. Foram testados em dois ambientes distintos, um com controle de temperatura (sala aclimatizada) e outro em ambiente sujeito a variação de temperatura. Os resultados são mostrados na Figura 4.1.2.

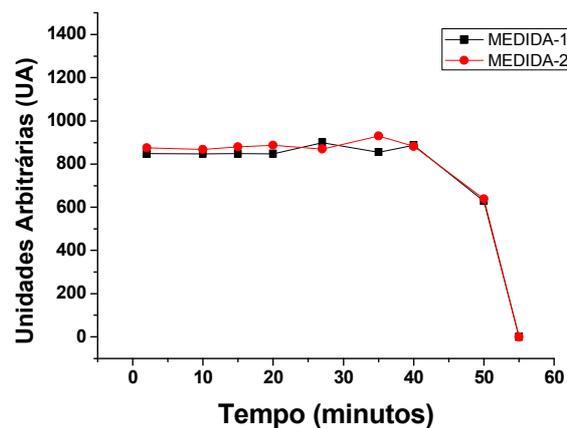


Figura 4.1.2 – Avaliação da estabilidade para o *PMTN* em módulo de bateria. Medida 1 (em sala aclimatizada com 18°C de temperatura) e medida 2 (ambiente externo ao laboratório, 29°C). Os dados são referentes ao módulo nefelométrico (470 nm) apenas com água deionizada na cubeta.

Analisando os dados obtidos da Figura 4.1.2, pode-se concluir que não há diferença estatística ao nível de confiança de 95%. A variação de temperatura foi registrada utilizando um termômetro digital portátil da INSTRUTHERM[®] modelo TE-400 com resolução de 0,1 °C e com uma bateria de 1,5 V.

A bateria recarregável do *PMTN* (LEXEL[®] Ni-MH de 8,4 V com capacidade de gerar 160 mAh) forneceu boa estabilidade ao equipamento com um *RSD* de 0,07%. Porém, a partir de 40 minutos, empregando essa bateria, o funcionamento do equipamento foi comprometido, como pode ser observado na Figura 4.1.2. Um tempo maior de funcionamento pode ser alcançado aumentando-se a carga fornecida pela bateria e há, no mercado, baterias que poderiam aumentar o tempo de uso do equipamento. Todavia, quanto maior a carga da mesma, maior é seu custo. A inserção do módulo de bateria permite um ganho em autonomia de energia, portabilidade e robustez ao *PMTN*.

O *PMTN* consome aproximadamente 240 mAh, que pode ser considerado um baixo consumo de corrente elétrica em termos operacionais. Entretanto, como o tempo de resposta do *PMTN* é da ordem de 50 ms e a manipulação dos reagentes leva em média 30 segundos, muitas análises podem ser realizadas com o equipamento ligado. Desligando o equipamento pode-se aumentar este tempo (45 minutos), uma vez que o equipamento é previamente calibrado e todos os dados são gravados na memória interna do *PIC*. Uma substituição da bateria pode ser realizada sem comprometer o seu desempenho analítico.

Os *LEDs* e os sensores utilizados não apresentam uma variação significativa no desempenho quando utilizados na faixa de temperatura entre 20 – 45 °C, conforme o *datasheet* dos fabricantes¹⁰⁷.

O módulo de bateria foi idealizado para análises de sulfato em locais distantes ou de difícil acesso sujeitos a variação de temperatura. Esse tipo de análise em campo é importante para conservar a autenticidade das amostras e a tomada de decisões preventivas.

4.1.3 - Teste de estabilidade com um multímetro digital

O teste de estabilidade do *PMTN* foi realizado dessa vez tomando um multímetro digital GoldStar modelo DM-341 como interface. O sinal foi monitorado por um período de 6 horas e o desempenho foi semelhante ao anteriormente observado no *display* do equipamento proposto. O objetivo de realizar esses testes é

observar a qualidade do sinal analítico em outros equipamentos interligados a ele. Análises foram registradas ao longo desse tempo e obtiveram-se as leituras do sinal espúrio com os *LEDs* (405 e 470 nm) desligados e sinal total com os *LEDs* ligados, obtendo-se um nível de ruído de 0,81%. O nível de ruído foi maior do que o fornecido no *display* do equipamento. Isso significa que o ruído do *PMTN* foi somado ao do multímetro durante as leituras feitas com o mesmo, pois quanto mais dispositivos acoplados maiores são as tendências de obtenção de sinais espúrios inerentes aos outros componentes eletrônicos utilizados.

4.1.4 - Teste de estabilidade com um microcomputador

Um microcomputador Pentium 4, com uma interface NI USB-6008 com resolução de 12 Bits e velocidade de 10 kS/s da *National instruments* foi utilizado para a aquisição dos sinais oriundos do *PMTN*. Da mesma forma descrita acima, foram realizados os testes para o monitoramento do equipamento por um período de 6 h. O nível de ruído foi estimado em 0,88%, resultado semelhante aos obtidos nos testes anteriores. Uma fotografia do programa fornecido pelo fabricante é mostrada na Figura 4.1.4.

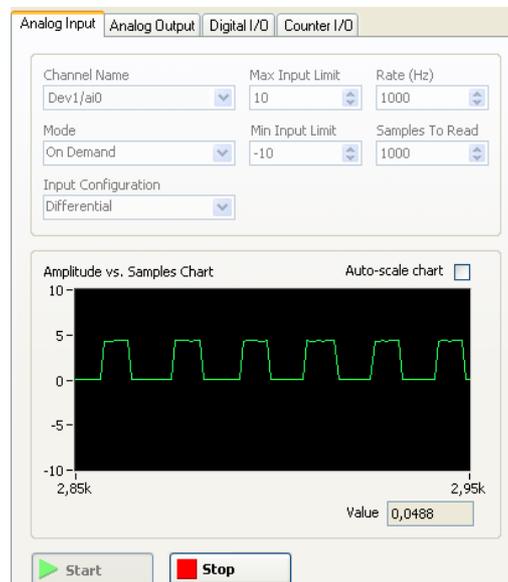


FIGURA 4.1.4 - Programa fornecido pela interface NI USB-6008 mostrando o sinal pulsado obtido pelo *PMTN*.

Como pode ser visto na Figura 4.1.4, cada sinal analítico pulsado corresponde a uma determinação realizada pelo analista. O sinal pulsado é uma técnica utilizada para minimizar sinal espúrio. Quando se pulsa uma fonte de

radiação, evita-se que flutuações na rede elétrica possam influenciar nas medidas do equipamento e previne-se quanto ao aquecimento das fontes de REMs. Os pulsos são controlados pelo cristal oscilador do *PIC*, sendo o sincronismo feito com elevada eficiência. Todos os testes, ensaios e determinações realizadas adiante foram executados com o *PMTN* operando em modo pulsado. Em seguida é mostrada a calibração do *PMTN* com formazina.

4.2 - Calibração do *PMTN*

Os resultados da calibração do *PMTN* com formazina (F) para ambos os métodos turbidimétrico (T) e nefelométrico (N) com as determinações executadas em comprimento de onda da região azul e IR são mostrados na Figura 4.2.

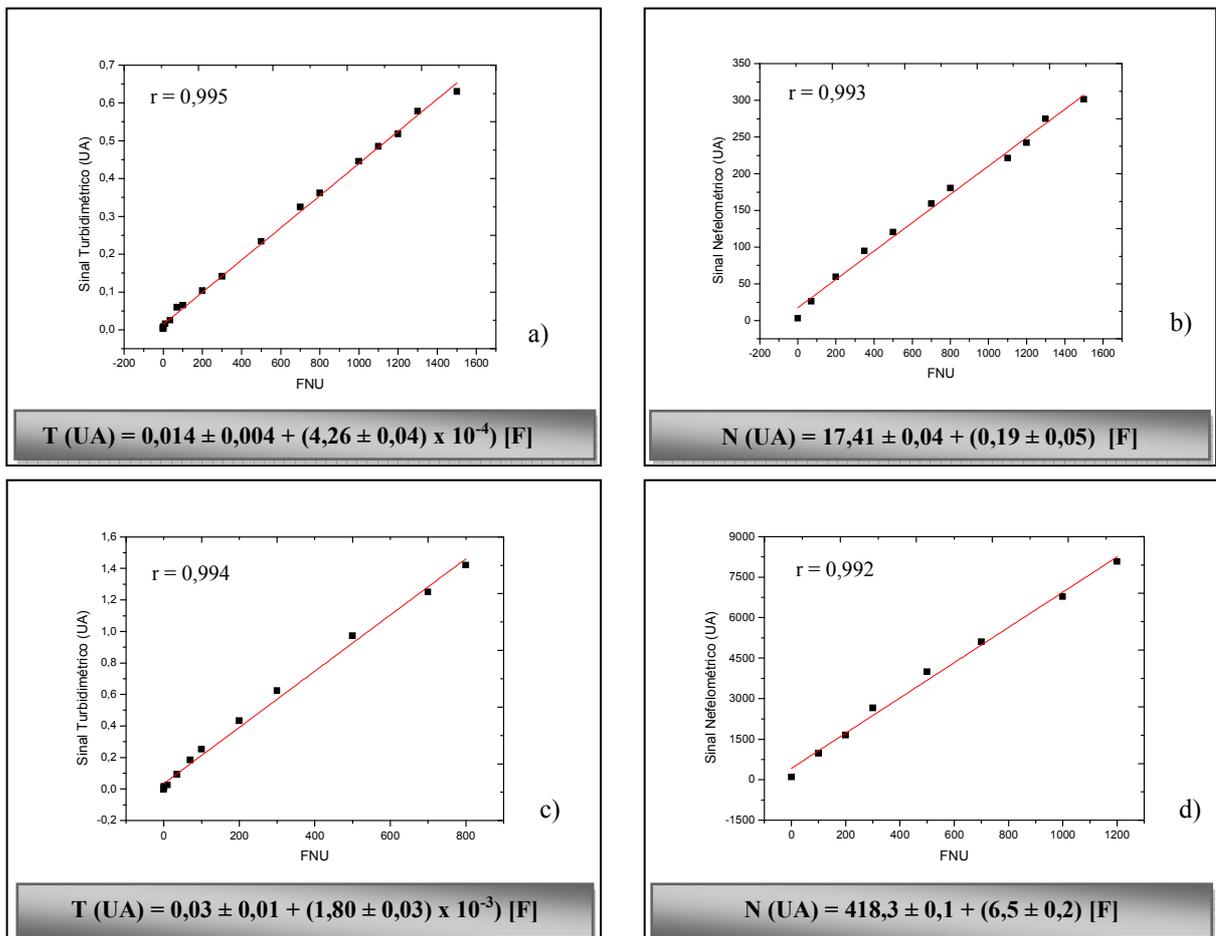


FIGURA 4.2 - Curvas de calibração Turbidimétrica e Nefelométrica com *LED IR* em 880nm (a) e (b) e com *LED* na região azul (405 e 470 nm) (c) e (d). As respectivas equações obtidas pelas regressões lineares realizadas também são mostradas.

Dentre as quatro curvas de calibração mostradas, a curva de calibração da Figura 4.2 (b) é a única que segue as normas da ISO 7027 para equipamentos a base de *LED* como fonte de radiação. Os dados revelam que em termos de regressão linear os métodos são compatíveis, entretanto as medidas feitas em 470 nm (nefelométrico) mostram-se com superior sensibilidade analítica por mais de uma ordem de grandeza em relação às realizadas com *LED IR* em 880 nm (nefelométrico). O método turbidimétrico (405 nm) mostrou-se 4 vezes mais sensível quando comparado com aquele baseado em medidas no *IR*. Portanto, pode-se justificar a realização das determinações na região do azul ao invés daquelas realizadas no *IR*^{3, 6, 7}.

Esses resultados estão de acordo com a Equação 1.1.3.1b, pois o sinal analítico é inversamente proporcional à quarta potência do comprimento de onda da radiação incidente ($1/\lambda^4$). A diferença em comprimentos de onda ($\lambda_{2m\acute{a}x.} - \lambda_{1m\acute{a}x.} = 65$ nm, onde: $\lambda_{1m\acute{a}x.} = 405$ nm $\lambda_{2m\acute{a}x.} = 470$ nm) é pequena o suficiente para não influenciar na qualidade das medidas turbidimétricas e nefelométricas, como visto, pois os resultados nefelométricos foram melhores em termos de sensibilidade analítica que os turbidimétricos. Todavia, o equipamento está devidamente calibrado para análises de particulados em suspensão em qualquer tipo de matriz e as análises na região *IR* serão utilizadas sempre que necessárias. Abaixo, na Tabela 4.2, são mostrados alguns parâmetros obtidos pelos métodos aplicados.

TABELA 4.2 - Especificações técnicas do equipamento proposto para análise turbidimétrica e/ou nefelométrica.

PMTN/ Característica*	Turbidimetria	Nefelometria	Turbidimetria	Nefelometria
Faixa (FNU)	0,001-800	0,001-1200	0,01-1500	0,01-1500
Fonte de luz	LED 405 nm	LED 470 nm	LED IR 880 nm	LED IR 880 nm
Ângulo de medida (°)	180	90	180	90
Limite de Detecção	0,001 NTU	0,001 NTU	0,01 NTU	0,01NTU
Precisão	± 0,17%	± 0,31%	± 0,25%	± 0,55%
Critério de normas	-	-	-	ISO 7027

*Número de padrões necessários para calibração antes do uso = 3.
Tamanho da amostra = 4 mL (cubeta de plástico). Alimentação 110 V ou bateria de 9 V.

4.3 - Resultados das aplicações analíticas no PMTN

4.3.1 - Determinação de sulfato em águas

4.3.1.1 - Planejamento fatorial 2^4 com ponto central

Os resultados obtidos foram normalizados e são mostrados no gráfico dos efeitos. Optou-se por fazer um planejamento fatorial com ponto central, pois conforme a literatura estuda-se três níveis de concentração de analito para três níveis de reagentes. Mesmo sabendo-se que a concentração de analito é uma variável importante, essa foi adicionada no planejamento para observar a sua relação com a concentração de reagente⁸.

Abaixo é mostrado o gráfico dos efeitos para as variáveis estudadas no planejamento referente à determinação de sulfato em amostras de água.

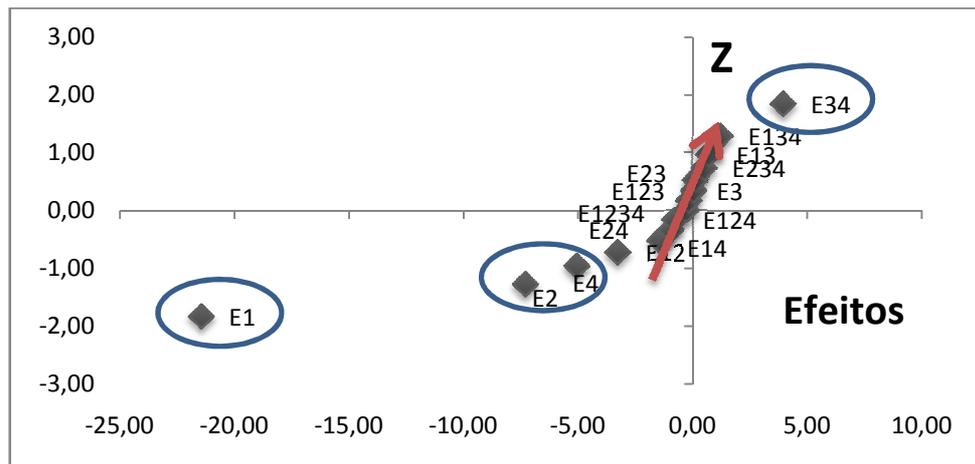


FIGURA 4.3.1.1 – Gráfico dos efeitos do planejamento fatorial com ponto central para a determinação de sulfato em água. O método turbidimétrico foi utilizado com medida em 405 nm. Legenda: E1 (efeito da variável 1 = A (Analito)), E2 (efeito da variável 2 = R (Reagente)), E3 (efeito da variável 3 = S (Surfactante)), E4 (efeito da variável 4 = pH (pH da solução)).

As variáveis passam do nível -1 (menor valor da variável) para o nível +1 (maior valor da variável) sendo essa variação refletida no sinal analítico medido. No caso da determinação turbidimétrica, a potência da REM que chega ao detector diminui com o aumento da concentração de partículas em suspensão. Assim, quando o nível da variável passa de menos (-) para mais (+) causando uma diminuição do sinal (desloca-se para efeito negativo) torna-se um efeito desejado e,

portanto a variável deve ficar em seu maior nível (+1). Caso contrário, se o sinal diminuir com menor intensidade, devido ao menor espalhamento da REM (desloca-se para efeito positivo) caracteriza-se um fenômeno indesejado e a variável deve ficar em seu nível menor (-1). Assim sempre que a variável aparecer no gráfico de efeitos com valores negativos ela deve ficar em seu maior nível (+1) e quando o efeito for positivo seu nível deve ser menor (-1).

Analisando o gráfico dos efeitos pode-se dizer que as principais variáveis são: Var1 = A(+1) = 110 (mg / L), Var2 = R(+1) = 5,9% (m / v) e Var4 = pH = 1,0. A variável 3 (sufactante) não se mostrou importante, pois passa próximo a linha reta que liga os pontos de baixa significância estatística e, portanto, pode ter os níveis (+1) ou (-1), cominando nos experimentos 1 ou 3. Entretanto, o experimento 3 forneceu os melhores resultados em termos de estabilidade da suspensão formada, onde a concentração do surfactante deve ficar em seu nível (-1) isto é, 0,01 % (m / v). Essas variáveis foram devidamente utilizadas ao longo de todos os experimentos necessários para a determinação de sulfato em amostras de águas da represa do Lago Monjolinho (São Carlos – SP). Os efeitos das combinações entre as variáveis não foram discutidos nesse presente trabalho, pois nesse caso, o foco foi direcionado na contribuição que cada variável fornece ao planejamento. Entretanto, em trabalhos futuros essas combinações podem ser devidamente exploradas.

Os demais analitos também foram analisados e estudados por meio do gráfico dos efeitos, sendo a descrição e a explicação do fenômeno abordado de forma semelhante, fazendo uso do método turbidimétrico em comprimento de onda de 405 nm. O método nefelométrico fornece resultados similares, haja vista que o equipamento foi devidamente calibrado para ambos os métodos. A escolha pelo método turbidimétrico como padrão para abordar o gráfico dos efeitos é simplesmente pelo fato da técnica ser mais conhecida e, portanto, de mais fácil interpretação.

Outro fato interessante de ser esclarecido é que o equipamento faz análise turbidimétrica e nefelométrica de modo praticamente simultâneo, com 50 ms de intervalo entre uma e outra medida, possibilitando assim obter as mesmas condições de análises em ambas as técnicas.

4.3.1.2 - Estudo de interferentes em potencial em amostras de água

Uma vez determinadas as variáveis mais importantes e seus respectivos níveis foi em seguida realizada a análise de possíveis interferentes no método baseado na formação de sulfato de bário. Por se tratar de amostras ambientais (águas de lago), muitas substâncias podem estar contidas, entretanto foram tomados alguns desses possíveis interferentes em concentrações nas quais esses possam causar alguma interferência¹¹³. Os resultados são mostrados na Tabela 4.3.1.2.

TABELA 4.3.1.2 – Efeito dos concomitantes na análise turbidimétrica de sulfato. Interferência calculada utilizando-se uma solução padrão de 80 (mg / L) ($8,33 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de SO₄²⁻).

Possíveis interferentes	Interferência (%)
Cloreto de sódio (24x)	1,5
Fosfato diácido de potássio (24x)	-0,6
Cloreto de potássio (24x)	1,6
Carbonato de cálcio (24x)	-0,4
Fluoreto de sódio (2,4x)	-2,5
Cloreto de magnésio (24x)	-1,8
Brometo de potássio (24x)	1,9
Nitrato de sódio (24x)	0,7
Cloreto férrico (2,4x)	-2,6
Todos *	-3,9

* Todos os concomitantes (fosfato diácido de potássio, cloreto sódio, cloreto de magnésio, cloreto de potássio, brometo de potássio, nitrato de sódio) estavam em concentrações 24 vezes maiores que aquela da solução do padrão de sulfato (24x), exceto cloreto férrico, fluoreto de sódio e carbonato de cálcio, que estavam em concentrações 2,4 vezes maiores.

Como pode ser observado nesta Tabela, as interferências daqueles concomitantes investigados causaram interferências desprezíveis na determinação de sulfato em amostras de água naturais. Em amostras de águas naturais (lago) a concentração de, por exemplo, íons prata (Ag⁺) está em nível inferior ao encontrado para sulfato, justificando a ausência desses nos estudos de interferência. Entretanto, a interferência é bastante acentuada quando os mesmos estão presentes, pois o

cloreto presente no reagente (cloreto de bário) reage fortemente com íons prata formando cloreto de prata.

4.3.1.3 - Estudo de adição e recuperação

As amostras de águas naturais foram coletadas na represa do Lago Monjolinho em dois pontos distintos (no início e no fim) do trecho que corta as dependências da UFSCar. As amostras foram devidamente filtradas e adições de analito em três níveis de concentração foram estudadas. Os resultados são mostrados na Tabela 4.3.1.3.

TABELA 4.3.1.3. Estudos de adição e recuperação para amostras de água da represa do Lago Monjolinho (UFSCar). Os resultados obtidos são acompanhados dos respectivos valores de desvio padrão com $n = 3$.

Amostras	Adicionado / (mg / L)	Recuperado / (mg / L)	Recuperação (%)
A	30,0	29,8 ± 0,8	99,3
	40,0	41,9 ± 0,8	104,8
	80,0	86,2 ± 0,1	107,8
B	30,0	30,9 ± 0,2	103,0
	40,0	39,1 ± 0,1	97,8
	80,0	83,2 ± 0,2	104,0

Observa-se que as amostras tiveram um percentual de recuperação entre 97,8 -107,8%, valores aceitáveis e concordantes com a avaliação do efeito de concomitantes, mostrando que as amostras de água são livres de interferentes em potencial. Com isso uma curva de calibração foi construída e amostras de águas foram analisadas.

4.3.1.4 - Curvas analíticas para a determinação de sulfato em águas

A curva analítica obtida com o *PMTN* em módulo turbidimétrico é mostrada na Figura 4.3.1.4, seguida dos parâmetros de calibração do método.

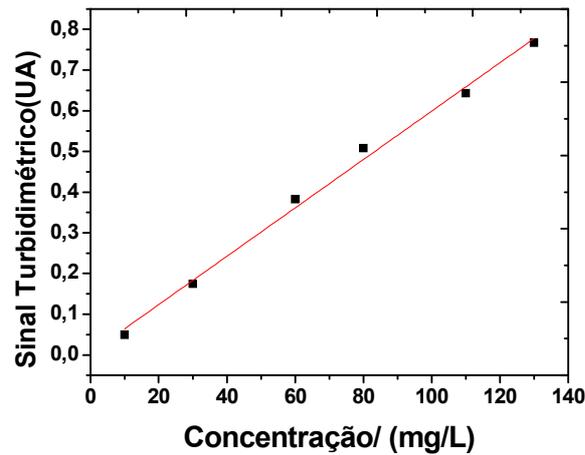


FIGURA 4.3.1.4 - Curva de calibração para determinação turbidimétrica (405 nm) de sulfato, apresentando um coeficiente de regressão linear ($r = 0,994$).

A seguir, na Tabela 4.3.1.4 são apresentados os principais parâmetros dos resultados obtidos pela aplicação do método turbidimétrico.

TABELA 4.3.1.4 - Parâmetros da metodologia aplicada para a determinação de sulfato em águas (SF).

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Turbidimétrico (UA) = $(0,0047 \pm 0,0002) + (0,0060 \pm 0,0002)x$ [SF]
Faixa linear	10 (mg / L) ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹) a 130 (mg / L) ($1,4 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹)
Limite de detecção (LD)	0,031 (mg / L) ($3,2 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹)
Limite de quantificação (LQ)	0,10 (mg / L) ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹)
Reprodutibilidade (RSD, n=3)*	0,07% para 80 (mg / L) ($8,3 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹)

* A reprodutibilidade foi avaliada em três dias distintos com temperatura controlada em 18 ± 2 °C numa sala aclimatizada.

Os dados apresentados na Figura 4.3.1.4 e na Tabela 4.3.1.4 estão em unidades arbitrárias (U.A.), pois, não seguem as normas estabelecidas pela ISO 7027 para equipamentos a base de *LED*.

Na Figura 4.3.1.4a é mostrada a curva de calibração do *PMTN* no módulo nefelométrico.

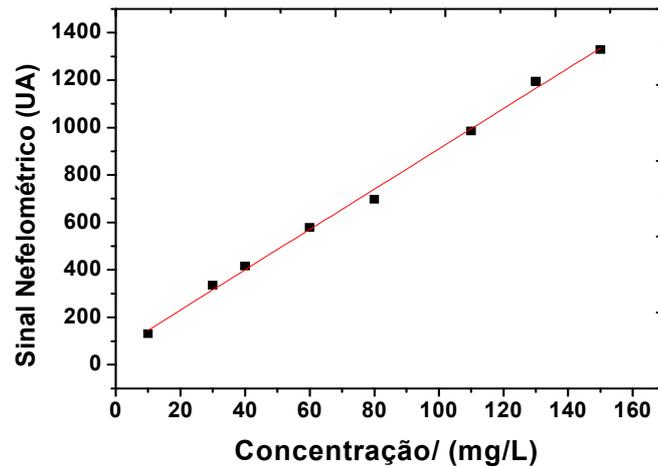


FIGURA 4.3.1.4a - Curva de calibração para determinação de sulfato no módulo nefelométrico com medida em 470 nm, com coeficiente de regressão (r) = 0,997.

A seguir, na Tabela 4.3.1.4a são apresentados os principais parâmetros dos resultados obtidos para o método nefelométrico obtido seqüencialmente (praticamente simultâneo, intervalo de 50 ms) para a determinação de sulfato em amostras de águas.

TABELA 4.3.1.4a - Parâmetros nefelométricos para a determinação de sulfato em águas (SF).

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Nefelométrico (UA) = (60 ± 17) + $(8,3 \pm 0,3)x$ [SF]
Faixa linear	10 (mg / L) ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹) a 150 (mg / L) ($1,6 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹)
Limite de detecção (LD)	0,21 (mg / L) ($2,2 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹)
Limite de quantificação (LQ)	0,70 (mg / L) ($7,3 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹)
Reprodutibilidade (RSD, n=3)*	0,12% para 80 (mg / L) ($8,3 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹)

* A reprodutibilidade foi avaliada com os mesmos critérios do módulo turbidimétrico.

Os dados apresentados na Figura 4.3.1.4a e na Tabela 4.3.1.4a também estão em unidades arbitrárias (U.A.). Determinações empregando o *LED IR* (880 nm) podem ser realizadas utilizando a nomenclatura *FNU*, entretanto, medidas nesse comprimento de onda são menos sensíveis^{3, 6, 7} como discutido na seção 4.2.

Neste caso, o *LED IR* é empregado quando se necessita de determinações da turbidez sem a interferência de matriz colorida. É um erro utilizar tais unidades se a configuração não é de um nefelômetro (medida com detector alinhado a 90° em relação à fonte de REM IR com emissão em 860 ± 60 nm).

Em seguida são mostrados os resultados obtidos com equipamentos comerciais (espectrofotômetros UV-Vis) para análise turbidimétrica e nefelométrica empregando o mesmo método utilizado pelo *PMTN*. Os equipamentos comerciais foram mantidos em sala aclimatizada da mesma forma que o *PMTN*.

4.3.1.5 - Método de referência

4.3.1.5.1 - Curva analítica para a determinação de sulfato aplicando o método turbidimétrico empregando equipamento comercial

A curva analítica obtida com o espectrofotômetro Shimadzu modelo UV 2550 para análise turbidimétrica é mostrada na Figura 4.3.1.5.1.

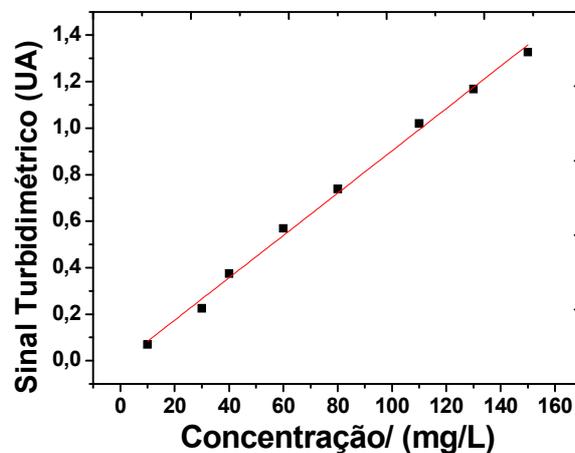


FIGURA 4.3.1.5.1 - Curva analítica para determinação de sulfato obtida com um espectrofotômetro de duplo feixe SHIMADZU modelo UV 2550 com medida em 405 nm, apresentando um coeficiente de regressão linear (r) = 0,994.

Na Tabela 4.3.1.5.1 são fornecidos os principais parâmetros obtidos por meio da aplicação do método turbidimétrico para a determinação de sulfato em amostras de águas.

TABELA 4.3.1.5.1 - Parâmetros obtidos com o equipamento comercial da Shimadzu aplicado para determinação turbidimétrica de sulfato (SF).

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Turbidimétrico (UA) = $(-0,007 \pm 0,001) + (0,0091 \pm 0,0002)x$ [SF]
Faixa linear	10 (mg / L) ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹) a 150 (mg / L) ($1,6 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹)
Limite de detecção (LD)	0,20 (mg / L) ($2,1 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹)
Limite de quantificação (LQ)	0,67 (mg / L) ($6,9 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹)
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	0,08% para 80 (mg / L) ($8,3 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹)

Os resultados mostram que o *PMTN* apresenta uma reprodutibilidade e uma faixa linear compatíveis com o equipamento comercial com um limite de detecção (LD) próximo de uma década mais baixo. Esses resultados comprovam a estabilidade e a elevada sensibilidade do conjunto microncontrolador, *LED*, sensor, e *software* utilizados.

O *PMTN* foi também comparado com o equipamento da *Ocean Optics* USB 2000, com a vantagem em relação ao equipamento anterior de poder realizar análises nefelométricas.

4.3.1.5.2 - Curva analítica para determinação de sulfato aplicando os métodos turbidimétrico e nefelométrico empregando outro espectrofotômetro comercial

Para validar as medidas nefelométricas do *PMTN* foi necessária a utilização de outro espectrofotômetro com possibilidade de realização de medidas em ângulo de 90°, dessa forma foi utilizado o próprio *kit* de acessórios fornecidos pelo fabricante (*Ocean Optics*) para fixar os *LEDs* e as fibras ópticas necessárias para as análises no referido equipamento comercial. Entretanto, não apenas medidas nefelométricas como também turbidimétricas foram realizadas para servir de referência para o *PMTN*. Os resultados são mostrados a seguir.

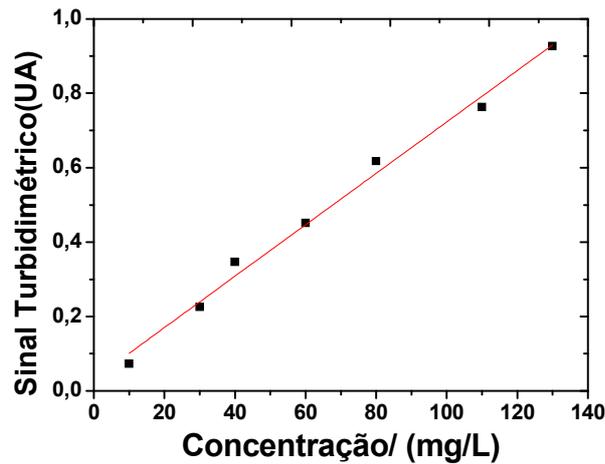


FIGURA 4.3.1.5.2 - Curva de calibração para determinação turbidimétrica de sulfato no espectrofotômetro *Ocean Optics*. O espectrofotômetro foi equipado com uma fibra óptica US Ps-50 acoplado com o mesmo *LED* em 405 nm usado no equipamento proposto sob as mesmas condições de alimentação elétrica. O coeficiente de regressão linear (r) obtido foi 0,992.

A seguir na Tabela 4.3.1.5.2 são mostrados os principais parâmetros obtidos empregando o método turbidimétrico.

TABELA 4.3.1.5.2 - Parâmetros referentes ao método turbidimétrico utilizando o equipamento da *Ocean Optics*.

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Turbidimétrico (UA) = $(0,03 \pm 0,02) + (0,0069 \pm 0,0003) \times [SF]$
Faixa linear	10 (mg / L) ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹) a 130 (mg / L) ($1,4 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹)
Limite de detecção (LD)	0,40 (mg / L) ($4,2 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹)
Limite de quantificação (LQ)	1,33 (mg / L) ($1,4 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹)
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	0,06% para 80 (mg / L) ($8,3 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹)

A seguir, o *PMTN* é comparado com o equipamento da *Ocean Optics* USB 2000, para o módulo nefelométrico. Com os resultados obtidos é possível uma comparação com um equipamento que possibilite análises turbidimétricas e nefelométricas como o *PMTN*.

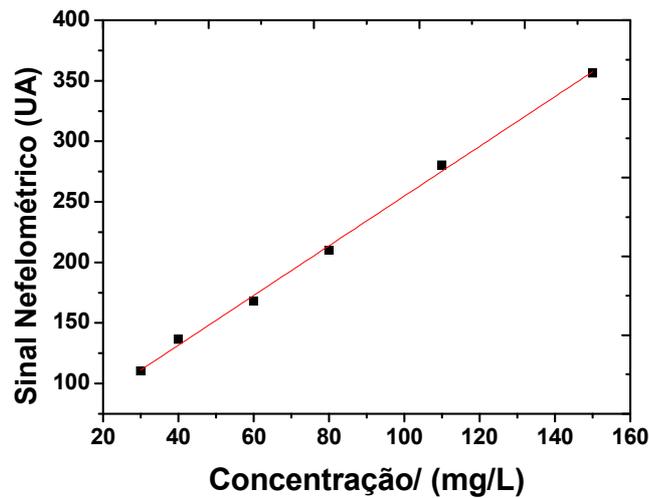


FIGURA 4.3.1.5.2a - Curva de calibração para determinação de sulfato no espectrofotômetro *Ocean Optics* equipado com uma fibra óptica US Ps-50 com medida nefelométrica em 470 nm, com um coeficiente de regressão (r) de 0,997.

A seguir, na Tabela 4.3.1.5.2a, são apresentados os resultados referentes à aplicação do módulo nefelométrico para a determinação de sulfato em amostras de águas.

TABELA 4.3.1.5.2a. Parâmetros da metodologia aplicada para a determinação de sulfato empregando um espectrofotômetro da Ocean Optics modelo USB 2000.

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Nefelométrico (UA) = $(49 \pm 4) + (2,05 \pm 0,05) \times [SF]$
Faixa linear	30 (mg / L) ($3,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) a 150 (mg / L) ($1,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$)
Limite de detecção (LD)	0,66 (mg / L) ($6,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$)
Limite de quantificação (LQ)	2,20 (mg / L) ($2,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$)
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	0,2 % para 80 (mg / L) ($8,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$)

Os resultados mostram que o *PMTN* apresenta uma reprodutibilidade e uma faixa linear compatíveis com o equipamento comercial com um limite de detecção (LD) uma década mais baixo, comparando-se os resultados obtidos pela aplicação do método turbidimétrico. Um LD três vezes menor foi obtido quando comparados os resultados empregando o módulo nefelométrico.

Outro fato interessante é que para todos os equipamentos estudados para análise de sulfato em águas, o módulo turbidimétrico mostrou-se melhor que o nefelométrico em termos de LD. No decorrer dos demais estudos a serem realizados, uma melhor avaliação poderá ser tomada referente a esse comportamento. Segundo a literatura para a análise nefelométrica, o sinal que chega ao detector poderá ser aumentado conforme aumenta-se a potência da REM incidente, como discutido na seção 1.1.3.2. Isso é um fato também comprovado nos estudos realizados nessa dissertação de mestrado, pois ao aumentar a potência da REM emitida pelo *LED2* aumentou-se o sinal obtido no detector. Entretanto, fazendo isso, não ocorreu necessariamente uma melhora nas figuras de mérito do método empregado⁸, pois essas dependem também das características do sistema químico em estudo como, por exemplo, forma e tamanho das partículas. Estudos adicionais serão apresentados nessa dissertação.

Para a construção de todas as curvas analíticas foi-se descontado o sinal do branco. Entretanto, mesmo descontando esse valor, os gráficos nefelométricos apresentam um coeficiente linear que não passa na origem. Isso se deve ao elevado nível de sinal de branco, pois a utilização de uma fonte de REM de maior magnitude gera um maior espalhamento e conseqüentemente uma REM mais intensa atinge o detector. De fato, observando as curvas analíticas turbidimétricas, as quais foram obtidas com *LEDs* que emitem REM com menor intensidade, isso não ocorreu. Esse comportamento é encontrado no *PMTN* e nos equipamentos comerciais (espectrofotômetros UV-Vis) utilizados como referência. Entretanto, isso não afeta a qualidade dos resultados, como mostrado nas seções seguintes.

4.3.1.6 - Determinações turbidimétricas e nefelométricas de sulfato em amostras de águas de lago

As concentrações de sulfato nas amostras de água foram determinadas empregando-se as respectivas equações das curvas analíticas obtidas em cada modo de operação do equipamento construído.

Determinações turbidimétricas preliminares realizadas com os equipamentos de referência mostraram que as concentrações de sulfato estavam próximas aos limites de detecção para todos os equipamentos e, portanto, fora da faixa linear das curvas analíticas construídas. Por esse motivo as amostras foram

fortificadas com padrão de sulfato ($500 \text{ mg L}^{-1} = 5,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) para obter 30 mg L^{-1} de concentração final ($3,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$).

4.3.1.6.1 - Amostras analisadas pelo método turbidimétrico

As amostras foram analisadas por turbidimetria nos equipamentos *PMTN*, espectrofotômetro da *Shimadzu* (espectrofotômetro 1) e *Ocean Optics* (espectrofotômetro 2). Os valores de concentração (mg / L) e erro relativo (*RE-Relative Error*) são mostrados na Tabela 4.3.1.6.1.

TABELA 4.3.1.6.1 – Resultados obtidos pela aplicação do método turbidimétrico para a determinação de sulfato em amostras de águas de lago fortificadas com solução padrão de sulfato.

Amostra/ (mg /L)	Espectro- fotômetro 1	Espectro- fotômetro 2	<i>PMTN</i>	RE1(%)	RE2(%)
A1	29,6 ± 0,1	28,6 ± 0,3	29,0 ± 0,1	-2,0	1,4
A2	31,0 ± 0,1	32,4 ± 0,6	31,5 ± 0,5	1,6	-2,7

Observa-se que os resultados são concordantes, conforme pode ser visto pelos baixos valores de *RE*. Os valores obtidos pela aplicação dos testes F e t pareado apresentados na Tabela 4.3.1.6.1a corroboraram com os resultados obtidos.

Tabela 4.3.1.6.1a - Teste F e Teste t pareado para as amostras de águas (A) (mg L^{-1}) de lago fortificadas com solução padrão de sulfato.

A	TESTE F			Teste t		
	(Ep1 e P)	(Ep1 e Ep2)	(Ep2 e P)	(Ep1 e P)	(Ep1 e Ep2)	(Ep2 e P)
A1	2,0	3,2	6,5	0,6	0,9	0,7
A2	4,3	1,4	6,0	0,1	0,4	0,3

Com: Eq1 e Eq2 respectivamente espectrofotômetro 1 e 2. O *PMTN* = P (proposto).
F- tabelado (2, 2, 95%) = 19,0 e t - tabelado (2, 2, 95%) = 4,30.

Como mostrado na Tabela 4.3.1.6.1a, os valores obtidos pela aplicação dos testes F e t calculados são menores que os valores tabelados (críticos). Assim, pode-se afirmar que não existe diferença significativa, a um nível de confiança de

95 %, entre os resultados encontrados empregando-se esses equipamentos para a determinação turbidimétrica de sulfato em amostras de águas de lago fortificadas.

4.3.1.6.2 - Determinação de sulfato em água empregando-se o método nefelométrico com equipamento em campo

As determinações nefelométricas de sulfato em amostras de água de lago foram feitas em campo empregando-se o equipamento *PMTN* operado a bateria. Para efeito de comparação, a determinação de sulfato nestas amostras foram feitas no laboratório com o equipamento 2 (Ep2) em sala aclimatizada mantida à 18 °C, enquanto o *PMTN* foi operado em campo em uma temperatura média de 28 °C. Os resultados são mostrados na Tabela 4.3.1.6.2.

TABELA 4.3.1.6.2 - Determinação de sulfato em amostras de água por nefelometria empregando-se os equipamentos *PMTN* e Ep2 (espectrofotômetro 2).

Amostras / (mg / L)	Ep2	PMTN – bateria	RE(%)	Teste F	Teste t
A1*	28,6 ± 0,3	29,9 ± 0,6	4,5	1,2	1,5
A2*	32,4 ± 0,6	30,7 ± 0,9	-5,2	3,2	1,1

Comparando-se os resultados apresentados nas Tabelas 4.3.1.6.1 e 4.3.1.6.2, pode-se observar que os desvios padrões e os erros relativos obtidos pela aplicação do *PMTN* em módulo de bateria foram maiores que no caso anterior (sem módulo de bateria). O módulo de bateria é bastante estável e o aumento dos erros relativos e dos desvios padrões das medidas é atribuído à variação de temperatura do sistema químico empregado na determinação de sulfato, a qual deve ser mantida constante ao longo de todas as determinações³⁸. Entretanto, mesmo fazendo análise em campo, os resultados obtidos apresentaram erros relativos por volta de 5,0%. Esses resultados são bastante satisfatórios, por se tratar de análise em campo e em tempo real, a qual preserva as características das amostras, haja vista que o equipamento já estava previamente calibrado e o tempo de análise é muito curto. Como pode ser observado, não existe diferença entre os resultados fornecidos pelos

métodos turbidimétricos e nefelométricos. Além disso, uma análise seqüencial pode ser realizada em qualquer dos dois métodos adotados.

Outra avaliação importante é a seqüência de adição das substâncias. Primeiro adicionou-se o reagente em determinado pH, depois o analito e por último o surfactante. O surfactante deve ser o último, visto que é o responsável pela proteção do colóide formado³⁸. Alterações nessa seqüência podem levar a erro por volta de 3%. Assim, a seqüência de adição foi mantida constante^{38, 114}.

Todas as determinações foram realizadas em sala aclimatizada mantida a uma temperatura de 18 ± 2 °C para evitar que a temperatura afete as características físico-químicas da suspensão formada, como velocidade de produção dos núcleos e de crescimentos do particulado³⁸. Assim, o mesmo controle de temperatura foi mantido para os demais analitos estudados, como também a seqüência de adição das substâncias químicas.

4.3.2 - Determinação de N-acetilcisteína

4.3.2.1 Planejamento quimiométrico

Abaixo, é mostrado o gráfico dos efeitos do planejamento fatorial aplicado para a determinação de N-acetilcisteína em fármacos empregando o método turbidimétrico (405 nm).

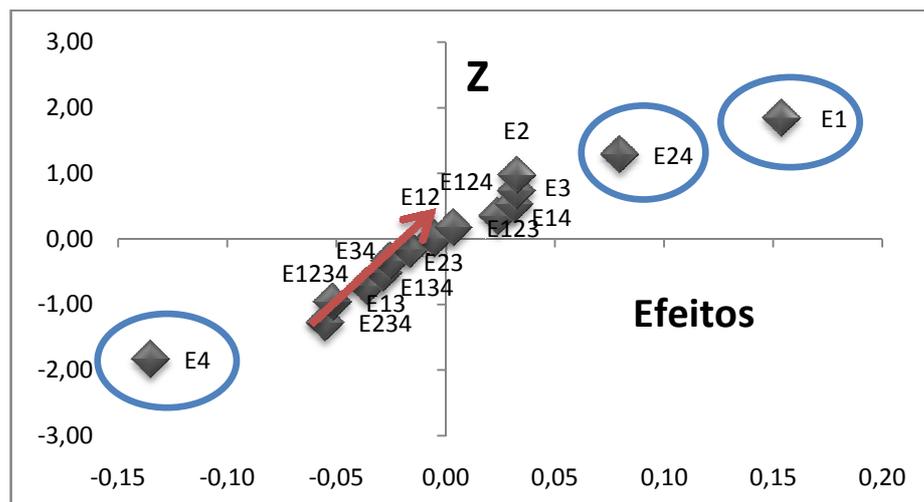


FIGURA 4.3.2.1 - Gráfico dos efeitos para o planejamento de N-acetilcisteína. O método turbidimétrico foi utilizado com medida em 405 nm. Legenda: E1 (efeito da variável 1 = R (Reagente)), E2 (efeito da variável 2 = S (Surfactante)), E3 (efeito da variável 3) = pH (pH da solução), E4 (efeito da variável 4 = A (Analito)).

As variáveis 1 (R), 2 (S) e 3 (pH) devem ficar em seus níveis menores (-) pois, possuem efeitos positivos. Entretanto, a variável 4 (A) deve ficar em seu nível maior (+) devido ao seu efeito negativo, que contribui para aumentar a concentração da suspensão formada. Dessa forma, o experimento que forneceu os melhores resultados foi o experimento 8 constituído por: $R(-) = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $S(-) = 0,01 \%$ (v / v) = $pH(-) = 2$ (HCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$) e $A(+)$ = $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

4.3.2.2 Estudo de interferentes em potencial para a determinação de N-acetilcisteína em amostras farmacêuticas

Os possíveis interferentes foram analisados em concentrações (200x, 4x e 0,1x), que correspondem respectivamente às concentrações duzentas vezes maiores, quatro e dez vezes menores, que o padrão de N-acetilcisteína utilizado ($5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). A substância química (celulose cristalina) é mostrada em percentagem (%), conforme também é apresentada nas bulas de alguns medicamentos.

TABELA 4.3.2.2 – Possíveis Interferentes para a determinação de N-acetilcisteína em módulo turbidimétrico (405 nm).

Possíveis interferentes	Interferência (%)
Sacarina (4x)	-0,3
Fosfato di-ácido de potássio (4x)	-1,1
Celulose cristalina (0,2 %)	1,5
Sacarose (200x)	-2,6
Sacarose (20x)	-1,7
Benzoato de sódio (200x)	-28,5
Benzoato de sódio (4x)	-1,4
EDTA (4x)	-2,0
Frutose (200x)	0,6
Tartrazina (200x)	264,0
Tartrazina (200x)*	1,4
Todos**	-2,6

* Medida realizada com o LED IR em 880nm e com o sensor IR TSL260R-LF. ** Todos (sacarina, fosfato diácido de potássio, sacarose, benzoato de sódio, frutose, EDTA, celulose cristalina) com cada um em concentração quatro vezes maior (4x) medido simultaneamente. Exceto celulose cristalina (0,2 %).

O benzoato de sódio em concentração duzentas vezes maior (200x) que o padrão de N-acetilcisteína ($5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) causa uma interferência

significativa, devido à complexação de Cu^{2+} pelo ânion benzoato, diminuindo assim o sinal analítico para o analito. De modo que, ao diminuir a concentração do mesmo a interferência é reduzida significativamente.

A tartrazina, corante de coloração amarela, foi encontrada nas bulas dos medicamentos vendidos nas drogarias e farmácias. Analisando o espectro da tartrazina, Figura - A em apêndices, é possível observar uma absorção mais intensa de REM com comprimentos de onda na radiação azul (400 – 470 nm), exatamente na mesma região de máxima emissão dos *LEDs* 1 (405 nm) e 2 (470 nm). Essa absorção é explicada pelo conceito de cor complementar, conforme pode ser visto na Tabela 1.1.2. A absorção acentuada da REM emitidas por meio dos *LEDs* 1 e 2 causa uma elevada interferência no método empregado para a determinação de N-acetilcisteína nesses comprimentos de onda supracitados. Por isso, as determinações de N-acetilcisteína na presença desta substância foram realizadas na região espectral do infravermelho ($\lambda_{\text{máx.}} = 880 \text{ nm}$), cuja REM não é absorvida pela maioria das espécies coloridas, inclusive a tartrazina (amarela). De fato, ao ser utilizado o *LED IR* a interferência torna-se desprezível.

O sensor *IR* foi devidamente calibrado com solução padrão de formazina e com soluções padrões de N-acetilcisteína, assim, determinações nesse comprimento de onda são tão confiáveis quanto os utilizados em 405 e 470 nm.

4.3.2.3 – Estudos de adição e recuperação

A Tabela 4.3.2.3 mostra o percentual de recuperação para o fármaco N-acetilcisteína com o *PMTN* operando no módulo turbidimétrico.

TABELA 4.3.2.3 - Adição e recuperação de N-acetilcisteína em fármacos analisados em triplicata (n= 3).

Amostras	Adicionado / mg	Recuperado / mg	Recuperação (%)
A1	81,6	77,4 ± 0,2	94,9
	122,4	119,7 ± 0,1	97,8
	163,2	170,5 ± 0,1	104,5
A2*	81,6	82,7 ± 0,2	101,3
	122,4	120,4 ± 0,5	98,4
	163,2	164,6 ± 0,3	100,9

A2* = amostra com tartrazina (corante) analisada com *LED IR* em 880 nm.

Conforme apresentado na Tabela 4.3.2.3, os valores recuperados ficaram entre 94,9- 104,5%, indicando ausência de efeito de matriz, sendo considerados esses valores aceitáveis. A Tabela 4.3.2.3 revela também que não existe diferença significativa entre os resultados obtidos na recuperação de N-acetilcisteína nas determinações turbidimétricas realizadas em 405 nm, para a amostra A1 e 880 nm, para a amostra A2. Esses resultados indicam que o efeito de matriz foi desprezível para ambos os casos. De fato, a diferença consiste apenas na sensibilidade analítica, conforme já discutido na seção 4.3. Por isso, buscando melhores figuras de mérito, as curvas analíticas mostradas em seguida foram construídas utilizando os *LEDs* na região do azul.

Para a determinação da concentração de N-acetilcisteína nas amostras com tartrazina (A2) é necessário apenas realizar a calibração com os devidos padrões em comprimento de onda na região do IR (880 nm). Os dados referentes às concentrações obtidas nestas determinações são apresentados nas Tabelas 4.3.2.5 e 4.3.2.5a. Dessa forma, utilizaram-se apenas medidas feitas em *IR* quando as amostras apresentarem algum tipo de coloração que seja a cor complementar da luz azul (405 e 470 nm).

4.3.2.4 - Curvas analíticas para a determinação de N-acetilcisteína

A curva analítica e as principais figuras de mérito concernentes a aplicação do método turbidimétrico (405 nm) para a determinação de N-acetilcisteína em fármacos são mostradas na Figura 4.3.2.4 e na Tabela 4.3.2.4.

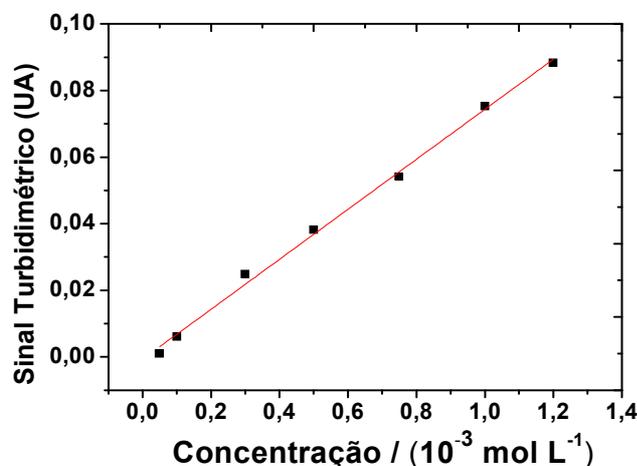


FIGURA 4.3.2.4 - Curva de calibração para determinação de N-acetilcisteína no módulo turbidimétrico (405 nm), com um coeficiente de regressão (r) = 0,996.

TABELA 4.3.2.4 - Figuras de mérito referentes à aplicação do método turbidimétrico para determinação de N-acetilcisteína (NAC) empregando-se Cu^{2+} como reagente de precipitação.

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Turbidimétrico(UA) = $(-7,29 \pm 0,02) \times 10^{-4}$ + $(75,10 \pm 0,02) \times [\text{NAC}]$
Faixa linear	$5,0 \times 10^{-5} - 1,2 \times 10^{-3} (\text{mol L}^{-1})$
Limite de detecção (LD)	$7,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Limite de quantificação (LQ)	$2,52 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	2,54% para $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

A curva de calibração nefelométrica para a determinação de N-acetilcisteína, Figura 4.3.2.4a, e a Tabela 4.3.2.4a com as principais figuras de mérito da metodologia aplicada são mostrados em seguida.

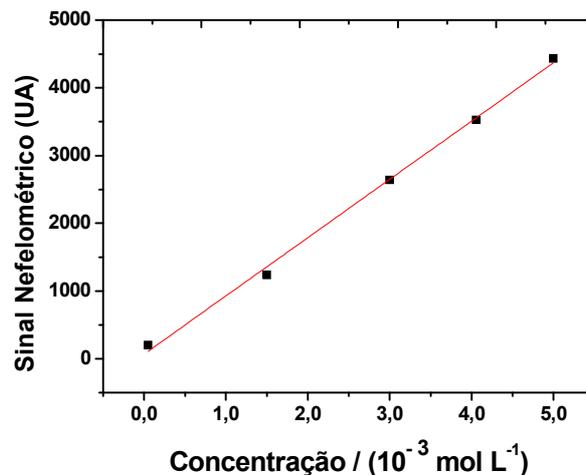


FIGURA 4.3.2.4a - Curva de calibração para determinação de N-acetilcisteína empregando o módulo nefelométrico (470 nm). O coeficiente de regressão linear (r) obtido foi de 0,998.

TABELA- 4.3.2.4a - Figuras de mérito obtidas pelo emprego do método nefelométrico para determinação de N-acetilcisteína (NAC) utilizando-se Cu^{2+} como reagente de precipitação.

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Nefelométrico (UA) = $(-27 \pm 12) + (8,7 \pm 0,4) \times 10^5 [\text{NAC}]$
Faixa linear	$5,0 \times 10^{-5} - 5,0 \times 10^{-3} (\text{mol L}^{-1})$
Limite de detecção (LD)	$2,82 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Limite de quantificação (LQ)	$9,40 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	1,35% para $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

Com os dados obtidos nas Tabelas 4.3.2.4 e 4.3.2.4a, pode-se observar que o LD do método nefelométrico é menor que aquele obtido empregando-se o método turbidimétrico. Entretanto, elevar demasiadamente a potência da radiação incidente para aumentar o sinal analítico (sinal nefelométrico), produz uma instabilidade na emissão da REM por elevado aquecimento do *LED*. O aquecimento leva a perda de precisão e exatidão das medidas.

4.3.2.5 - Determinação de N-acetilcisteína em amostras farmacêuticas

O método comparativo empregado para a determinação de N-acetilcisteína em produtos farmacêuticos foi um método desenvolvido em nosso grupo de pesquisa que empregou uma solução de sulfato de cobre II como titulante em titulação condutométrica de N-Acetilcisteína, conforme descrito na seção 1.5.2.

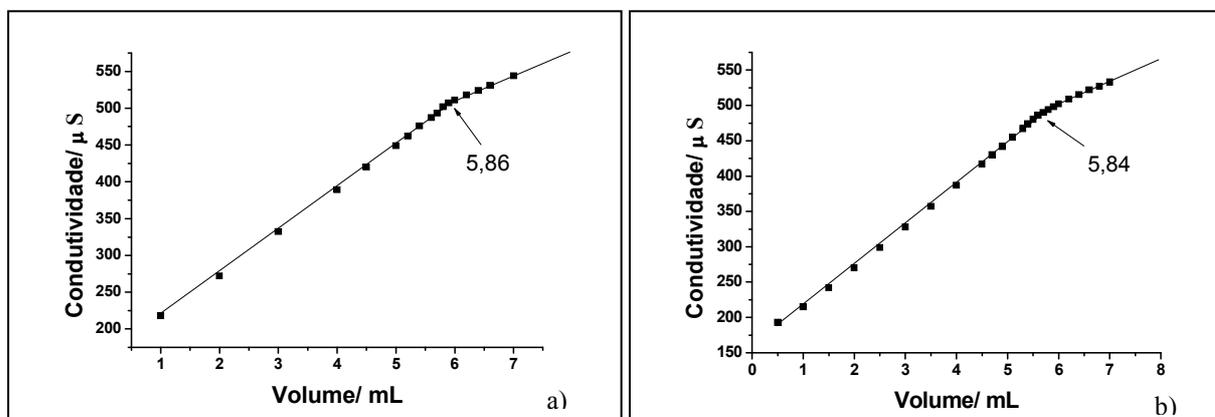


FIGURA. 4.3.2.5 - Titulação condutométrica de N-acetilcisteína com Cu^{2+} ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). (a) amostra 1 e (b) amostra 2. Cada amostra foi adequadamente diluída e 6 mL foram analisados em triplicata.

Fazendo alguns cálculos, encontram-se a concentração das soluções de N-acetilcisteína e conseqüentemente os valores de massa do analito em cada comprimido (amostra). O resultado é mostrado nas Tabelas 4.3.2.5 e 4.3.2.5a.

TABELA 4.3.2.5 - Resultados obtidos com o método condutométrico e com o *PMTN* (módulo turbidimétrico) para as duas amostras analisadas em triplicata (n =3).

Amostras/ comprimido (mg)	Comparativo/ (mg)	<i>PMTN</i> / (mg)	RE(%)	Teste F	Teste t
A1	193 ± 2	190,3 ± 0,8	-1,4	8,9	2,5
A2*	570 ± 2	575,9 ± 0,7	1,0	4,0	0,5

A2* = amostra com tartrazina (corante) analisada com *LED IR* em 880 nm.

Os valores obtidos pela aplicação do teste F para cada amostra foram de 8,9 e 4,0, valores bem abaixo do tabelado (19,00) para um nível de 95% de confiança. Do mesmo modo, os valores obtidos com a aplicação do teste t pareado também ficaram abaixo do valor crítico (4,30). Com esses resultados pode-se concluir que não existem diferenças estatísticas entre os resultados a um nível de confiança de 95%.

TABELA 4.3.2.5a - Resultados obtidos com o método condutométrico comparativo e o com o *PMTN* (módulo nefelométrico). Os valores de teste F e t são respectivamente 19,00 e 4,30, com n =3.

Amostras/ comprimido (mg)	Comparativo/ (mg)	<i>PMTN</i> / (mg)	RE (%)	Teste F	Teste t
A1	193 ± 2	191,4 ± 0,9	-0,8	4,5	0,8
A2*	570 ± 2	572,5 ± 0,9	0,4	1,4	0,8

A2* = amostra com tartrazina (corante) analisada com *LED IR* em 880 nm.

Os resultados confirmam que ambos os métodos turbidimétricos e nefelométricos foram concordantes com os resultados fornecidos pelo método eletroanalítico comparativo. Assim, o *PMTN* pode ser utilizado para determinação turbidimétrica e/ou nefelométrica de N-acetilcisteína com bons resultados mesmo na presença de substâncias coloridas.

Para a determinação de N-acetilcisteína, uma observação importante percebida foi o tempo necessário para realizar a sua determinação. Cada experimento leva dois minutos para que ocorra uma melhor homogeneização da suspensão formada, diferentemente daquele observado para a determinação de sulfato, cuja suspensão foi formada com baixa variabilidade do sinal analítico com o tempo.

4.3.3 – Determinação de potássio

4.3.3.1 Planejamento fatorial 2^4 com ponto central

O gráfico dos efeitos, Figura 4.3.3.1 é concernente ao planejamento adotado para a determinação de potássio em amostras de energéticos e água de coco por meio da aplicação do método turbidimétrico.

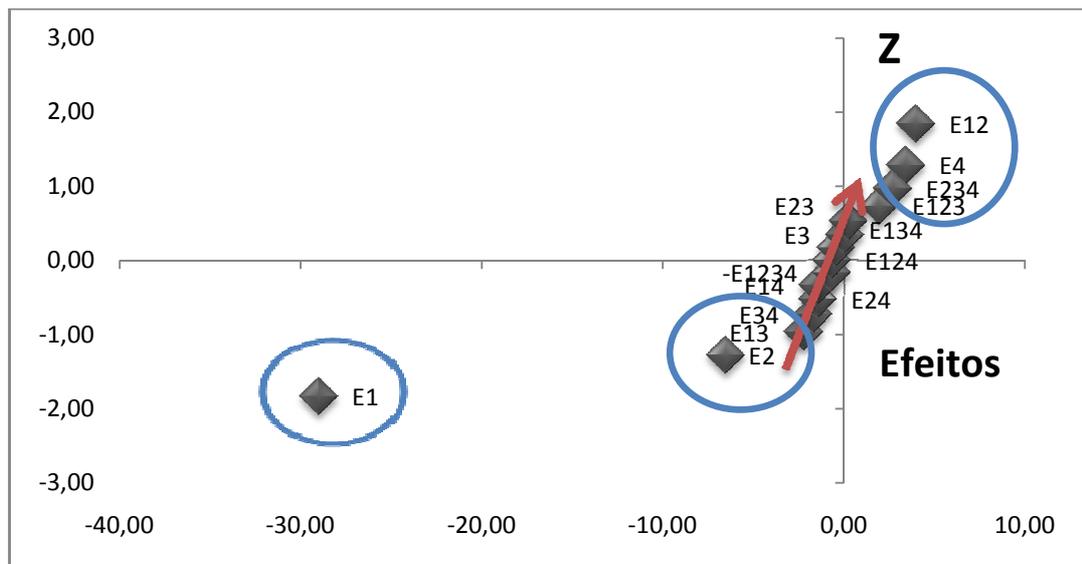


FIGURA 4.3.3.1 - Gráfico dos efeitos para o planejamento fatorial 2^4 com 3 réplicas no ponto central para a determinação de potássio. E1 (efeito da variável 1 = A (Analito)), E2 (efeito da variável 2 = R (Reagente)), E3 (efeito da variável 3 = S (Surfactante)), E4 (efeito da variável 4 = pH (pH da solução)).

As variáveis 1 (A) e 2 (R) possuem os maiores efeitos e devem ficar em seus níveis maiores (+). A variável 4 (pH) deve ficar em seu nível menor (-). Como a variável 3 passa próximo a zero, no eixo de probabilidade, esta variável não possui significância estatística nos níveis estudados, porém mostrou-se importante por manter a estabilidade da suspensão formada e deve ser mantida no planejamento.

Dessa forma, podem-se utilizar os experimentos 5 ou 7. O experimento 7 forneceu os melhores resultados em termos de espalhamento de REM, sendo constituído por: $A(+)$ = $1,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $R(-)$ = 2,5 % (m / v), $S(+)$ = 0,09 % (m / v) e $pH(-)$ = 11,1.

4.3.3.2 Estudo de interferentes em potencial na determinação de potássio em amostras de água de coco e energéticos

O estudo dos interferentes em potencial no método para a determinação de íons potássio (K^+) com tetrafenilborato empregando o método nefelométrico foi investigado. Neste estudo os concomitantes encontrados nos produtos comerciais foram empregados nas concentrações de 100, 10 e 0,1 vezes a concentração da solução padrão de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de K^+ . Os resultados mais relevantes são apresentados na Tabela 4.3.3.2, a seguir.

Tabela 4.3.3.2. Possíveis Interferentes de K^+ analisados por nefelometria (470 nm).

Possíveis interferentes	Interferência (%)
Citrato de sódio (100x)	0,1
Carbonato de cálcio (100x)	-1,7
Cloreto de magnésio (100x)	0,6
EDTA (10x)	-0,7
Sacarose (100x)	0,3
Benzoato de Na (100x)	-0,1
Frutose (100x)	1,0
Tartrazina (10x)	-76,2
Azul brilhante (10x)	-0,9
<i>Fast green</i> (10x)	-2,3
<i>Amaramth</i> (10x)	-12,3
Tartrazina (10x)*	1,3
<i>Fast green</i> (10x)*	-0,9
<i>Amaramth</i> (10x)*	-1,6
Todos **	-4,2

* Medidas realizadas com o *LED IR* em 880nm e com o sensor TSL260R-LF.

** Todos (benzoato de sódio, citrato de sódio, cloreto de magnésio, carbonato de cálcio, EDTA, frutose, sacarose com cada um em concentração 10 vezes maior (10x) em relação à solução padrão de potássio utilizada ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$)).

No método turbidimétrico, a absorção de REM causa um erro positivo, pois essa atinge com menor intensidade o detector, como se houvesse uma maior concentração de partículas em suspensão. Contudo, para o método nefelométrico,

um sinal negativo foi observado, pois uma menor intensidade da REM espalhada atinge o detector. Como o sinal nefelométrico é calculado diretamente (o sinal nefelométrico não é obtido pela razão entre intensidades de REM como no método turbidimétrico, ver seções 1.1.3.1 e 1.1.3.2) a absorção de REM causa um erro negativo como os valores mostrados na Tabela 4.3.3.2. Para determinações em comprimentos de onda na região IR (880 nm) esse tipo de interferência não ocorreu como o esperado.

O corante alimentício azul brilhante não apresenta qualquer interferência, pois o mesmo não absorve REM em comprimentos de onda da região azul, como visto na Tabela 4.3.3.2 e na Figura - A em Apêndices. Em algumas amostras, outros corantes são adicionados como corantes vermelhos e verdes. Assim foram utilizados os corantes *fast green* (verde) e *amaramth* (vermelho) como possíveis interferentes para simular a presença dessas substâncias. Os resultados mostram que o corante verde apresenta baixa interferência e o vermelho interfere mais significativamente. Os espectros de absorção dos corantes são mostrados na Figura – A em apêndices. Entretanto todos esses inconvenientes foram superados realizando as análises na região do IR (880 nm).

4.3.3.3 – Estudos de adição e recuperação

A Tabela 4.3.3.3 mostra o percentual de recuperação para as amostras de potássio com o *PMTN* operando no módulo nefelométrico (470 nm).

Tabela 4.3.3.3. - Adição e recuperação de K⁺ em amostras de água de coco (A1) e energéticos A2 e A3, com cada análise realizada em triplicata (n=3).

Amostras	Adicionado/(mg/L)	Recuperado/(mg/L)	Recuperação(%)
A1	7,8	7,6 ± 0,3	97,4
	3,5	3,4 ± 0,9	97,1
	2,4	2,5 ± 0,9	104,2
A2	7,8	7,9 ± 0,1	101,3
	3,5	3,6 ± 0,4	102,8
	2,4	2,3 ± 0,9	95,8
A3	7,8	8,2 ± 0,1	105,1
	3,5	3,5 ± 0,4	100,0
	2,4	2,2 ± 0,5	91,7

Conforme pode ser analisado na tabela, os percentuais de recuperação ficaram entre 91,7 - 105,1%. Dessa forma, espera-se que os erros relativos referentes às determinações de potássio pelos métodos turbidimétrico e nefelométrico sejam em média de 6 % (ou valores mais baixos), pois estariam dentro dessa faixa de percentual de recuperação.

4.3.3.4 Curvas analíticas para a determinação de potássio

Em seguida, é mostrada a curva analítica, Figura 4.3.3.4 e a Tabela 4.3.3.4, apresentando os principais parâmetros referentes à aplicação do método turbidimétrico (405 nm).

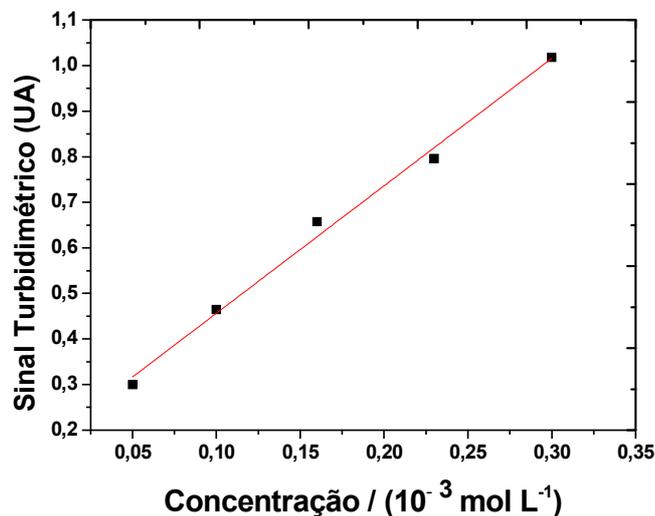


FIGURA 4.3.3.4 - Curva analítica para determinação de potássio no módulo turbidimétrico. O coeficiente de regressão linear (r) obtido foi de 0,992.

TABELA 4.3.3.4 - Principais parâmetros referentes à aplicação do método turbidimétrico para determinação de potássio (K^+) empregando-se tetrafenilborato de sódio como reagente de precipitação.

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Turbidimétrico(UA) = $(0,17 \pm 0,03)$ + $(2,8 \pm 0,1) \times 10^3 [\text{K}^+]$
Faixa linear	$5,0 \times 10^{-5} - 3,0 \times 10^{-4} (\text{mol L}^{-1})$
Limite de detecção (LD)	$3,10 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
Limite de quantificação (LQ)	$1,02 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Reprodutibilidade (RSD)	0,56% para $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

Em seguida, é mostrada a curva analítica ($r = 0,995$), Figura 4.3.3.4a e a Tabela 4.3.3.4a, apresentando as principais figuras de mérito referentes à aplicação do método nefelométrico (470 nm).

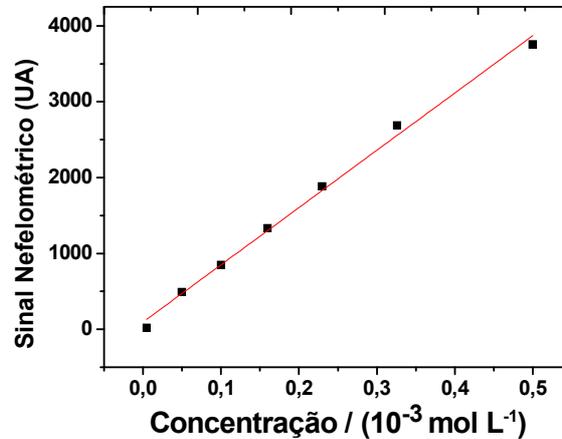


FIGURA 4.3.3.4a - Curva de calibração para determinação de potássio no módulo nefelométrico.

Tabela 4.3.3.4a - Principais figuras de mérito referente à aplicação do método nefelométrico (470 nm) para determinação de potássio (K^+).

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Nefelométrico (UA) = $(92 \pm 58) + (7,6 \pm 0,9) \times 10^6 [\text{K}^+]$
Faixa linear	$5,0 \times 10^{-6} - 5,0 \times 10^{-4} (\text{mol L}^{-1})$
Limite de detecção (LD)	$3,97 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
Limite de quantificação (LQ)	$1,32 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	0,21% para $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

Com os resultados obtidos, observa-se que os limites de detecção entre os dois métodos são bastante próximos, com o método turbidimétrico tendo um LD ligeiramente mais baixo. Os baixos limites de detecção permitem a determinação de potássio pelo método empregando tetrafenilborato de sódio com detecção utilizando o *PMTN*. A técnica nefelométrica possibilita trabalhar com uma faixa linear mais ampla, sobretudo em concentrações mais baixas.

4.3.3.5 – Determinação de potássio em amostras de água de coco e energéticos

Para a determinação de íons potássio (K^+) foi utilizado como método de referência a espectrometria de absorção atômica com chama. Essa técnica é bastante consolidada sendo uma das mais sensíveis para a determinação desses analitos. Um espectrofotômetro de absorção atômica GEMINI Intralab modelo AA 12/1475, com lâmpada de catodo oco de potássio L 233, com emissão em 766,5 nm e com chama acetileno/ ar sintético foi empregado. O resultado da calibração utilizando essa técnica é mostrado na Figura 4.3.3.5.

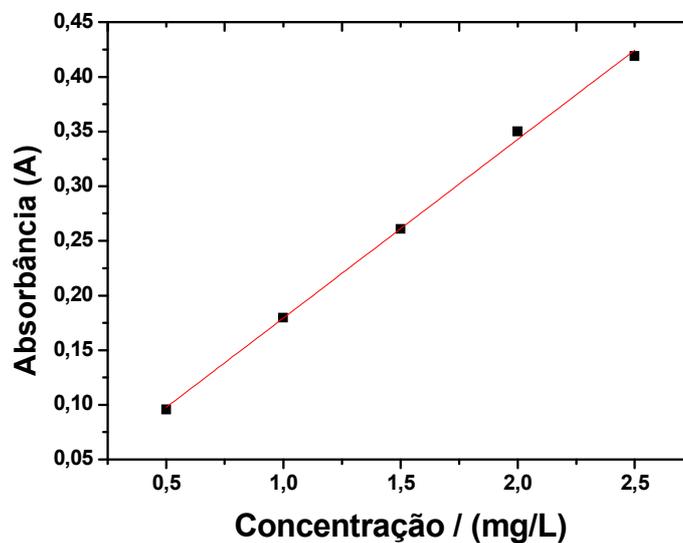


FIGURA 4.3.3.5 - Curva analítica para determinação de potássio pela técnica de absorção atômica com chama, com um coeficiente de regressão linear (r) de 0,998.

A equação que descreve a curva analítica é dada por: $Absorbância (A) = (0,016 \pm 0,005) + (0,161 \pm 0,003) \times [K^+]$. A seguir, são mostrados na Tabela 4.3.3.5 os resultados referentes às concentrações das amostras de potássio determinadas pelo método proposto e de referência.

TABELA 4.3.3.5 – Concentrações de potássio em águas de coco (A1) e em amostras de energéticos (A2 e A3) determinadas por espectrometria de absorção atômica e turbidimetria (405 nm) em triplicata (n =3).

Amostras / (mg / L)	Referência/ (mg / L)	PMTN/ (mg / L)	RE(%)	Teste F	Teste t
A1	1543,4 ± 0,1	1540,8 ± 0,3	-0,2	1,5	0,4
A2	121,5 ± 0,2	123,5 ± 0,8	1,7	2,0	0,5
A3	218,6 ± 0,2	209,9 ± 0,6	-4,1	4,0	2,4

F (2, 2, 95%) = 19,0 e t (2, 2, 95%)= 4,30.

Os valores dos testes F e t mostram que os resultados da concentração de potássio obtidos pela aplicação dos métodos analíticos são compatíveis a um nível de confiança de 95%, não existindo assim diferença significativa entre os mesmos. Os erros relativos se estenderam até - 4,1 %, valor esse considerado bastante aceitável.

Abaixo, são mostrados os resultados para a determinação nefelométrica de potássio referente à comparação com o método de referência.

TABELA 4.3.3.5a – Concentrações de potássio em águas de coco (A1) e em amostras de energéticos (A2 e A3) determinadas por espectrometria de absorção atômica e nefelometria (470 nm) em triplicata (n =3).

Amostras / (mg / L)	Referência/ (mg / L)	PMTN/ (mg / L)	RE(%)	Teste F	Teste t
A1	1543,4 ± 0,1	1535,5 ± 0,2	-0,5	1,7	0,9
A2	121,5 ± 0,2	125,6 ± 0,1	3,4	2,0	1,3
A3	218,6 ± 0,2	208,9 ± 0,5	-4,4	4,5	0,8

Como pode ser observado, os valores não apresentam diferenças estatísticas ao nível de confiança de 95%, com o maior erro relativo entre os resultados de -4,4 %. Observa-se também que as mostras de água de coco apresentam uma elevada concentração de potássio, teores esses esperados, uma vez que a água de coco é uma excelente bebida para a reposição desse analito nos

seres humanos. A determinação de potássio com o *PMTN* mostrou-se viável e com resultados concordantes ao nível de 95 % de confiança com o método empregado como referência. Os baixos limites de detecção e a ampla faixa linear (duas décadas de concentração quando empregado o método nefelométrico) mostraram o potencial do equipamento desenvolvido para a determinação desse analito.

4.3.4 - Determinação de tiamina

4.3.4.1 - Planejamento fatorial

O gráfico dos efeitos tem por finalidade determinar as variáveis mais importantes na determinação de tiamina em fármacos empregando os métodos turbidimétricos e nefelométricos. As variáveis mais importantes são destacadas na Figura 4.3.4.1.

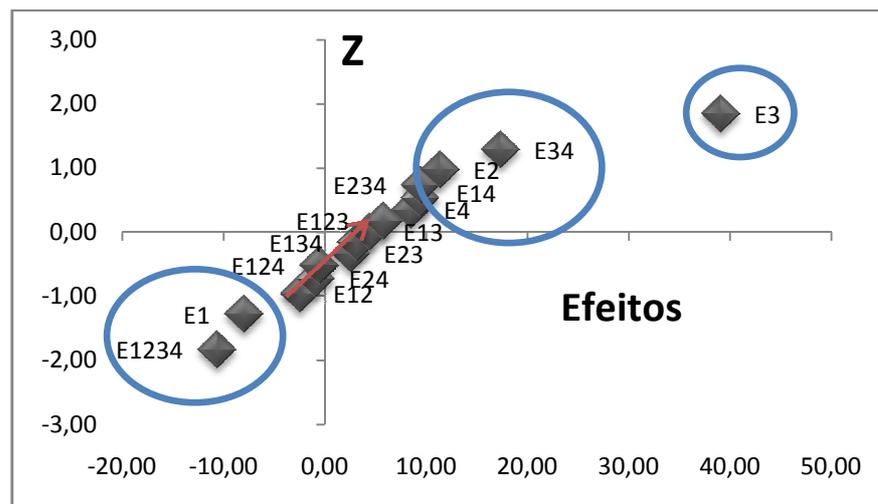


FIGURA 4.3.4.1 - Gráfico dos efeitos para a determinação de tiamina em fármacos, empregando o método turbidimétrico (405 nm). E1 (efeito da variável 1 = R (Reagente)), E2 (efeito da variável 2 = S (Surfactante)), E3 (efeito da variável 3 = HCl (pH da solução)), E4 (efeito da variável 4 = A (Analito)).

Apenas a variável 1 (R) possui efeito negativo e deve ficar no seu nível maior (+), as demais variáveis também se mostraram importantes e devem ficar em seus níveis menores (-). O experimento 15 é o que concorda com os resultados do planejamento com os seguintes níveis: $R(+)$ = $2,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $S(-)$ = $0,01 \%$ (m / v), HCl (pH) (-) = $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $A(-)$ = $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O planejamento revelou que a melhor resposta analítica é aquela na qual a concentração do analito é inferior ao do

reagente. Certamente um excesso de reagente favorece a formação da suspensão, levando a um melhor sinal analítico.

4.3.4.2 Estudo de interferentes em potencial na determinação de tiamina em fármacos

Foram analisadas concentrações (30x, 3x e 0,1x) em relação à solução padrão de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de tiamina utilizada. Alguns resultados mais significativos são mostrados na Tabela 4.3.4.2.

TABELA 4.3.4.2 - Possíveis Interferentes para análise de tiamina por nefelometria (470 nm).

Possíveis interferentes	Interferência (%)
Povidona (30x)	16,4
Povidona (3x)	-0,7
Ácido ascórbico (30x)	-1,0
Amido (1%)	1,2
Lactose (3x)	2,1
Sulfato ferroso (30x)	4,2
Sulfato ferroso (3x)	-1,0
Sulfato zinco (30x)	-2,9
Riboflavina (3x)	-80,0
Cianocobalamina (3x)	-10,2
Riboflavina (3x)*	1,5
Cianocobalamina (3x)*	-1,8
Todos **	-3,0

* Medida realizada com o LED IR em 880nm e com o sensor TSL260R-FL.** Todos (povidona, ácido ascórbico, lactose, sulfato ferroso, sulfato de zinco, riboflavina e cianocobalamina) com cada um em concentração três vezes maior em relação ao padrão de tiamina utilizado ($6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), exceto amido (1%), com todos os concomitantes estudados simultaneamente.

A povidona, em concentração trinta vezes maior que o padrão de tiamina utilizado, forneceu uma interferência significativa de 16,4%. Entretanto, em concentrações apenas três vezes maiores, que o referido padrão de tiamina, a interferência é desprezível. Foi comprovada que a povidona em concentração (30x) interfere aumentando a turvação da solução causando um erro positivo na análise

nefelométrica. Entre os demais concomitantes, apenas a riboflavina (vitamina B₂ de cor amarela) e a cianocobalamina (vitamina B₁₂ de cor vermelha) interferem. Essas interferências são similares às encontradas nos estudos feitos para potássio, pois a interferência é devida exclusivamente à coloração dessas substâncias. De fato, as determinações feitas no comprimento de onda em 880 nm (*IR*) mostram que praticamente não existe interferência e, portanto, tiamina pode ser determinada sem maiores problemas em matrizes que contenham essas substâncias. Nos apêndices, na Figura B, são mostrados os espectros de absorção no UV-Vis das soluções de das vitaminas B₂ e B₁₂.

4.3.4.3 Estudo de adição e recuperação

Resultados referentes aos estudos de adição e recuperação de tiamina em fármacos são mostrados na Tabela 4.3.4.3.

TABELA 4.3.4.3 - Adição e recuperação de tiamina em fármacos empregando o método nefelométrico (470 nm) em triplicata (n = 3).

Amostras	Adicionado/(mg)	Recuperado/(mg)	Recuperação (%)
A	168,7	166,7 ± 0,1	98,8
	30,4	30,6 ± 0,8	100,7
	20,2	20,3 ± 0,4	100,5
B	168,7	167,3 ± 0,1	99,2
	30,4	29,6 ± 0,5	97,4
	20,2	20,6 ± 0,4	102,0
C	168,7	166,5 ± 0,2	98,7
	30,4	30,6 ± 0,6	100,7
	20,2	20,7 ± 0,4	102,5

Pode-se observar que as recuperações ficaram entre 97,4 e 102,5 %. Esses valores sugerem que a matriz da amostra exerce pouca influência no resultado das análises. Observando esses valores pode-se concluir que interferentes

em potencial como povidona em elevadas concentrações não foram encontrados, uma vez que o percentual de recuperação está próximo de 100%.

4.3.4.4 Curvas analíticas para a determinação de tiamina

A curva analítica turbidimétrica e as principais figuras de mérito referentes à determinação de tiamina com o *PMTN* são mostradas na Figura 4.3.4.4 e na Tabela 4.3.4.4.

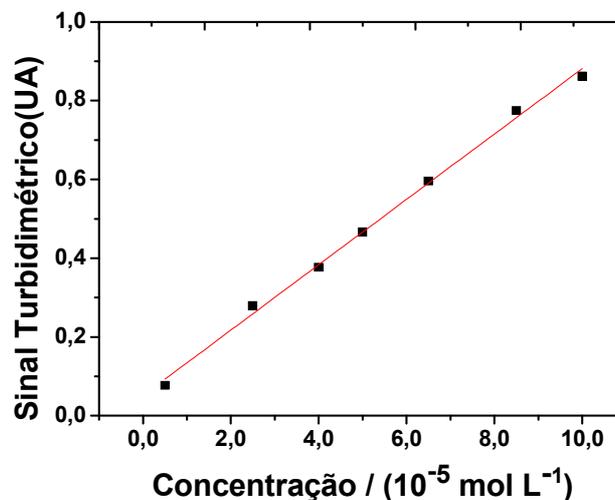


FIGURA 4.3.4.4 - Curva analítica para determinação de tiamina por meio da aplicação do método turbidimétrico (405 nm), com coeficiente de regressão (r) = 0,996.

TABELA 4.3.4.4 - Principais figuras de méritos referentes à aplicação do método turbidimétrico para a determinação de tiamina (Ti).

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Turbidimétrico(UA) = $(0,05 \pm 0,02)$ + $(8,3 \pm 0,2) \times 10^3$ [Ti]
Faixa linear	$5,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-4}$ (mol L $^{-1}$)
Limite de detecção (LD)	$3,11 \times 10^{-8}$ mol L $^{-1}$
Limite de quantificação (LQ)	$1,03 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	0,64 % para $5,0 \times 10^{-5}$ mol L $^{-1}$

Observa-se que o limite de detecção é bastante baixo, o que leva a concluir que o método é bastante sensível para análise de tiamina com o *PMTN*.

Esses valores são duas décadas mais baixos que o encontrado na literatura, para o método turbidimétrico⁸⁴. Os resultados referentes à aplicação do método nefelométrico obtidos após 50 ms são mostrados em seguida.

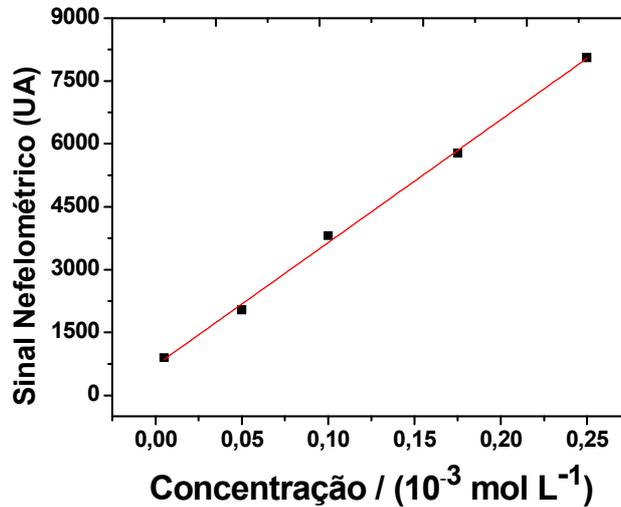


FIGURA 4.3.4.4a - Curva analítica para determinação de tiamina por meio da aplicação do módulo nefelométrico, com um coeficiente de regressão (r) de 0,998.

As principais figuras de mérito referentes à determinação de tiamina operando com o *PMTN* em módulo nefelométrico (470 nm) são mostradas na Tabela 4.3.4.4a.

TABELA 4.3.4.4a - Principais figuras de mérito referentes à aplicação nefelométrica (470 nm).

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Nefelométrico (UA) = $(83 \pm 13) + (2,9 \pm 0,7) \times 10^7 [\text{Ti}]$
Faixa linear	$5,0 \times 10^{-6} - 2,5 \times 10^{-4} \text{ (mol L}^{-1}\text{)}$
Limite de detecção (LD)	$5,91 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$
Limite de quantificação (LQ)	$1,97 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	0,60 % para $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

Os resultados referentes à determinação de tiamina empregando-se os métodos turbidimétrico e nefelométrico com o *PMTN* mostram-se bastante animadores, pois os baixos limites de detecção para ambos os métodos, linearidade e sensibilidade (inclinação da curva analítica) mostram a utilidade do equipamento construído nesta dissertação de mestrado. O limite de detecção obtido com a

aplicação do método nefelométrico foi maior que aquele obtido empregando-se o método turbidimétrico.

4.3.4.5 - Determinação de tiamina em amostras farmacêuticas

O eletrodo de gota pendente de mercúrio, um dos mais tradicionais eletrodos de trabalho entre as técnicas eletroanalíticas, foi empregado na técnica polarográfica de pulso diferencial para determinação de tiamina (método comparativo). Esse método é uma adaptação do método proposto Lingane & Davies⁸⁶ discutido na seção 1.5.4. No presente trabalho, este eletrodo foi acoplado a um potenciostato / galvanostato (*Autolab Eco Chemie, Netherlands*) com uma cela eletroquímica convencional com um eletrodo de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) como referência e um fio de platina como contra eletrodo. Gás nitrogênio ultrapuro (99,999%) foi necessário para remoção do oxigênio dissolvido na solução. A curva analítica para a determinação de tiamina obtida pela aplicação do método supracitado é mostrada na Figura 4.3.4.5.

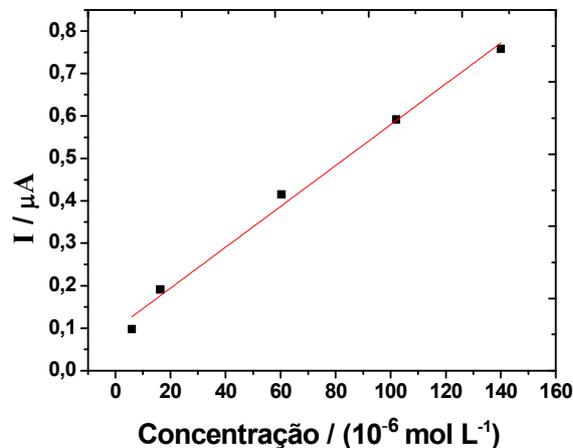


FIGURA 4.3.4.5 - Curva analítica para determinação de tiamina obtida com voltametria de pulso diferencial. O potencial de redução é $-1,25 \text{ V Vs. Ag / AgCl } (3,0 \text{ mol L}^{-1})$. Cloreto de potássio (KCl) com concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi utilizado como eletrólito suporte. Velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} , amplitude de pulso de 2 mV e tempo de aplicação de pulso de 10 ms foram utilizados, conforme descrito na literatura^{84, 86}. Varredura de 0 à $-1,50 \text{ V}$.

A equação que representa a curva analítica é a seguinte: $I (\mu\text{A}) = (9,74 \pm 0,09) \times 10^{-8} + (0,0481 \pm 0,0002) \times [\text{Ti}]$. Onde $[\text{Ti}]$ é a concentração de

tiamina (mol L^{-1}). Os resultados referentes às determinações das amostras de tiamina em fármacos pela aplicação dos métodos comparativo e turbidimétrico são mostrados na Tabela 4.3.4.5.

TABELA 4.3.4.5 - Amostras de tiamina em fármacos analisadas por meio da aplicação dos métodos de voltametria de pulso diferencial (comparativo) e turbidimétrico (405 nm).

Amostras/ (mg)	Comparativo/ (mg)	PMTN/ (mg)	RE(%)	Teste F	Teste t
A1	307,3 ± 0,9	304,5 ± 0,1	-0,9	3,0	1,7
A2	288,9 ± 0,3	294,3 ± 0,2	1,9	1,5	2,5
A3	292,1 ± 0,9	299,9 ± 0,8	2,7	1,0	1,0

F (2, 2, 95%) = 19,0 e t (2, 2, 95%) = 4,30.

Analisando os valores obtidos pelas aplicações dos testes F e t, observam-se que esses são inferiores aos valores críticos (tabelados), e, portanto, não existem diferenças significativas entre ambos os métodos aplicados para a determinação de tiamina em amostras de fármacos comerciais. O maior erro relativo entre os teores desse analito empregando-se os dois métodos foi de apenas 2,7 %.

TABELA 4.3.4.5a – Amostras de tiamina em fármacos analisadas por meio da aplicação dos métodos de voltametria de pulso diferencial (comparativo) e nefelométrico (470 nm).

Amostras/ (mg)	Comparativo/ (mg)	PMTN/ (mg)	RE(%)	Teste F	Teste t
A1	307,3 ± 0,9	303,0 ± 0,1	-1,4	1,4	1,0
A2	288,9 ± 0,8	284,3 ± 0,3	-1,6	1,0	1,8
A3	292,1 ± 0,2	299,0 ± 0,9	2,4	3,9	3,8

Os erros relativos referentes aos teores de tiamina encontrados nas amostras obtidos pela aplicação do método nefelométrico mostraram-se

semelhantes àqueles obtidos com o emprego do método turbidimétrico, como apresentados nas Tabelas 4.3.4.5 e 4.3.4.5a. Isso mostra que o *PMTN* pode ser utilizado em ambos os métodos para a determinação de tiamina com resultados concordantes com aqueles conseguidos com o emprego do método comparativo, pois não existe diferença significativa ao nível de confiança de 95% entre eles.

Os estudos de interferentes revelaram que as vitaminas (B_2 e B_{12}) interferem significativamente na determinação de tiamina por meio dos métodos turbidimétricos e nefelométricos realizados nos comprimentos de onda de 405 e 470 nm devido à coloração que essas fornecem à suspensão. Entretanto análises em comprimento de onda *IR* (880 nm) podem ser utilizadas com bons resultados para sanar tais interferências.

4.3.5 - Determinação de captopril

4.3.5.1 - Planejamento fatorial completo 2^3 com ponto central

O planejamento fatorial utilizado para o fármaco captopril é um pouco diferente daqueles realizados para os demais analitos, por não apresentar como variável estudada o pH da solução, conforme discutido na seção 3.7.2. Abaixo, é mostrado o gráfico dos efeitos com as variáveis mais importantes devidamente destacadas para a determinação de captopril.

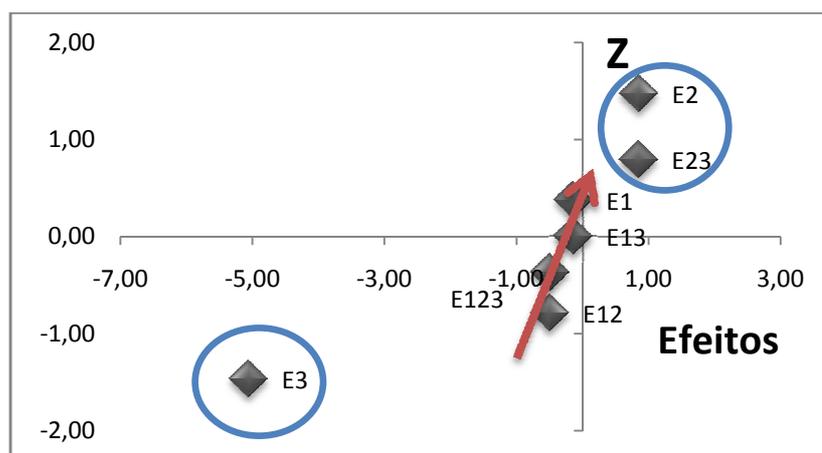


FIGURA 4.3.5.1 - Gráfico dos efeitos utilizando o método turbidimétrico para análise de captopril em fármacos. E1 (efeito da variável 1 = S (Surfactante)), E2 (efeito da variável 2 = R (Reagente)), E3 (efeito da variável 3 = A (Analito)).

Conforme pode ser visto na Figura 4.3.5.1, a variável 2 (R) deve ficar em seu nível menor (-) e a variável 3 (A) em seu nível maior (+). A variável surfactante não se mostrou importante nos níveis estudados, pois passa próximo a zero no eixo de probabilidade. Entretanto é uma variável importante e deve ser mantida principalmente para garantir a estabilidade da suspensão formada. Os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou o experimento 4 formado por: surfactante $S(-) = 0,01 \%$ (g / L), Reagente $R(-) = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e Analito $A(+)$ = $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

4.3.5.2 – Estudos de possíveis Interferentes em potencial

Os concomitantes apresentados nas bulas dos medicamentos foram estudados como os possíveis interferentes na determinação de captopril empregando íons prata nos níveis de concentração (15x, 3x e 0,1x) em relação à solução padrão de $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de captopril. As demais soluções têm suas concentrações em percentual (%) conforme também são apresentadas nas bulas de alguns medicamentos. Os resultados são mostrados na Tabela 4.3.5.2.

Tabela 4.3.5.2 - Possíveis interferentes para a determinação nefelométrica (470 nm) de captopril.

Possíveis interferentes	Interferência (%)
Lactose (3x)	-0,8
Sacarose (15x)	-0,8
Celulose cristalina (0,2 %)	-2,1
Manitol (0,5 %)	-15,1
Manitol (0,01 %)	0,5
Glicose (15x)	-1,8
Ácido esteárico (0,1 %)	-29,6
Ácido esteárico (0,01%)	0,1
Amido (1%)	-2,2
Todos *	-4,5

* Todos (lactose, sacarose e glicose em concentrações três vezes mais concentradas que a solução padrão de captopril (3x), celulose cristalina (1 %), manitol (0,01 %), ácido esteárico (0,01 %) e amido (1 %)), com análise simultânea.

Analisando os resultados, observa-se que o manitol $0,5 \%$ g L^{-1} e o ácido esteárico $0,1 \%$ g L^{-1} causam uma diminuição no sinal nefelométrico obtido. O manitol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$) possui seis grupos hidroxila (OH) ligados a sua cadeia carbônica e

apresenta conhecidas propriedades redutoras¹¹⁵, indicando assim a possível redução dos íons prata (Ag^+) a prata metálica (Ag^0), diminuindo o sinal analítico. O ácido esteárico ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$) precipita os íons Ag^+ formando estearato de prata¹¹⁶, diminuindo a concentração de íons Ag^+ e conseqüentemente, o sinal analítico. Reduzindo as concentrações desses concomitantes para os níveis de concentração apresentados na Tabela 4.3.5.2, observa-se que essas interferências são desprezíveis.

4.3.5.3 – Adição e recuperação de captopril em fármacos

A Tabela 4.3.5.3 a seguir, mostra os resultados da adição e recuperação de três concentrações conhecidas de uma solução estoque padrão de captopril $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ nas amostras farmacêuticas do analito.

TABELA 4.3.5.3 - Adição e recuperação utilizando o *PMTN* em módulo nefelométrico (470 nm).

Amostras	Adicionado/ (mg)	Recuperado/ (mg)	Recuperação (%)
A	217,1	217,8 ± 0,9	100,3
	173,8	188,8 ± 0,3	108,6
	86,9	86,2 ± 0,3	99,2
B	217,2	211,8 ± 0,2	97,5
	173,8	184,4 ± 0,8	106,1
	86,9	84,7 ± 0,8	97,5
C	217,2	213,7 ± 0,3	98,4
	173,8	183,9 ± 0,9	105,8
	86,9	90,0 ± 0,2	103,6

Como pode ser observado na Tabela 4.3.5.3 o percentual de recuperação ficou entre 97,5 e 108,6 %, indicando baixo efeito de matriz das amostras e que os interferentes em potencial não foram encontrados nos níveis de concentração estudados.

4.3.5.4 - Curvas analíticas para a determinação de captopril

Na Figura 4.3.5.4 é mostrada a curva analítica ($r = 0,993$) obtida empregando-se o método turbidimétrico (405 nm) e, na Tabela 4.3.5.4 são apresentadas as principais figuras de mérito referentes a aplicação do método.

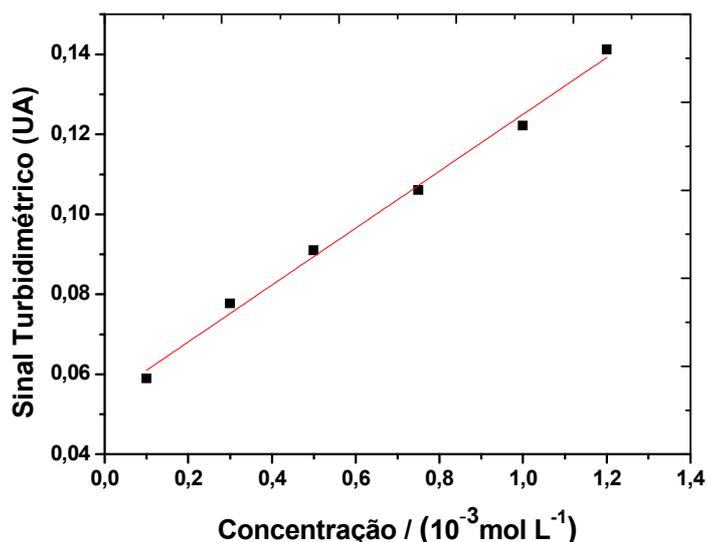


FIGURA 4.3.5.4 - Curva analítica para a determinação de captopril em fármacos empregando o método turbidimétrico.

TABELA 4.3.5.4 - Figuras de méritos referentes ao emprego do *PMTN* operando por meio do método turbidimétrico (405 nm) para a determinação de captopril (Cap).

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	Sinal Turbidimétrico(UA) = $(0,051 \pm 0,002)$ + $(71,1 \pm 0,9)x$ [CAP]
Faixa linear	$1,0 \times 10^{-4} - 1,2 \times 10^{-3}$ (mol L^{-1})
Limite de detecção (LD)	$3,11 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}
Limite de quantificação (LQ)	$1,02 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	0,68% para $3,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}

A faixa linear para a determinação de captopril por análise turbidimétrica é relativamente estreita e abrange concentrações altas, entretanto o baixo limite de detecção obtido permite a determinação deste analito em produtos farmacêuticos em baixas concentrações e com razoável sensibilidade.

A curva de calibração nefelométrica ($r = 0,999$) para a determinação de captopril, Figura 4.3.5.4a, e a Tabela 4.3.5.4a com as principais figuras de mérito da metodologia aplicada são mostrados em seguida.

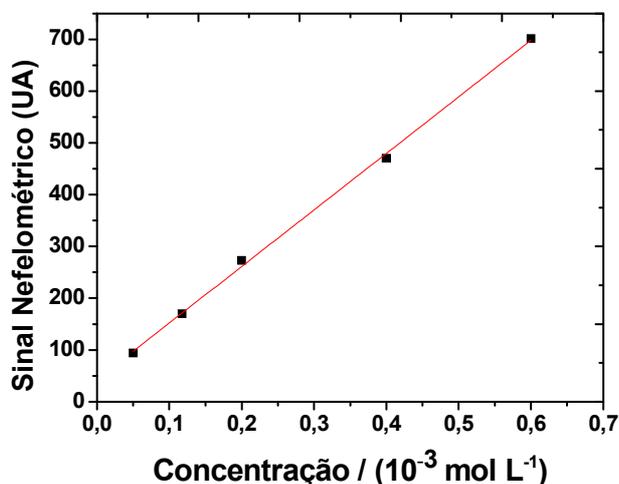


FIGURA 4.3.5.4a - Curva analítica para a determinação de captopril por meio da aplicação do método nefelométrico em 470 nm.

TABELA 4.3.5.4a - Figuras de mérito da metodologia aplicada para a determinação nefelométrica de captopril (Cap) em fármacos.

Parâmetros	Resultados
Equação da regressão	$Sinal\ Nefelométrico\ (UA) = (42 \pm 7) + (1,1 \pm 0,2) \times 10^6 [CAP]$
Faixa linear	$5,0 \times 10^{-5} - 6,0 \times 10^{-4} \text{ (mol L}^{-1}\text{)}$
Limite de detecção (LD)	$2,75 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Limite de quantificação (LQ)	$9,43 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Reprodutibilidade (RSD, n=3)	0,98% para $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

Os resultados referentes à aplicação do método nefelométrico para determinação de captopril mostraram-se melhores que os obtidos com o método turbidimétrico em termos de faixa linear de trabalho e limite de detecção. A faixa linear é uma década de concentração mais baixa que aquela conseguida com o método turbidimétrico. Isso se mostra importante em casos de análises do fármaco em amostras como, por exemplo, em urina onde o analito está em concentrações mais baixas que aquelas encontradas nas amostras analisadas nesse trabalho ¹¹⁷.

4.3.5.5 - Determinação de captopril em amostras farmacêuticas

O método comparativo utilizado foi aquele proposto por Ribeiro *et al.*^{101, 104}, discutido na seção 1.5.5. Esse método trata da titulação potenciométrica do analito com solução de hidróxido de sódio padronizado, sendo feita em triplicata. A Figura 4.3.5.5 apresenta três curvas obtidas da primeira derivada do potencial em função do volume do titulante (dE/dV), empregando-se solução de hidróxido de sódio $1,38 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

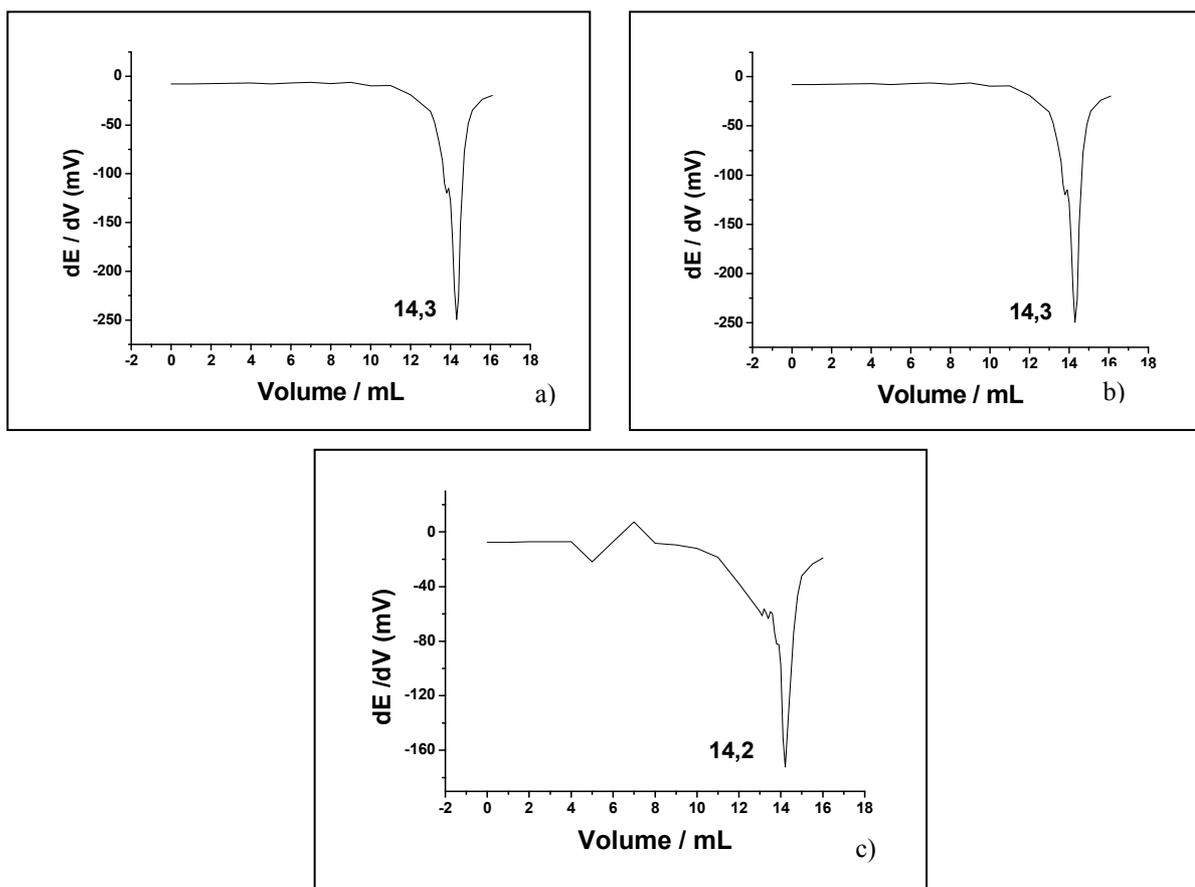


FIGURA 4.3.5.5 - Gráficos da primeira derivada do potencial obtido vs. a adição do titulante (hidróxido de sódio $1,38 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) para um volume de 14 mL de amostra adicionada. (a) amostras de 12, (b) 25 e (c) 25 mg de captopril.

Como pode ser observado na Figura 4.3.5.5, o volume de equivalência é de 14 mL. Fazendo alguns cálculos, encontram-se os valores de massa de cada comprimido (mg) de cada amostra de captopril. O resultado é mostrado nas Tabelas 4.3.5.5 e 4.3.5.5a.

TABELA 4.3.5.5 – Amostras de captopril em fármacos determinadas pelo método comparativo e por turbidimetria (405 nm) empregando o *PMTN*. As determinações de captopril foram realizadas em triplicata (n = 3) para ambos os métodos aplicados.

Amostra/ (mg)	Comparativo/ (mg)	PMTN/ (mg)	RE(%)	Teste F	Teste t
A1	12 ± 1	12,5 ± 0,8	4,2	6,5	0,4
A2	25 ± 2	25,5 ± 0,8	2,0	3,6	0,1
A3	25 ± 2	24,8 ± 0,7	-0,8	3,6	0,2

F (2, 2, 95%) = 19,0 e t (2, 2, 95%)= 4,30.

Os resultados do método turbidimétrico aplicado para as determinações de captopril foram concordantes com aqueles obtidos empregando-se o método potenciométrico (comparativo) de modo que o maior erro relativo foi apenas de 4,2 %. Os valores fornecidos pela aplicação dos testes F e t mostram que os métodos utilizados apresentam desvios padrões compatíveis e que não existe diferença significativa entre os resultados de ambos os métodos a um nível de confiança de 95%. Abaixo são mostrados os dados referentes ao método nefelométrico.

TABELA 4.3.5.5a - Amostras de captopril em fármacos determinadas pelo método comparativo e por nefelometria (470 nm) empregando o *PMTN*. As determinações de captopril foram realizadas em triplicata (n = 3).

Amostra/ (mg)	Comparativo/ (mg)	PMTN/ (mg)	RE(%)	Teste F	Teste t
A1	12 ± 1	12,3 ± 0,8	2,5	3,5	1,0
A2	25 ± 2	24,2 ± 0,2	-3,2	1,3	1,2
A3	25 ± 2	25,3 ± 0,5	1,2	1,2	1,0

Os resultados mostram que o maior erro relativo encontrado foi – 3,2%, o qual é considerado relativamente baixo. Os valores obtidos pela aplicação dos

testes F e t mostram que os métodos apresentam resultados compatíveis e, portanto, o *PMTN* pode ser utilizado para análises de captopril em fármacos, pois os teores de captopril obtidos com o método proposto são concordantes com aqueles fornecidos pelo método comparativo a um nível de confiança de 95%.

Outro aspecto interessante é a ampliação da faixa linear de trabalho, pois as técnicas turbidimétricas e nefelométricas apresentam distintas faixas lineares (faixas complementares) que podem ser exploradas para a análise de captopril. Além disso, O método nefelométrico mostrou um limite de detecção mais baixo que o turbidimétrico, de modo que podem-se explorar matrizes com concentrações mais baixas desse fármaco.

Capítulo 5: Conclusões

5. Conclusões

O *PMTN* mostrou uma boa estabilidade, haja vista os resultados obtidos por um período superior a 6h ininterruptas, os quais forneceram em média um RSD de 0,05%. Ademais, estudos da avaliação da relação sinal ruído foram realizados com o equipamento e por meio de um multímetro digital e um microcomputador e os resultados mostraram que existe um sinal líquido superior a 99%, isso significa que, o equipamento pode ser utilizado numa ampla faixa de trabalho, sobretudo em baixas concentrações.

Estudos referentes às aplicações analíticas mostraram que o limite de detecção de alguns métodos turbidimétricos foram melhores que aqueles obtidos pela aplicação dos métodos nefelométricos. Esses estudos foram possíveis por meio das aplicações dos cinco procedimentos analíticos estudados. Com esses procedimentos se pode concluir que de fato a natureza da suspensão formada é um importante parâmetro para analisar a sensibilidade e os limites de detecção dos métodos e não apenas a sensibilidade dos sistemas ópticos em questão. Para captopril e N-acetilcisteína, o método nefelométrico propiciou menores limites de detecção quando comparando com o método turbidimétrico. Entretanto, para as determinações de sulfato, potássio e tiamina, a aplicação do método turbidimétrico propiciou menores limites de detecção que aqueles fornecidos pela aplicação do método nefelométrico.

A análise seqüencial em tempos muitos curtos (50 ms) permite resultados praticamente simultâneos, com isso os métodos turbidimétricos e nefelométricos foram estudados praticamente em mesmas condições de análise. Esses métodos muitas vezes podem ser utilizados conjuntamente para ampliar a faixa linear de trabalho como foi observado para N-acetilcisteína, captopril e potássio. Alguns resultados mostram que o *PMTN* apresenta baixos limites de detecção, como o método para determinação de vitamina B₁ e de potássio, com alguns resultados melhores que os encontrados na literatura^{84, 118}.

O equipamento foi testado e comparado não apenas com uma instrumentação similar (espectrofotometria molecular UV-Vis) como também técnicas eletroanalíticas como condutometria, potenciometria, polarografia de pulso diferencial e técnica de espectrometria de absorção atômica com chama com resultados compatíveis e concordantes a um nível de confiança de 95%.

A análise em campo pode ser vantajosa principalmente para análises de águas em lugares remotos, onde muitas vezes o deslocamento é dificultado, e pelo fato das amostras conservarem suas características naturais. O emprego de equipamentos convencionais nas determinações em campo não é possível uma vez que estes são pesados e necessitam de alimentação elétrica em rede limpa (corrente elétrica estabilizada), além do aumento da possibilidade de sofrerem avarias.

Os planejamentos quimiométricos utilizados forneceram uma seqüência de experimentos que permitiram obter situações nas quais as variáveis são utilizadas nas determinações analíticas com resultados satisfatórios.

O rigor com respeito principalmente à temperatura foi importante para assegurar uniformidade da suspensão formada em todos os casos estudados. O equipamento não apresenta problemas de variação de temperatura, pois os *LEDs* e os sensores são testados em temperaturas que variam de 20 à 45 °C, mas o sistema químico é afetado por tais variações.

Os *LEDs* e sensores utilizados no *PMTN* formam um sistema óptico bastante complementar e específico, pois as máximas emissões das REMs são exatamente na mesma região de máxima sensibilidade dos sensores. Os modos de operação do *PIC* e do *software* de controle permitem juntamente com esse sistema óptico, resultados satisfatórios para o *PMTN*.

O equipamento apresentou duas limitações intrínsecas de seus componentes, a saber: (a) limitação de funções do *PIC* devido ao pequeno tamanho de sua memória *EPROM*, em relação à existente em um computador, o que dificulta um tratamento matemático mais complexo e (b) a não realização de um espectro de varredura como nos espectrofotômetros e espectrofluorímetros, devido às características intrínsecas do sistema óptico de baixo custo utilizado. Essas limitações surgem apenas quando ocorre a comparação entre o *PMTN* com os equipamentos supracitados. Todavia, comparando-o com equipamentos semelhantes (turbidímetros, nefelômetros, ou até mesmo fotômetros) o *PMTN* apresenta-se mais compatível e essas diferenças são reduzidas.

Capítulo 6:

Tratamento dos resíduos gerados e
propostas futuras

6.1 - Tratamento dos resíduos gerados

Todas as substâncias químicas utilizadas (reagentes, solventes, soluções padrões, etc) foram armazenadas em dois reservatórios de 5 L cada, separados entre material orgânico e inorgânico para posterior tratamento químico adequado. A UFSCar possui uma central de tratamento responsável pelo recolhimento e manuseio de resíduos químicos para a qual estes reservatórios foram conduzidos (UGR- Unidade de Gestão de Resíduos). O motivo de realizar tal trabalho é a conscientização ambiental sobre toda a problemática da poluição, principalmente de solos e águas. Durante todo o trabalho, foram gerados aproximadamente 9 L de resíduos. Mesmo em muitas oportunidades fazendo o uso de balões volumétricos de 5 mL. Com isso, trabalhos futuros empregando procedimentos com micro-fluídica por meio do uso de microbombas, e microsistemas de análises serão implementados como uma forma de diminuir a quantidade de resíduos gerados.

6.2 - Propostas futuras – análise com micro-fluídica

Pretende-se desenvolver um fotômetro com múltiplos canais (com mais de um sensor e uma fonte de REM) simples e de baixo custo microcontrolado com tecnologia *USB* para análises por espectrofotometria UV-Vis. O equipamento será composto de fontes de radiação a base *LED (Light Emission Diode)*, tendo como detectores fototransistores responsáveis pela conversão da luz incidente em um sinal elétrico mensurável. Além disso, serão incorporados no mesmo microbombas e microválvulas necessárias para a propulsão e controle dos volumes a serem utilizados.

O instrumento calibrado será aplicado à análise de fármacos e amostras ambientais de interesse, ainda a serem definidas. Contudo, pretende-se determiná-los com quantidades reduzidas de reagentes e amostras. Isso é possível, pois as microválvulas são capazes de controlar o volume de fluídos com resolução geralmente de alguns μL . Com isso, tem-se um sistema de análise totalmente automático, gerando volumes reduzidos de resíduos, o que facilita o tratamento desses, além de economia de reagentes e amostras.

Referências bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SKOOG, D. A. & LEARY, J. J. "*Principles of instrumental analysis*", Saunders College Publishing, New York, 1992, p115-191; 300-354.
2. HALLIDAY, D.; RENISK, R. & WALKER, J. "*Fundamentos de física - óptica e física moderna*", LTC, Rio de Janeiro, 2003, p1-19; 126-138.
3. Jr. INGLE, J. D. & CROUCH, S. R. "*Spectrochemical analysis*", Prentice-Hall Inc, New Jersey, 1988, p1-134; 494-524.
4. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. & NIEMAN, T. A. "*Princípios de análises instrumental*", Editora Bookman, São Paulo, 2006.
5. MORAIS, I. P., TOTH, I. V. & RANGEL, A. O. "*Turbidimetric and nephelometric flow analysis: Concepts and applications*", Spectroscopy Letters, 39 (6): 547, 2006.
6. SHAW, D. J. "*Introdução à química dos colóides e de superfícies*", Editora Edgard Blücher, São Paulo, 1975.
7. RODENAS-TORRALBA, E., MORALES-RUBIO, A., LAVORANTE, A. F., DOS REIS, B. F. & DE LA GUARDIA, M. "*Micropumping multicommutation turbidimetric analysis of waters*", Talanta, 73 (4): 742, 2007.
8. LIU, H. & DASGUPTA, P. K. "*A liquid drop: A windowless optical cell and a reactor without walls for flow injection analysis*", Analytica Chimica Acta, 326 (1-3): 13, 1996.
9. WEBSTER, J. G. "*The Measurements instrumentation and Sensors - Hand Book*", California, 1999, cap. 56 e 58.
10. MANDEL, L. & WOLF, E. "*Optical coherence and quantum optics*", Cambridge University Press, New York, 1995, cap. 14.
11. BARTER, P. J. & DEAS, T. "*Comparison of portable nephelometric turbidimeters on natural water and effluents*", The Royal Society of New Zealand, **37**, 485, 2003.
12. ANDERSON, C. W. "*Turbidity : U. S. Geological Survey, National field manual for the collection of water-quality*", U. S. Geological Survey techniques of water-resources investigations. Vol. 9. 2004.
13. SADAR, M. J. "*Turbidity science*", Hach Company: Technical information series-book, 11, 26, 1998.
14. USEPA, "*Methods for the determination of inorganic substances in environmental samples*", Environmental Protection Agency EPA/600/R-93/100, Cincinnati, 178, 1993.
15. ISO, International Standards Organization, "*Water quality—Determination of Turbidity*", ISO 7027, Geneva, Switzerland, 1999.

16. MEBAK, "Mittleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission", <http://www.mebak.org/>. Acesso em 10 de Fevereiro de 2008.
17. ASTM-International, "Standard test method for turbidity of water", Annual Book of ASTM standards: 2003a, D1889-00, West Conshohocken, 2003.
18. MICROCHIP, <http://www.microchip.inc.com>. Acessada em 12 de dezembro de 2008.
19. MICROGENIOS, <http://www.microgenios.com.br>. Acessada em 09 de novembro de 2007.
20. PALMA, A. J.; LOPEZ-GONZALEZ, J.; ASENSIO, L. J.; FERNANDEZ-RAMOS, M. D. & CAPITAN-VALLVEY, L. F. "Microcontroller-based portable instrument for stabilised optical oxygen sensor", Sensors and Actuators B-Chemical, 121 (2): 629, 2007.
21. BERG, R.; KONIGER, M.; SCHJEIDE, B. M.; DIKMAK, G.; KOHLER, S. & HARRIS, G. C. "A simple low-cost microcontroller-based photometric instrument for monitoring chloroplast movement", Photosynthesis Research, 87 (3): 303, 2006.
22. FRANKOWIAK, M. R.; GROSVENOR, R. I. & PRICKETT, P. W. "A review of the evolution of microcontroller-based machine and process monitoring", International Journal of Machine Tools & Manufacture, 45 (4-5): 573, 2005.
23. CZAJA, Z., "A diagnosis method of analog parts of mixed-signal systems controlled by microcontrollers", Measurement, 40 (2): 158, 2007.
24. FRANKOWIAK, M. R.; GROSVENOR, R. I. & PRICKETT, P. W. "A petri-net based distributed monitoring system using PIC microcontrollers", Microprocessors and Microsystems, 29 (5): 189, 2005.
25. REVERTER, F.; GASULLA, M. & PALLAS-ARENY, R. "Analysis of power-supply interference effects on direct sensor-to-microcontroller interfaces", IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, 56 (1): 171, 2007.
26. LEMOS, S. G.; NOGUEIRA, A. R. A.; TORRE-NETO, A.; PARRA, A.; ARTIGAS, J. & ALONSO, J. "In-soil potassium sensor system", J. Agric. Food Chem, 52, 5810, 2004.
27. CAPELO, S.; MIRA, F. & BETTENCOURT, A. M. "In situ continuous monitoring of chloride, nitrate and ammonium in a temporary stream Comparison with standard methods", Talanta, 71, 1155, 2007.
28. ISI Web Of Knowledge, <http://apps.isiknowledge.com> .Acessada em 14 de Abril de 2009.
29. YEH, T. S. & TSENG, S. S. "A low cost LED based spectrometer", Journal of the Chinese Chemical Society, 53 (5): 1067, 2006.

30. GAIÃO, E. D.; DE MEDEIROS, E. P.; LYRA, W. D., MOREIRA, P. N. T., DE VASCONCELOS, P. C.; DA SILVA, E. C. & DE ARAUJO, M. C. U. "A *multi-led, microcontrolled, portable and inexpensive photometer*", Química Nova, 28 (6): 1102, 2005.
31. GAIÃO, E. D.; DOS SANTOS, S. R. B.; DOS SANTOS, V. B., DO NASCIMENTO, E. C. L.; LIMA, R. S. & DE ARAUJO, M. C. U., "An *inexpensive, portable and microcontrolled near infrared LED-photometer for screening analysis of gasoline*", Talanta, 75 (3): 792, 2008.
32. VERAS, G.; SILVA, E. C.; LYRA, W. S.; SOARES, S. F. C.; GUERREIRO, T. B. & SANTOS, S. R. B. "A *portable, inexpensive and microcontrolled spectrophotometer based on white LED as light source and CD media as diffraction grid*", Talanta, 77 (3): 1155, 2009.
33. PALMA, A. J.; ORTIGOSA, J. M.; LAPRESTA-FERNANDEZ, A.; FERNANDEZ-RAMOS, M. D.; CARVAJAL, M. A. & CAPITAN-VALLVEY, L. F. "Portable *light-emitting diode-based photometer with one-shot optochemical sensors for measurement in the field*", Review of Scientific Instruments, 79 (10): 2008.
34. SCHNABLE, J. G.; GROCHOWSKI, P. J.; WILHELM, L.; HARDING, C.; KIEFER, M. & ORR, R. S. "Portable *LED-array VIS-NIR spectrophotometer/nephelometer*", Field Analytical Chemistry and Technology, 2 (1): 21, 1998.
35. GARCIA, A.; PEREZ, M. A.; ORTEGA, G. J. G. & DIZY, J. T. "A *new design of low-cost four-beam turbidimeter by using optical fibers*", IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, 56 (3): 907, 2007.
36. POSTOLACHE, O. A.; GIRÃO, P. M. B. S.; PERREIRA, J. M. D. & RAMOS, H. M. G. "Multibeam *optical system and neural processing for turbidity measurement*", IEEE SENSORS JOURNAL, 7 (5): 677, 2007.
37. CANTRELL, K. M. & INGLE, J. D. "The *SLIM spectrometer*", Analytical Chemistry, 75 (1): 27, 2003.
38. SHAW, D. J. "Introduction to *colloid & surface chemistry*", New York, 1992.
39. WHO, "Sulfate in *drinking-water background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality*", World Health Organization, 2004.
40. USEPA, "Drinking water advisory: *Consumer acceptability advice and health effects analysis on sulfate, 822-R-02_033*", United States Environmental Protection Agency, 2002.
41. DAVIES, T. D. "Sulphate toxicity to the aquatic moss, *Fontinalis antipyretica*", Chemosphere, 66 (3): 444, 2007.
42. APHA, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", American Public Health Association, 15th ed., 1981.
43. RUDY, R. B. J. "Research *Satl. Bur. Standards*", 16, 556, 1936.

44. BOYARS, C. "Turbidimetric method for determination of potassium sulfate in propellant powders", *Analytical Chemistry*, 20 (1): 87, 1948.
45. (CETESB), "CETESB norma técnica, L5.191: Determinação de sulfato em águas - método turbidimétrico: método de ensaio", Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, São Paulo, 1988.
46. ELENKOVA, N. G.; TSONEVA, R. A. & NEDELICHEVA, T. K. "New turbidimetric method for determination of sulfate", *Talanta*, 27 (1): 67, 1980.
47. SANTELLI, R. E.; LOPES, P. R. S.; SANTELLI, R. C. L. & WAGENER, A. D. R. "Turbidimetric determination of sulfate in waters employing flow-injection and lead sulfate formation", *Analytica Chimica Acta*, 300 (1-3): 149, 1995.
48. KRUG, F. J.; FILHO, H. B.; ZAGATTO, E. A. G. & JORGENSEN, S. S. "Rapid-determination of sulfate in natural-waters and plant digests by continuous-flow injection turbidimetry", *Analyst*, 102 (1216): 503, 1977.
49. GEBAUER, P.; DEML, M.; BOCEK, P. & JANAK, J., "Determination of nitrate, chloride and sulfate in drinking-water by capillary free-zone electrophoresis", *Journal of Chromatography*, 267 (2): 455, 1983.
50. VERDUYN, G. & DEROUANE, A. "Dosage automatique des sulfates par une methode nephelometrique amelioree: Application au dosage du SO₂ dans l'air ambiant et des sulfates dans les eaux de pluie", *Atmospheric Environment*, 8(7): 707, 1974.
51. CHANG, C. M. & HUANG, H. J. "Indirect determination of sulfate by atomic-absorption spectrophotometry", *Journal of the Chinese Chemical Society*, 40 (5): 425, 1993.
52. COLON, M.; IGLESIAS, M.; HIDALGO, M. & TODOLI, J. L. "Sulfide and sulfate determination in water samples by means of hydrogen sulfide generation-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 23 (3): 416, 2008.
53. LOMAKO, S. V.; ASTAPOVICH, R. I.; NOZDRIN-PLOTNITSKAYA, O. V.; PAVLOVA, T. E.; LEI, S.; NAZAROV, V. A.; OKAEV, E. B.; RAKHMAN'KO, E. M. & EGOROV, V. V. "Sulfate-selective electrode and its application for sulfate determination in aqueous solutions", *Analytica Chimica Acta*, 562 (2): 216, 2006.
54. OUZOUNIAN, G. & MICHARD, G. "Quantitative Sulfate Determination in Natural-Waters by Means of Barium-Selective Electrode", *Analytica Chimica Acta*, 96 (2): 405, 1978.
55. KABASAKAL, L.; SEHIRLI, A. O.; CETINEL, S.; CIKLER, E.; GEDIK, N. & SENER, G. "Mesna (2-mercaptoethane sulfonate) prevents ischemia/reperfusion induced renal oxidative damage in rats", *Life Sciences*, 75 (19): 2329, 2004.

56. OGWU, V. & COHEN, G. "A simple colorimetric method for the simultaneous determination of N-acetylcysteine and cysteine", *Free Radical Biology and Medicine*, 25 (3): 362, 1998.
57. LAI, M. T.; HUANG, K. L.; CHANG, W. M. & LAI, Y. K., "Geldanamycin induction of *grp78* requires activation of reactive oxygen species via ER stress responsive elements in 9L rat brain tumour cells", *Cellular Signalling*, 15 (6): 585, 2003.
58. SBRANA, E.; PALADINI, A.; BRAMANTI, E.; SPINETTI, M. C. & RASPI, G. "Quantification of reduced glutathione and cysteine in human immunodeficiency virus-infected patients", *Electrophoresis*, 25 (10-11): 1522, 2004.
59. DONNELLY, P. J.; WALKER, R. M. & RACZ, W. J. "Inhibition of mitochondrial respiration in-vivo is an early event in acetaminophen-induced hepatotoxicity", *Archives of Toxicology*, 68 (2): 110, 1994.
60. CALDERON-CABRERA, L.; DURAN-GALETTO, M. G.; GARCIA, I.; GALETTO, D.; LACRUZ, L.; NARANJO, R.; PEREZ, B. & FERREIRA, E. "Determination of the N-acetylcysteine and methionine effects in the cerebellum of rats intoxicated with lead", *Investigacion Clinica*, 49 (1): 17, 2008.
61. DALY, F. F. S.; O'MALLEY, G. F.; HEARD, K.; BOGDAN, G. M. & DART, R. C. "Prospective evaluation of repeated supratherapeutic acetaminophen (Paracetamol) ingestion", *Annals of Emergency Medicine*, 44 (4): 393, 2004.
62. HUANG, X. J. & KOK, W. T. "Determination of cysteine and N-acetylcysteine in urine by liquid-chromatography with indirect amperometric detection", *Journal of Liquid Chromatography*, 14 (11): 2207, 1991.
63. OE, T., OHYAGI, T. & NAGANUMA, A. "Determination of gamma-glutamylglutathione and other low-molecular-mass biological thiol compounds by isocratic high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection", *Journal of Chromatography B*, 708 (1-2): 285, 1998.
64. TOUSSAINT, B.; CECCATO, A.; HUBERT, P.; DE GRAEVE, J.; DE PAUW, E. & CROMMEN, J. "Determination of L-lysine N-acetylcysteinate and its mono- and dimeric related compounds by liquid chromatography mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, 819 (1-2): 161, 1998.
65. WASEEM, A.; YAQOUB, M. & NABI, A. "Flow-injection determination of cysteine in pharmaceuticals based on luminol-persulphate chemiluminescence detection", *Luminescence*, 23 (3): 144, 2008.
66. VIEIRA, H. J. & FATIBELLO-FILHO, O. "Indirect flow injection determination of N-acetyl-L-cysteine using cerium(IV) and ferroin", *Química Nova*, 28 (5): 797, 2005.
67. SUAREZ, W. T.; MADI, A. A.; VICENTINI, F. C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Flow-injection spectrophotometric determination of N-acetylcysteine in pharmaceutical formulations with on-line solid-phase reactor containing Zn(II) phosphate immobilized in a polyester resin", *Analytical Letters*, 40 (16-18): 3417, 2007.

68. SUAREZ, W. T.; MARCOLINO-FILHO, L. H. & FATIBELLO-FILHO, O. "Voltammetric determination of *N*-acetylcysteine using a carbon paste electrode modified with copper(II) hexacyanoferrate(III)", *Microchemical Journal*, 82 (2): 163, 2006.
69. BITTENCOURT, C. F. "Farmacopéia Brasileira", 3rd ed. Atheneu Editora, São Paulo, 1977, p406–407.
70. JANEGITZ, B. C.; SUAREZ, W. T. S.; FATIBELLO-FILHO, O. & MARCOLINO-JUNIOR, L. H. "Conductometric Determination of *N*-acetylcysteine in Pharmaceutical Formulations Using Copper(II) Sulphate as Titrant", *Analytical Letters*, 41, 3264, 2008.
71. SUAREZ, W. T.; VIEIRA, H. J. & FATIBELLO-FILHO, O., "Flow injection turbidimetric determination of acetylcysteine in pharmaceutical formulations using silver nitrate as precipitant reagent", *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18 (5): 1028, 2007.
72. BALKAY, L.; MARIAN, T.; EMRI, M.; KRASZNAI, Z. & TRON, L. "Flow cytometric determination of intracellular free potassium concentration", *Cytometry*, 28 (1): 42, 1997.
73. TUBINO, M.; DE SOUZA, R. L. & HOEHR, N. F. "Rapid quantitative turbidimetric spot test analysis of potassium in blood serum", *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15 (5): 635, 2004.
74. GRYSHCHENKO, O.; FISCHER, I. R.; DITTRICH, M.; VIATCHENKO-KARPINSKI, S.; SOEST, J.; BOHM-PINGER, M. M.; IGELMUND, P.; FLEISCHMANN, B. K. & HESCHELER, J. "Role of ATP-dependent K⁺ channels in the electrical excitability of early embryonic stem cell-derived cardiomyocytes", *Journal of Cell Science*, 112 (17): 2903, 1999.
75. ALMEIDA, M. I. G. S.; SEGUNDO, M. A.; LIMA, J. L. F. C. & RANGEL, A. O. S. S. "Interfacing multisyringe flow injection analysis to flame atomic emission spectrometry: an intelligent system for automatic sample dilution and determination of potassium", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 24 (3): 340, 2009.
76. GORECKA, H.; CHOJNACKA, K. & GORECKI, H. "The application of ICP-MS and ICP-OES in determination of micronutrients in wood ashes used as soil conditioners", *Talanta*, 70 (5): 950, 2006.
77. ALTRIA, K. D.; WOOD, T.; KITSCHA, R. & ROBERTSMCINTOSH, A. "Validation of a capillary electrophoresis method for the determination of potassium counterion levels in an acidic drug salt", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 13 (1): 33, 1995.
78. BURNETT, R. W.; COVINGTON, A. K.; FOGHANDERSEN, N.; KULPMANN, W. R.; MAAS, A. H. J.; MULLERPLATHE, O.; SIGGAARDANDERSEN, O.; VANKESSEL, A.; WIMBERLEY, P. D. & ZIJLSTRA, W. G. "Recommendation on mean molar activity coefficients and single ion activity coefficients of solutions for calibration of ion-selective electrodes for sodium, potassium and calcium

determination (Reprinted from *J Clin Chem Clin Biochem*)", *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 35 (4): 345, 1997.

79. TUBINO, M. & TORRES, J. R. D. "Turbidimetric Determination of Potassium in Leaf Tissues with Sodium Tetraphenylboron", *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 23 (1-2): 123, 1992.

80. LIMA, J. L. F. C.; RANGEL, A. O. S. S.; SOUTO, M. R. S. & ZAGATTO, E. A. G. "Turbidimetric flow-injection determination of total nitrogen and potassium in vegetables", *Analytica Chimica Acta*, 356 (2-3): 259, 1997.

81. KOIKE, H.; IJIMA, M.; MORI, K.; HATTORI, N.; ITO, H.; HIRAYAMA, M. & SOBUE, G. "Postgastrectomy polyneuropathy with thiamine deficiency is identical to beriberi neuropathy", *Nutrition*, 20 (11-12): 961, 2004.

82. ABOUL-KASIM, E. "Anodic adsorptive voltammetric determination of the vitamin B-1 (thiamine)", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 22 (6): 1047, 2000.

83. AOAC, "Official Methods of Analysis", 40th ed., Arlington, 1984, p836.

84. COSTA-NETO, C. O.; PEREIRA, A. V.; ANICETO, C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Flow injection turbidimetric determination of thiamine in pharmaceutical formulations using silicotungstic acid as precipitant reagent", *Talanta*, 48 (3): 659, 1999.

85. BRITISH PHARMACOPOEIA. HMSO, London, 1958, p. 49.

86. LINGANE, J. J. & DAVIES, O. L. "Polarographic determination of riboflavin (vitamin B2) and other vitamin B factors", *Journal of Biological Chemistry*, 137 567, 1941.

87. CAMPIGLIO, A. "Potentiometric microtitration of vitamin-B-1 with phosphotungstic acid by using a phosphotungstate-sensitive electrode and its application to the analysis of pharmaceutical preparations", *Analyst*, 119 (10): 2209, 1994.

88. DA CUNHA, S.; BASTOS, J. C.; SALLES, J. B.; SILVA, M. C. C.; BASTOS, V. L. F. C. & MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. "Cardiac alterations in furosemide-treated thiamine-deprived rats", *Journal of Cardiac Failure*, 13 (9): 774, 2007.

89. SCHREINER, M.; RAZZAZI, E. & LUF, W. "Determination of water-soluble vitamins in soft drinks and vitamin supplements using capillary electrophoresis", *Nahrung-Food*, 47 (4): 243, 2003.

90. LOPEZ-FLORES, J.; CORDOVA, M. L. F. D. & MOLINA-DIAZ, A. "Implementation of flow-through solid phase spectroscopic transduction with photochemically induced fluorescence: determination of thiamine", *Analytica Chimica Acta*, 535 (1-2): 161, 2005.

91. ROCHA, F. R. P.; FATIBELLO-FILHO, O. & REIS, B. F. "A multicommutated flow system for sequential spectrophotometric determination of hydrosoluble vitamins in pharmaceutical preparations", *Talanta*, 59 (1): 191, 2003.

92. ECONOMOU, A. "Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis", *Trends in Anal. Chem.*, 24 (4): 334, 2005.
93. SCHMIDT-JR, E.; MELCHERT, W. R. & ROCHA, F. R. P. "flow-injection iodimetric determination of captopril in pharmaceutical preparations", *J. Braz. Chem. Soc.*, 20 (2): 236, 2009.
94. LOURENÇÃO, B. C.; MARCOLINO-FILHO, L. H. & FATIBELLO-FILHO, O. "Conductometric determination of captopril in pharmaceutical formulations using copper(II) sulphate as titrant", *Química Nova*, 31 (2): 349, 2008.
95. ASHIDA, T.; TANAKA, T.; YUTANI, C.; KAWAMURA, M.; MANDAI, T.; IMANISHI, M.; KIMURA, G.; KOJIMA, S.; ITO, K.; KURAMOCHI, M. & OMAE, T. "Vascular responsiveness to angiotensin-li and phenylephrine, the tubular function and the prostaglandin, renin-angiotensin system in a patient with Bartters-Syndrome", *Internal Medicine*, 31 (1): 134, 1992.
96. [ANON]. "The use of captopril in the treatment of hypertensive patients with Diabetes - results of a middle-east multicenter collaborative trial", *Current Therapeutic Research-Clinical and Experimental*, 50 (3): 326, 1991.
97. PASSAMONTI, P. & PUCCIARELLI, F. "Cleaning up procedure for captopril determination in urine samples by a nonintrusive method", *Electroanalysis*, 7 (2): 194, 1995.
98. JANKOWSKI, A.; SKOREK, A.; KRZYSKO, K.; ZARZYCKI, P. K.; OCHOCKA, R. J. & LAMPARCZYK, H. "Captopril - determination in blood and pharmacokinetics after single oral dose", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 13 (4-5): 655, 1995.
99. ARROYO, C.; LOPEZCALULL, C.; GARCACAPDEVILA, L.; GICH, I.; BARBANOJ, M. & BONAL, J. "Determination of captopril in plasma by high-performance liquid chromatography for pharmacokinetic studies", *Journal of Chromatography B*, 688 (2): 339, 1997.
100. HILLAERT, S. & VAN DEN BOSSCHE, W. "Determination of captopril and its degradation products by capillary electrophoresis", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21 (1): 65, 1999.
101. SUAREZ, W. T.; MADI, A. A.; DE FIGUEIREDO, L. C. S. & FATIBELLO-FILHO, O. "Flow-injection spectrophotometric system for captopril determination in pharmaceuticals", *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18 (6): 1215, 2007.
102. ECONOMOU, A.; THEMELIS, D. G.; THEODORIDIS, G. & TZANAVARAS, P. D. "Sensitive determination of captopril by flow injection analysis with chemiluminescence detection based on the enhancement of the luminol reaction", *Analytica Chimica Acta*, 463 (2): 249, 2002.
103. USP, "The United States Pharmacopeia", USP 28, The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, 2004".

104. RIBEIRO, P. R. D.; SANTINI, A. O.; PEZZA, H. R. & PEZZA, L. "*Potentiometric determination of captopril in pharmaceutical formulations*", *Eclética Química*, 28 (1): 39, 2003.
105. DE BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. "*Como fazer experimentos- pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*", 2a ed., Editora da Unicamp, Campinas, 2003.
106. SILVEIRA, G. & Tarley, C. R. T. "*Determinação turbidimétrica do antidepressivo amitriptilina em sistema fia explorando a formação do par iônico com lauril sulfato de sódio*", *Quim. Nova*, 31 (7): 1653, 2008.
107. FARNELL: <http://www.farnell.com.br>. Acessada em 15 de dezembro de 2008.
108. FAIRCHILD: <http://www.fairchildsemi.com/>. Acessada em 13 de maio de 2009.
109. TAOS: <http://www.taosinc.com/>. Acessada em 15 de dezembro de 2008.
110. MANZANO, J. N. G. "*Estudo dirigido-linguagem C*" Editora Érica, São Paulo, 1997.
111. FERREIRA, F. "*Microcontroladores PIC- programação em C*", Editora Érica, São Paulo, 2003.
112. MIKROELEKTRONIKA: <http://www.mikroelektronika.com>. Acessada em 12 de dezembro de 2008.
113. MORAIS, I. P. A.; RANGEL, A. O. S. S. & SOUTO, M. R. S. "*Determination of sulfate in natural and residual waters by turbidimetric flow-injection analysis*", *Journal of AOAC International*, 84 (1): 59, 2001.
114. JIANG, X.; CHEN, X. & XU, M. "*Rapid determination of trace potassium in drinks and serum by Rayleigh light scattering technique*", *Journal of Food and Drug Analysis*, 15 (2): 178, 2007.
115. PEREZ-BENITO, J. F.; ARIAS, C. & RODRIGUEZ, R. M. "*Reactivities of D-mannitol and related alcohols toward chromium(VI) and chromium(IV)*", *Journal of Physical Chemistry A*, 105 (7): 1150, 2001.
116. LIN, B.; DONG, J. S.; WHITCOMB, D. R.; MCCORMICK, A. V. & DAVIS, H. T. "*Crystallization of silver stearate from sodium stearate dispersions*", *Langmuir*, 20 (21): 9069, 2004.
117. SYPNIEWSKI, S. & BALD, E. "*Determination of captopril and its disulphides in whole human blood and urine by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection and precolumn derivatization*", *Journal of Chromatography A*, 729 (1-2): 335, 1996.
118. CASTILHO, M. D. & STRADIOTTO, N. R. "*Determination of potassium ions in biodiesel using a nickel(II) hexacyanoferrate-modified electrode*", *Talanta*, 74 (5): 1630, 2008.

Apêndices

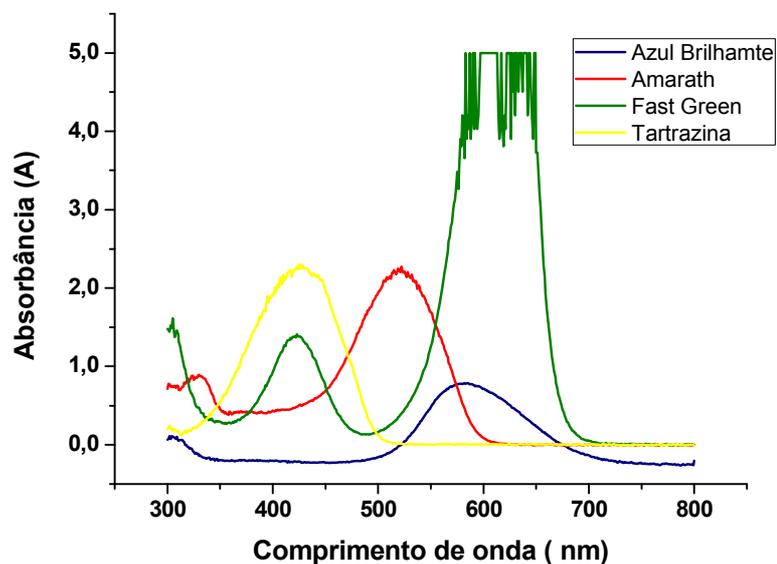


FIGURA A - Espectros de absorção de corantes obtidos com o equipamento da Shimadzu modelo UV 2550. Todas as amostras de corantes possuem concentração de $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

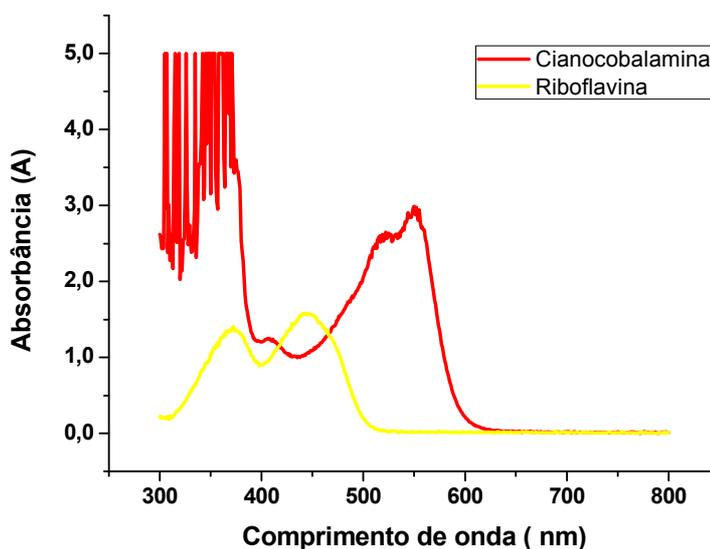


FIGURA B - Espectros de absorção de Vitaminas do complexo B, obtidos com o equipamento da Shimadzu modelo UV 2550. As amostras de vitaminas possuem concentração de $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.