

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

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE ÍONS METÁLICOS POR  
MEIO DE TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS E  
QUIMIOMÉTRICAS**

**MARCO ANTONIO DOS SANTOS FARIAS\***

**Dissertação apresentada com o  
requisito parcial à obtenção do  
grau de Mestre em Química, Curso  
de Pós-Graduação em Química,  
Centro de Ciências Exatas,  
Universidade Federal de São  
Carlos.**

**Orientadora: Prof. Dr. Ernesto Chaves Pereira**

**\*Bolsista CNPq**

**São Carlos – SP**

**2011**

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

F224ds

Farias, Marco Antonio dos Santos.

Determinação simultânea de íons metálicos por meio de técnicas eletroanalíticas e quimiométricas / Marco Antonio dos Santos Farias. -- São Carlos : UFSCar, 2012.  
116 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

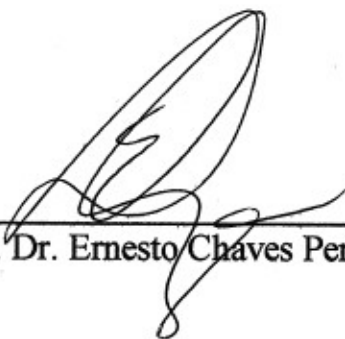
1. Físico-química. 2. Voltametria. 3. Calibração multivariada. I. Título.

CDD: 541.3 (20<sup>a</sup>)

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

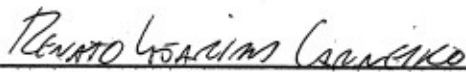
---

*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado acadêmico do candidato Marco Antonio dos Santos Farias, realizada em 19 de maio de 2011:*



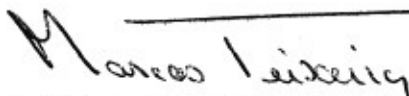
---

Prof. Dr. Ernesto Chaves Pereira de Souza



---

Prof. Dr. Renato Lajarim Carneiro



---

Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira

## AGRADECIMENTOS

Sete anos se passaram desde que entrei nesta Universidade como um aluno de graduação, e chegando neste ano de 2011 a defesa deste Mestrado. As dificuldades enfrentadas foram tantas que se fosse necessário descrevê-las teria este trabalho o triplo do volume atual, portanto inicio estes agradecimentos contemplando meus familiares, especialmente minha mãe e irmãos, que sempre souberam como ajudar e até mesmo resolver problemas que sozinho eu não seria capaz.

Agradeço ao Professor Ernesto por ter me concedido a oportunidade deste trabalho que me engradece de maneira indescritível.

Agradeço ainda aos familiares que conquistei em São Carlos sendo eles, Luiz, Manu, Jiraia, Claytão, Radical, os amigos do Bloco 30 e tantos outros que não me ocorrem neste momento, que estiveram presentes nestes sete anos em que realizei uma revolução em minha própria vida e tive estes grandes amigos como testemunha.

Agradeço, sobretudo, as dificuldades enfrentadas e superadas, sem elas a vida não faz sentido e a lapidação do ser humano não ocorre.

Por fim agradeço aos companheiros de laboratório, especialmente ao Alex, pela valorosa contribuição que foi feita sem poupar esforços, e a Paola que sempre foi muito atenciosa ajudando-me como foi possível no momento. Agradeço ainda aos demais companheiros de laboratório pela grande companhia prestada, transformando o ambiente de trabalho em algo muito agradável.

# SUMÁRIO

Índice de Figuras .....	i
Índice de Tabelas.....	v
Lista de Símbolos e Abreviações .....	viii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xi
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
2.1. Propriedades, toxicidade e utilização dos íons metálicos .....	4
2.1.1. Cádmio .....	4
2.1.2. Chumbo .....	5
2.1.3. Zinco .....	6
2.1.4. $Pb^{2+}$ , $Cd^{2+}$ , $Zn^{2+}$ e a legislação ambiental.....	6
2.1.5. Determinações de cátions metálicos .....	8
2.2. Quimiometria .....	16
2.2.1. Planejamento Experimental .....	17
2.2.2. Calibração Multivariada.....	18
2.2.3. Pré-processamentos e transformação dos dados (Pré-tratamento) .....	21
2.2.4. Aplicação da correção de linha de base .....	21
2.2.5. Aplicação do logaritmo de base dez. ....	22
2.2.6. Aplicação da primeira e segunda derivada. ....	22
2.3. Análise de Componentes Principais.....	29
2.4. Método dos mínimos quadrados parciais (PLS) .....	33

2.4.1. Método para escolha do número de variáveis latentes .....	35
2.4.2. – Detecção de <i>outlier</i> .....	36
2.5. Voltametria.....	41
2.5.1. Voltametria de pulso diferencial .....	44
2.5.3. Voltametria de redissolução anódica .....	45
3. OBJETIVOS.....	50
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	51
4.1. Reagentes e Soluções .....	51
4.2. Preparo das amostras.....	52
4.2. Planejamento Fatorial.....	55
4.3. Procedimento Experimental.....	57
4.4. A escolha dos parâmetros .....	59
4.5. Tratamento dos resultados. ....	61
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
5.1- Considerações gerais.....	62
5.2 Voltamogramas típicos para a redissolução anódica dos íons em separado.....	64
5.3. Resultados e discussão para as amostras do Grupo 1. ....	65
5.4. Análise quimiométrica .....	70
5.4.1. Pré-tratamento dos dados.....	70
5.4.2 Análise espacial da distribuição dos dados.....	70
5.4.3. Construção de um modelo empírico para a quantificação dos analitos utilizando o método de PLS.....	73
5.4.4 Validação externa do grupo 1. ....	77
5.5. Modelo de calibração para a junção dos grupos 1, 2 .....	82
5.5.1- Pré-tratamento dos dados do Grupo 1, 2. ....	85
5.5.3- Construção de um modelo empírico para a quantificação dos analitos utilizando o método de PLS para o grupo 1, 2. ....	87

5.5.4 Validação Externa para o Grupo 1, 2.....	90
5.6. Modelo de calibração para a junção dos grupos 1, 2 expandido. ....	94
5.6.1 Validação externa para o grupo 1, 2 expandido.....	95
5.7 Modelo de calibração para junção dos grupos 1, 2 e 3.....	100
5.7.1. Análise espacial da distribuição dos dados do Grupo 1, 2,3. .	102
5.7.2.- Construção de um modelo empírico para a quantificação dos analitos utilizando o método de PLS para o grupo 1, 2 e 3. ....	104
5.7.3. Validação externa para o grupo 1,2,3. ....	107
6. CONCLUSÕES.....	110
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	112

# Índice de Figuras

<b>Figura 2.1:</b> Representação esquemática do processo de calibração multivariada.....	20
<b>Figura 2.2:</b> Exemplo da aplicação da primeira e segunda derivada em uma curva gaussiana . Acima tem-se a curva gaussiana, na ilustração do meio a aplicação da primeira derivada e abaixo a aplicação da segunda derivada. ....	24
<b>Figura 2.3:</b> aplicação da primeira e segunda derivada em um conjunto de curvas gaussianas .....	25
<b>Figura 2.4:</b> concentração de Iodo relacionado a concentração de ácido oléico em algumas oleaginosas originadas do Brasil. Ao lado direito tem-se os dados originais e ao lado esquerdo os dados centrados na média .....	27
<b>Figura 2.5:</b> Representação da transformação de coordenadas da Análise de Componentes Principais retirada da referencia .....	30
<b>Figura 2.6:</b> Esquema da transformação dos dados originais em loadings e scores.....	32
<b>Figura 2.7:</b> representação do somatório de scores e loadings. ....	32
<b>Figura 2.8:</b> Ilustração representativa de uma célula eletroquímica e esquema de como funciona o fluxo de corrente nesta célula. ....	42
<b>Figura 2.9:</b> Representação esquemática da diminuição das correntes faradaicas, $i_f$ , e capacitiva, $i_c$ , em função do tempo de existência da gota do mercúrio conforme descrito por Aleixo[57].....	43
<b>Figura 2.10:</b> Representação esquemática das possíveis perturbações utilizadas na voltametria de pulso diferencial.....	45
<b>Figura 2.11:</b> Diagrama da oxidação dos metais amalgamados .....	46
<b>Figura 2.12:</b> Ilustração com um exemplo de deconvolução de dois picos voltamétricos sobrepostos. ....	48
<b>Figura 4.1:</b> Representação geométrica do espaço amostral dos experimentos realizados .....	57
<b>Figura 4.2:</b> Célula eletroquímica utilizada nas medidas voltamétricas.....	58
<b>Figura 4.3:</b> Fotografia e representação esquemática do eletrodo de trabalho utilizado. ....	59
<b>Figura 5.1:</b> Voltamogramas de pulso diferencial para a redissolução anódica de $Pb^{2+}$ , $Cd^{2+}$ e $Zn^{2+}$ em soluções separadas na concentração de 100 $\mu g/L$ . Pré-concentração realizada em - 1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL <sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL <sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. ....	65
<b>Figura 5.2:</b> Voltamogramas de pulso diferencial para a redissolução anódica de misturas de íons $Zn^{2+}$ , $Cd^{2+}$ , e $Pb^{2+}$ , na faixa de concentrações entre 10 e 100 $\mu g/L$ (grupo 1, Tabela 2). Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas e em solução	



de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 67

**Figura 5.3:** Ampliação das regiões próximas aos picos de oxidação dos resultados apresentados na Figura 1. Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 68

**Figura 5.4:** Scores da PC1 em função da PC2 das amostras ilustradas na Figura 5.2 (Grupo 1). Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 71

**Figura 5.5:** Diagnóstico de outlier do conjunto de resultados do Grupo 1, apresentados na Figura 5.2 utilizando o como critério diagnóstico a distância de Mahalanobis. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.... 72

**Figura 5.6:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> e Pb<sup>2+</sup>, respectivamente, utilizando os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e primeira derivada. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV ..... 74

**Figura 0.1:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o o Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> e Pb<sup>2+</sup>, utilizando como pré-tratamento: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e log10. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

**Figura 5.8:** Gráficos com resultados de validação externa para as amostras Val 11, Val 12, Val 13, Val 14, para os cátions metálicos Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, respectivamente, utilizando o modelo de calibração onde os dados receberam os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e log10. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 79

**Figura 5.9:** Voltamogramas de pulso diferencial para a redissolução anódica de misturas de íons Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, e Pb<sup>2+</sup>, na faixa de concentrações entre 10 a 500 µg/L (grupo1,2, apresentados na Tabela 2 e Tabela 19). Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 84

**Figura 5.10:** Ampliação das regiões próximas aos picos de oxidação dos voltamogramas obtidos com o Grupo1, 2. Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas

foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 85

**Figura 5.11:** Scores da PC1 em função da PC2 das amostras ilustradas na Figura 24 (Grupo 1, 2). .... 86

**Figura 5.12:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o Zinco, Cádmiio e Chumbo, respectivamente, utilizando como pré-tratamento: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e primeira derivada. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em  $-1,2 \text{ V}$  durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 89

**Figura 5.13:** Gráficos com resultados de validação externa para as amostras Val 11, Val 12, Val 13, Val 14, Val 21, Val 22, Val 23 e Val24 para os cátions metálicos  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , respectivamente, utilizando o modelo de calibração onde os dados receberam os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e primeira derivada. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em  $-1,2 \text{ V}$  durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 92

**Figura 5.14:** Gráficos com resultados de validação externa para as amostras Val 21, Val 22, Val 23 e Val24 para os cátions metálicos  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , respectivamente, utilizando o modelo de calibração onde os dados receberam os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e primeira derivada. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em  $-1,2 \text{ V}$  durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 96

**Figura 5.15:** Voltamogramas de pulso diferencial para a redissolução anódica de misturas de íons  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ , e  $\text{Pb}^{2+}$ , na faixa de concentrações entre 10 a  $1500 \mu\text{g/L}$  (grupo 1, 2 e 3, Tabela 28). Pré-concentração realizada em  $-1,2 \text{ V}$  durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 101

**Figura 5.16:** Ampliação das regiões próximas aos picos de oxidação dos voltamogramas obtidos com o Grupo 1, 2 e 3. Pré-concentração realizada em  $-1,2 \text{ V}$  durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV. .... 102

**Figura 5.17:** Scores da PC1 em função da PC2 das amostras ilustradas na Figura 30 (Grupo 1, 2 e 3). .... 103

**Figura 5.18:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o Zinco, Cádmiio e Chumbo, respectivamente, utilizando como pré-tratamento: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 2 OSC e segunda derivada. .... 105

**Figura 5.19:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o Zinco, Cádmiio e Chumbo, respectivamente, utilizando como pré-tratamento: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 2 OSC, segunda derivada e aplicação do  $\log_{10}$ . .... 106

**Figura 5.20:** Gráficos com resultados de validação externa para as amostras Val 21, Val 22, Val 23, Val24, Val 31, Val32, Val33 e Val34 para os cátions metálicos  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,

respectivamente, utilizando o modelo de calibração onde os dados receberam os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 2 OSC e segunda derivada. .... 108

# Índice de Tabelas

Tabela 1: Valores dos limites máximos para os cátions $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ e $\text{Zn}^{2+}$ permitidos pela resolução de número 357 do CONAMA ( Conselho Nacional de Meio Ambiente), de 17 de Março de 2005. ....	2
Tabela 2: Classificação das águas no Brasil descrita pela resolução do CONAMA de número 357 datada de 17 de Março de 2005. ....	7
Tabela 3: Valores limites a serem encontrados em água doce de classe II, determinados pela resolução de número 357 do CONAMA datada de 17 de Março de 2005. ....	8
Tabela 4: Limites de detecção e faixa linear de detecção para as técnicas espectroscópicas e espectrométricas utilizadas para determinação de cátions metálicos. ....	10
Tabela 5: Resumo de trabalhos científicos que relacionam Janela de detecção (J.D), limite de detecção (L.D) e limite de quantificação (L.Q) das técnicas utilizadas. ....	13
Tabela 6: Concentrações de $\text{M}^{2+}$ para as amostras do conjunto de calibração. ....	53
Tabela 7: Concentrações de $\text{M}^{2+}$ das amostras de validação. ....	55
Tabela 8: Modelo representativo das distribuições de níveis e variáveis. ....	56
Tabela 9: Valores dos parâmetros utilizados nas medidas por voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial. ....	60
Tabela 10: Faixas de concentrações utilizadas para estudar a determinação eletroanalítica da mistura de $\text{Pb}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ e $\text{Zn}^{2+}$ utilizando a voltametria de pulso diferencial e a redissolução anódica. ....	64
Tabela 11: Matriz de planejamento experimental para a preparação das soluções de misturas de íons nas concentrações do grupo 1. ....	66
Tabela 12: Valores de PRESS, SECV e correlação(r) obtida para o modelo de PLS- centrado na média e primeira derivada utilizando validação cruzada na determinação simultânea de $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ e $\text{Pb}^{2+}$ por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1. ....	76
Tabela 13: Valores de PRESS, SECV e correlação(r) obtida para o modelo de PLS- centrado na média e log10 utilizando validação cruzada na determinação simultânea de $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ e $\text{Pb}^{2+}$ por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1. ....	76
Tabela 14: Matriz de planejamento experimental do conjunto de validação das soluções de misturas de íons utilizadas para validar os dados do Grupo 1. ....	77
Tabela 15: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidas para o modelo de PLS- centrado na média e log10 utilizando validação externa na determinação simultânea de $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ e $\text{Pb}^{2+}$ por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1. ....	80

- Tabela 16: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidas para o modelo de PLS-centrado na média e log10 utilizando validação externa na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1. Validação realizada com apenas três amostras. .... 80
- Tabela 1: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidas para o modelo de PLS-centrado na média e log10 utilizando validação externa na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1. Validação realizada com apenas três amostras.
- Tabela 18: Matriz de planejamento experimental para a preparação das soluções de misturas de íons nas concentrações do grupo 2. .... 83
- Tabela 2: Valores de PRESS, SECV e correlação(r) obtida para o modelo de PLS- centrado na média e primeira derivada utilizando validação cruzada na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2.
- Tabela 20: Matriz de planejamento experimental do conjunto de validação das soluções de misturas de íons utilizadas para validar os dados do Grupo 1, 2..... 91
- Tabela 21: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidos para o modelo de PLS centrado na média e primeira derivada utilizando validação externa na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2. .... 93
- Tabela 22: Valores de PRESS, SECV e correlação(r) obtida para o modelo de PLS- centrado na média e primeira derivada utilizando validação cruzada na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2 expandido..... 95
- Tabela 25: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidos para o modelo de PLS centrado na média e primeira derivada utilizando validação externa na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2 expandido, sem amostra Val 23 (*outlier*)..... 98
- Tabela 26: Comparação dos valores para os indicadores do modelo para validação externa do grupo 1, 2 com o grupo 1, 2 expandido. .... 99
- Tabela 27: Matriz de planejamento experimental para a preparação das soluções de misturas de íons nas concentrações do grupo 3. .... 100
- Tabela 3: Valores de PRESS, SECV e correlação(r) obtida para o modelo de PLS- centrado na média, 2 OSC e segunda derivada utilizando validação cruzada na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2 e 3.
- Tabela 29: Matriz de planejamento experimental do conjunto de validação das soluções de misturas de íons utilizadas para validar os dados do Grupo 1,2,3..... 107
- Tabela 4: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidos para o modelo de PLS centrado na média e primeira derivada utilizando validação externa na determinação

simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2 e 3.

## Lista de Símbolos e Abreviações

FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica por Chama em inglês
GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em forno de grafite
HAc	Ácido Acético
NaAc	Acetato de Sódio
PC	Componentes Principais
PLS	Regressão linear dos mínimos quadrados parciais
RMSEV	Raíz Quadrada da média dos quadrados do erro de validação.
<i>Outlier</i>	Amostra com comportamento anômalo.
SECV	Quadrado do erro de validação cruzada.
PRESS	Soma dos quadrados dos erros de predição.
Scores	Novo sistema de coordenadas das variáveis originais.
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente.
ICP-MS	Plasma indutivamente acoplado a espectroscopia de massa.
ICP-OES	Plasma indutivamente acoplado a espectrometria de emissão.
DPSAV	Voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial.
ETAAS	Espectrometria de absorção atômica eletrotérmica.
SEV	Quadrado do erro de validação
dPSA	Análise da derivação da Potenciometria de redissolução.
AdCSV	Voltametria de redissolução catódica por adsorção.
SWASV	Voltametria de redissolução anódica com onda quadrada.

## RESUMO

### “Determinação Simultânea de Íons Metálicos por Meio de Técnicas Eletroanalíticas e Quimiométricas”

Neste trabalho realizou-se a determinação simultânea de três cátions metálicos, sendo eles  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$ , em faixas de concentrações muito distintas, indo de  $\mu g/L$  a  $mg/L$ , utilizando a voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial sobre um eletrodo de fibra de carbono onde fora depositado um filme de Mercúrio. Inicialmente realizou-se um planejamento experimental, do tipo fatorial  $2^3$ , em uma faixa restrita de concentrações, entre 10 e 100  $\mu g/L$ , para medir todas as combinações de concentração possíveis entre os cátions metálicos e assim se pudesse obter informações a respeito das interações entre os cátions. Em seguida, aplicou-se um tratamento quimiométrico para realizar a calibração multivariada e o método de regressão utilizado foi o dos mínimos quadrados parciais (PLS) no domínio das componentes principais. Antes desta análise, os voltamogramas foram pré-tratados. Após a obtenção da curva de calibração multivariada preparou-se amostras com concentrações intermediárias àquelas preparadas inicialmente, com o intuito de testar a capacidade do modelo proposto, prever concentrações de amostras desconhecidas, método conhecido como validação externa. O método de calibração multivariada levou, entretanto, a valores calculados pouco precisos, considerando aqueles descritos na literatura.

Após a realização da calibração multivariada para o primeiro conjunto de amostras, prepararam-se outros dois conjuntos que foram adicionados ao primeiro com o intuito de observar o comportamento do modelo de regressão para uma faixa ampla de concentrações entre 10 e 1500  $\mu g/L$ . Também nestes casos,



os resultados obtidos não atingiram uma precisão adequada para utilização prática. É importante frisar, entretanto, que os resultados pouco satisfatórios não significam que a abordagem utilizada não é adequada, mas sim que dentre as inúmeras técnicas quimiométricas existentes, escolheu-se uma que foi pouco eficiente no presente caso.

# ABSTRACT

## SIMULTANEOUS DETERMINATIONS OF METALLIC IONS USING ELETROANALYTICAL TECHNIQUES AND CHEMOMETRIC TOOLS.

In this work, the determination of three metallic ions was performed, namely  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  and  $Pb^{2+}$ , in very different concentration range, from  $\mu g/L$  until  $mg/L$ , using differential pulse anodic stripping voltammetry over Carbon Fiber electrode where a Mercury film was deposited. Initially a factorial design of  $2^3$  was built where all possible combination among the ion concentrations were contemplated and in this way all interactions among the metallic ions were measured. The voltammetric curve was mean centered before the chemometric analysis. After that, the data were analysed using Partial Least Squares in the Principal Components domain was the used to quantify the ion concentration. The data treatment has been validated using cross and external validation methods. The final results showed low precision in the validation compared to those methods commonly used in the literature.

After the chemometric treatment realized at first group of samples, two more groups in an extended concentration range, were built and tested using the same methodology. In these cases, again, the data validation lead to a low precision for practical application. It is important to emphasize that the low precision in the validation does not mean a chemotric approach to analyse electroanalytical data is not adequate, instead it means that among those chemometric technique, in the dissertation, we chose an inadequate one.

# CAPÍTULO 1:

## 1. PREÂMBULO

O aumento da expectativa de vida alcançada nas últimas décadas deve-se, entre outros fatores, ao desenvolvimento de produtos químicos que possibilitam o aumento de produtividade das lavouras e a produção de medicamentos, entre outros. No entanto, uma parte considerável do setor industrial, especialmente a indústria química, que ao mesmo tempo é responsável por tal desenvolvimento, também produz um problema de difícil solução: o tratamento dos resíduos gerados. Dentre estes resíduos, os que contêm metais pesados causam uma preocupação importante e podem ter como consequência a impossibilidade do consumo das águas no local onde são descartados e mesmo a contaminação dos lençóis freáticos.

O impacto ambiental causado por cátions metálicos, como o chumbo, o cádmio e o zinco, já foi extensivamente estudado e é de conhecimento da sociedade o dano que alguns deles podem causar à saúde e ao ecossistema.

Por esta razão, os órgãos de controle do governo, como o CONAMA [1] e a CETESB, criaram portarias que regulamentam a quantidade desses resíduos no descarte industrial. A Tabela 5 apresenta os limites dos metais  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  em resíduos líquidos segundo a portaria nº357, de 17 de Março de 2005, do CONAMA:

**Tabela 5: Valores dos limites máximos para os cátions  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  permitidos pela resolução de número 357 do CONAMA ( Conselho Nacional de Meio Ambiente), de 17 de Março de 2005.**

<b>Metal</b>	<b>Limite permitido pelo CONAMA em mg/L.</b>
Cádmio	0,001
Chumbo	0,033
Zinco	5,000

Neste sentido, a determinação destes íons é um assunto importante que vem sendo pesquisado e, como consequência, diferentes tipos de técnicas vêm sendo propostas para a sua determinação, tais como: a espectroscopia de absorção atômica com chama (FAAS), a espectroscopia de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS), a espectrometria de emissão com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), a espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP MS).

Por outro lado, técnicas eletroanalíticas são alternativas para análises *in situ*. No entanto, estas técnicas, apesar de serem extremamente sensíveis, de fácil manejo e possuírem baixo custo em sua implementação, carregam consigo o problema de serem pouco seletivas. Uma abordagem eficiente para resolver este último problema, é o acoplamento destas técnicas com o tratamento de resultados utilizando métodos quimiométricos para quantificar o analitos. Dentro deste contexto, este trabalho sugere a utilização desta abordagem para a determinação simultânea dos íons  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ .

Especificamente, esta dissertação, se propõe a investigar quão ampla pode ser a região de detecção para a quantificação dos íons descritos acima com uma única medida utilizando a voltametria diferencial de pulso e

tratando os resultados com Análise Parcial dos Mínimos Quadrados no Domínio das Componentes Principais.

Esta dissertação está dividida da seguinte forma: No capítulo 2, encontra-se o estado da arte sobre o comportamento químico e eletroquímico dos íons a serem estudados, das técnicas eletroanalíticas e dos métodos quimiométricos. No Capítulo 3, são apresentados os objetivos do trabalho. No capítulo 4, os eletrodos, métodos, técnicas e tratamento de resultados é descrito com detalhes. No capítulo 5, é feita a análise dos resultados. Finalmente nos capítulos 6 e 7 são apresentados as conclusões e as referências bibliográficas.

## CAPÍTULO 2:

### 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

*Neste capítulo foi realizada uma revisão bibliográfica sobre os diferentes íons metálicos, técnicas e metodologias quimiométricas que foram empregadas nesta dissertação.*

#### **2.1. Propriedades, toxicidade e utilização dos íons metálicos**

Inicialmente, será apresentada uma descrição sucinta sobre as propriedades, toxicidade e utilização dos íons metálicos a serem estudados, uma vez que, na literatura, existem muitos livros textos sobre este assunto[2-4].

##### **2.1.1. Cádmio**

O cádmio possui diversas aplicações como o recobrimento do aço e ferro, como estabilizador para cloreto de polivinila (PVC), em pigmentos para plástico e vidro, em baterias de níquel-cádmio, ligas metálicas, fungicidas, semicondutores e na manufatura de espelhos especiais.

Desde um ponto de vista toxicológico, estes íons podem ser inseridos em sistemas aquáticos devido a descargas diretas de operações industriais, de vazamentos dos dispositivos que os contém, nos aterros e mesmo na agricultura onde foi utilizado como fertilizante. Tais efluentes industriais contaminam águas naturais e, muitas vezes, os íons são rapidamente adsorvidos a material particulado existente na natureza. Desta forma, os sedimentos podem

passar a constituir material com uma quantidade significativa depósito de cádmio.

Sobre o ser humano, a toxicidade do cádmio aparece como dano em diversos órgãos e tecidos, sendo que os principais órgãos-alvo são os rins e o fígado. Nas situações de exposição crônica, a toxicidade se expressa nos rins no túbulo proximal provocando dano celular, sendo também relacionado à redução de glicogênio hepático e ao aumento de glicemia.

### **2.1.2. Chumbo**

O chumbo é um elemento tóxico e ocorre como contaminante ambiental devido seu largo emprego industrial, como: indústria extrativa, petrolífera, de baterias, tintas e corantes, de cerâmica e bélica. Sem o devido tratamento de efluentes, pode ser encontrado de forma amplamente distribuída no meio em que o homem vive. Além disso, a população urbana defronta-se com este contaminante ambiental devido à constante emissão pelas indústrias, ou ainda pela ingestão de alimentos sólidos e líquidos contaminados[3,4] . O chumbo possui baixa solubilidade em sistemas aquosos e, pode se tornar solúvel uma vez que forma complexo estável com a matéria orgânica[5]. Ocorre em baixa concentração na água sendo que as chuvas com partículas de chumbo são consideradas os mais significantes vetores de contaminação de chumbo especialmente em áreas urbanas. Além da água, os alimentos, o ar e o fumo (através do cigarro) são também considerados fontes importantes de chumbo[6].

Após ser absorvido, o chumbo é distribuído pelo sangue e transportado através da hemoglobina aos diversos órgãos, como os rins e fígado, e sistemas do corpo humano onde exerce seu efeito tóxico. É ainda armazenado de forma inerte nos ossos, dentes e cabelos sendo que é possível também acumular-se, em pequena quantidade, no cérebro. O chumbo pode causar

convulsões, paralisia, redução da capacidade intelectual em crianças, baixa imunidade, anemia, intoxicação crônica ou saturnismo, o qual pode levar à morte[7].

### **2.1.3. Zinco**

O zinco é um metal essencial, em baixos teores, para o metabolismo humano e animal. Neste sentido, um ser humano normal deve ingerir uma média diária de 10-20 mg, porém o excesso torna-o nocivo[8]. Os níveis de zinco recomendados para a ingestão em uma dieta alimentar é de 15 mg/dia para o homem e 12 mg/dia para a mulher e o mesmo pode ser absorvido pelo organismo pela via digestiva através da água e alimentos ou ainda pode penetrar pelos pulmões através da inalação de fumaça e poeira provenientes de operações de fundição e soldagem. Existem mais de 200 metaloenzimas que utilizam o zinco como co-fator, e a sua deficiência pode gerar diversos efeitos como falhas no crescimento, retardo na maturidade sexual, dermatites, cegueira noturna, atrofia testicular, impotência, retardo na cicatrização de ferimentos, doença renal crônica e anemia hemolítica. Por outro lado, a absorção excessiva do metal no organismo pode levar a um quadro de intoxicação, resultando em sintomas como vômitos, diarreias e cólicas. A inalação de vapores de Zn, produzidos nos processos de solda e fabricação de ligas de Zn, causam ainda grande irritabilidade e lesões ao sistema respiratório[2].

### **2.1.4. $Pb^{2+}$ , $Cd^{2+}$ , $Zn^{2+}$ e a legislação ambiental**

A legislação ambiental no Brasil começou a ser estabelecida na década de 80, quando muitos dos representantes ambientalistas passaram a participar do governo e de outros setores públicos. Atualmente, as leis brasileiras são internacionalmente aceitas, sendo que em 1998 foi sancionada a



lei de crimes ambientais que prevê penas para infrações e crimes cometidos contra o meio ambiente[9].

No Brasil o órgão público responsável pela regulamentação e análise dos níveis de qualidade da água é o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), criado em 1984.

A última resolução do CONAMA[1] é a de nº 357, datada de 17 de março de 2005 e traz a seguinte classificação das águas doces (com salinidade abaixo de 0,5%) que estão na **Tabela 6**.

A mesma resolução do CONAMA lista uma série de compostos inorgânicos e seus limites de concentração máxima que são permitidos para água doce de classe II. Para simplificar a visualização serão listados na **Tabela 7** apenas os cátions metálicos que foram analisados nesse trabalho.

**Tabela 6: Classificação das águas no Brasil descrita pela resolução do CONAMA de número 357 datada de 17 de Março de 2005.**

<i>Classificação das águas no Brasil</i>	<i>Utilização</i>
<b>Classe especial</b>	Ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção, à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas, à preservação de ambientes aquáticos
<b>Classe I</b>	Ao consumo humano após tratamento simplificado, à recreação de contato primário como natação, mergulho, à irrigação de hortaliças e frutas que desenvolvam rente ao solo.
<b>Classe II</b>	Ao abastecimento para consumo humano após tratamento convencional, à recreação de contato primário como natação, mergulho, à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas parques, etc, com o qual o público possa ter contato direto.
<b>Classe III</b>	Ao abastecimento para consumo humano após tratamento convencional ou avançado, à irrigação de culturas, à recreação de contato secundário, como navegação, à pesca amadora e dessedentação de animais.
<b>Classe IV</b>	Navegação e harmonia paisagística.

**Tabela 7: Valores limites a serem encontrados em água doce de classe II, determinados pela resolução de número 357 do CONAMA datada de 17 de Março de 2005.**

<i>Íons</i>	<i>Limite permitido pelo CONAMA em mg/L.</i>
<b>Cádmio</b>	0,001
<b>Chumbo</b>	0,033
<b>Zinco</b>	5,000

Como pode-se notar, os limites permitidos pelo CONAMA para os diferentes cátions metálicos são bem distintos e dessa maneira torna-se difícil realizar uma análise conjunta desses três cátions, sendo necessário, atualmente, realizar mais de uma análise com diferentes técnicas analíticas.

Na seção seguinte, será realizada uma revisão a respeito das técnicas que atualmente são utilizadas para determinação de cátions metálicos, bem como suas janelas de detecção.

### **2.1.5. Determinações de cátions metálicos**

Cabe aqui uma revisão a respeito da faixa de detecção onde as técnicas utilizadas para determinação de cátions metálicos realizam a detecção, especialmente das técnicas eletroanalíticas, que serão utilizados nessa dissertação de mestrado.

Devido à necessidade de monitoramento dos efluentes lançados pelas indústrias, especialmente os efluentes que possuem metais tóxicos, o estudo de técnicas e métodos que possibilitem a determinação destes vem crescendo nas últimas décadas[10]. Contudo é nítida a preocupação dos

pesquisadores em desenvolver técnicas e métodos que sejam cada vez mais sensíveis, ou seja, que tenham limite de detecção cada vez mais baixo. Por outro lado, existem poucas técnicas que conseguem determinar simultaneamente vários íons metálicos, sendo uma delas a polarografia, contudo esta técnica apresenta dificuldades na determinação de íons em baixa concentração[57].

Tarley *et al*[11] salientam que a quantidade máxima dos íons  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  permitidos pelo CONAMA (Tabela 7) é diferente da quantidade máxima permitida pela EPA (do inglês *Environmental protection Agency* - agência de proteção ao meio ambiente): 5,0  $\mu\text{g/L}$  para  $\text{Zn}^{2+}$ , 5,0  $\mu\text{g/L}$  para  $\text{Cd}^{2+}$  e 15,0  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Pb}^{2+}$ . Neste trabalho, ainda é discutido o fato de que a técnica padrão para análise de elementos traço é a espectroscopia de absorção atômica (AAS), a qual, dependendo do aparelho, é capaz de analisar um elemento químico a cada medida. Uma opção para esse problema é usar espectrometria de emissão com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), que realiza a determinação simultânea, porém tem a desvantagem do alto custo do equipamento.

Bidabadi *et al.*[12] relataram que os mais modernos instrumentos de espectrometria como, ICP-MS, ICP-AES, AAS, tem sido usados para determinação de elementos traços em vários meios. Nestes casos, baixas concentrações dos elementos e efeitos de matriz são os principais problemas para realização das análises. Por esta razão, uma nova etapa na análise foi adicionada. Nesta etapa inclui-se a separação e a pré-concentração dos analitos, utilizando um método de extração líquido-líquido para aumentar a concentração dos íons metálicos e assim tornar possível a análise por GFAAS. No trabalho referido, os autores observaram um limite de detecção de apenas 0,3 ng/l para  $\text{Co}^{2+}$  e 0,4ng/L para  $\text{Ni}^{2+}$ , respectivamente.

Rao e Talluri [13] dizem que a espectroscopia de absorção atômica é provavelmente a técnica analítica mais utilizada para análise de elementos

traço e que espectroscopia de absorção atômica com chama (FAAS) é utilizada quando a concentração do analito é alta o suficiente para realizar a análise enquanto que, para concentrações mais baixas, usa-se a espectroscopia de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) No trabalho destes autores é realizada a determinação de metais em fármacos por ICP-MS, mostrando que o limite de detecção do ICP-MS( do inglês *induced coupled plasma mass spectroscopy* – plasma indutivamente acoplado a espectroscopia de massa) é de 100 a 1000 vezes menor do que a técnica GFAAS ( do inglês *Graphite furnace atomic absorption spectrometry* - espectrometria de absorção atômica com forno de grafite), chegando ao limite de quantificação de 5µg/L para Arsênio, em uma determinação simultânea de As, Cd, Hg e Pb.

Por outro lado, as técnicas espectroscópicas trazem consigo alguns problemas como alto custo, restrição das faixas de concentração do analito onde a técnica é válida, além de problemas com a própria matriz que interfere na análise[13]. Neste sentido, a Tabela 8 traz os valores de limite de detecção e faixa linear onde as técnicas espectroscópicas e espectrométricas utilizadas para determinação de elementos funcionam adequadamente[14].

**Tabela 8: Limites de detecção e faixa linear de detecção para as técnicas espectroscópicas e espectrométricas utilizadas para determinação de cátions metálicos.[14]**

	AAS	FAAS	ICP-OES	ICP-MS
<i>Limites de detecção (ng/g)</i>	10-1000	0,01-1	0,1-10	$1 \times 10^{-6}$ - $1 \times 10^{-5}$
<i>Faixa linear</i>	$10^2$	$10^2$	$10^5$	$10^8$

Como pode-se observar na Tabela 8, a técnica que tem ampla faixa de detecção com linearidade, ou seja, que é capaz de determinar tanto elementos

em concentrações pequenas como em grandes concentrações, são as técnicas que possuem custo elevado, ainda não sendo extensivamente utilizada em países subdesenvolvidos[11,13] . Alguns autores publicaram trabalhos onde se substituiu a utilização do ICP OES e ICP MS por técnicas eletroanalíticas sendo que os resultados obtidos foram bastante promissores [13,15].

Bott [16] diz em seu trabalho que para uma técnica analítica ser útil em análises de meio ambiente é necessário que ela tenha sensibilidade, acurácia, precisão, ampla faixa de detecção, facilidade de automação, facilidade na preparação da amostra, aplicabilidade em um grande número de amostras e capacidade de determinar mais de uma espécie química. No mesmo trabalho, o autor indica as técnicas baseadas na voltametria como detentoras desses requisitos com especial atenção para voltametria de redissolução anódica (ASV). Também descreve que umas das maiores vantagens das técnicas voltamétricas é a capacidade de diferenciar entre espécies químicas, porém é uma técnica pobre no que diz respeito à especificação, ou seja, a técnica é capaz de diferir as espécies Cd de  $Cd^{2+}$ , mas não difere entre  $Cd(NH_3)_2$  e  $CdCl^-$ .

Um dos problemas a ser resolvido neste trabalho de mestrado é o de encontrar um método de calibração para voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial que seja capaz de ter uma ampla faixa de detecção e de realizar a determinação de vários cátions metálicos simultaneamente. A faixa de detecção para um método utilizado é quase sempre limitada e não se encontrou na revisão bibliográfica feita para esta dissertação, trabalhos científicos que lidaram com o estudo do aumento da faixa de detecção para determinação simultânea de vários íons metálicos.

Grande parte dos trabalhos científicos realizados envolve a diminuição do limite de detecção e calibram o método para trabalhar numa janela estreita, ou seja, determina-se apenas concentrações baixas. Porém tratando-se de amostras mais complexas surge a necessidade de se realizar a

determinação simultânea de vários íons bem como os determinar em concentrações muito distintas. Armstrong *et al.* [17], utilizaram a voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial para determinar simultaneamente  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$ , com eletrodo de Bismuto com um limite de detecção de 93ng/L para  $Pb^{2+}$ , 54 ng/L para  $Cd^{2+}$  e 396 ng/L para o  $Zn^{2+}$ . Neste trabalho o autor utilizou um conjunto de calibração contendo os três íons metálicos com concentração mínima de 10  $\mu\text{g/L}$  e concentração máxima de 100  $\mu\text{g/L}$ .

Na

**Tabela 9** tem-se a relação de técnicas com seus valores de faixa de resposta, limite de detecção e limite de quantificação dos analitos. Como pode-se observar fica clara a preocupação com o limite de detecção já que todos os trabalhos relacionados informam estes valores, contudo os valores da janela de detecção e limite de quantificação nem sempre são informados. A maioria deles apresentam dados para uma faixa de concentrações pequena e somente um deles (Baca *et al.*[18] ) menciona a preocupação com esse parâmetro. Contudo, mesmo neste trabalho, a janela de detecção se encontra na faixa de parte por trilhão e ainda utiliza espectrometria de massa acoplada com fonte de plasma, acoplada com voltametria de redissolução anódica(ASV-ICP-MS), que retorna ao problema de trabalhar com instrumentação de alto custo.

Pretty *et al*[19] conseguiram uma curva de calibração de 4 ordens de magnitude, contudo trata-se de uma análise para um único analito, o Tálcio, e também utilizaram ASV-ICP-MS.

**Tabela 9: Resumo de trabalhos científicos que relacionam Faixa linear de detecção (F.L.D), limite de detecção (L.D) e limite de quantificação (L.Q) das técnicas utilizadas.**

	F.L.D µg/L			L.D µg/L			L.Q ng/L			Técnica utilizada
	Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	
<b>Ansari et al.</b> [20]	0-25	0-100	0-500	0,327	3,38	10,0	1,09	11,3	33,5	ETAAS, FAAS
<b>Armstrong et al</b> [17]	10-100	10-100	10-100	5,4x10 <sup>-4</sup>	9,3x10 <sup>-4</sup>	4,0x10 <sup>-5</sup>	----	----	----	DPASV
<b>Coco et al.</b> [8]	----	----	----	5,1x10 <sup>-3*</sup>	----	7,6x10 <sup>-3*</sup>	---	----	----	dPSA
<b>Coco et al.</b> [7]	----	----	----	6,5x10 <sup>-3*</sup>	9,4x10 <sup>-3*</sup>	----	----	----	----	dPSA
<b>Ensafi et al.</b> [21]	5,0-150,0	---	5,0-150,0	1,18	----	0,98	---	---	---	AdCSV
<b>eucci et al.</b> [22]	1-1000	1-1000	---	0,03*	0,08*	----	----	----	----	SWASV
<b>onticelli et al.</b> [23]	0,950x10 <sup>-3</sup>	1,9	----	5,9x10 <sup>-3</sup>	1x10 <sup>-3</sup>	----	----	----	---	ASV
<b>Nedeltcheva et al.</b> [24]	----	----	----	0,08	0,06	5,1	---	---	---	PASV

<b>Baca et al.</b> [18]	0-80 <sup>#</sup>	0-80 <sup>#</sup>	----	0,16 <sup>#</sup>	5,0 <sup>#</sup>	----	----	---	---	ASV-ICPMS
<b>Rico et al.</b> [25]	---	----	---	1,3	0,9	2,6	---	---	---	SWASV
<b>Tesarova et al.</b> [26]	5-50	5-50	---	0,8	0,2	----	----	----	----	SWASV

(\*  $\mu\text{g/g}$  e # PPT: parte por trilhão ng/L).

A partir destes poucos artigos fica evidente a falta de um método eletroanalítico que possibilite a análise simultânea de vários íons metálicos e, sobretudo, com uma técnica de análise que seja economicamente acessível, muito embora existam uma gama de trabalhos realizados utilizando ASV onde se utilizam eletrodos quimicamente modificados para tentar sanar esse problema.

Wang [27] descreve em seu livro que a voltametria de redissolução anódica, ASV, com pulso diferencial é a técnica mais utilizada dentre aquelas que utilizam *stripping* e que é largamente utilizada para determinação de elementos traço. Um dos maiores problemas na utilização de técnicas voltamétricas como ASV e voltametria de redissolução catódica adsorptiva (AdCSV) para determinação simultânea de elementos traço é a formação de compostos intermetálicos [27,28]. Estes fazem com que a resposta analítica perca a linearidade em sua correlação entre concentração e corrente que é necessária para análise, induzindo o experimentador ao erro [27].

Na literatura encontra-se uma série de tentativas para solucionar este problema. Uma das soluções encontradas é a adição de compostos químicos, como agentes complexantes ou outro elemento metálico, que formem um composto intermetálico mais estável com um dos elementos que se deseja determinar, fazendo com que o composto intermetálico inicial não se forme. Por



exemplo, na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Cu^{2+}$  ocorre a formação de um composto intermetálico entre Zinco e Cobre que se oxida no mesmo potencial do Cobre, fazendo com que a corrente voltamétrica nesse potencial aumente, diminuindo a resposta no potencial do Zinco. Shams *et al.* [28] propuseram então a utilização de um agente complexante que atua sobre todos os metais anteriormente citados evitando que se formem compostos intermetálicos no momento da redução no eletrodo de mercúrio, fazendo com que a análise simultânea seja possível.

Santander *et al.*[29] discute em seu trabalho a solução da baixa seletividade das técnicas eletroanalíticas de diversas maneiras. No que diz respeito à sobreposição de picos voltamétricos, foram propostas várias soluções, como por exemplo, o já citado uso de agentes complexantes até o uso de dois eletrodos de trabalho aplicando potenciais diferentes fazendo com que cada uma das espécies se reduzisse em um eletrodo distinto. Neste trabalho os autores buscaram resolver os problemas de sobreposição de picos usando técnicas quimiométricas como a calibração multivariada para determinar simultaneamente  $Tl^+/Pb^{2+}$  que possuem potenciais de oxidação muito próximos dando origem a sobreposição de picos referente aos processos de oxidação destes. Dentre as técnicas de regressão utilizadas a que deu melhor resultado foi a de redes neurais artificiais (ANN) que originou um erro médio na predição de 4 a 12%.

Outros pesquisadores também utilizaram métodos quimiométricos para determinação simultânea de íons metálicos como Antunes *et al.* [30] utiliza o algoritmo MCR-ALS (do inglês *multivariate curve resolution- alternating least squares*) para determinar uma mistura binária e quaternária de íons metálicos. Santander *et al.*[29] e outros trabalhos como de Esteban *et al.*[31] também utilizam quimiometria para determinação simultânea de íons metálicos.

## **2.2. Quimiometria**

Uma das características mais marcantes dos modernos instrumentos é o grande número de dados que podem ser medidos em uma única amostra por uma única medida. De posse de tal quantidade de dados, há a necessidade de ferramentas novas para tratá-los e retirar as informações relevantes. Como já foi dito, esta necessidade cresceu muito rapidamente, dando origem a Quimiometria, que é uma área da química que se destina especificamente ao tratamento de dados químicos de natureza multivariada.

Por definição Quimiometria é: “uma disciplina química que utiliza métodos estatísticos e matemáticos para planejar ou selecionar experimentos de forma otimizada e para fornecer o máximo de informação química com os dados obtidos”[32]

Basicamente, a Quimiometria pode ser dividida em duas grandes áreas: Planejamento de Experimentos e Análise (ou Calibração). A primeira trata de organizar os dados a serem realizadas de tal forma que o número total de experimentos seja o mínimo possível ou ainda que o número de medidas para otimizar uma determinada propriedade do sistema seja o menor número de testes. Já a segunda, se propõe medir a correlação entre os dados, seja na sua forma original ou utilizando transformações de domínio onde correlações não observáveis, sob o ponto de vista do observador no espaço original, não eram ressaltadas e no novo espaço o são.

Uma revisão um pouco mais detalhada destes aspectos é apresentada nos parágrafos seguintes. Deixando claro que, como este material faz parte de muitos livros textos, nesta dissertação será apresentado apenas aqueles conceitos que serão utilizados no tratamento de dados obtidos[33-35].

### 2.2.1. Planejamento Experimental

O objetivo de se usar o planejamento experimental é reduzir o número de experimentos realizados para extrair informação desejada[35].

O planejamento experimental possui as seguintes vantagens[36]:

*1- redução do número de experimentos ou repetições;*

*2-análise simultânea dos fatores permitindo determinar e quantificar os efeitos sinérgicos ou cruzados;*

*3-possibilitar analisar mais de uma resposta ao mesmo tempo;*

*4-permite calcular e avaliar os erros experimentais.*

Um tipo particular de planejamento experimental, conhecido como planejamento fatorial, é de grande utilidade em investigações preliminares quando se deseja saber se determinado(s) fator (es) (ou variáveis) têm ou não influência sobre a resposta(s) desejada(s), mas a descrição rigorosa desta influência não é necessária[37].

Em um planejamento fatorial, são investigadas as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos de interação nas respostas[38]. Neste caso, cada variável varia entre dois ou mais níveis. O número de níveis de experimentos é calculado pela expressão  $n^k$ , onde  $n$  é o número de níveis a serem estudados e  $k$  o número de variáveis. Normalmente, em uma primeira abordagem os planejamentos são estudados em dois níveis porque dependendo da quantidade de variáveis o número de experimentos torna-se grande e o procedimento fica inviável[37].

Os experimentos fatoriais  $2^k$  permitem a estimativa de todos os efeitos. Os experimentos mais comumente utilizados são os de dois e três

fatores[35]. Normalmente, os níveis das variáveis são nomeados pelo nível inferior (-) e nível superior (+), não sendo este um critério definitivo a nomeação[35,38].

A partir dos resultados obtidos, pode ser construído um modelo empírico. Um modelo deste tipo está ilustrado na Equação 12.

$$y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{12} x_1 x_2 + e$$

Equação 12

Onde  $b_0$  é o valor da media populacional e os  $b_1$  e  $b_2$  são os coeficientes relacionados ao efeito principal já  $b_{12}$  esta relacionado ao efeito de interação enquanto  $e$  é o erro aleatório associado ao modelo[38].

A partir da matriz de planejamento, obtém-se a matriz de contraste X, juntamente com um vetor de resposta y, que é a resposta experimental obtida. Esta matriz é utilizada para o cálculo dos coeficientes do modelo contido na

$$b = (X^t X)^{-1} X^t y$$

Equação 12, através do método apresentado na Equação 3.

$$b = (X^t X)^{-1} X^t y$$

Equação 3

### 2.2.2. Calibração Multivariada

O processo de calibração pode ser definido como uma série de operações que estabelecem, sob condições específicas, uma correlação entre as

medidas instrumentais e os valores correspondentes à propriedade de interesse[39].

Comumente, se usa calibração univariada onde, fixam-se todos os fatores que estão sendo pesquisados em certo nível, menos um deles[35]. No entanto, quando há muitas espécies no sistema onde se deseja realizar o estudo, uma calibração desse tipo não permite que se tenha informação à respeito das interações entre elas, e desta forma não é possível estudar o comportamento do sistema como um todo.

A solução para tal problema se encontra na calibração multivariada. Nos métodos de calibração multivariada duas ou mais respostas instrumentais são relacionadas com a(s) propriedade(s) de interesse. Esses métodos possibilitam análise mesmo na presença de interferentes, desde que estes também estejam presentes nas amostras de calibração, isto é, façam parte do processo de construção do modelo para descrever os dados[39]. Os dados químicos multivariados podem ser arranjados na forma de uma tabela de dados, onde os objetos (amostras) são dispostos em linhas e as variáveis em colunas.

A calibração multivariada envolve basicamente duas fases: a calibração e a previsão. Tomando como exemplo medidas voltamétricas de espécies eletroativas em misturas, são obtidos  $n$  voltamogramas para  $n$  amostras, que terão  $p$  valores de corrente medidos em  $p$  valores de potenciais, daí tem-se a matriz  $Y$ , com  $n$  linhas e  $p$  colunas. Há ainda uma matriz  $X$ , com  $n$  linhas e  $q$  colunas,  $n$  linhas referentes ao número de misturas e  $q$  colunas referentes aos componentes da mistura. A matriz  $X$  forma o bloco das variáveis independentes (potenciais dos voltamogramas) e a matriz  $Y$  (valores de concentração dos cátions metálicos) o bloco das variáveis dependentes. Os dados utilizados nessa etapa formam o conjunto de treinamento[40].

O próximo passo é o desenvolvimento de um modelo matemático que melhor possa reproduzir  $X$  a partir dos dados da matriz  $Y$ . Os dados utilizados nessa etapa formam o conjunto de teste.

Logo, os dados para uma calibração multivariada podem ser organizados conforme se vê na Figura 2.1 abaixo:

**Figura 2.1:** Representação esquemática do processo de calibração multivariada[41]

Geralmente, os dados precisam passar por um tratamento prévio antes de serem inseridos nos modelos. A finalidade de se usar este tratamento é subtrair dos dados aquela parte do sinal que não contribui verdadeiramente para resposta ou colocá-los em uma nova escala que permita a comparação entre os mesmos. Na seção seguinte serão apresentados os pré-tratamentos utilizados neste trabalho.

### 2.2.3. Pré-processamentos e transformação dos dados (Pré-tratamento)

Neste trabalho de mestrado, os dados obtidos passaram por um pré-tratamento que envolve tanto o pré-processamento quanto a aplicação de transformadas nos dados.

A aplicação de transformadas envolve a transformação das variáveis independentes, ou seja, variáveis do bloco X. Essas transformadas têm por objetivo retirar o ruído que está contido nos dados, devido a oscilações da resposta causadas por ruídos randômicas no sistema[42].

As transformadas utilizadas neste trabalho foram as seguintes:

- *Aplicação da correção de linha de base.*
- *Aplicação do logaritmo de base dez.*
- *Aplicação da primeira e segunda derivada.*

É importante frisar que, não necessariamente, foi aplicado todos os tratamentos descritos acima a um mesmo conjunto de dados. Abaixo segue a explicação de cada uma dessas transformações.

### 2.2.4. Aplicação da correção de linha de base

A aplicação da linha base corrige deslocamentos nos valores das variáveis independentes por meio da subtração de um perfil. Este perfil podem ser os valores de uma determinada amostra ou pode ser derivado de uma curva adaptada. Quando o método de se corrigir a linha de base por meio de uma curva adaptada é utilizado, a curva é adaptada calculada da seguinte maneira:

- Utilizam-se todas as variáveis (valores) de um experimento para calcular uma curva teste de um determinado grau, podendo ser um polinômio de primeira, segunda ou terceira ordem.

- Em seguida, apenas os valores que estão na curva teste ou abaixo desta são retidos para se calcular outra curva teste.

- O procedimento é repetido até que 1% de todos os valores incluídos sejam deixados de fora[42].

Como pode-se notar o procedimento para o cálculo da melhor linha de base é iterativo e é este procedimento que foi adotado para a correção de linha de base.

#### **2.2.5. Aplicação do logaritmo de base dez.**

Essa transformação é aplicada a cada valor contido na matriz  $X$ , das variáveis independentes e, então, enfatiza os valores pequenos com relação aos grandes[42].

#### **2.2.6. Aplicação da primeira e segunda derivada.**

O objetivo de se usar tanto a primeira como a segunda derivada é melhorar a resolução dos dados. O princípio dos métodos derivativos é que os pontos de inflexão em um conjunto de picos que estão próximos em um determinado conjunto de dados se tornarão o ponto de virada, isto é, tornam-se ponto que passa de positivo (negativo) a negativo (positivo) no eixo das ordenadas[33].

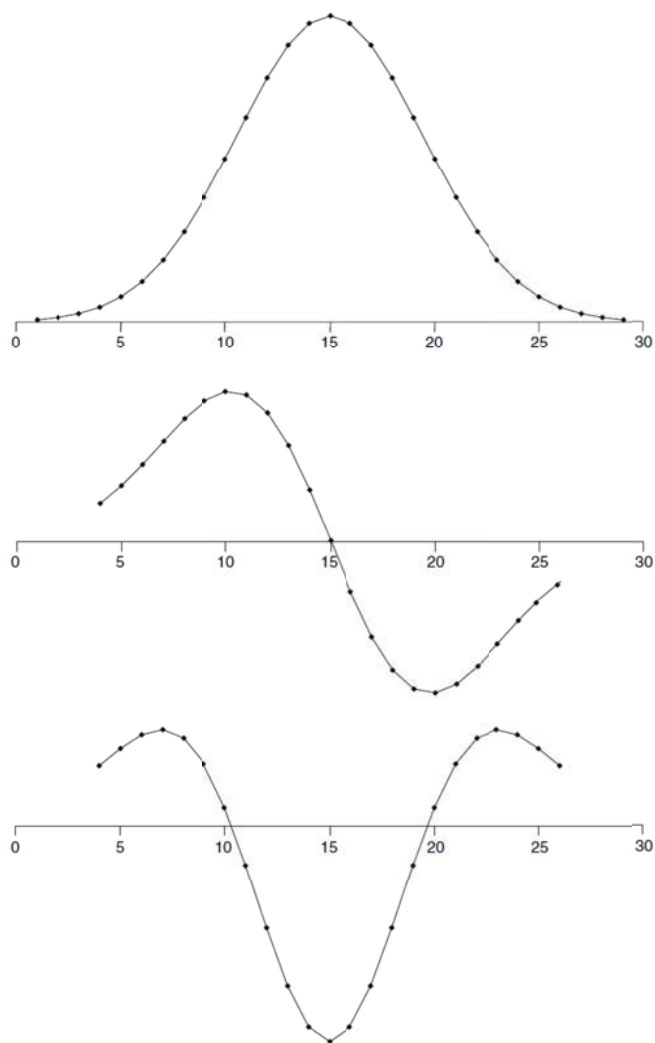
Na Figura 2.2 tem-se a ilustração da aplicação da primeira e segunda derivada em uma curva gaussiana, vê-se nesta figura que o ponto de



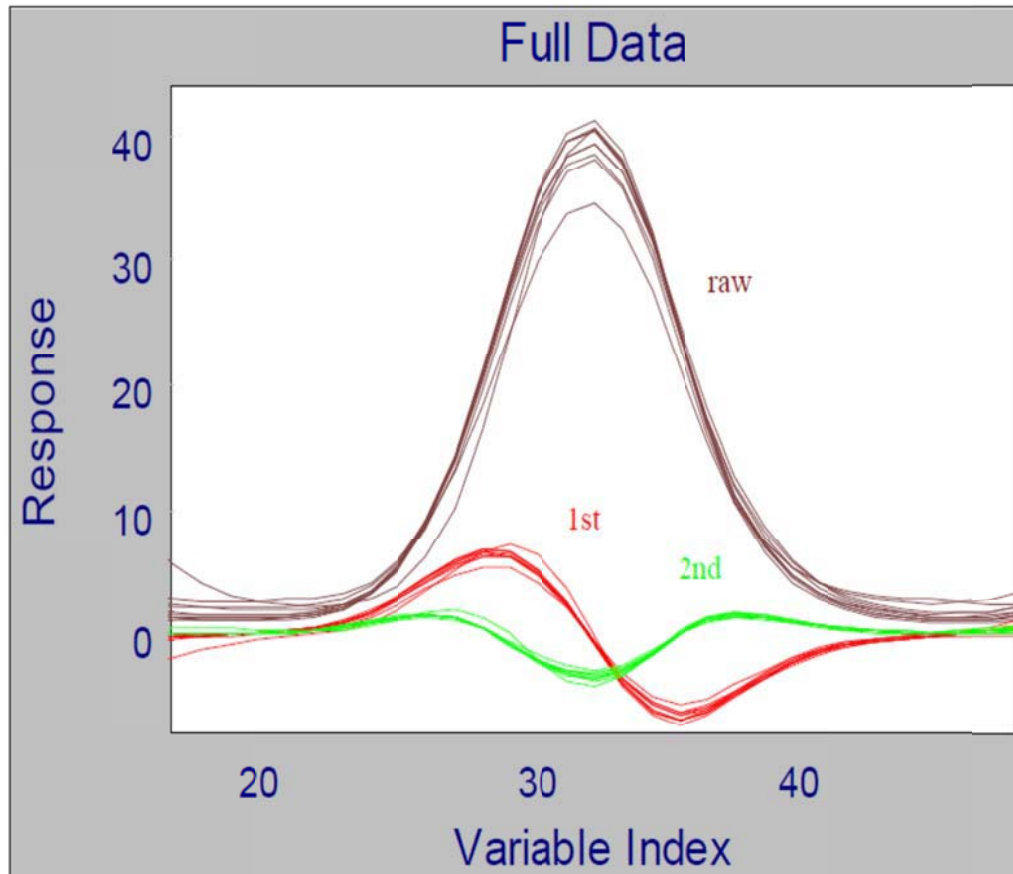
inflexão na curva gaussiana torna-se o ponto de virada na primeira derivada, adquirindo o valor zero no eixo x. Dessa forma, a primeira derivada transforma o ponto de inflexão da curva em zero e faz surgir dois outros pontos de inflexão, um acima do zero do eixo x e outro abaixo.

Já na segunda derivada, o ponto de inflexão da curva gaussiana adquire o mínimo valor. Onde a primeira derivada possui valor máximo e mínimo, na segunda derivada o valor é zero, e ocorrem mais dois outros pontos de virada.

Na Figura 2.3 tem-se a aplicação da primeira e segunda derivada em conjunto de curvas gaussianas. A aplicação da primeira e segunda derivada melhora a resolução dos picos porque diminui a largura do pico[33].



**Figura 2.2:** Exemplo da aplicação da primeira e segunda derivada em uma curva gaussiana . Acima tem-se a curva gaussiana, na ilustração do meio a aplicação da primeira derivada e abaixo a aplicação da segunda derivada[33].



**Figura 2.3:** aplicação da primeira e segunda derivada em um conjunto de curvas gaussianas[42]

Além das transformações descritas acima, existem dois tipos principais de pré-processamento para organizar os dados e que são largamente utilizados: centrar os dados na média ou auto escalá-los.

A diferença entre transformação e pré-processamento se encontra no fato de que a transformação é aplicada ao conjunto das variáveis independentes como um todo, já o pré-processamento é aplicado a um grupo específico de amostras

Centrar os dados na média consiste em calcular a média entre os dados de acordo com a Equação 4:

$$\bar{x}_j = \frac{1}{n} \sum_i^n x_{ij}$$

Equação 4

Onde:

$\bar{x}_j$  é a média dos dados.

$n$  é número de amostras que fazem parte do conjunto.

Depois de calcular a média o valor médio é subtraído de cada amostra, segundo a Equação 5.

$$x_{ij(mc)} = x_{ij} - \bar{x}_j$$

Equação 5

Onde:

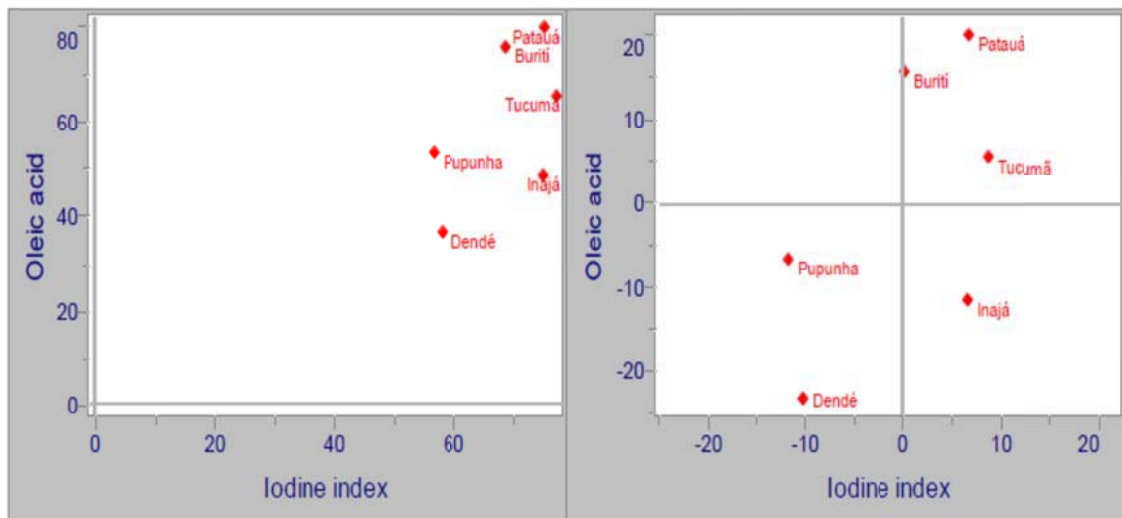
$x_{ij(mc)}$  é o valor da amostra centrada na média.

$x_{ij}$  é o valor real da amostra.

$\bar{x}_j$  é o valor da média.

Ao centrar os dados na média o conjunto de dados fica mais fácil de ser visualizado em um gráfico já que a média é a própria origem do gráfico.

Na Figura 2.4 tem-se o exemplo de um conjunto de dados que foi submetido a centragem dos dados na média.



**Figura 2.4:** concentração de Iodo relacionado a concentração de ácido oléico em algumas oleaginosas originadas do Brasil. Ao lado esquerdo tem-se os dados originais e ao lado direito os dados centrados na média[42].

A maioria dos conjuntos de dados utiliza este tipo de pré-processamento. Como regra prática, utiliza-se este método quando as variáveis envolvidas no sistema possuem mesma unidade de medida [35].

O auto escalamento consiste em:

$$x_{ij(ae)} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{s_j}$$

Equação 6

E  $s_j$  é dado pela raiz quadrada de  $s^2$  que é mostrado na Equação 7:

$$s_j^2 = \frac{1}{n-1} \sum_i^n (x_{ij} - \bar{x}_j)^2$$

Equação 7

Ou seja,  $s_j$  é o desvio-padrão. Portanto auto escalar os dados nada mais é do que realizar o procedimento de centrar os dados na média e dividi-los pelo desvio padrão. Geralmente se auto escalam os dados quando estes não possuem a mesma unidade de medida[43].

Outro pré-processamento utilizado no conjunto de dados deste trabalho de mestrado foi a OSC (do inglês *orthogonal signal correction* – correção do sinal ortogonal). Este pré-processamento tem por objetivo eliminar da matriz das variáveis independentes, matriz  $X$ , os dados que não estão correlacionados a  $y$ , o parâmetro que deseja modelar[44]. O método de OSC utiliza uma série de projeções para segregar as informações que estão correlacionadas das que não estão[45].

Inicialmente faz-se a projeção dos dados de  $y$  em  $X$ .

$$\hat{y} = XX^\dagger y$$

Onde :

$X^\dagger$  é a matriz pseudo inversa de  $X$ .

$X$  é a matriz de dados independentes.

$\hat{y}$  é o vetor projeção de  $y$ .

$y$  é um vetor de das variáveis dependentes.

Em seguida, a matriz  $X$  é projetada em  $\hat{y}$  da mesma maneira descrita acima.

$$\hat{X} = \hat{y}\hat{y}^{\dagger}X$$

Depois, a porção de  $X$  que é ortogonal a  $y$  é retirada de acordo com a

Equação 8:

$$X_{oy} = X - \hat{X}$$

Equação 8

Ou seja, a parte de  $X$  que é ortogonal a  $\hat{y}$  é retirada segundo a subtração da parte que não tem projeção em  $\hat{y}$ .

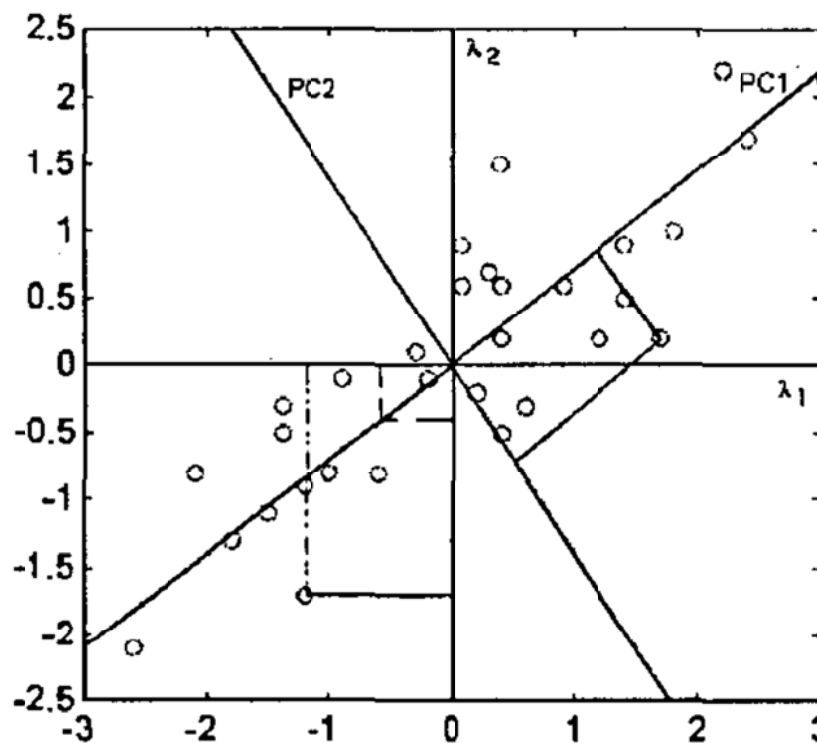
Logo após  $X_{oy}$  é transformada em *scores* e *loadings* e ajustada ao número de componentes principais necessários ao modelo de regressão, o que será explicado na próxima seção.

Uma vez que os dados tenham sido submetidos ao pré-tratamento adequado, o processo de calibração continua utilizando, no presente caso, a conversão do domínio para as componentes principais, mais conhecidas como Análise de Componentes Principais, a qual está descrita abaixo.

### **2.3. Análise de Componentes Principais**

A análise de componentes principais (PCA, do inglês “*Principal Components Analysis*”) é um dos métodos mais frequentemente usados na

extração e interpretação de dados dentre os procedimentos multivariados[46]. O objetivo de uma PCA é encontrar um subespaço, dentro do espaço das variáveis originais, onde ocorre a maior variação dos dados[47]. Na PCA, as coordenadas das amostras são transformadas em um novo sistema de eixos, chamados de componentes principais. Neste novo sistema de eixos, cada uma das componentes principais é gerada a partir da combinação linear das  $m$ -variáveis originais, e são ortogonais entre si, ou seja, são completamente não relacionadas[47,48], conforme pode ser observado na Figura 2.5.



**Figura 2.5:** Representação da transformação de coordenadas da Análise de Componentes Principais retirada da referência[32].

Na Figura 2.5,  $\lambda_1$  e  $\lambda_2$  são as variáveis originais.

A combinação das  $m$ -variáveis originais que geram cada uma das componentes principais podem ser representadas pela Equação 9:



$$PC_i = a_{i1}\vartheta_1 + a_{i2}\vartheta_2 + \dots + a_{im}\vartheta_m$$

Equação 9

Onde,  $\vartheta_j$  (para  $j=1,2,\dots,m$ ) são as variáveis originais e  $a_{ij}$  ( $j=1,2,\dots,m$ ) são os coeficientes que medem a significância da variável na  $i$ -ésima componente principal ( $PC_i$ ), ou seja o peso que cada variável tem naquela combinação linear. Estes pesos nada mais são do que os cossenos dos ângulos entre o eixo da componente principal e o eixo da variável original e, portanto, seu valor estará sempre entre -1 e +1. Neste caso, quanto mais próximo o valor for de +1 ou -1, maior será a influência da variável no novo sistema de coordenadas[49]. Desta forma, é possível determinar quais variáveis são mais importantes num dado conjunto de amostras, o que leva a uma redução na dimensão do conjunto de variáveis originais, tornando a interpretação dos dados mais simples sem perda de significância estatística.

A PCA consiste de uma matriz de dados  $X$  decomposta em uma matriz  $T$  conhecida como a matriz de escores (*scores*) e  $P^t$  a matriz de pesos (*loadings*)[47]. Os *scores* estão relacionados com a posição ocupada pelas amostras nos novos eixos e a informação do quanto cada variável original contribui para a formação de cada novo eixo, está presente nos pesos. Os *scores* expressam as relações entre as amostras enquanto que os pesos mostram as relações entre as variáveis originais[50] como pode ser observado na Figura 2.6.



que explicam a tendência de sistema[51,52]. Contudo, quando uma pequena quantidade de PCs forem escolhidas para explicarem a máxima variação dos dados, haverá um erro embutido nessa nova organização dos dados, sendo assim a Equação 10 passará a ter mais um termo, transformando-se na Equação 11 .

$$X = T_A \cdot P_A^t + E_A$$

Equação 11

Onde A é a Aésima componente principal do novo sistema de coordenadas.

Ou seja, qualquer PC pode descrever um conjunto original de dados com um erro agregado e, quanto mais PCs forem utilizadas, menor o erro agregado.

O número de componentes principais que devem ser necessariamente utilizadas na descrição dos dados é feita levando-se em consideração a porcentagem de variância explicada por cada uma das PC e a variância residual.

#### ***2.4. Método dos mínimos quadrados parciais (PLS)***

Os métodos de regressão multivariada têm por objetivo modelar a correlação dos dados[48], ou seja, é necessário utilizar calibração multivariada quando se deseja levar em consideração a natureza multivariada do sistema em

estudo[52]. Dentre os métodos utilizados para regressão multivariada, o Método do Mínimos Quadrados Parciais (“PLS” do inglês, *Partial Least Square*) é mais freqüentemente utilizado[53]. Neste método, os sinais multivariados, como os valores de corrente medidos em diferentes potenciais do voltamograma (variáveis x) e concentrações (variáveis y) são utilizadas para estabelecer um modelo de regressão linear. O próximo passo consiste em decompor as matrizes originais em “scores” e “loadings” utilizando a Análise de Componentes Principais. Como já foi dito anteriormente, é possível representar uma matriz de dados sem perder informação estatística útil pela sua matriz de “scores”, fazendo-se a redução de variáveis pela análise de componentes principais. Diversos algoritmos podem ser utilizados para realizar o PLS e, entre eles, o algoritmo NIPALS (do inglês *Non-linear iterative partial least squares*) e o SVD (do inglês *Single value decomposition*), que, quando corretamente aplicados, geram os mesmos resultados[50]. Em qualquer dos casos, o modelo resultante para a regressão é o mesmo, sendo descrito pela Equação 12 e pela Equação 13.

$$X = TP^t + E = \sum t_f q_f^t$$

Equação 12

$$Y = UQ^t + F = \sum t_f q_f^t + F$$

Equação 13

Onde:

T e U são *scores* de X e Y.

P e Q são os *loadings* de X e Y.

E e F corresponde ao erro ou a falta de ajuste.

O sobrescrito t indica a matriz transposta.

A relação entre os dois blocos, variáveis dependentes e variáveis independentes, pode ser realizada correlacionando simultaneamente os *scores* dos blocos X e Y. Para que se encontre a melhor correlação possível torna-se importante manipular a informação desses dois blocos simultaneamente. No “PLS” isto é feito por uma leve rotação das componentes principais, com conseqüente mudança nos valores dos *scores*. Devido ao fato de ocorrer esta rotação, o termo componente principal já não é mais utilizado, usando-se agora o termo “variáveis latentes”[54].

#### **2.4.1. Método para escolha do número de variáveis latentes**

Por meio de uma metodologia chamada de Validação Cruzada é que se consegue escolher o número de variáveis latentes[47,54,55]. Essa metodologia se baseia na magnitude dos erros de previsão de um dado modelo de calibração. Esta avaliação é feita com base nas comparações das concentrações previamente conhecidas. De uma forma bem generalizada a validação cruzada é feita da seguinte forma: Após a construção do modelo, uma ou mais amostras são retiradas do conjunto de resultados e o modelo é reconstruído com n- x amostras, sendo  $x=1,2,\dots,z$ . A seguir, as amostras que foram retiradas são utilizadas para previsão, sendo calculados os resíduos referentes a essa previsão.

O erro de previsão é dado por:

$$y_i - \hat{y}_i$$

onde :

$\hat{y}_i$  é o valor de concentração estimado pelo modelo

O processo é repetido com outro grupo de amostras até que todas as amostras tenham sido colocadas fora do modelo de calibração. Daí calcula-se a soma dos quadrados dos erros de previsão (PRESS do inglês *Prediction Error Sum of Squares*).

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$$

Equação 14

Depois de calcular os n valores de PRESS para todos modelos gerados por validações cruzadas, escolhe-se aquele que tiver o menor valor e então adota-se esse modelo[54].

De forma bastante importante, uma metodologia para detectar a presença de amostras anômalas (“*outliers*”) se faz extremamente necessária, porque elas influenciam o comportamento da regressão a ser realizada[52]. Estas, uma vez identificadas podem ser removidas do espaço amostral.

#### **2.4.2. – Detecção de *outlier***

Quando os dados contêm *outliers* os estimadores (média, desvio padrão, etc.) da regressão realizada não são confiáveis[52]. Neste trabalho, utilizaram-se duas técnicas para detecção de *outliers*: o cálculo da distancia de Mahalanobis para análise de *Outliers* em PCA e cálculo de Leverage para análise de *Outliers* em PLS.

### 2.4.2.1. Distância de Mahalanobis.

Técnicas quimiométricas são baseadas na medida da distância entre os objetos e as medidas de distância mais comuns são a distância Euclidiana e a distância de Mahalanobis[56]. Tanto a distância de Mahalanobis quanto a distância Euclidiana calculam a distância de um dado objeto com relação ao centro do espaço amostral, este espaço pode ser dado tanto no conjunto das variáveis originais quanto no conjunto das componentes principais[56].

A distância de Mahalanobis é dada pela Equação 15:

$$MD_i = \sqrt{(x_i - \bar{x})C_x^{-1}(x_i - \bar{x})^T}$$

Equação 15

Onde  $C_x$  é a matriz de covariância dada pela Equação 16:

$$C_x = \frac{1}{n-1} (X_c)^T (X_c)$$

Equação 16

Onde :

$(X_c)$  é dado por  $X - \bar{X}$

$n$  é o número de objetos da matriz  $X$ .

Existem ao menos três tipos de *outliers*[56] :

1) *Outliers* em  $y$  (variáveis dependentes), que podem ser detectados utilizando técnicas univariadas.

2) *Outliers* em  $X$  (variáveis independentes) que são detectados utilizando o cálculo da distancia de Mahalanobis.

3) *Outliers frente ao modelo*: estes só podem ser encontrados depois que se constrói o modelo de regressão[56]. Neste tipo de *Outlier* ocorre uma correlação entre  $y$  e  $X$  que é diferenciada com relação aos demais objetos.

Embora a detecção de *Outliers* pela a distância de Mahalanobis seja muito usada, esta só funciona bem para detectar um tipo de *Outlier*[52], que neste caso é o do segundo tipo. O motivo pelo qual a detecção de *Outliers* por distancia de Mahalanobis funciona apenas para um caso é que a distancia de Mahalanobis não leva em conta a correlação entre as variáveis  $X$  e  $y$ , que no caso da PLS podem ser de grande número fazendo com que o “efeito de mascaramento” que afete o calculo da matriz de variância-covariância[52].

Antes de se realizar a regressão por PLS realiza-se uma análise de componentes principais, e a detecção de *Outliers* nessa etapa é realizada utilizando a distancia de Mahalanobis, posteriormente, quando na regressão por PLS, utiliza-se a detecção de *Outliers* por meio do cálculo de *leverage*.

#### **2.4.2.2 Leverage**

“*Leverage*” é uma medida de como uma determinada amostra influencia o modelo de regressão. Um valor pequeno de “*leverage*” indica que essa amostra se encontra próxima do centro dos dados e, portanto, tem pouca influencia na construção do modelo. Um valor alto de “*leverage*” indica que a amostra está distante da média e possui grande influencia sobre o modelo.



Amostras com valores de “*leverage*” alto indicam que a concentração da amostra é alta ou baixa, podem também ter problemas com interferentes ou simplesmente ser uma medida errada. Desta forma, a influência da amostra no modelo é dado pelo valor de “*leverage*”, que pode também indicar uma media com problemas. Como se pode determinar o valor limite de *leverage*, que separará um caso de outro? A resposta pode ser dada pela seguinte análise. No modelo de regressão “PLS” o “*leverage*” ( $h_{ii}$ ) é calculado pela seguinte fórmula:

$$h_{ii} = \frac{1}{n} + (x_i - \bar{x})^t (X^t - X)^{-1} (x_i - \bar{x})$$

Equação 17

“*Leverage*” é a distância geométrica de um objeto para o centro do modelo e da correlação entre as variáveis. Na Equação 17:

.  $x_i$  é voltamograma da  $i$ -ésima amostra .

.  $\bar{x}$  é o voltamograma médio.

$(X^t X)$  é a matriz de covariância-variância.

Uma regra prática permite que se diferenciem amostras anômalas. Quando  $h_{ii} > h_{crit}$ , as amostras são consideradas suspeitas e serão analisadas. Sendo  $h_{crit}$ :

$$h_{crit} = \frac{3k}{n}$$

Equação 18

$k$  é o número de variáveis latentes.

$n$  é o número de amostras do conjunto de calibração.

Os resíduos de *student* constituem uma outra técnica, ou ferramenta matemática, para detecção de anomalias. Quando os valores de resíduos são altos significa que o modelo não está modelando os dados de forma adequada, já que os desvios são correspondentes aos dados de referência e os estimados pelo modelo.

Os resíduos são dados pela Equação 19:

$$Res.y = \sqrt{\frac{(y - y_i)^2}{(n - 1)(1 - h_i)}}$$

Equação 19

Onde:  $Res.y_i$  é o resíduo da concentração da amostra  $i$  corrigido pela “*leverage*”.

Supondo que os resíduos obedecem a uma distribuição normal aplica-se o teste  $t$  para verificar se a amostra está dentro ou fora da distribuição com um nível de confiança de 95%. Os valores de resíduos de *Student* são definidos em unidades de desvio padrão do valor médio, assim valores além de + ou - 2,5 são considerados altos. Amostras com altos resíduos e altos *leverages* devem ser excluídas[54].

O conjunto das técnicas descritas acima, são as técnicas que foram utilizadas para realizar o tratamento quimiométrico dos dados nesta Dissertação de Mestrado.

## **2.5. Voltametria**

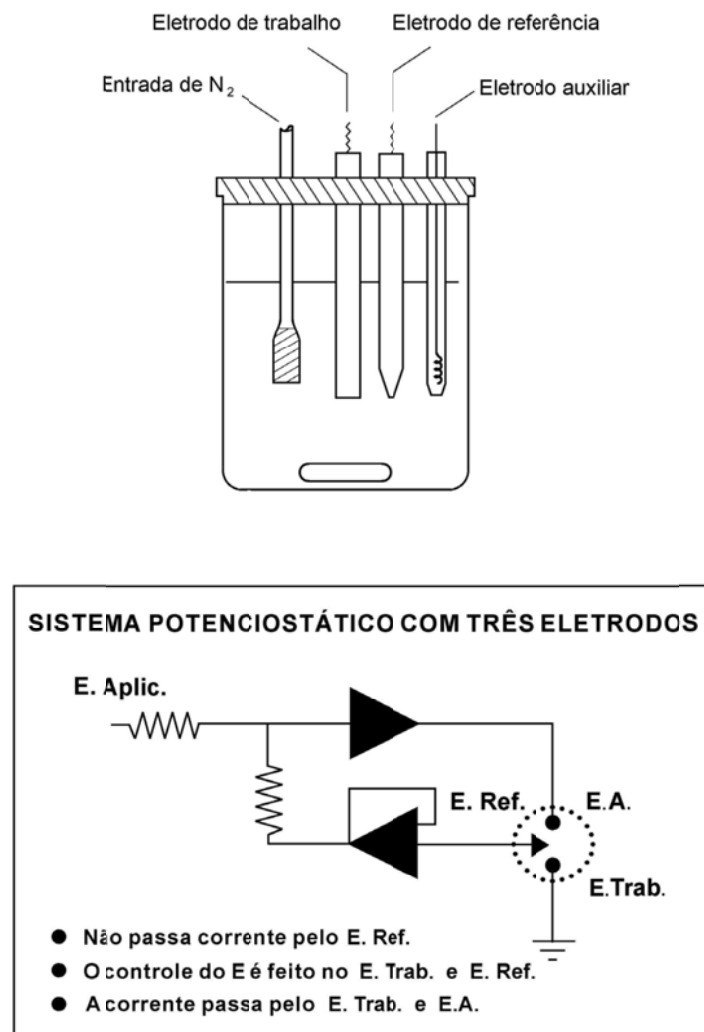
A voltametria é uma técnica eletroquímica onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir do registro de curvas corrente-potencial, feitas durante a eletrólise dessa espécie em uma célula eletroquímica constituída, normalmente, de três eletrodos, sendo um deles um eletrodo de trabalho, um segundo é um eletrodo inerte de superfície relativamente grande, chamado eletrodo auxiliar e o terceiro eletrodo é o eletrodo de referência. O potencial é aplicado entre os eletrodos de trabalho e de referencia na forma de uma variação de linear de potenciais, isto é, variando-o a uma velocidade constante em função do tempo. O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente. A curva corrente vs. potencial obtida é chamada de voltamograma[57].

No início dos estudos voltamétricos, Heyrovsky e Kuceras [57] usavam uma célula eletroquímica que continha apenas dois eletrodos, o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, sendo o primeiro de pequenas dimensões (micro eletrodo) e o segundo com grandes dimensões. A escolha do tamanho dos eletrodos está relacionada com a facilidade com que cada um deles pode ser polarizado, isto é, um micro eletrodo pode ser polarizado facilmente enquanto que um eletrodo de grande superfície não consegue ser polarizado com a mesma facilidade de tal forma que o seu potencial permaneça constante. Porém, na célula com dois eletrodos, pode ocorrer a oxidação (ou redução) das espécies que compõem o eletrodo de referência que, por sua vez, poderia levar a uma variação do potencial deste eletrodo inutilizando a medida.

Para resolver essas limitações das células de dois eletrodos, foi desenvolvida a célula de três eletrodos. O terceiro eletrodo é chamado de

eletrodo auxiliar, o qual é construído de um material inerte como platina, ouro, ou carbono vítreo[57].

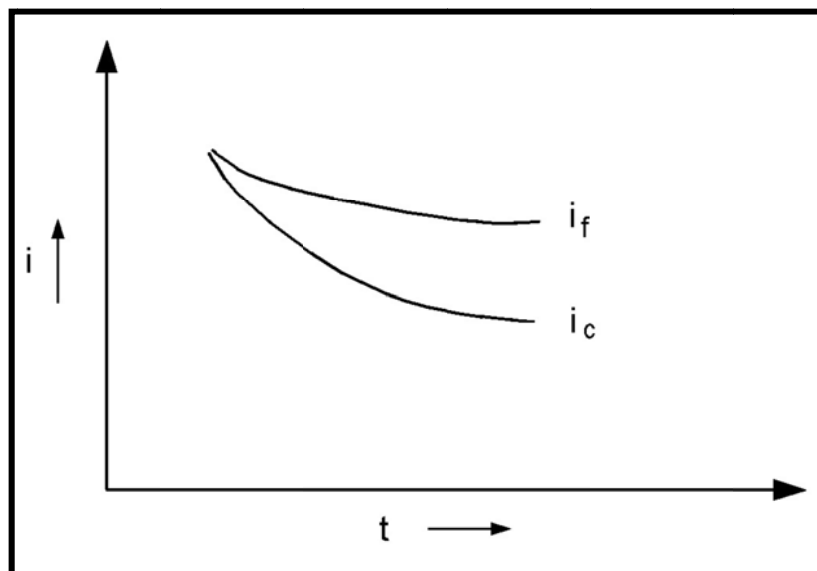
Nesta célula, os eletrodos são conectados a um amplificador operacional. O amplificador atuará quando for aplicada uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, fazendo com que a resistência do eletrodo de referência aumente e a do eletrodo auxiliar diminua. Assim a corrente passará entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar, evitando que ocorram distúrbios no eletrodo de referência (Figura 2.8)[57].



**Figura 2.8:** Ilustração representativa de uma célula eletroquímica e esquema de como funciona o fluxo de corrente nesta célula.

A voltametria clássica, discutida até aqui, tem uma limitação quanto ao limite de detecção, pois não consegue determinar espécies com concentrações abaixo de  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  mol/L. Isso se deve ao fato de que a corrente capacitiva ser umas das principais componentes da corrente de fundo. Este fenômeno surge devido à dupla camada elétrica que se forma no eletrodo de trabalho devido a varredura de potencial aplicada. Outro componente da corrente é a corrente faradáica que está relacionada à medida de corrente proveniente da oxidação ou redução do analito.

Uma maneira de discriminar a corrente capacitiva da corrente faradáica, deixando a técnica mais sensível, foi medindo a corrente perto do final da vida da gota de mercúrio, pois observou-se que a corrente capacitiva decai mais rapidamente do que a corrente faradáica, conforme a Figura abaixo:



**Figura 2.9:** Representação esquemática da diminuição das correntes faradáicas,  $i_f$ , e capacitiva,  $i_c$ , em função do tempo de existência da gota do mercúrio conforme descrito por Aleixo[57].

Desta forma, diferentes variações da técnica têm sido propostas para minimizar o efeito da corrente capacitiva como a voltametria de onda quadrada e a voltametria de pulso diferencial. Esta última técnica foi utilizada no desenvolvimento deste trabalho.

### **2.5.1. Voltametria de pulso diferencial**

Contudo, mesmo medindo a corrente no final da vida da gota de mercúrio, a corrente não aumentou de maneira substancial. A melhora no limite de detecção da técnica de voltametria só ocorreu com a implementação de pulsos sobrepostos ao potencial linear aplicado. Devido à melhora tecnológica dos aparelhos, desenvolveu-se uma instrumentação capaz de medir corrente e aplicar pulsos de potencial em intervalos de tempo muito curtos.

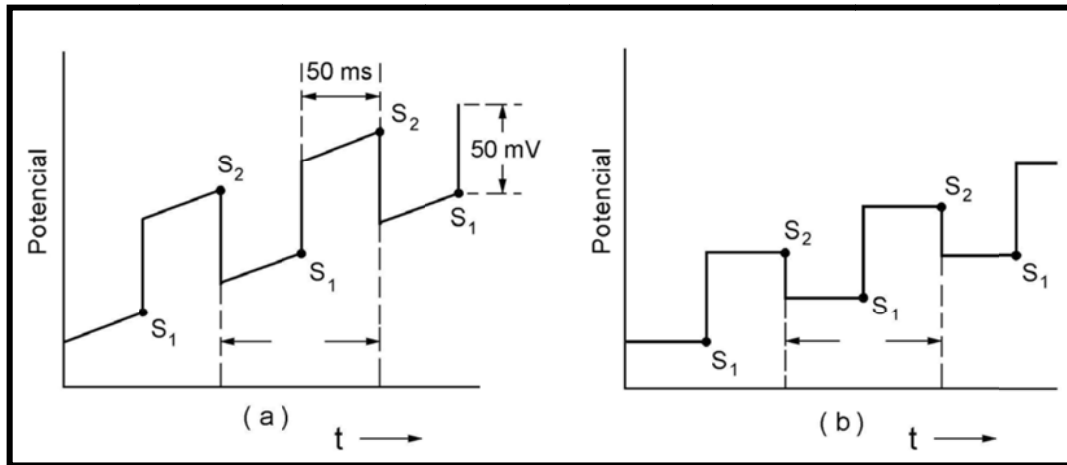
Na voltametria de pulso diferencial em aparelhos digitais a medida é feita da seguinte maneira, conforme ilustrado na Figura 2.10.

-Aplica-se um pulso com valor entre 10 a 100 mV.

-O tempo de duração do pulso está entre 50 e 60 ms.

-A corrente é amostrada em dois intervalos de tempo com 15 ms de diferença entre eles. O primeira medida é realizada logo após a aplicação do pulso( $S_1$ ), a segunda medida é realizada 15 ms depois( $S_2$ ).

O valor final da corrente é a diferença entre esses dois valores medidos, conforme mostrado Figura 2.10.



**Figura 2.10:** Representação esquemática das possíveis perturbações utilizadas na voltametria de pulso diferencial[57].

Na Figura 2.10(a) temos uma rampa feita em um aparelho analógico. Pode-se observar uma inclinação a cada incremento que ocorre devido ao fato de que em aparelho analógico o potencial aplicado cresce de maneira crescente e linear, já em um aparelho digital, onde os incrementos são de potencial ocorrem em pequenos *steps* que possuem valor fixo, ou seja, a rampa de potencial não é varrida linearmente, embora seja crescente, dando origem a “escada” em (b).

### 2.5.3. Voltametria de redissolução anódica

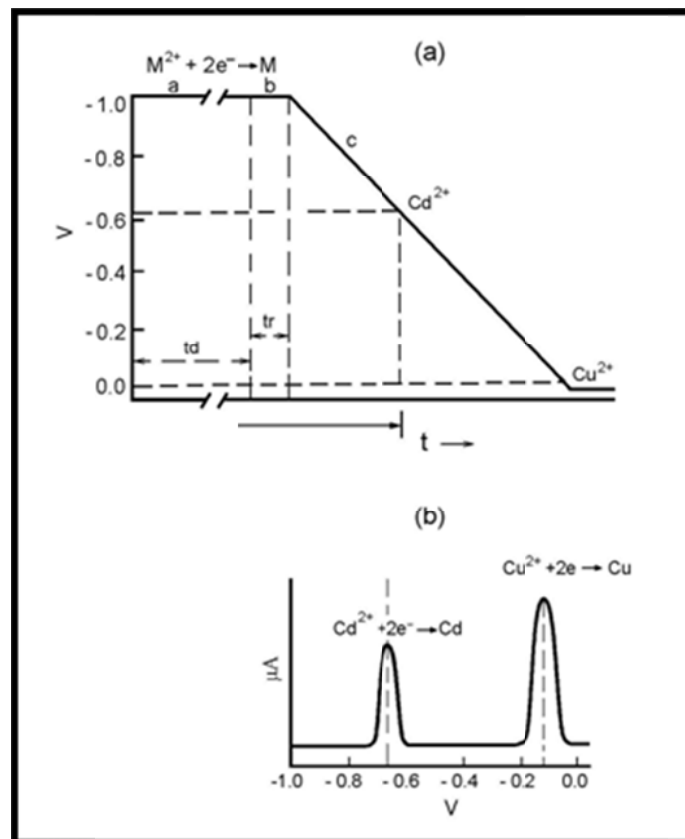
Dentre as técnicas que utilizam a pré-concentração e posterior redissolução do analito é a mais utilizada[27].

A grande sensibilidade da técnica é atribuída à etapa de pré-concentração e técnicas de pulso que fazem com que o limite de detecção dessa técnica chegue a  $10^{-10}$  mol/L. Isso se deve ao fato de que a etapa de pré-concentração consegue concentrar as espécies metálicas por um fator de 100 a 1000 vezes o valor que se encontra na solução, sendo assim, o limite de detecção chega ao valor referido anteriormente.

Na voltametria de redissolução anódica a etapa de pré-concentração é realizada por deposição catódica em tempo e potencial controlado. A deposição é realizada num potencial de 0,3 a 0,5V mais negativo que o potencial padrão para o metal mais dificilmente reduzível. A deposição é realizada num filme de mercúrio onde, junto com os metais é formado um amalgama.



Logo em seguida o potencial é varrido para valores mais positivos onde ocorrerá a oxidação dos metais que se encontram amalgamados, conforme está ilustrado na Figura 2.11.



**Figura 2.11:** Diagrama da oxidação dos metais amalgamados[27]

O pico voltamétrico reflete a dependência do gradiente de concentração com o tempo durante a varredura de potencial. Além disso, os potenciais de pico servem para identificar as espécies químicas na amostra e a



corrente de pico depende, dentre outros parâmetros, da geometria do eletrodo e das características do metal. Num filme de mercúrio, a corrente é dada por:

$$I_p = \frac{n^2 F^2 \nu^{1/2} A l C}{2.7 R T}$$

Equação 20

Onde  $I_p$  é a corrente de pico,  $n$  é o número de elétrons que participam da reação,  $F$  é a constante de Faraday,  $\nu$  é o potencial de varredura,  $A$  e  $l$  são a área e a espessura do filme, respectivamente,  $C$  é a concentração do analito na amostra,  $R$  é constante geral dos gases e  $T$  é a temperatura em Kelvin.

A equação de  $I_p$  (Equação 20) pode ser simplificada ao deixar os parâmetros constantes, com exceção da concentração, obtendo-se a Equação 21:  
Equação 21

$$I_p = K C$$

Equação 21

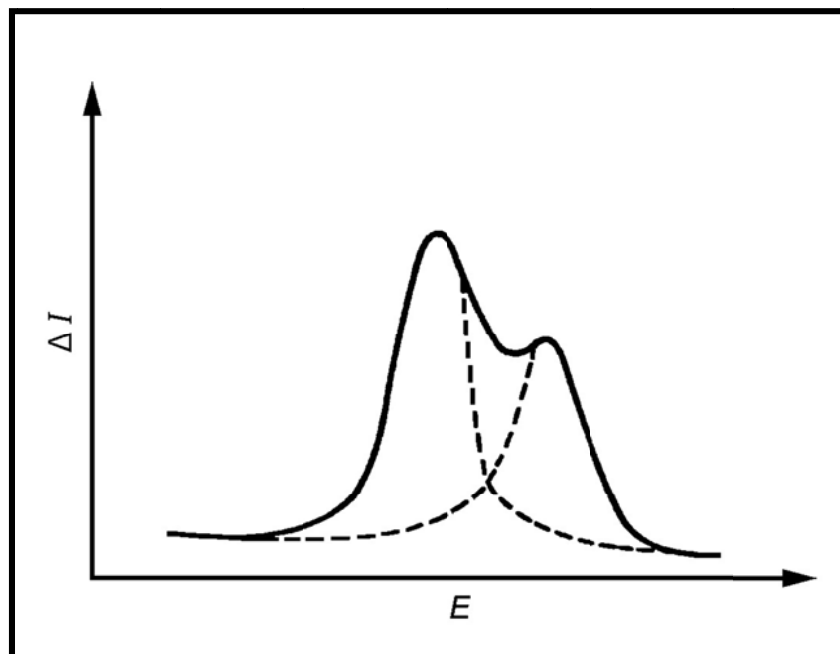
Onde:

$I_p$  = corrente de pico.

$K$  = constante englobando todos os termos da equação de  $I_p$  mantidos constante durante as medidas (exceto  $C$ , naturalmente).

$C$  = concentração da espécie eletroativa.

O potencial de pico  $E_p$ , fornece uma informação qualitativa, e a corrente de pico  $I_p$ , fornece uma informação quantitativa, que se relaciona a concentração das espécies em solução, ao juntar-se as duas informações obtêm-se o voltamograma. Para construir-se uma curva de calibração pode-se associar as duas informações,  $E_p$  e  $I_p$ , num gráfico onde a  $I_p$  aumentará conforme o aumento da concentração das espécies. Outra maneira de construir uma curva de calibração é integrando-se a área do pico, dessa forma utiliza-se toda informação que o voltamograma fornece e não apenas determinado pontos. Proceder de maneira a construir uma curva de calibração utilizando os valores de corrente de pico ( $I_p$ ) e potencial de pico ( $E_p$ ) pode trazer alguns inconvenientes, já que em alguns sistemas há adsorção de espécies no eletrodo, causando uma distorção da corrente de pico ( $I_p$ ), sendo assim, o método da integração da área do pico é mais confiável.



**Figura 2.12:** Ilustração com um exemplo de deconvolução de dois picos voltamétricos sobrepostos[57].

Contudo, existem situações onde os metais em solução formam um composto intermetálico[27,58], acarretando no surgimento de um novo pico ou

ainda causando um aumento da corrente de pico em um potencial de um metal específico que participa da composição do referido composto. Nesse caso não é possível utilizar a corrente de pico como parâmetro para montar uma curva analítica.

Existem duas possibilidades de resolver esse problema, uma delas é diminuir a amplitude de pulso, pois dessa forma diminui-se a largura de pulso até que se separe os dois picos[59]. Esta abordagem nem sempre é adequada para separar os dois picos. Outra maneira é utilizar métodos matemáticos (deconvolução) para separar os picos.

Diante destes fatos, torna-se necessário a utilização de novas metodologias para interpretar os dados obtidos por técnicas eletroanalíticas. Dentre estas, uma possibilidade é a utilização de métodos quimiométricos, como aqueles descritos na seção anterior. Neste sentido, o objetivo desta dissertação é realizar a análise de três cátions metálicos, sendo eles  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$ , por meio de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial tratando os dados obtidos com técnicas quimiométricas.

## CAPÍTULO 3:

### 3.OBJETIVOS

Neste trabalho, será estudado a determinação simultânea de três cátions metálicos, sendo eles,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$ , em faixas de concentração extensas, indo de  $\mu g/L$  até  $mg/L$ , ou de PPB até PPM, utilizando a voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial e tratando os resultados com técnicas de análise multivariada.

## CAPÍTULO 4:

### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

*Nesse capítulo serão apresentados os materiais e os métodos utilizados na preparação das soluções utilizadas nesse trabalho bem como a maneira como os dados foram medidos e tratados*

#### 4.1. Reagentes e Soluções

Na realização da deste trabalho de mestrado, foram utilizadas somente quatro tipos de soluções.

Todas as soluções foram preparadas utilizando água de um purificador por osmose reversa, modelo OS 20 LX FARMA da Gehaka<sup>®</sup>. Toda vidraria utilizada e tubos de polietileno de 10mL foram deixados em solução de HNO<sub>3</sub> 1 mol/L durante 24 horas, como tempo mínimo. Antes do uso no preparo das soluções todas as vidrarias e tubos foram lavados com água deionizada.

Para preparar a solução de Hg<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, adicionou-se em um balão volumétrico de 50 mL, 0,543g do sal de Hg<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O (Merck) e completou-se o volume com água purificada por osmose reversa. Esta solução foi acidificada com HNO<sub>3</sub> (Merck) até que atingisse um pH 1,0 para solubilizar o sal. Posteriormente, esta solução foi estocada em um frasco de polietileno de 100mL.

As soluções de estoque de íons Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> e Pb<sup>2+</sup> foram preparadas a partir das soluções padrões dos metais correspondentes (Specsol). O método

de preparo das soluções de estoque é idêntico ao descrito acima e foi realizado utilizando-se o seguinte procedimento:

Retirou-se uma alíquota de 10  $\mu\text{L}$  da solução padrão (1000mg/L) e transferiu-se esta alíquota para um balão volumétrico de 100 mL completando-se o volume com água purificada pelo sistema de osmose reversa. Posteriormente, transferiu-se as soluções para frascos de polietileno de 100 mL. Sendo assim, as soluções estoque tem concentração de 10 mg/L. Preparou-se também soluções estoque com os três metais na concentração de 100 mg/L. Para isso, retirou-se alíquotas de 1mL das soluções padrão (1000 mg/L) que foram colocadas em balões volumétricos de 100mL e completados com água até o referido volume.

Para a solução eletrolítica utilizada nas medidas eletroquímicas, pipetou-se 23,0 mL de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glacial (Mallinckrodt) que foi adicionado a um balão volumétrico de 2L. Pesou-se 4,63g de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (Merck) e adicionou-se ao mesmo balão volumétrico, em seguida completou-se o volume do balão com água e retirou-se uma alíquota para medir o pH que era aproximadamente 4,00. Desta maneira a solução tampão tem concentração de 0,20 mol/L de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  e de 0,17 mol/L de  $\text{CH}_3\text{COONa}$ . A solução foi transferida para frascos de vidro de 500 mL. Essa solução tampão de acetato serviu como eletrólito de suporte no preparo das amostras com os cátions metálicos.

#### ***4.2. Preparo das amostras***

Foram preparados três conjuntos de amostras em replicata, todas com volume de 10 mL .

No primeiro conjunto de amostras, as concentrações dos cátions metálicos foi de 10 e 100 µg/L, no segundo foi de 150 e 500 µg/L e no terceiro foi de 500 e 1500 µg/L. Como as amostras foram feitas com três cátions metálicos e duas concentrações dos mesmos, as combinações de todos os cátions e todas as concentrações resultam em oito amostras. Como as amostras foram feitas em duplicatas e havia três conjuntos totalizaram-se 48 amostras. As concentrações das amostras utilizadas como conjunto de calibração, estão descritas na Tabela 10.

**Tabela 10: Concentrações de  $M^{2+}$  para as amostras do conjunto de calibração**

Amostras	Concentrações em µg/L		
	Zn <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>
Cal11	10	10	10
Cal12	100	10	10
Cal13	10	100	10
Cal14	100	100	10
Cal15	10	10	100
Cal16	100	10	100
Cal17	10	100	100
Cal18	100	100	100
Cal21	150	150	150
Cal22	500	150	150
Cal23	150	500	150
Cal24	500	500	150
Cal25	150	150	500
Cal26	500	150	500

Continuação da Tabela 6:

<b>Cal27</b>	150	500	500
<b>Cal28</b>	500	500	500
<b>Cal31</b>	500	500	500
<b>Cal32</b>	1500	500	500
<b>Cal33</b>	500	1500	500
<b>Cal34</b>	1500	1500	500
<b>Cal35</b>	500	500	1500
<b>Cal36</b>	1500	500	1500
<b>Cal37</b>	500	1500	1500
<b>Cal38</b>	1500	1500	1500

Onde Cal11 refere-se a primeira amostra do primeiro conjunto de calibração, Cal 12 a segunda amostra do conjunto de calibração e assim por diante.

Para cada subconjunto, foram preparadas mais quatro amostras com concentrações diferentes para validar o conjunto de calibração as quais foram chamadas de amostras de validação, veja a Tabela 11.



**Tabela 11: Concentrações de  $M^{2+}$  das amostras de validação**

Amostras	Concentrações em $\mu\text{g/L}$		
	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Pb}^{2+}$
Val. 11	50	50	50
Val. 12	15	15	80
Val. 13	80	15	15
Val. 14	15	80	15
Val. 21	15	15	450
Val. 22	15	450	15
Val. 23	450	15	15
Val. 24	250	250	250
Val. 31	15	15	1350
Val. 32	15	1350	15
Val. 33	1350	15	15
Val. 34	1000	1000	1000

Onde Val. 11 é referente ao conjunto 1, amostra de validação 1 e assim por diante.

#### **4.2. Planejamento Fatorial**

No presente trabalho, foi estudada a determinação simultânea de três cátions metálicos ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ ) em diferentes faixas de concentração. O planejamento fatorial escolhido para o trabalho foi o de  $2^3$ , sendo dois níveis

de concentração e três variáveis as quais são, neste caso, os três cátions metálicos ( $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$ ).

O planejamento fatorial  $2^3$  pode ser representado conforme a Tabela 12.

**Tabela 12: Modelo representativo das distribuições de níveis e variáveis.**

Variáveis		Nível baixo	Nível alto
Zinco concentração em $\mu\text{g/L}$		10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$
Cádmio concentração em $\mu\text{g/L}$		(-)	(+)
Chumbo concentração em $\mu\text{g/L}$			
Experimento	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

Através da Tabela 12 pode-se observar todas as combinações possíveis entre dois níveis de concentração. No entanto, esses dois níveis de concentração representam um intervalo muito curto em vista daquilo que se deseja determinar. Desta forma, realizou-se mais dois planejamentos do tipo  $2^3$ , com os níveis 150 $\mu\text{g/L}$  (-) e 500 $\mu\text{g/L}$  (+); no segundo experimento e 500  $\mu\text{g/L}$  (-

) e 1500  $\mu\text{g/L}$  (+), no terceiro experimento. Dessa forma, criou-se um espaço experimental que pode ser representado da seguinte maneira:

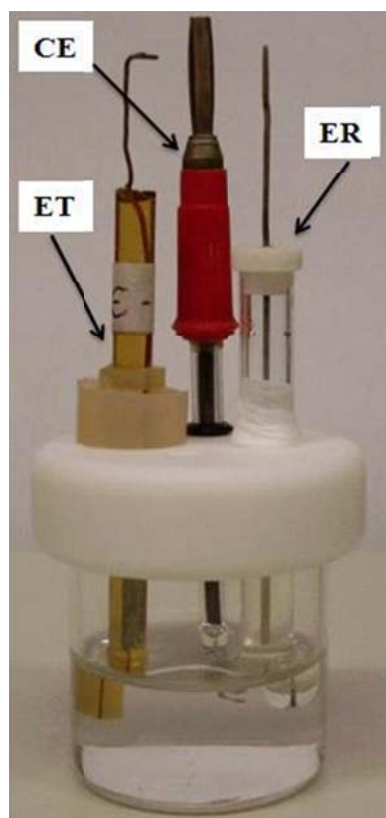
**Figura 4.1:** Representação geométrica do espaço amostral dos experimentos realizados

### ***4.3. Procedimento Experimental***

Todas as medidas foram realizadas usando um potenciostato da AutoLab modelo PGSTAT 20, conectado a um computador para controle de aquisição de dados com o programa GPES versão 5.8.

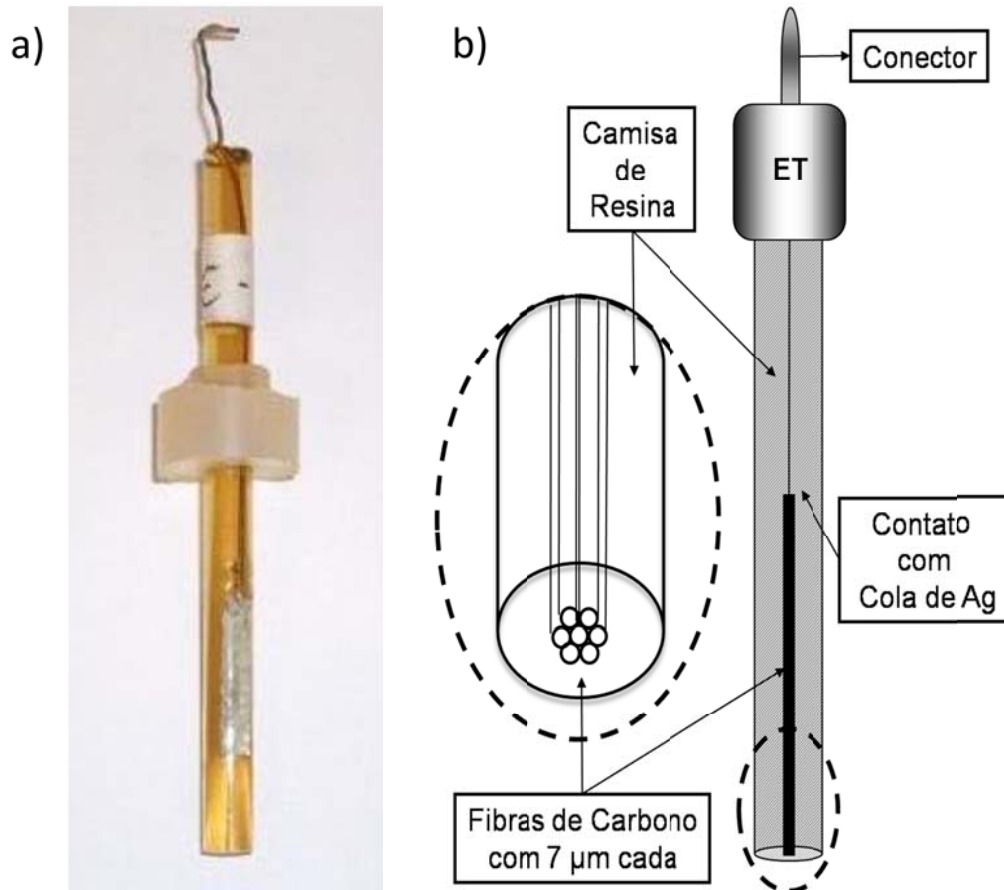
Foi utilizado uma célula eletroquímica com capacidade de aproximadamente 30mL com tampa de Teflon e com entrada para eletrodos de trabalho (ET), e eletrodo de referência (ER), e contra eletrodo (CR) entrada e saída para borbulhamento de nitrogênio ( $\text{N}_2$ ).

O eletrodo de referência utilizado foi de prata, cloreto de prata (Ag/AgCl) em meio de KCl saturado e o eletrodo auxiliar um fio de platina como pode ser visto na Figura 14.



**Figura 4.2:** Célula eletroquímica utilizada nas medidas voltamétricas

O eletrodo de trabalho utilizado, ilustrado na Figura 4.2, foi um microeletrodo de fibras de carbono constituído de uma série de fibras com espessura total de aproximadamente  $\phi=50\mu\text{m}$ , as quais foram embutidas em tubo de vidro e selada com resina de poliéster. Posteriormente, foi depositado um filme de mercúrio metálico sobre a superfície do carbono de acordo com o procedimento sugerido por Zimer [60]. Cabe ressaltar, que o filme de mercúrio foi depositado em potencial constante sobre o microeletrodo em  $-1,2\text{ V}$  (vs. Ag/AgCl) por 60 s em uma solução de  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$   $10\text{ mmol L}^{-1}$  com  $1,0\text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{KNO}_3$  e acidificada com  $\text{HNO}_3$  concentrado até pH 1,0.



**Figura 4.3:** Fotografia e representação esquemática do eletrodo de trabalho utilizado.

#### ***4.4. A escolha dos parâmetros***

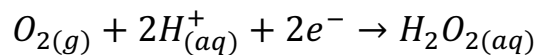
Nesse trabalho, não será apresentado o estudo sistemático para otimização dos parâmetros experimentais da voltametria de redissolução anódica, uma vez que estes já eram conhecidos em trabalhos anteriores realizados no grupo de pesquisa[60,61].

Os parâmetros utilizados foram os descritos na **Tabela 13**.

**Tabela 13: Valores dos parâmetros utilizados nas medidas por voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial.**

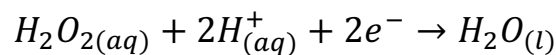
Potencial de deposição (V)	-1,2
Tempo de deposição(s)	60
Tempo de equilíbrio(s)	5
Intervalo de tempo (s)	0,5
Potencial inicial (V)	-1,2
Potencial final (V)	-0,2
Amplitude de pulso (mV)	25
Velocidade de varredura (mV/s)	10

Antes de realizar a medida borbulhou-se  $N_2$  para desoxigenar cada amostra. A desoxigenação é necessária para evitar dois processos, a redução do oxigênio,



Equação 22

e a redução do Peróxido de Hidrogênio,



Equação 23

Os potenciais de meia onda dos dois processos ocorrem em aproximadamente -0,1 e -0,9 V contra eletrodo de calomelano saturado [26]. Depois da desoxigenação da solução, realizou-se a cinco medidas para cada amostra e utilizou-se a média aritmética dos três últimos voltamogramas.

#### ***4.5. Tratamento dos resultados.***

Utilizou-se a versão 7.0 do Origin para extrair os dados do potenciômetro e montar os voltamogramas e, posteriormente, transferiram-se os dados para o Pirouette 4.0, onde se realizou o tratamento quimiométrico.

O objetivo do pré-tratamento aplicado aos dados visa eliminar informações que não são necessárias ou ainda que não permitem uma boa adequação ao modelo que foi empregado ao conjunto de dados.

Inicialmente realizou-se, para cada amostra, cinco medidas voltamétricas, sendo que as últimas três foram utilizadas para fazer a média aritmética, uma vez que estas apresentam valores reprodutíveis. Em seguida, realizou-se uma média entre as médias das replicatas e, por fim, fez-se a normalização dos dados, onde subtraiu-se o menor valor de corrente em cada um dos voltamogramas

Posteriormente inseriu-se os dados no programa Pirouette 4.0<sup>®</sup>, onde foram realizados os procedimentos de centrar os dados na média, aplicar a primeira derivada, a correção do sinal ortogonal (OSC) e quando necessário usar o logaritmo de base dez.

## CAPÍTULO 5:

### 5.RESULTADOS E DISCUSSÃO

*Nesse capítulo serão apresentados os resultados obtidos e a discussão destes baseando-se nos conceitos descritos no Capítulo 2.*

#### **5.1- Considerações gerais.**

Como descrito no capítulo 2, para realizar uma análise quantitativa de cátions metálicos em uma determinada matriz é necessária, por vezes, o uso de mais de uma técnica diferente para estender a faixa de concentração dos analitos a serem determinadas. Por exemplo, a Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) e a Espectrometria de Absorção Atômica em forno de grafite (GFAAS do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*), são técnicas cuja a faixa de detecção são complementares, sendo que a primeira pode ser utilizada para determinação de elementos químicos com concentrações de, no mínimo 10ng/g enquanto a GFAAS é útil na faixa de 0,01 a 1 ng/g. Além disso, é importante frisar que estas técnicas analisam um único cátion de cada vez, dependendo do aparelho utilizado[11]. Desta forma, para uma análise em que há mais de um cátion metálico seriam necessárias mais de uma medida experimental, o que torna o monitoramento caro. Finalmente, é importante ainda colocar o problema da portabilidade dos instrumentos uma vez que as técnicas espectroscópicas, normalmente, necessitam de instrumentos de grande porte o que dificulta a análise de campo. O uso de técnicas eletroanalíticas surge, então, como uma



alternativa para monitoramento de diferentes analitos dentre os quais destacam-se os cátions metálicos, já que estas são de baixo custo, alta sensibilidade, fácil manuseio e apresentam ainda portabilidade. No entanto, apesar destas vantagens, as técnicas eletroanalíticas têm baixa seletividade e ainda possuem problemas com formação de compostos intermetálicos[58,62], que tornam as determinações complexas e, por vezes, impossíveis de serem realizadas utilizando os procedimentos adotados pela grande maioria dos trabalhos hoje em dia.

Por estas razões, surge a necessidade de se empregar novas metodologias para realizar o tratamento dos resultados que permita a determinação simultânea de mais de um cátion metálico utilizando uma única medida eletroanalítica. Dentre os métodos propostos na literatura, destacam-se os quimiométricos. Neste sentido, esta dissertação de mestrado se propõe a estudar a determinação de três cátions metálicos simultaneamente em uma faixa de concentração de 10 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ) até 1500 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ). Conforme foi descrito na introdução, a questão da extensão da faixa de linearidade da determinação eletroanalítica é um problema que está para ser resolvido.

O planejamento deste trabalho envolveu, em um primeiro instante, a determinação em faixas limitadas de concentrações as quais, em uma segunda etapa, foram analisadas de forma simultânea. Desta forma, as amostras foram divididas em três grupos descritos na **Tabela 14**.

**Tabela 14:** Faixas de concentrações utilizadas para estudar a determinação eletroanalítica da mistura de  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  utilizando a voltametria de pulso diferencial e a redissolução anódica.

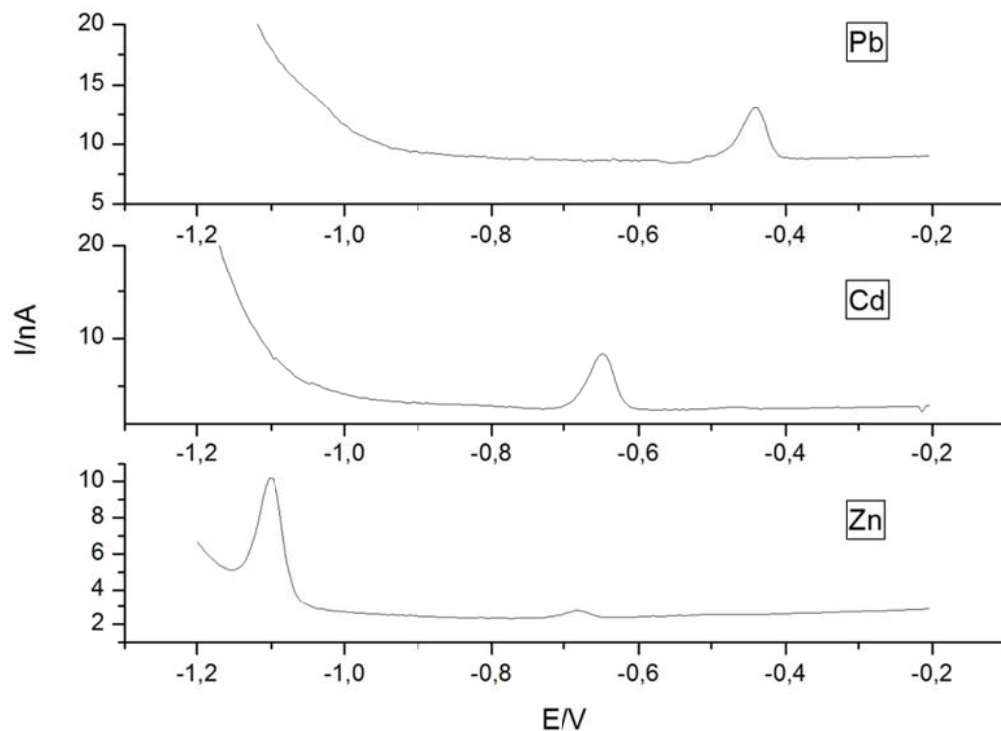
Grupo	Conc. Inicial/ $\mu\text{gL}^{-1}$	Conc. Final/ $\mu\text{gL}^{-1}$
1	10	100
2	150	500
3	500	1500

Os dados foram analisados por regressão linear dos mínimos quadrados parciais (PLS do inglês *Partial Least Squares*) no domínio das Componentes Principais (PC do inglês *Principal Components*), inicialmente para os grupos em separados e, em seguida, para a sua junção. Estes resultados são descritos nas seções seguintes.

É necessário frisar que, por uma questão de comodidade dos leitores, apresentar-se-ão as Tabelas de Planejamento Experimental, já mostradas no capítulo 4, novamente no início de cada seção.

## ***5.2 Voltamogramas típicos para a redissolução anódica dos íons em separado***

Inicialmente, são apresentados na Figura 5.1, os voltamogramas para a redissolução anódica dos 3 íons metálicos em separado.



**Figura 5.1:** Voltamogramas de pulso diferencial para a redissolução anódica de  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  em soluções separadas na concentração de  $100 \mu\text{g/L}$ . Pré-concentração realizada em  $-1,2 \text{ V}$  durante  $60 \text{ s}$ . As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de  $\text{NaAc}$  e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de  $\text{HAc}$ ) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso  $25 \text{ mV}$  e incremento de  $9 \text{ mV}$ .

Na Figura 5.1, vê-se separadamente, a voltametria de redissolução anódica utilizando a técnica diferencial de pulso para cada íons metálico é bastante simples e já foi amplamente estudada na literatura sob diferentes condições de contorno. De uma forma geral, estas são caracterizadas por um único voltamétrica sendo que, em potenciais mais negativos, pode ser observado também o início de uma banda relacionada a reação de evolução de hidrogênio.

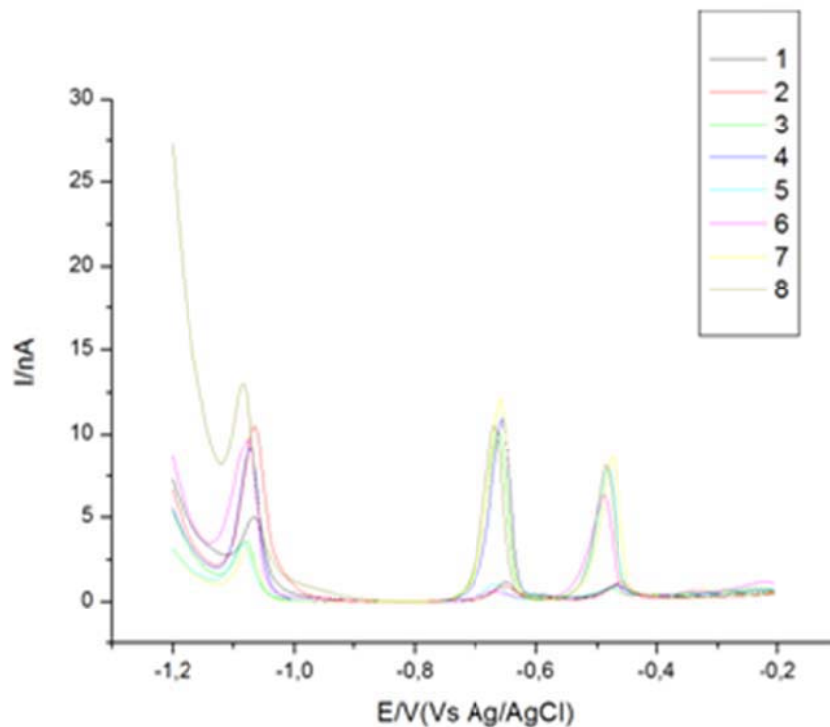
### **5.3. Resultados e discussão para as amostras do Grupo 1.**

A Tabela 15 mostra a matriz de planejamento experimental contendo as concentrações utilizadas para a construção do grupo 1 de amostras. É

importante frisar que, conforme foi descrito no procedimento experimental, todas as medidas foram realizadas em duplicatas verdadeiras, para cálculo do desvio padrão das medidas. Os voltamogramas obtidos para a análise de redissolução anódica das misturas dos três cátions utilizando a voltametria de pulso diferencial na Figura 5.1.

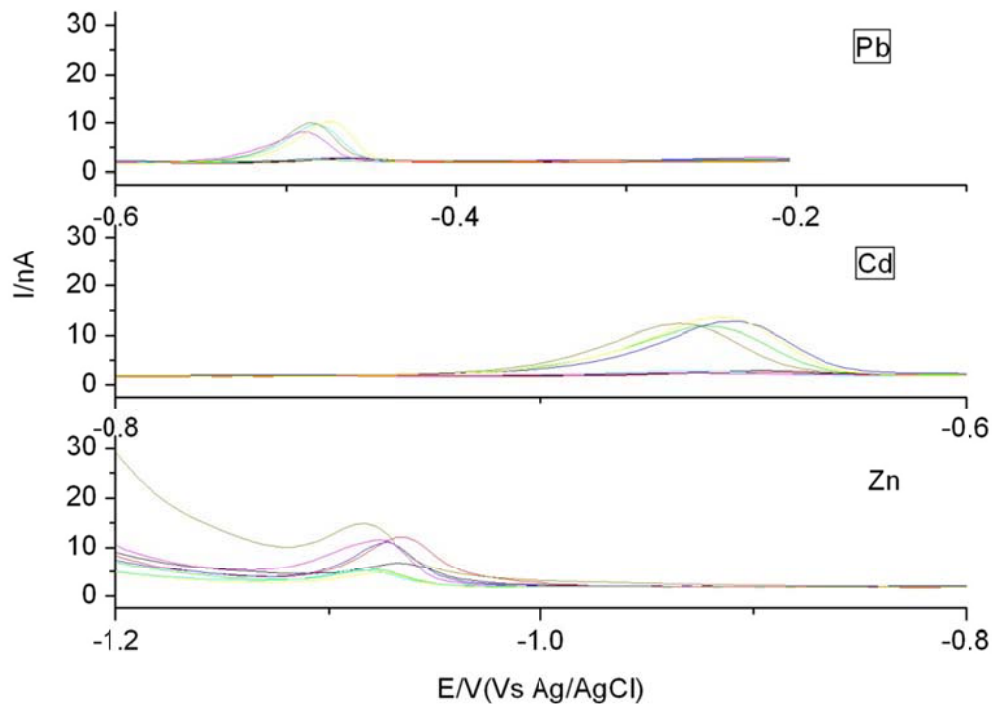
**Tabela 15: Matriz de planejamento experimental para a preparação das soluções de misturas de íons nas concentrações do grupo 1.**

Amostras	Concentrações de cátions metálicos		
	$\text{Zn}^{2+}/\mu\text{gL}^{-1}$	$\text{Cd}^{2+}/\mu\text{gL}^{-1}$	$\text{Pb}^{2+}/\mu\text{gL}^{-1}$
1	10	10	10
2	100	10	10
3	10	100	10
4	100	100	10
5	10	10	100
6	100	10	100
7	10	100	100
8	100	100	100



**Figura 5.2:** Voltamogramas de pulso diferencial para a redissolução anódica de misturas de íons  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ , e  $Pb^{2+}$ , na faixa de concentrações entre 10 e 100  $\mu g/L$  (grupo 1, Tabela 2). Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas e em solução de tampão acetato em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e velocidade de varredura de 10 mV.

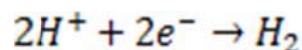
Analisando-se os voltamogramas da Figura 5.2 e comparando-se com aqueles apresentados na Figura 5.1, observam-se claramente 3 picos voltamétricos que estão relacionados com: -1,1 V é referente a oxidação do Zinco, -0,65 V corresponde a oxidação do Cádmiio e -0,45 V está relacionado ao Chumbo. A Figura 5.3 apresenta uma ampliação das regiões próximas aos picos para facilitar a visualização das interações dos picos de oxidação uns sobre os outros.



**Figura 5.3:** Ampliação das regiões próximas aos picos de oxidação dos resultados apresentados na Figura 1. Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

É facilmente observável na Figura 5.3 que, na região de oxidação do Zinco, ocorrem oscilações no valor da corrente, isto é, a intensidade deste parâmetro não é uma função monotônica da concentração do cátion na solução. Além disso, para potenciais aplicados mais negativos do que -1,1 V, fica claro que a corrente relacionada à redução de próton (Equação 24), é deslocada para potenciais mais positivos à medida que a concentração de íons zinco na solução aumenta. Desta forma, fica claro um efeito sinérgico destas duas reações, isto é, quanto maior a quantidade de zinco depositado durante a concentração (a qual é uma função do teor de cátions zinco em solução) maior é a corrente de redução de próton em um dado valor de potencial. É claro que, para a finalidade do

presente trabalho este é um fator complicador. Esta poderia ser explicação do comportamento anômalo da corrente relacionada à oxidação do zinco descrita no texto acima.



Equação 24

Outra consequência da presença de mais de um cátion metálico na solução foi a necessidade de realizar o processo de pré-concentração e redissolução pelo menos 5 vezes para obter dados reprodutíveis. É importante frisar que, na janela de potenciais estudada, o filme de mercúrio formado sobre o eletrodo de grafite não se dissolve, uma vez que esta reação só acontece para potenciais mais positivos do que 0,20 V. Armstrong *et al.* [17] relatam que devido à interação que ocorre entre estes três metais, quando o primeiro deles é oxidado, não existe uma boa sensibilidade na resposta para os dois remanescentes. Desta forma, as correntes de pico para a oxidação dos metais individuais são diferentes daquelas observadas quando na mistura e, além disso, trabalhosas para obter dados reprodutíveis. Por esta razão, pode-se afirmar que uma calibração univariada para este sistema não descreveria adequadamente os fenômenos que são observados quando a determinação ocorre de maneira simultânea. Neste sentido, Antunes *et.al.* [30] afirmam que os métodos de calibração multivariada tem como principal objetivo o estabelecimento de um modelo de calibração proveniente de medidas multivariadas, permitindo a quantificação do analito na presença de interferentes desconhecidos ou em matrizes químicas complexas mesmo que a seletividade do sinal analítico seja pobre.

Como consequência destes fatos, realizou-se esta dissertação de mestrado analisando os resultados multivariadamente o que está descrito nas seções seguintes.

## **5.4. Análise quimiométrica**

### **5.4.1. Pré-tratamento dos dados**

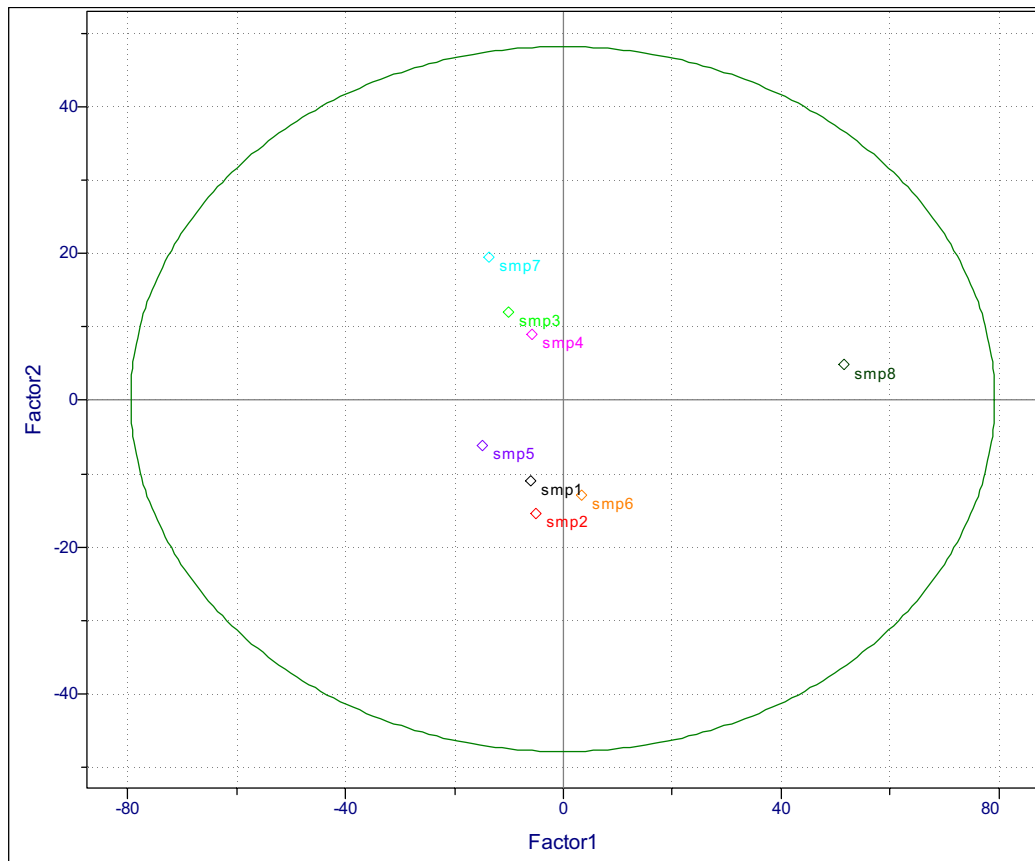
Inicialmente, foi realizada remoção da linha de base, subtraindo-se, de cada voltamograma, o menor valor de corrente, fazendo com que a corrente tenha um valor mínimo de zero. No presente caso, tal procedimento pode ser justificado uma vez que o valor das correntes distantes das regiões dos picos de oxidação são iguais e muito pequenas. Em seguida, como os resultados do potenciostato estavam apresentados em Amperes, dividiu-se todos os voltamogramas pelo valor de  $1 \times 10^{-9}$ , convertendo a escala para nanoAmpere. Este procedimento, apesar de inusitado, mostrou-se essencial para inserir os dados no programa Pirouette. Caso contrário, obtínhamos constantemente queda do programa, muito provavelmente associada à divisão por zero.

Para a construção dos modelos empíricos utilizando o PLS, além do pré-tratamento descrito acima, outros pré-tratamentos de dados foram utilizados e serão descritos na seção adequada.

### **5.4.2 Análise espacial da distribuição dos dados.**

A análise dos *scores* das PCs para as amostras apresentadas na Figura 5.2 está apresentada na Figura 5.4.

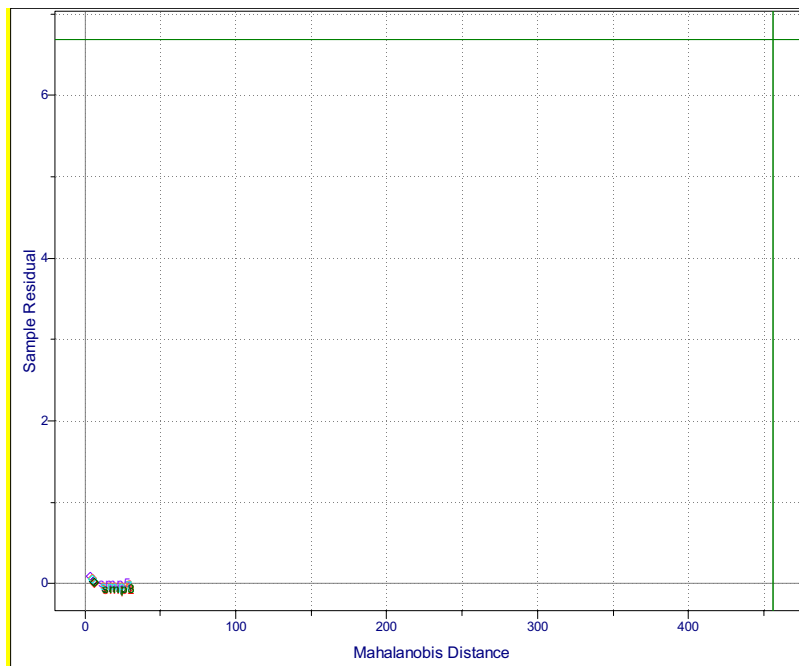




**Figura 5.4:** Scores da PC1 em função da PC2 das amostras ilustradas na Figura 5.2 (Grupo 1). Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

Uma das utilizações da análise de componentes principais é observar tendências que não visíveis na representação do conjunto de dados no seu conjunto de coordenadas originais[33,63]. Neste sentido, analisando-se a Figura 5.4, vê-se que há dois grupos bem definidos, acima e abaixo do zero da PC2. O que parece determinar esta separação é a concentração de Cd<sup>2+</sup>, uma vez que todas as amostras com concentração de 10µg/L ficam abaixo de zero da PC2 e, as amostras com concentração de 100µg/L ficam acima da linha de zero da PC2. Na Figura 5.4, observa-se ainda que a amostra 8 encontra-se um pouco dispersa no grupo 1. Utilizando o diagnóstico de outlier, a amostra que se encontrar fora da área delimitada (elipse em verde na Figura 5.4) pode ser um

*outlier*. Para verificar se esta amostra é realmente uma *outlier*, na Figura 5.5 é apresentado um gráfico que relaciona o resíduo do valor de cada amostra com a sua distância de Mahalanobis.



**Figura 5.5:** Diagnóstico de outlier do conjunto de resultados do Grupo 1, apresentados na Figura 5.2 utilizando o como critério diagnóstico a distância de Mahalanobis. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAC) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

Em um conjunto de amostras no espaço das componentes principais seriam *outliers* aquelas amostras que contivessem simultaneamente um valor alto de resíduo e um alto valor de distância de Mahalanobis[54,64]. Na Figura 5.5, seriam *outliers* as amostras que tivessem valores de resíduo maiores do que 6,5 e, simultaneamente, distâncias de Mahalanobis maiores do que 450, isto é, fora da região dentro das linhas verdes. Desta forma, conclui-se que a amostra 8 não é um *outlier*.

### 5.4.3. Construção de um modelo empírico para a quantificação dos analitos utilizando o método de PLS.

Visto que as amostras do grupo 1 formam um conjunto de dados reprodutíveis e sem outliers, o passo seguinte é a construção dos modelos de calibração da quantidade da mistura de analitos utilizando o método de PLS. Para tanto, inicialmente, os dados foram submetidos aos seguintes pré-tratamentos:

1) correção da linha de base. A correção da linha de base foi realizada para retirar do conjunto de resultados a contribuição das correntes capacitivas que ocorrem na solução sem a presença dos cátions metálicos. Este procedimento pode ser executado de duas formas distintas: subtraindo um conjunto de dados ou utilizando as corrente capacitivas do próprio voltamograma.

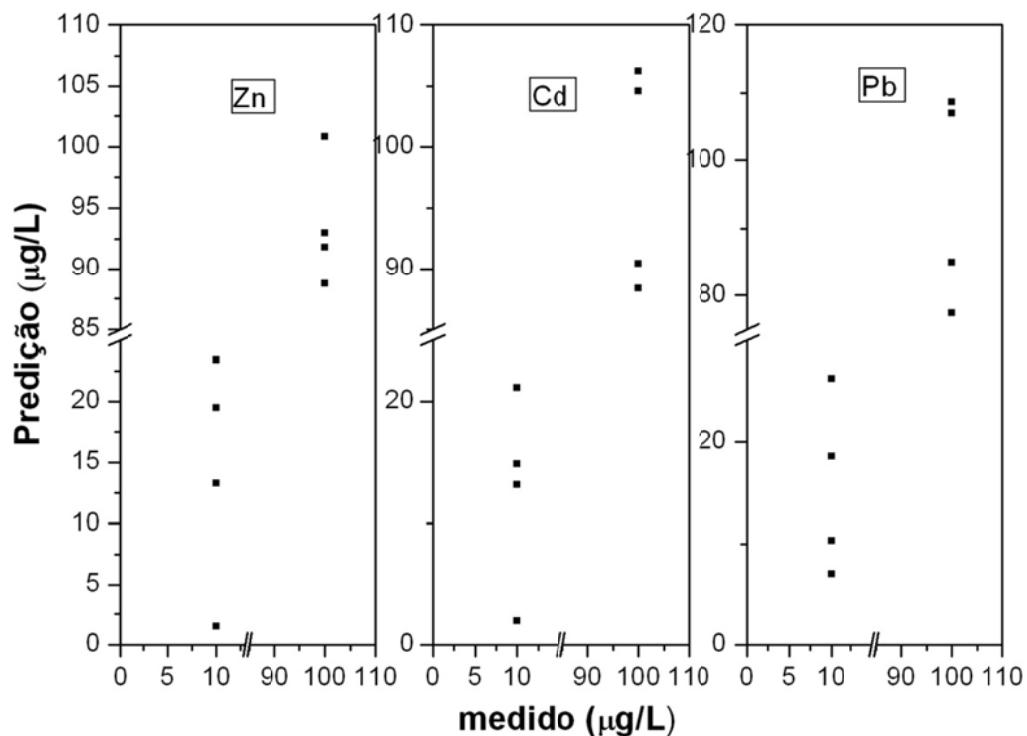
2) centragem de dados na média. Centrar os dados na média facilita a visualização destes porque coloca-se a origem do gráfico no centro do conjunto de dados sem alterar a relação entre as amostras[52].

3) Correção do sinal ortogonal (OSC): A correção do sinal ortogonal remove variações da matriz X (potenciais do voltamograma), que não são relacionadas, isto é, são ortogonais aos dados da resposta, matriz Y[65].

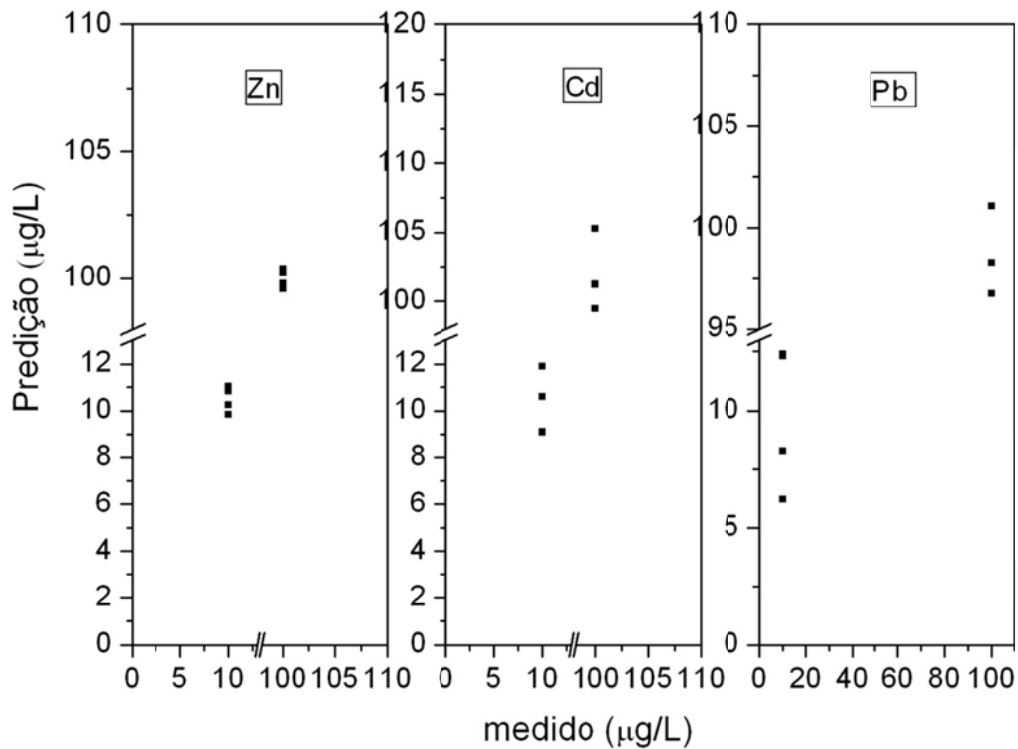
4) Aplicação do logaritmo de base 10 ou da primeira derivada. Estes procedimentos foram usados alternativamente para linearizar a relação entre as variáveis independentes e dependentes.

Após o pré-tratamento, os dados são transformados em componentes principais e, em seguida, em variáveis latentes necessárias para a

calibração por PLS[54]. Aplicando-se o PLS sobre os dados, obtiveram-se os seguintes resultados de predição que estão apresentados na **Figura 5.6** e na Figura 5.7 e na **Tabela 16** e **Tabela 17**, quando os dados foram transformados em  $\log_{10}$  e primeira derivada, respectivamente.



**Figura 5.6:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ , respectivamente, utilizando os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e primeira derivada. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em  $-1,2\text{ V}$  durante  $60\text{ s}$ . As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17\text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20\text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso  $25\text{ mV}$  e incremento de  $9\text{ mV}$



**Figura 5.7:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ , utilizando como pré-tratamento: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e  $\log_{10}$ . Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em  $-1,2$  V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

Na **Tabela 16** e na **Tabela 17** de indicadores de qualidade do modelo de calibração têm-se valores de resíduo e predição de calibração, os quais foram obtidos com a validação cruzada do modelo pelo método ‘*leave one out*’, ou seja, as amostras são inseridas no modelo em seguida uma delas é retirada e faz-se um novo modelo que é capaz de prever a amostra que ficou de fora. Este processo é repetido até que todas as amostras sejam testadas.

**Tabela 16: Valores de PRESS, SECV e correlação(r) obtida para o modelo de PLS-centrado na média e primeira derivada utilizando validação cruzada na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1.**

Indicadores	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
Número de fatores	3	2	2
PRESS	596,2	509,2	1202
SECV	8,633	7,978	12,26
r	0,9862	0,9846	0,9637

**Tabela 17: Valores de PRESS, SECV e correlação(r) obtida para o modelo de PLS-centrado na média e log10 utilizando validação cruzada na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1.**

Indicadores	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
Número de fatores	6	6	6
PRESS	2,238	36,72	337,6
SECV	0,5289	2,143	6,496
r	0,9998	0,9993	0,9922

Um importante indicador a ser observado em um modelo de calibração com validação cruzada é o valor de SECV (quadrado do erro da validação cruzada). A raiz quadrada deste valor fornece o erro que está agregado à predição que o modelo realiza. Como pôde-se observar, fizeram-se dois modelos utilizando pré-tratamentos distintos, e naquele em que se utilizou o logaritmo de base dez obteve-se um ajuste melhor, ou seja, há um erro menor de predição de validação. O erro agregado à predição realizada pelo modelo que

utiliza como pré-tratamento a primeira derivada é de 2,94  $\mu\text{g/L}$  para o  $\text{Zn}^{2+}$ , ao passo que o modelo que utiliza como pré-tratamento o  $\log_{10}$  tem um erro agregado de apenas 0,730  $\mu\text{g/L}$  para o  $\text{Zn}^{2+}$ . Embora o método descrito na Tabela 17 utilize maior número de fatores os erros de predição são muito menores e o valor do fator de correlação do modelo 'r' é bem melhor do que o modelo descrito na Tabela 16.

Uma segunda etapa no estudo da validade do modelo de calibração é a realização da calibração externa do mesmo, a qual é descrita na próxima seção.

#### 5.4.4 Validação externa do grupo 1.

Para a validação externa dos modelos construídos, foram ainda realizadas medidas experimentais com concentrações diferentes daquelas usadas para a calibração, as quais estão descritas na Tabela 18, o qual é conhecido como conjunto de validação.

**Tabela 18: Matriz de planejamento experimental do conjunto de validação das soluções de misturas de íons utilizadas para validar os dados do Grupo 1.**

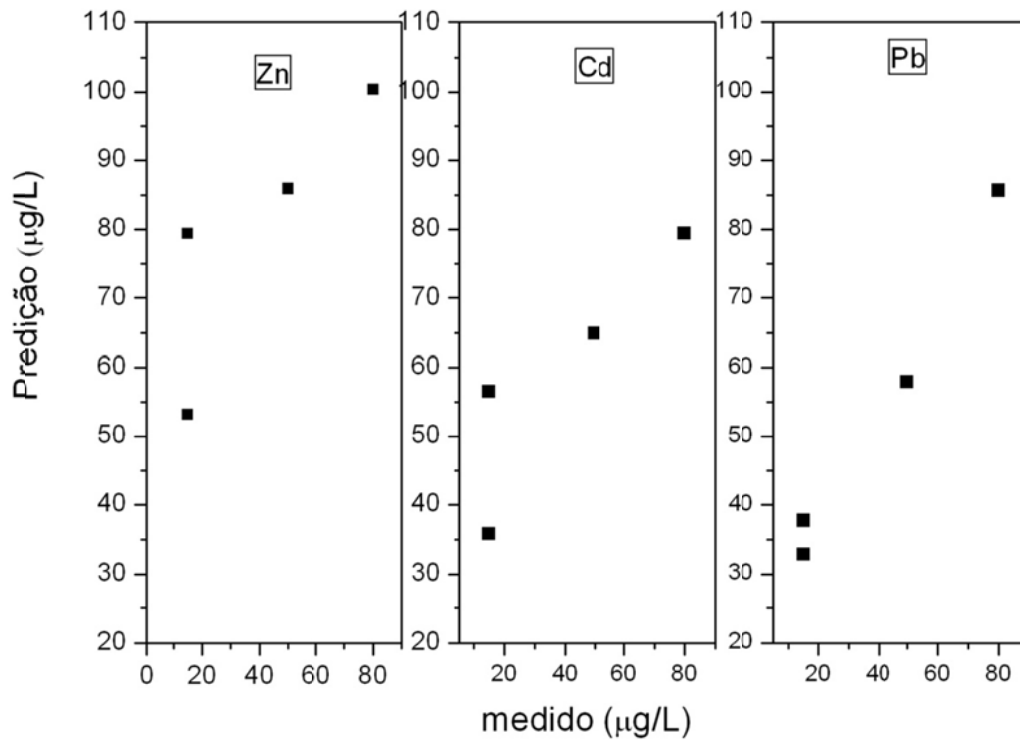
Amostras	Concentrações de cátions metálicos		
	$\text{Zn}^{2+}/\mu\text{gL}^{-1}$	$\text{Cd}^{2+}/\mu\text{gL}^{-1}$	$\text{Pb}^{2+}/\mu\text{gL}^{-1}$
Val 11	50	50	50
Val12	15	15	80
Val13	80	15	15
Val14	15	80	15

Os valores dos indicadores de qualidade para a validação externa são mostrados na **Tabela 19** e na **Figura 5.8**.

Conforme pode ser visto na **Tabela 19**, o valor do coeficiente de correlação do modelo 'r' para os íons metálicos não são suficientemente bons. Especificamente para o  $Zn^{2+}$ , o valor de RMSEV indicar um erro de até cerca de 65,4%, quando é utilizado o menor valor de concentração no intervalo estudado.

Uma possível explicação para este fato é que, via de regra, o conjunto de validação deve ter no máximo 25% do número de amostras do conjunto de calibração. No presente caso, este número é maior uma vez que o conjunto de calibração deste modelo contém 8 amostras e o conjunto de validação contém 4 amostras. Por esta razão, resolvemos fazer um estudo sistemático de retirar um única amostra do conjunto de validação para verificar o seu efeito sobre a predição utilizando PLS apresentadas no Grupo 1. Desta forma, a validação foi feita com apenas três amostras e os resultados estão apresentados na **Tabela 20** e na **Tabela 21**.





**Figura 5.8:** Gráficos com resultados de validação externa para as amostras Val 11, Val 12, Val 13, Val 14, para os cátions metálicos  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ , respectivamente, utilizando o modelo de calibração onde os dados receberam os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e  $\log_{10}$ . Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em  $-1,2$  V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17$  molL $^{-1}$  de NaAc e  $0,20$  molL $^{-1}$  de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

**Tabela 19: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidas para o modelo de PLS- centrado na média e log10 utilizando validação externa na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1.**

	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
SEV	42,76	24,34	15,22
RMSEV	6,540	4,934	3,900
PRESS	7314	2369	927,2
R	0,8392	0,8863	0,9923
Número de fatores	6	6	6
Slope	0,5277	0.5151	0.7857
Intercept	58,61	38,52	23,15

**Tabela 20: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidas para o modelo de PLS- centrado na média e log10 utilizando validação externa na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1. Validação realizada com apenas três amostras.**

	Validação sem amostra Val 11			Validação sem amostra Val 12		
	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
RMSEV	6,692	5,174	4,121	5,698	3,840	4,157
PRESS	6024	2149	865,2	3163	652,4	896,1
r	0,8317	0,8811	0,9965	0,9845	0,9896	0,9829
Número de fatores	6	6	6	6	6	6
Slope	0,5234	0.5124	0,7739	0,7309	0,6756	0,6458

**Tabela 21: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidas para o modelo de PLS- centrado na média e log10 utilizando validação externa na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1. Validação realizada com apenas três amostras.**

	Validação sem amostra Val 13			Validação sem amostra Val 14		
	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
RMSEV	6,925	5,041	3,422	6,647	5,301	3,775
PRESS	6901	1937	411,1	5855	2368	609,3
r	0,6535	0,9803	0,9973	0,9665	0,7231	0,9909
Número de fatores	6	6	6	6	6	6
Slope	0,5603	0,3504	0,8088	0,3179	0,5348	0,7319

Comparando-se os valores dos parâmetros apresentados na Tabela 20 e Tabela 21 com aqueles da Tabela 19, percebe-se que os valores indicam que o último modelo é capaz de predizer um pouco melhor, embora, é claro que os valores não são utilizáveis em casos práticos uma vez que os valores de RMSEV e PRESS ainda são muito grandes.

Entretanto, os valores apresentados na Tabela 20 tornam a visualização da comparação dos parâmetros mais fácil. Comparando a coluna do Zinco vê-se que os valores de ‘r’, ‘slope’ e PRESS melhoraram, ou seja, na validação sem amostra Val 12 o valor de ‘r’ está bem mais próximo de 1 indicando um melhor ajuste do modelo. Além disso, o valor para ‘slope’ também está mais próximo de 1 indicando que as amostras de validação estão ajustadas ao modelo de calibração, contendo um menor resíduo e, como consequência, o valor de PRESS também diminui.

### **5.5. Modelo de calibração para a junção dos grupos 1, 2**

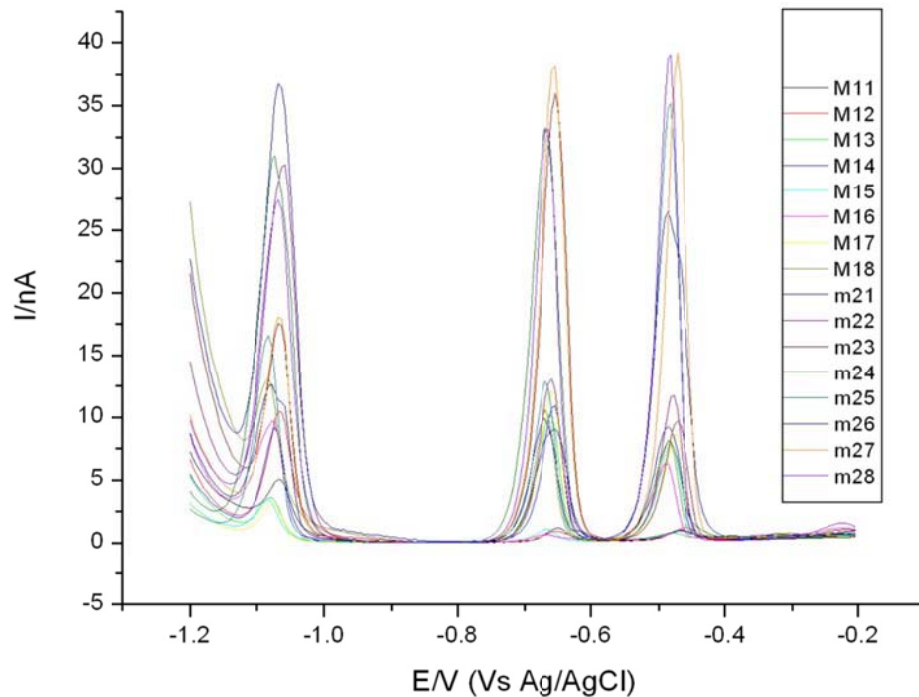
Apesar dos resultados pouco promissores para a validação externa, resolveu-se continuar o tratamento dos dados dos diferentes conjuntos de calibração no intuito de compreender se haveria ao menos um piora significativa da qualidade do ajuste quando comparado com o conjunto restrito da faixa de concentração estudados. Além disso, a validação cruzada apresentou resultados com qualidade aceitável. Por esta razão, em um segundo momento, foi adicionado um novo conjunto de amostras àquelas apresentadas acima e que será denominado Grupo 2 as quais foram medidas em um intervalo de concentrações na faixa de 150 a 500  $\mu\text{gL}^{-1}$ . Os valores das concentrações utilizados neste novo planejamento fatorial estão apresentados na Tabela 22 e os voltamogramas de redissolução anódica por voltametria de pulso diferencial está apresentados na **Figura 5.9**

A junção das amostras descritas na Tabela 22 às amostras do grupo dão origem ao Grupo 1, 2, sobre o qual se realizarão os estudos.

**Tabela 22: Matriz de planejamento experimental para a preparação das soluções de misturas de íons nas concentrações do grupo 2.**

Amostras	Concentrações de $M^{2+}$ $\mu\text{g/L}$		
	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Pb}^{2+}$
01	150	150	150
02	500	150	150
03	150	500	150
04	500	500	150
05	150	150	500
06	500	150	500
07	150	500	500
08	500	500	500

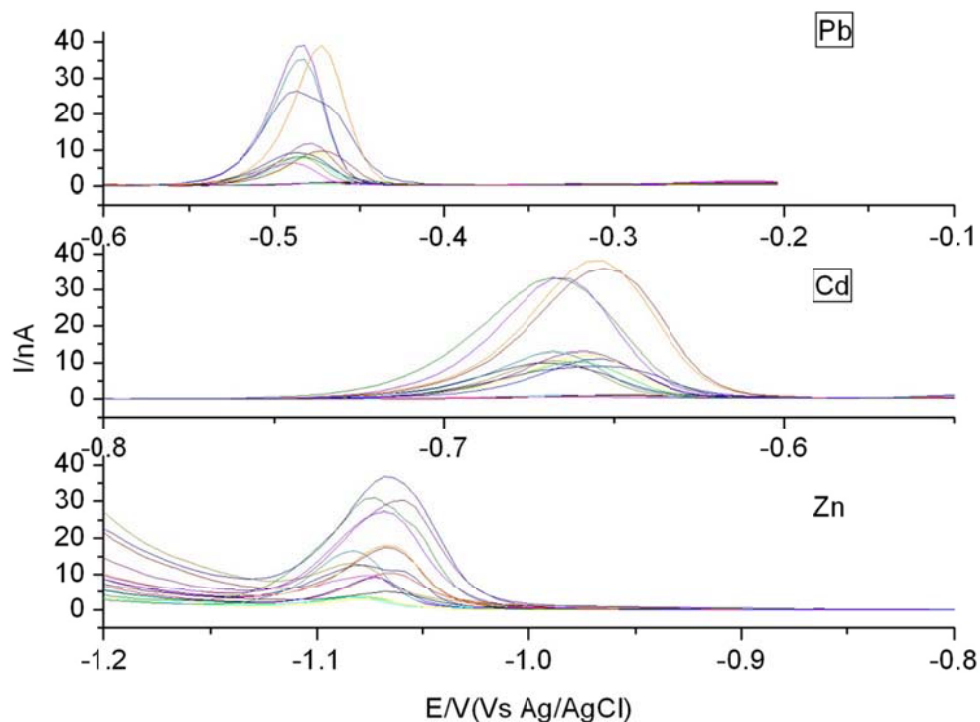
Observando-se a Figura 5.9, vê-se que há uma grande variação nos valores de corrente de picos voltamétricos nas três regiões anteriormente descritas para o  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ . Para uma melhor visualização destes, ampliar-se-á novamente as regiões citadas.



**Figura 5.9:** Voltamogramas de pulso diferencial para a redissolução anódica de misturas de íons  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ , e  $Pb^{2+}$ , na faixa de concentrações entre 10 a 500  $\mu g/L$  (grupo 1,2, apresentados na Tabela 2 e Tabela 22). Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAc) em  $pH=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

Na Figura 5.10, têm-se a ampliação dos voltamogramas obtidos com o Grupo 1, 2. Nesta figura, observa-se que na região de oxidação do Zinco em torno de -1,1 V ocorre de forma mais intensa o problema de sobreposição do pico de redissolução do Zn com o processo de evolução de hidrogênio, isto é, nota-se que à medida que a concentração de  $Zn^{2+}$  aumenta há também uma maior corrente referente à redução de Hidrogênio (Equação 24) dentro do possível processo autocatalítico já descrito. Por conta dessas sobreposições as correntes de oxidação referente ao  $Zn^{2+}$  continuam oscilando de maneira que torna-se difícil observar um padrão de comportamento. Há ainda o fato de que foram incorporadas amostras que possuem concentrações de  $Zn^{2+}$  de 150  $\mu g/L$  e 500  $\mu g/L$ .

Já que não é possível, por simples visualização dos voltamogramas, observar um padrão relacionado ao comportamento das correntes de oxidação do Zn, realizou-se uma análise por componentes principais (PCA) de todos os voltamogramas para ver se, quando as variáveis sofrem a mudança de coordenadas[46], surge algum padrão que facilite a construção de um modelo. Estes dados serão descritos na seção seguinte.

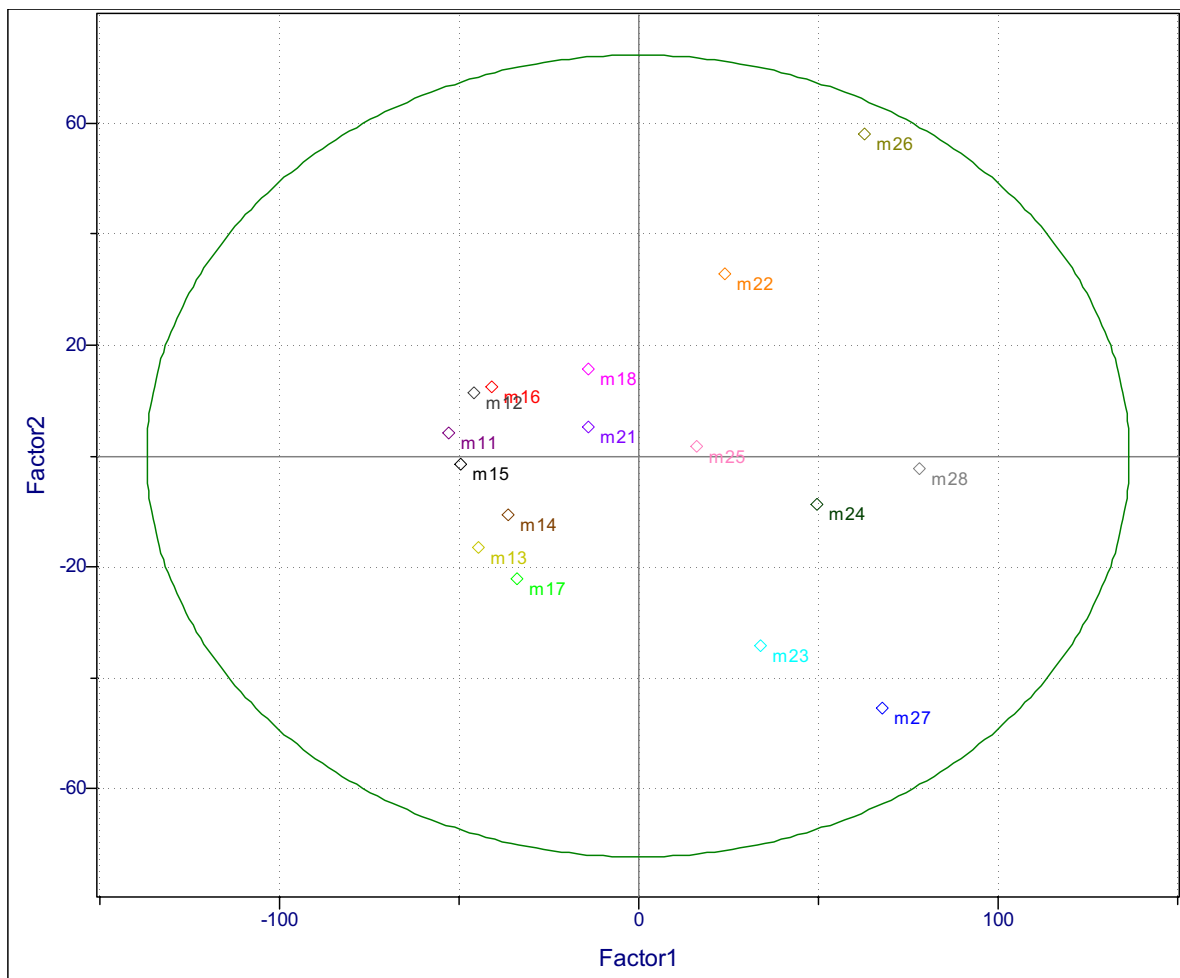


**Figura 5.10:** Ampliação das regiões próximas aos picos de oxidação dos voltamogramas obtidos com o Grupo 1, 2. Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAC) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

### 5.5.1- Pré-tratamento dos dados do Grupo 1, 2.

O pré-tratamento realizado para análise de componentes principais foi o mesmo da sessão anterior, ou seja, remoção da linha de base, dividindo-se cada voltamograma pelo seu menor valor de corrente e centragem dos dados na

média. Como pode ser visto na Figura 5.11, o *score* do fator 1 (PC1) separa as amostras do Grupo 1 (à esquerda) das amostras do grupo 2 (à direita). O que determina a diferença entre essas amostras é a magnitude dos picos dos voltamogramas, que é uma relação direta da concentração dos cátions metálicos nas amostras.



**Figura 5.11:** Scores da PC1 em função da PC2 das amostras ilustradas na Figura 5.9 (Grupo 1, 2).

Na Figura 5.10, onde tem-se as ampliações das regiões dos picos voltamétricos, observam-se que os picos referentes a oxidação do Cd (-0,65V) e a oxidação do Pb (-0,5 V) oscilam bem menos do que o pico de oxidação do



Zinco. Logo, como existe um bom comportamento destes picos pôde-se notar a separação dos dois grupos pela PC1, isto é, nestes casos deve existir alguma correlação entre a densidade de corrente (no conjunto de coordenadas originais) e a PC1 no espaço das componentes principais.

A PC2 mostra uma separação, com relação ao grupo 2 ( a direita da PC1), referente aos níveis de Cádmio. As amostras com concentração de 150  $\mu\text{g/L}$  de  $\text{Cd}^{2+}$  encontram-se abaixo da PC2, e as amostras com 500  $\mu\text{g/L}$   $\text{Cd}^{2+}$ , encontram-se acima da PC2. No entanto, no grupo 1 (a esquerda da PC1) essa separação já não é observável. É interessante notar, que esta separação foi observada quando da representação somente dos *scores* referentes ao Grupo 1 ( Figura 5.4). Como na transformação para componentes principais, as novas coordenadas são uma combinação linear do conjunto original de coordenadas, tal mudança de comportamento poderia estar associada a um maior peso dos coeficientes relacionados a intensidade de corrente.

Utilizando o diagnóstico de *outlier* não foi detectado também no Grupo 1,2 nenhuma amostra nesta condição..

### **5.5.3- Construção de um modelo empírico para a quantificação dos analitos utilizando o método de PLS para o grupo 1, 2.**

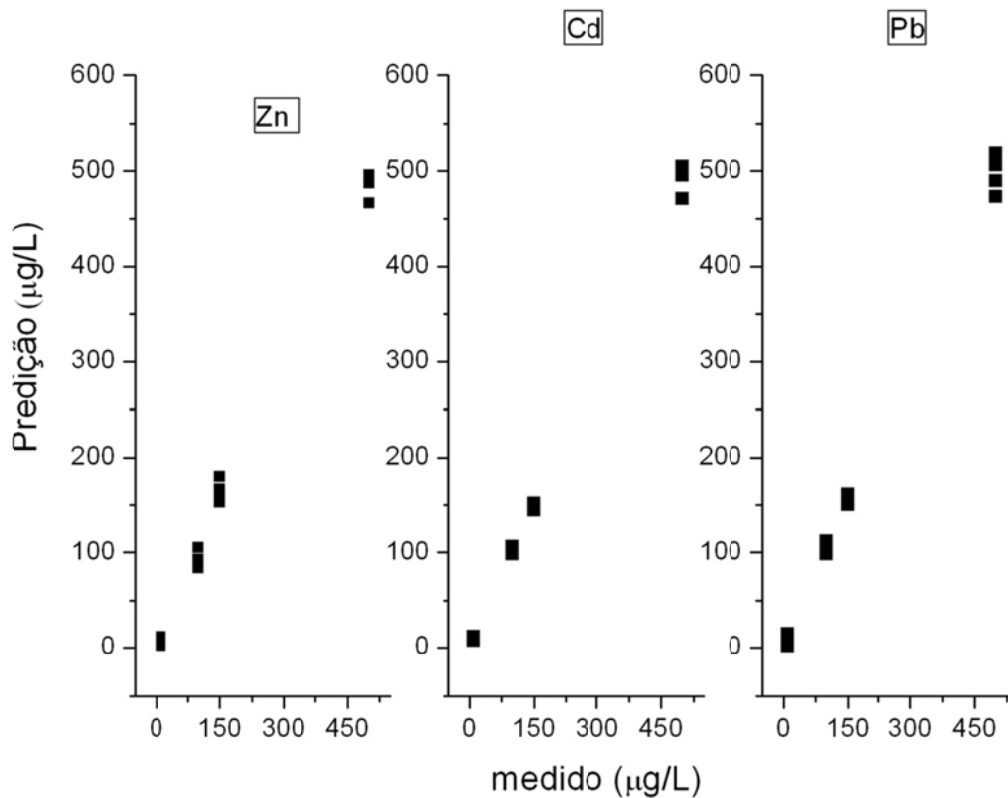
Para analisar os dados do grupo 1, 2, usaram-se quatro tipos de pré-tratamento:

- 1) centrar os dados na média.
- 2) correção da linha de base.
- 3) uma correção do sinal ortogonal (OSC).
- 4) aplicação da primeira derivada.

Neste novo conjunto de dados, o pré-tratamento é basicamente o mesmo que foi utilizado no grupo 1, com exceção da aplicação da primeira derivada no lugar da aplicação do logaritmo de base dez. Neste caso, embora não tenhamos claro o motivo, os resultados utilizando o logaritmo na base dez foram de baixa qualidade. A explicação desse fato poderia residir na influência que os valores de concentração dos cátions metálicos do grupo 2 tem no conjunto geral dos resultados.

Segundo Brereton, a primeira derivada é aplicada para diferenciar picos altamente sobrepostos[33]. Na Figura 5.9, pode-se observar que os picos são sobrepostos e que possuem intensidades diferentes (como seria de esperar) e são relativos as concentrações de cada amostra. Quando a primeira derivada é aplicada o centro desse pico é igualado à zero fazendo com que uma parte do sinal analítico fique acima de zero e outra parte abaixo de zero, sendo assim as intensidades dos picos voltamétricos ficam mais evidentes e fáceis de serem diferenciadas. No entanto, a aplicação da primeira derivada realça os ruídos e, por esta razão, a aplicação deste pré-tratamento torna necessário o uso de uma função que suavize os ruídos[33].

Os resultados de predição obtidos estão apresentados na **Figura 5.12** e na Tabela 22.



**Figura 5.12:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o Zinco, Cádmiio e Chumbo, respectivamente, utilizando como pré-tratamento: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e primeira derivada. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em  $-1,2$  V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17$  molL $^{-1}$  de NaAc e  $0,20$  molL $^{-1}$  de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

**Tabela 23:** Valores de PRESS, SECV e correlação(r) obtida para o modelo de PLS-centrado na média e primeira derivada utilizando validação cruzada na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2.

Indicadores	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
Número de fatores	7	9	8
PRESS	3109	1002	1605
SECV	13,94	7,917	10,02
r	0,9976	0,993	0,9986

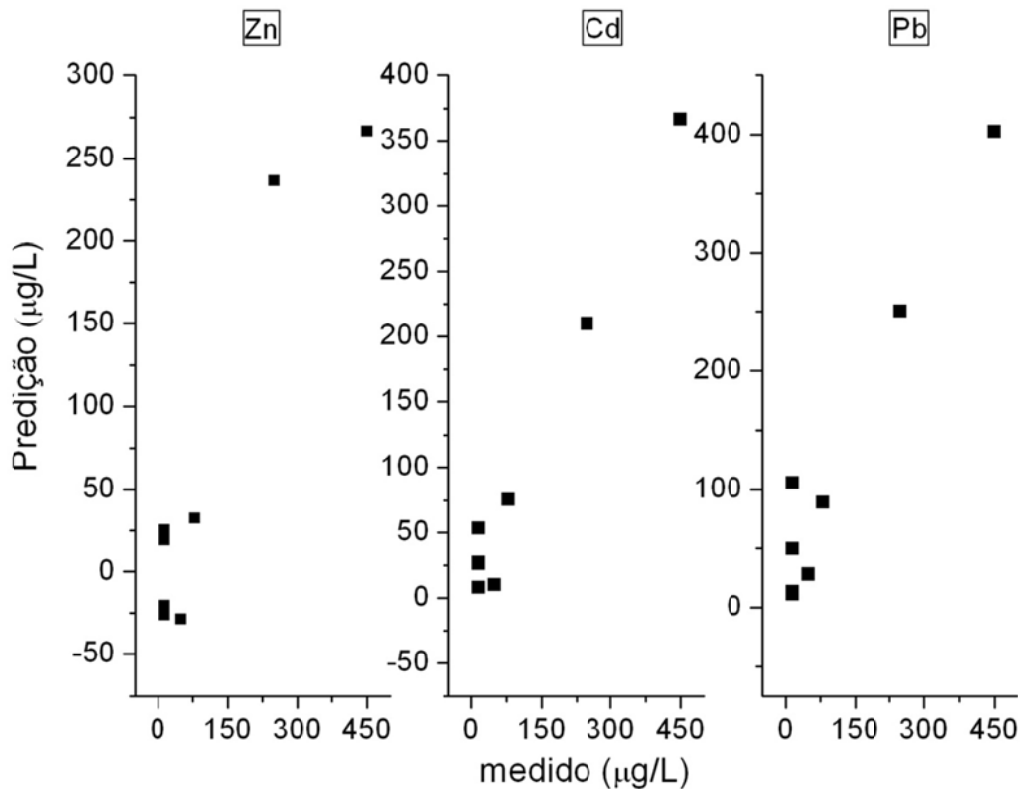
De acordo com a Tabela 23, vê-se que os valores de PRESS para a validação cruzada do cátion metálico  $Zn^{2+}$  é alto, porém o valor de SECV é de 13,94 o que fornece o valor de erro de 3,7  $\mu\text{g/L}$ , considerando o menor valor a ser determinado que é de 10  $\mu\text{g/L}$  tem-se um erro de 37% para o menor valor a ser determinado. Mais uma vez o tratamento de resultados mostra-se sofrível naquelas condições experimentais estudadas.

#### **5.5.4 Validação Externa para o Grupo 1, 2.**

Para validação externa do modelo de calibração construído a partir do Grupo 1, 2 utilizou-se as medidas do grupo de validação descrito na Tabela 24. Na Figura 5.13, estão apresentados os gráficos obtidos para validação externa do Grupo 1, 2. Neste gráfico, tem-se a comparação dos valores determinados pela validação externa com os valores previstos.

**Tabela 24: Matriz de planejamento experimental do conjunto de validação das soluções de misturas de íons utilizadas para validar os dados do Grupo 1, 2.**

	<b>Concentrações de cátions metálicos</b>		
<b>mostras</b>	<b>Zn<sup>2+</sup>/μgL<sup>-1</sup></b>	<b>Cd<sup>2+</sup>/μgL<sup>-1</sup></b>	<b>Pb<sup>2+</sup>/μgL<sup>-1</sup></b>
Val 11	50	50	50
Val12	15	15	80
Val13	80	15	15
Val14	15	80	15
Val21	15	15	450
Val22	15	450	15
Val23	450	15	15
Val24	250	250	250



**Figura 5.13:** Gráficos com resultados de validação externa para as amostras Val 11, Val 12, Val 13, Val 14, Val 21, Val 22, Val 23 e Val 24 para os cátions metálicos  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ , respectivamente, utilizando o modelo de calibração onde os dados receberam os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e primeira derivada. Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em  $-1,2$  V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17$  molL $^{-1}$  de NaAc e  $0,20$  molL $^{-1}$  de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

Pode-se observar tanto na Figura 5.13 como na Tabela 25 os indicadores de qualidade da validação externa realizada com o conjunto de calibração do Grupo 1, 2. O principal indicador a ser analisado é o RMSEV (o erro de validação). Para o  $Zn^{2+}$ , o valor para o erro de validação é de  $8,67\mu\text{g/L}$ . Desta forma, como o menor valor de concentração a ser determinado nas amostras de validação externa é de  $15\mu\text{g/L}$ , tem-se um erro de 58% para esta concentração referente ao  $Zn^{2+}$ , o que é inaceitável desde um ponto de vista prático. Por outro lado, é importante frisar que a qualidade do modelo não sofreu

modificações significativas quando se compara a validação externa para o Grupo 1 com o Grupo 1,2

Para os outros cátions metálicos o RMSEV é de 6,22  $\mu\text{g/L}$  o que fornece um erro de 41%, usando como referência o menor valor de concentração a ser determinado nas amostras de validação externa.

Com o intuito de melhorar a qualidade do modelo, decidiu-se criar um novo modelo que incluirá no conjunto de calibração as amostras que foram validadas para o Grupo 1, o qual denominou-se Grupo 1,2 expandido o qual é discutido na próxima seção.

**Tabela 25: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidos para o modelo de PLS centrado na média e primeira derivada utilizando validação externa na determinação simultânea de  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2.**

	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Pb}^{2+}$
SEV	75,24	38,67	38,96
RMSEV	8,67	6,22	6,22
PRESS	45292	11963	12143
r	0,9398	0,9877	0,9707
Número de fatores	7	9	8
Slope	0,7060	0,7924	0,8501
Intercept	-15,39	7,0682	8,849

### **5.6. Modelo de calibração para a junção dos grupos 1, 2 expandido.**

Incluíram-se no grupo 1, 2, mais quatro amostras, Val11, Val12, Val 13 e Val14, isto é, o conjunto de validação utilizado para analisar a qualidade do modelo do Grupo 1. O objetivo de se incluir estas novas amostras na calibração é observar se modelo fica mais robusto[66] e, assim, ser capaz de realizar as predições de validação externa com um menor erro. Como todas as amostras de validação do grupo 1 não foram diagnosticadas como *outliers*, decidiu-se inseri-las no grupo 1, 2. Este novo grupo de amostras chamar-se-á grupo 1, 2 expandido.

O pré-tratamento realizado para o grupo 1, 2 expandido é o mesmo utilizado no grupo 1, 2, ou seja:

1. -centrar os dados na média.
2. -correção da linha de base.
3. - aplicação da primeira derivada
4. -uma correção do sinal ortogonal (OSC).

A distribuição dos dados obtida com análise de componentes principais mostrou o mesmo comportamento da análise realizada no grupo 1, 2. Para resumir o número de dados apresentados colocar-se-á diretamente os valores com os indicadores de qualidade para o modelo de calibração PLS utilizando o Grupo1, 2 expandido na Tabela 26.



**Tabela 26: Valores de PRESS, SECV e correlação(r) obtida para o modelo de PLS-centrado na média e primeira derivada utilizando validação cruzada na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2 expandido.**

<b>Indicadores</b>	<b><math>Zn^{2+}</math></b>	<b><math>Cd^{2+}</math></b>	<b><math>Pb^{2+}</math></b>
Número de fatores	4	8	5
PRESS	5440	398,3	6424
SECV	16,49	4,46	17,92
R	0,9957	0,9998	0,9950

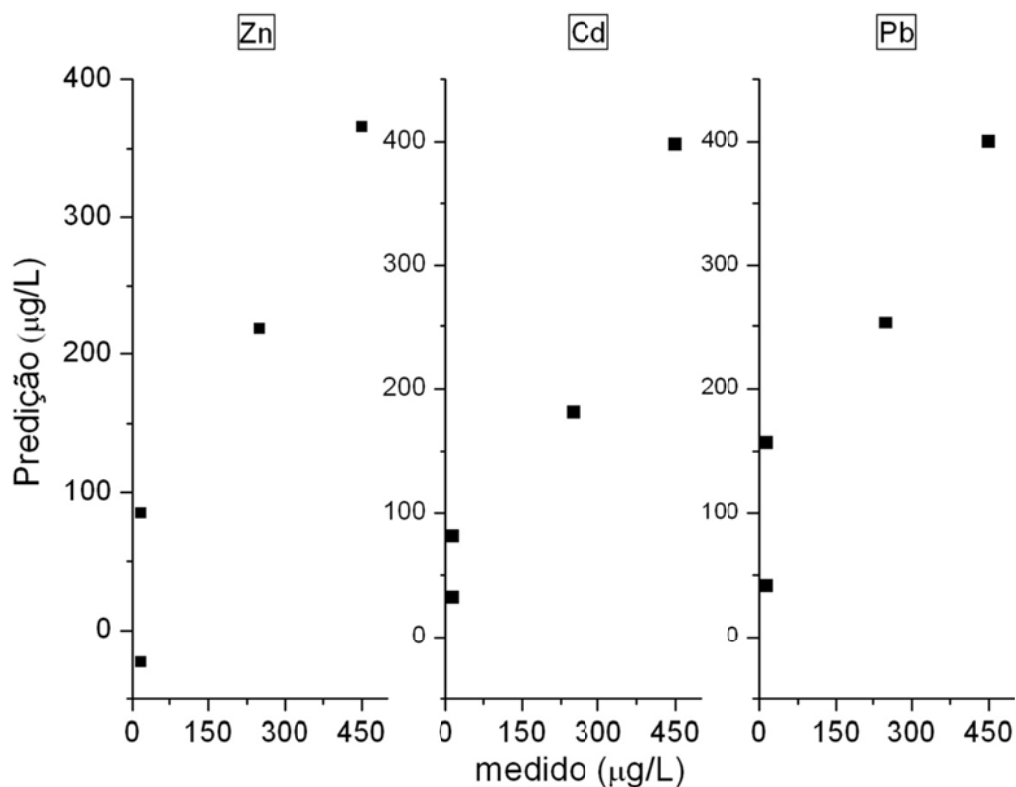
Os valores da Tabela 26 devem ser comparados com os valores da Tabela 23. O valor para SECV aumentou um pouco, mas a magnitude do erro não sofre uma mudança significativa. Houve uma pequena piora no erro de predição, porém o número de fatores utilizados, neste caso variáveis latentes, para explicar o resultado é de apenas 4 para o presente modelo, enquanto era de 7 para o modelo do grupo 1, 2. Desta forma, o número de variáveis latentes utilizados no presente modelo é bem menor do que aquele construído com o grupo 1, 2.

### 5.6.1 Validação externa para o grupo 1, 2 expandido

Como foram inseridas as amostras de validação externa do grupo 1 ao conjunto de calibração do grupo 1, 2 dando origem ao grupo 1, 2 expandido, o novo conjunto de amostras de validação externa é descrito na Tabela 27.

**Tabela 27: Matriz de planejamento experimental do conjunto de validação das soluções de misturas de íons utilizadas para validar os dados do Grupo 1, 2 expandido.**

	Concentrações de cátions metálicos		
mostras	Zn <sup>2+</sup> /μgL <sup>-1</sup>	Cd <sup>2+</sup> /μgL <sup>-1</sup>	Pb <sup>2+</sup> /μgL <sup>-1</sup>
Val21	15	15	450
Val22	15	450	15
Val23	450	15	15
Val24	250	250	250



**Figura 5.14:** Gráficos com resultados de validação externa para as amostras Val 21, Val 22, Val 23 e Val24 para os cátions metálicos Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, respectivamente, utilizando o modelo de calibração onde os dados receberam os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 1 OSC e primeira derivada.

Dados medidos nas seguintes condições experimentais: Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato (0,17 molL<sup>-1</sup> de NaAc e 0,20 molL<sup>-1</sup> de HAc) em pH=4,0. Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

Na Figura 5.14, estão os gráficos dos valores calculados na validação externa em função dos valores previstos, e na Tabela 28 têm-se os valores dos indicadores de qualidade para validação externa do grupo 1, 2 expandido.

**Tabela 28: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidos para o modelo de PLS centrado na média e primeira derivada utilizando validação externa na determinação simultânea de Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> e Pb<sup>2+</sup> por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2 expandido.**

	Zn <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>
SEV	70,89	105,63	85,12
RMSEV	8,42	10,3	9,23
PRESS	20099	44625	28980
r	0,9597	0,8163	0,9061
Número de fatores	8	7	7
Slope	1,0354	0,6262	0,6662
Intercept	37,64	75,13	80,05

Os indicadores contidos na Tabela 28, mostram valores não satisfatórios com relação ao RMSEV, e os valores de PRESS mostram que os erros de predição da validação são muito altos. Por exemplo, o valor de RMSEV para Cd<sup>2+</sup>, que tem apresentado o melhor comportamento até o momento, é 10, 3µg/L, ou seja, o erro é maior do que o menor valor de concentração nas amostras de calibração. Além disso, o diagnóstico de *outliers* para o Zn<sup>2+</sup>

mostrou que a amostra Val 23 é uma amostra com comportamento anômalo (*outlier*). Desta forma, decidiu-se reconstruir o modelo sem esta amostra e os valores indicadores de qualidade estão apresentados na Tabela 29.

**Tabela 29:** Valores de indicadores de qualidade de predição obtidos para o modelo de PLS centrado na média e primeira derivada utilizando validação externa na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2 expandido, sem amostra Val 23 (*outlier*).

	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
SEV	57,74	69,84	38,42
RMSEV	7,60	8,36	6,20
PRESS	10000	14633	4430
r	0,9408	0,9608	0,9972
Número de fatores	8	7	7
Slope	0,5807	0,8704	0,8585
Intercept	64,43	-17,63	6,992

Comparando-se os valores contidos na Tabela 29 com os valores da Tabela 28 percebe-se que os valores de RMSEV são melhores para o modelo sem *outlier*.

Como a idéia de construir o modelo de calibração com o grupo 1, 2 expandido era observar se a inclusão de novas amostras no conjunto de calibração deixaria o modelo mais robusto[66], faz-se necessário comparar os indicadores do modelo do grupo 1, 2 com o modelo do grupo 1, 2 expandido sem a presença daquela amostra que apresentou comportamento anômalo, Val 23.

Na Tabela 30 tem-se a comparação dos dois modelos.

**Tabela 30: Comparação dos valores para os indicadores do modelo para validação externa do grupo 1, 2 com o grupo 1, 2 expandido.**

	Indicadores de validação externa do grupo 1, 2.			Indicadores de validação externa do grupo 1, 2 expandido		
	Zn <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>
<b>SEV</b>	75,24	38,67	38,96	57,74	69,84	38,42
<b>RMSEV</b>	8,67	6,22	6,22	7,60	8,36	6,20
<b>PRESS</b>	45292	11963	12143	10000	14633	4430
<b>r</b>	0,9398	0,9877	0,9707	0,9408	0,9608	0,9972
<b>Número de fatores</b>	7	9	8	8	7	7
<b>Slope</b>	0,7060	0,7924	0,8501	0,5807	0,8704	0,8585
<b>Intercept</b>	-15,39	7,0682	8,849	64,43	-17,63	6,992

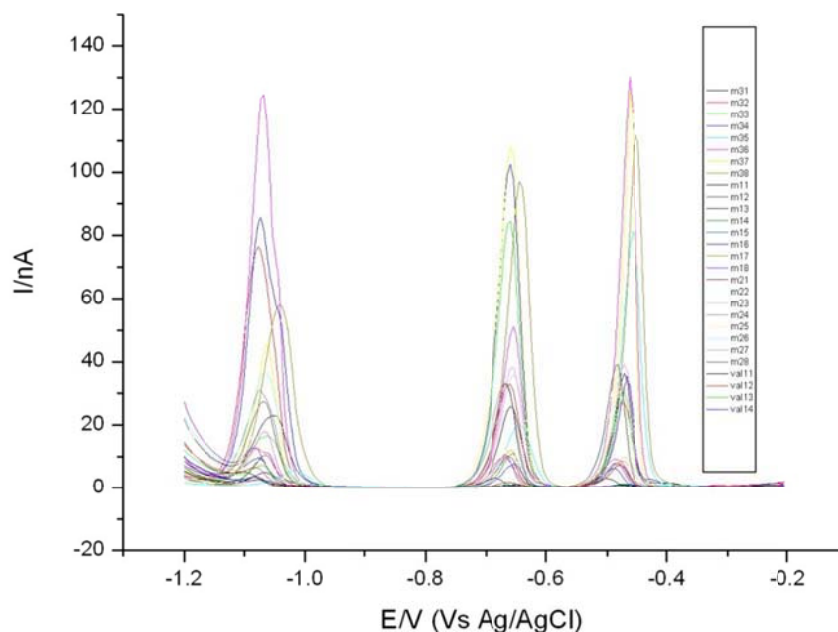
Ao compararem-se os valores dos dois modelos que estão descritos na Tabela 30, percebe-se que há uma pequena melhora para o modelo do grupo 1, 2 expandido. Os valores de RMSEV basicamente ficam inalterados já que há uma pequena melhora para o valor de RMSEV do Zn<sup>2+</sup>, porém o valor de RMSEV para Cd<sup>2+</sup> piora, dessa forma não se percebe vantagem entre um modelo e outro, porém o modelo do grupo 1, 2 expandido apresenta menor número de fatores, ou seja, é possível determinar os valores descritos na tabela com um menor conjunto de variáveis latentes.

### 5.7 Modelo de calibração para junção dos grupos 1, 2 e 3.

Adicionou-se ao grupo 1, 2 expandido o grupo 3 de amostras que contêm as concentrações descritas na Tabela 31. Esse novo conjunto de amostras será o Grupo 1,2,3.

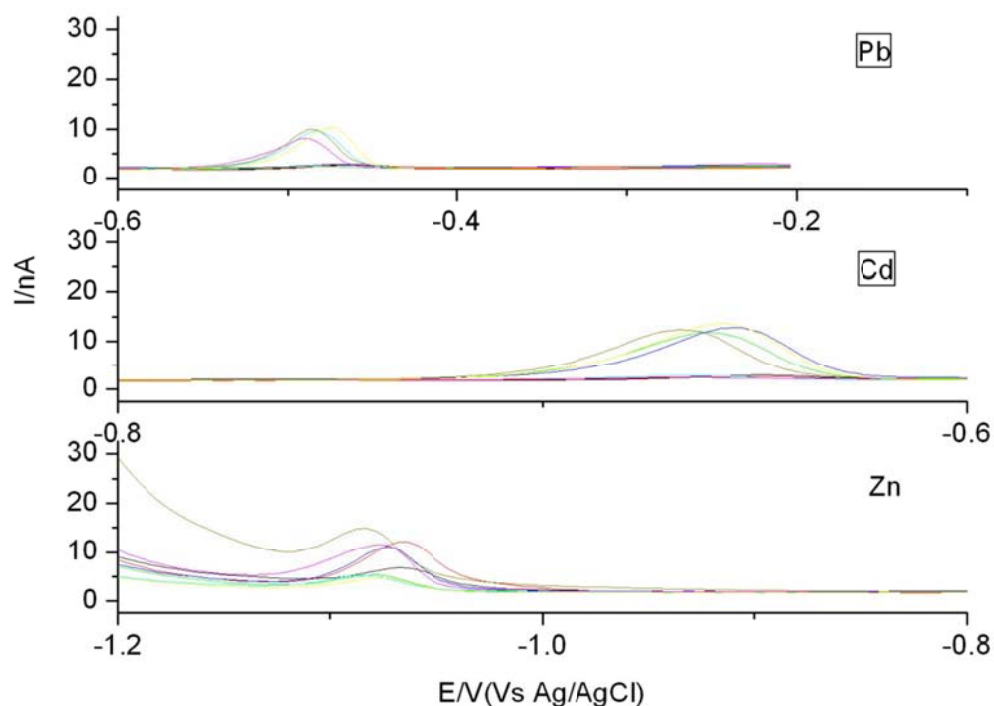
**Tabela 31: Matriz de planejamento experimental para a preparação das soluções de misturas de íons nas concentrações do grupo 3.**

mostras	Concentrações de cátions metálicos		
	Zn <sup>2+</sup> /µgL <sup>-1</sup>	Cd <sup>2+</sup> /µgL <sup>-1</sup>	Pb <sup>2+</sup> /µgL <sup>-1</sup>
Cal31	500	500	500
Cal32	1500	500	500
Cal33	500	1500	500
Cal34	1500	1500	500
Cal35	500	500	1500
Cal36	1500	500	1500
Cal 37	500	1500	1500
Cal 38	1500	1500	1500



**Figura 5.15:** Voltamogramas de pulso diferencial para a redissolução anódica de misturas de íons  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ , e  $Pb^{2+}$ , na faixa de concentrações entre 10 a  $1500\mu g/L$  (grupo 1, 2 e 3, Tabela 31). Pré-concentração realizada em  $-1,2 V$  durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 molL^{-1}$  de NaAc e  $0,20 molL^{-1}$  de HAC) em  $pH=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

Na Figura 5.16, têm-se a ampliação das regiões dos potenciais onde ocorre a oxidação dos metais Zn, Cd e Pb, para o Grupo 1,2,3. Nesta figura, vê-se que a sobreposição dos picos é ainda maior do que aquelas observadas nos grupos anteriores, ainda há o nítido deslocamento dos potenciais onde ocorre a oxidação dos metais que foram reduzidos na superfície do eletrodo[17]. Esse deslocamento ocorre como processo intrínseco do aumento das concentrações dos cátions metálicos que serão reduzidos na superfície do eletrodo e em seguida oxidados. Como a população de cátions nesse experimento é maior, uma parte dessa população irá se oxidar em potenciais mais negativos e uma outra parte em potenciais mais positivos do que aqueles observados anteriormente, sendo assim ocorre um alargamento dos picos dos voltamogramas[27].



**Figura 5.16:** Ampliação das regiões próximas aos picos de oxidação dos voltamogramas obtidos com o Grupo 1, 2 e 3. Pré-concentração realizada em -1,2 V durante 60 s. As medidas foram realizadas em solução de tampão acetato ( $0,17 \text{ molL}^{-1}$  de NaAc e  $0,20 \text{ molL}^{-1}$  de HAC) em  $\text{pH}=4,0$ . Foi utilizada uma amplitude de pulso 25 mV e incremento de 9 mV.

### 5.7.1. Análise espacial da distribuição dos dados do Grupo 1, 2,3.

Uma vez mais o pré-tratamento realizado para análise de componentes principais foi o mesmo da sessão anterior, ou seja, remoção da linha de base, dividindo-se cada voltamograma pelo seu menor valor de corrente e centragem dos dados na média.



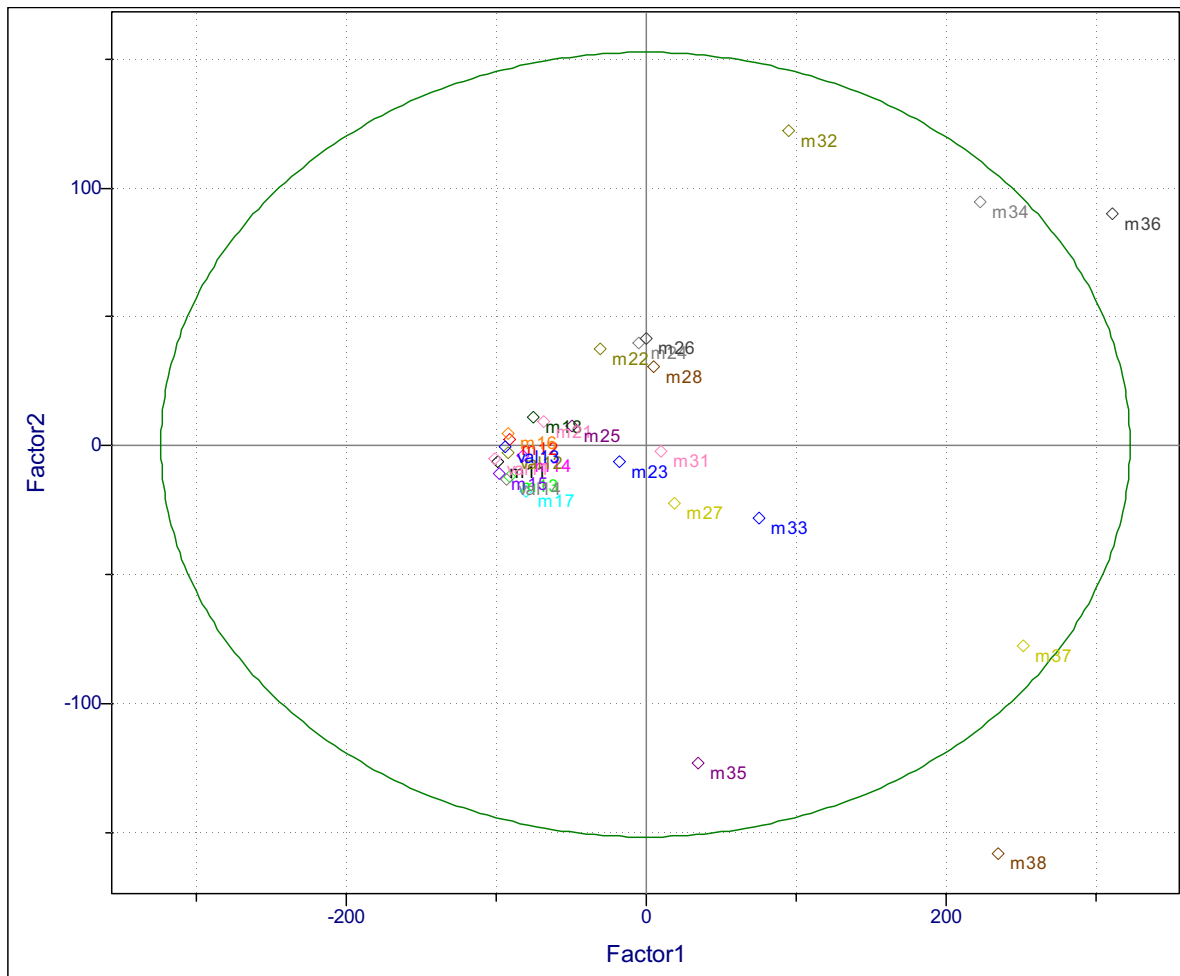


Figura 5.17: Scores da PC1 em função da PC2 das amostras ilustradas na Figura 5.15 (Grupo 1, 2 e 3).

Observando a Figura 5.17 vê-se que há a formação de dois grupos. No primeiro grupo, à esquerda da PC1, encontram-se as amostras do grupo 1 e há neste grupo algumas amostras do grupo 2. No segundo grupo, à direita da PC1 encontram-se algumas amostras do grupo 2 e as amostras do grupo 3, embora haja algumas amostras fora da elipse verde, nenhuma amostra foi considerada *outlier*, segundo o diagnóstico de outliers. Desta forma, o que parece determinar a separação dos dois grupos é a intensidade dos picos, ou seja, a concentração dos cátions metálicos nas amostras.

A PC2 separa as amostras do grupo 3 e amostras do grupo 2 com relação a concentração de  $Zn^{2+}$ . As amostras com concentração inferior de  $Zn^{2+}$

estão abaixo da PC2 e as amostras com concentração superior estão acima da PC2.

### **5.7.2.- Construção de um modelo empírico para a quantificação dos analitos utilizando o método de PLS para o grupo 1, 2 e 3.**

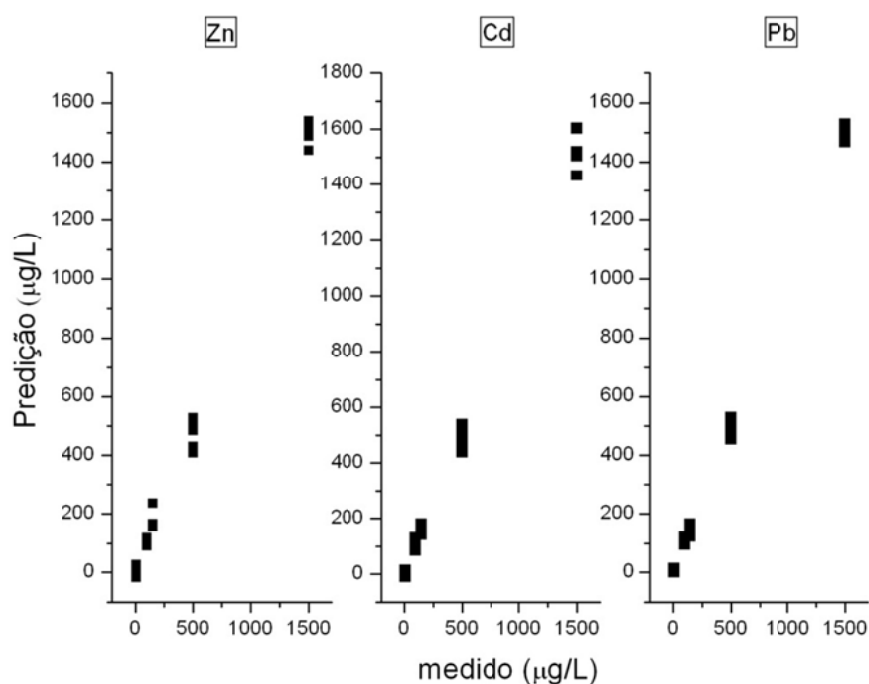
O pré-tratamento utilizado na construção deste modelo empírico de calibração foram os seguintes:

- 1) centrar os dados na média.
- 2) correção da linha de base.
- 3) duas correções de sinal ortogonal (OSC).
- 4) aplicação da segunda derivada
- 5) aplicação do logaritmo de base dez.

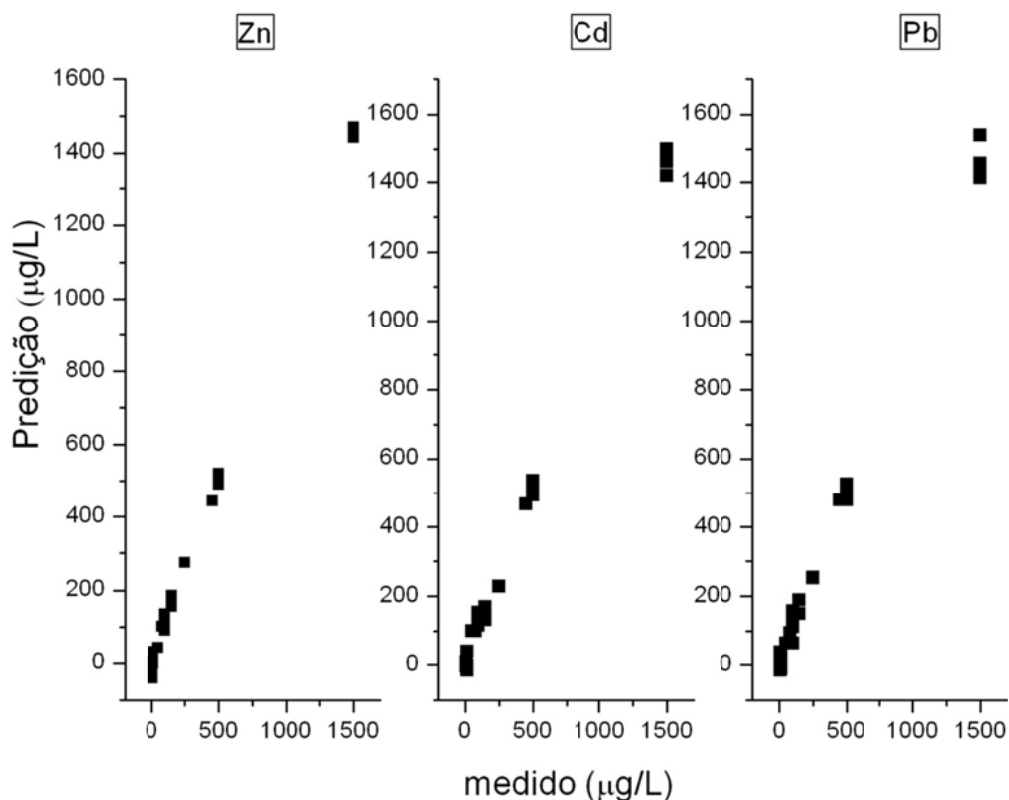
As escolhas dos itens 4 e 5 do processo de pré-tratamento de dados foi empírica ou para se comparar com os modelos propostos anteriormente. Embora a motivação tenha sido com o objetivo de descrever melhor os dados, propôs-se por meio de tentativas uma explicação mais fundamental para tal necessidade de pré-tratamento. Em primeiro lugar, é bem conhecido que a região linear entre variável independente e dependente, para a grande maioria das técnicas analíticas, é sempre restrita, isto é, tal tipo de relação só existe em 1 até no máximo 2 diferenças de ordens de magnitude entre a menor e maior concentração estudada. O processo de derivação, além do efeito de subtrair uma corrente capacitiva dos resultados, abaixa a ordem do polinômio que deve ser usado para descrever os dados. Desta forma, a necessidade de usar a segunda derivada, poderia estar relacionado ao fato que a dependência entre a

concentração e a corrente de pico é uma relação polinomial de ordem 3. No presente caso, infelizmente não se conseguiria observar diretamente este comportamento nas curvas ilustradas na Figura 5.15, devido a uma possível interação entre os diferentes processos faradaicos. Por esta razão, o teste não está apresentado aqui.

Nesta etapa de análise também construiu-se dois modelos. Em um deles utilizou-se todos os pré-tratamentos acima descritos e no outro não se utilizou apenas o logaritmo de base dez. O objetivo destes dois experimentos foi observar se o tratamento com o logaritmo de base dez consegue ajustar melhor o modelo. Os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 5.18 e na Figura 5.19 e Tabela 32.



**Figura 5.18:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o Zinco, Cádmi e Chumbo, respectivamente, utilizando como pré-tratamento: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 2 OSC e segunda derivada.



**Figura 5.19:** Gráfico com ajuste do modelo de calibração para o Zinco, Cádmiio e Chumbo, respectivamente, utilizando como pré-tratamento: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 2 OSC , segunda derivada e aplicação do log10.

**Tabela 32:** Valores de PRESS, SECV e correlação( $r$ ) obtida para o modelo de PLS-centrado na média, 2 OSC e segunda derivada utilizando validação cruzada na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2 e 3.

Indicadores	Modelo sem log10			Modelo com log10		
	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
Número de fatores	6	7	6	6	5	5
PRESS	6339	12873	6998	12151	10731	21751
SECV	15,05	21,44	15,81	20,83	19,58	27,87
$r$	0,995	0,9990	0,9995	0,9993	0,9994	0,9987

De uma forma inesperada, o modelo sem log10 tem menor valor de SECV, ou seja, menor erro de predição é o melhor modelo entre os dois. Provavelmente, este efeito decorre da utilização da segunda derivada sobre o conjunto de dados, embora não se tenha conseguido encontrar nenhuma explicação mais fundamental para este fato. Na etapa, validação externa, o modelo sem o pré-tratamento log10 será usado.

### 5.7.3. Validação externa para o grupo 1,2,3.

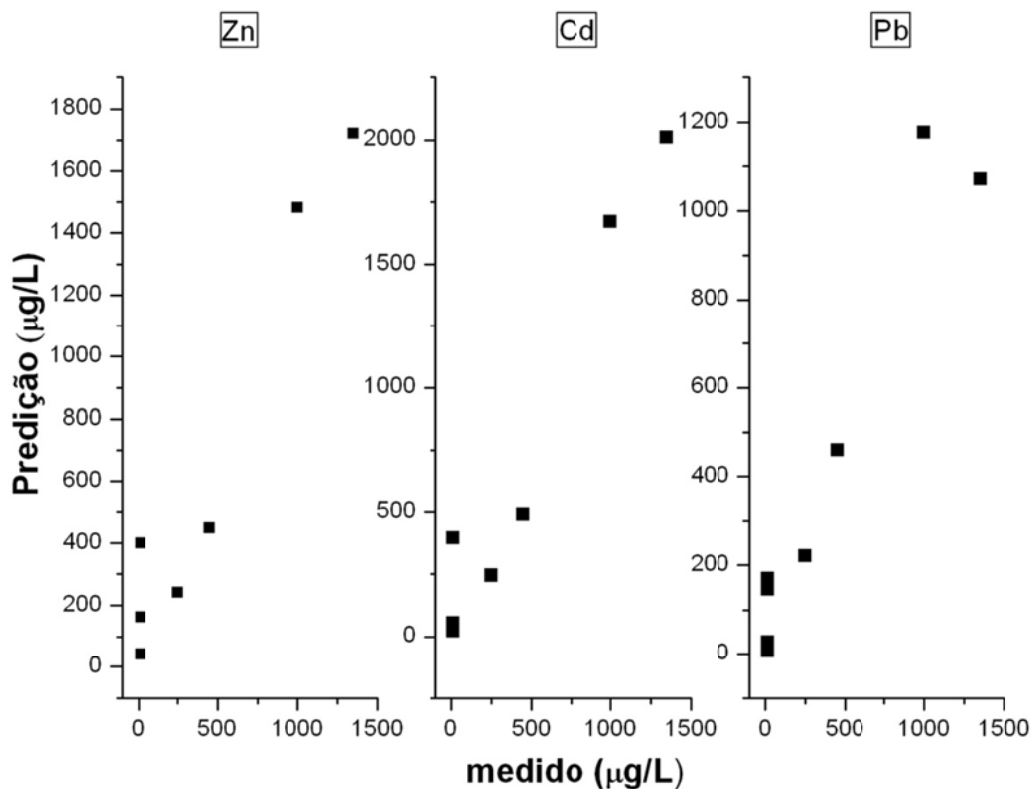
Para validação externa do modelo de calibração construído a partir do Grupo 1,2,3 utilizaram-se as medidas do grupo de validação descritos na Tabela 33.

**Tabela 33: Matriz de planejamento experimental do conjunto de validação das soluções de misturas de íons utilizadas para validar os dados do Grupo 1,2,3.**

mostras	Concentrações de cátions metálicos		
	Zn <sup>2+</sup> /μgL <sup>-1</sup>	Cd <sup>2+</sup> /μgL <sup>-1</sup>	Pb <sup>2+</sup> /μgL <sup>-1</sup>
Val21	15	15	450
Val22	15	450	15
Val23	450	15	15
Val24	250	250	250
Val 31	15	15	1350
Val 32	15	1350	15
Val33	1350	15	15

Val 34	1000	1000	1000
--------	------	------	------

Na Figura 5.20 estão os gráficos obtidos para validação externa do Grupo 1,2,3. Neste gráfico tem-se a comparação dos valores determinados pela validação externa com os valores previstos.



**Figura 5.20:** Gráficos com resultados de validação externa para as amostras Val 21, Val 22, Val 23, Val24, Val 31, Val32, Val33 e Val34 para os cátions metálicos  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ , respectivamente, utilizando o modelo de calibração onde os dados receberam os seguintes pré-tratamentos: correção de linha de base, centragem dos dados na média, 2 OSC e segunda derivada.

Na Figura 5.20 pode-se observar que as amostras de validação externa parecem ter bom ajuste, salvo algumas amostras que se encontram mais distantes do modelo estipulado. Contudo, observando-se os valores da Tabela

34, tem-se que os valores de RMSEV são maiores do que a menor concentração a ser medida no modelo, ou seja, o erro é maior do que alguns valores a serem medidos. A partir dessa análise chega-se a uma conclusão que foi citada por Brereton[50], que o método de regressão PLS sofre influencia das variáveis de concentração, portanto o erro contido na validação externa não influencia na estimativa de grandes concentrações, porém falha na estimativa de pequenas concentrações, dessa maneira o erro acumulado torna-se grande já que em todas as amostras utilizadas para validação têm-se baixas concentrações.

**Tabela 34: Valores de indicadores de qualidade de predição obtidos para o modelo de PLS centrado na média e primeira derivada utilizando validação externa na determinação simultânea de  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  por redissolução anódica utilizando a voltametria de pulso diferencial para as amostras do Grupo 1,2 e 3.**

	$Zn^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
<b>SEV</b>	293.05	355.62	212.34
<b>RMSEV</b>	17,1	18,9	14,6
<b>PRESS</b>	68700	1011704	360725
<b>r</b>	0,9510	0,9733	0,9211
<b>Número de fatores</b>	6	7	6
<b>Slope</b>	0,9941	1,288	0,9985
<b>Intercept</b>	250,0	180,2	57,67

## CAPÍTULO 6:

### 6. CONCLUSÕES

Concluiu-se que, infelizmente, a utilização das técnicas quimiométricas escolhidas não foram suficientemente precisas para permitir uma descrição quantitativa com a precisão normalmente encontrada na literatura para uma mistura de três cátions metálicos.

Por outro lado, é importante frisar que isto não significa que esta abordagem não é adequada para tratar estes resultados, mas sim que, a escolha do PLS no domínio das componentes principais conjuntamente com os pré-tratamento de dados não levaram a determinação adequadas dos teores nas misturas estudadas.

Considerando que mesmo para faixas restritas de concentrações, o método escolhido não foi adequado, pode-se concluir que, possivelmente, foi infeliz a escolha dos métodos. Além disso, devido ao grande tempo despendido para o tratamento dos dados, não foi possível testar outras técnicas quimiométricas. Neste sentido, salienta-se que, em um outro trabalho do grupo, utilizando uma faixa restrita de concentração em uma mistura de 5 íons metálicos, foi possível determinar quantitativamente 4 deles utilizando medidas de voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial e tratando os dados com a técnicas de Mínimos Quadrados Alternados (ALS do inglês, Alternating Least Squares). Outras possibilidades poderiam para o tratamento dos resultados que poderiam ter sido utilizadas são a ANN (do inglês *artificial neural network*) ou MCR-ALS (do inglês *multivariate curve resolution-*



*alternating least squares*) para resolver o problema de predição para amostras com baixa concentração.

## CAPÍTULO 7:

### 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CONAMA, resolução n 357, de 17 de março de 2005, (2005).
- [2] D. Brito Filho, Toxicologia humana e geral, 2nd ed., Rio de Janeiro, 1988.
- [3] L. Larini, Toxicologia, São Paulo, 1987.
- [4] J.O. Nriagu, A silent epidemic of environmental metal poisoning, *Environmental Pollution*. 50 (1988).
- [5] A.K. Das, M. De, M.L. Cervera, Literature survey of on-line elemental speciation in aqueous solutions, *Distribution*. 55 (2001) 1 - 28.
- [6] N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemistry of the Elements*, Second Ed., Oxford, Butterworth-Heinemann, 1997.
- [7] F.L. Coco, P. Monotti, V. Fiecchi, L. Cecon, Determination of lead ( II ) and cadmium ( II ) in hard and soft wheat by derivative potentiometric stripping analysis, *Analytica Chimica Acta*. 409 (2000) 93-98.
- [8] F.L. Coco, L. Cecon, L. Ciralo, V. Novelli, Determination of cadmium ( II ) and zinc ( II ) in olive oils by derivative potentiometric stripping analysis, *Food Control*. 14 (2003) 55-59.
- [9] R. Favaron, Desenvolvimento de Métodos voltamétricos para determinação de Zinco, Cobre, Chumbo, Níquel, Estanho e Cromo em águas de efluentes de industria de galvanoplastia., Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 2004.
- [10] B.C. Janegitz, B.C. Lourenção, K.O. Lupetti, O. Fatibello-Filho, Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias, *Quimica Nova*. 30 (2007) 879.
- [11] C. Ricardo, T. Tarley, V. Silva, B. Eduardo, L. Baêta, A. César, et al., Simultaneous determination of zinc , cadmium and lead in environmental water samples by potentiometric stripping analysis ( PSA ) using multiwalled carbon nanotube electrode, *Environment*. 169 (2009) 256-262.

- [12] M.S. Bidabadi, S. Dadfarnia, A. Mohammad, H. Shabani, Solidified floating organic drop microextraction ( SFODME ) for simultaneous separation / preconcentration and determination of cobalt and nickel by graphite furnace atomic absorption spectrometry ( GFAAS ), *Journal Of Hazardous Materials*. 166 (2009) 291-296.
- [13] R.N. Rao, M.V.N.K. Talluri, An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry ( ICP-MS ) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals &, *Journal Of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 43 (2007) 1-13.
- [14] H. D.C, *Análise química quantitativa*, 6th ed., n.d.
- [15] D.B. ã, M. Gerboles, A. Borowiak, P. Trincherini, R. Passarella, V. Pedroni, Comparison of voltammetry and inductively coupled plasma-mass spectrometry for the determination of heavy metals in PM 10 airborne particulate matter, *Atmospheric Environment*. 40 (2006) 4703-4710.
- [16] A.W. Bott, P. D, *Voltammetric Determination of Trace Concentrations of Metals in the Environment*, *Current*. 1 (1995) 24-30.
- [17] K.C. Armstrong, C.E. Tatum, R.N. Dansby-Sparks, J.Q. Chambers, Z.-ling Xue, Individual and simultaneous determination of lead, cadmium, and zinc by anodic stripping voltammetry at a bismuth bulk electrode., *Talanta*. 82 (2010) 675-680.
- [18] A.J. Baca, A.B. De la Ree, F. Zhou, A.Z. Mason, Anodic stripping voltammetry combined on-line with inductively coupled plasma-MS via a direct-injection high-efficiency nebulizer., *Analytical Chemistry*. 75 (2003) 2507-11.
- [19] J.R. Pretty, D.C. Duckworth, G.J. Van Berkel, Anodic stripping voltammetry coupled on-line with inductively coupled plasma mass spectrometry: Optimization of a thin-layer flow cell system for analyte signal enhancement, *Analytical Chemistry*. 69 (1997) 3544-3551.
- [20] R. Ansari, T. Gul, M. Khan, M. Balal, M. Dowood, N. Jalbani, et al., Variation in accumulation of heavy metals in different varieties of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique, *Food Chemistry*. 115 (2009) 318-323.
- [21] A.A. Ensafi, T. Khayamian, A. Benvidi, E. Mirmomtaz, Simultaneous determination of copper , lead and cadmium by cathodic adsorptive stripping voltammetry using artificial neural network, *Analytica Chimica Acta*. 561 (2006) 225-232.
- [22] V. Meucci, S. Laschi, M. Minunni, C. Pretti, L. Intorre, G. Soldani, et al., *Talanta* An optimized digestion method coupled to electrochemical sensor for the determination of Cd , Cu , Pb and Hg in fish by square wave anodic stripping voltammetry, *Analyst*, *The*. 77 (2009) 1143-1148.
- [23] D. Monticelli, E. Ciceri, C. Dossi, Optimization and validation of an automated voltammetric stripping technique for ultratrace metal analysis, *Analytica Chimica Acta*. 594 (2007) 192-198.

- [24] T. Nedeltcheva, M. Atanassova, J. Dimitrov, L. Stanislavova, Determination of mobile form contents of Zn , Cd , Pb and Cu in soil extracts by combined stripping voltammetry, *Analytica Chimica Acta*. 528 (2005) 143-146.
- [25] M.A.G. Rico, M. Olivares-Marín, E.P. Gil, Modification of carbon screen-printed electrodes by adsorption of chemically synthesized Bi nanoparticles for the voltammetric stripping detection of Zn(II), Cd(II) and Pb(II)., *Talanta*. 80 (2009) 631-5.
- [26] E. Tesarova, L. Baldrianova, S. Hocevar, I. Svancara, K. Vytras, B. Ogorevc, Anodic stripping voltammetric measurement of trace heavy metals at antimony film carbon paste electrode, *Electrochimica Acta*. 54 (2009) 1506-1510.
- [27] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 2nd ed., 2000.
- [28] E. Shams, A. Babaei, M. Soltaninezhad, Simultaneous determination of copper , zinc and lead by adsorptive stripping voltammetry in the presence of Morin, *Analytica Chimica Acta*. 501 (2004) 119-124.
- [29] I. PALACIOS-SANTANDER, J.M., CUBILLANA-AGUILERA, L.M., NARANJO RODRIGUEZ, A chemometric strategy based on peak parameters to resolve overlapped electrochemical signals, 85 (2007) 131 - 139.
- [30] M.C. Antunes, J.E. J. Simão, A.C. Duarte, R. Tauler, Multivariate curve resolution of overlapping voltammetric peaks: quantitative analysis of binary and quaternary metal mixtures, *The Analyst*. 127 (2002) 809-817.
- [31] M. Esteban, C. Arin, Multivariate curve resolution with alternating least squares optimisation : a soft-modelling approach to metal complexation studies by voltammetric techniques, *Science*. 19 (2000) 49-61.
- [32] M.M.C. Ferreira, A.M. Antunes, M.S. Melgo, P.L.O. Volpe, *Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial*, *Quimica Nova*. 22 (1999) 724-731.
- [33] R.G. Brereton, *Chemometrics Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*, Wiley-2003, n.d.
- [34] P. Gemperline, F. Group, to *CHEMOMETRICS* Edited by, Group. (2006).
- [35] S.D.P. Eiras, A.R. Coscione, J.C.D. Andrade, *Métodos de Otimização em Química*, Chemkeys. (n.d.).
- [36] M.I. Rodrigues, A.F. Iemma, *Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos*, 2005.
- [37] B. de Barros Neto, I.S. Scarminio, R.E. Bruns, *Como fazer experimentos*, 4th ed., Bookman, 2010.
- [38] R.F. Teófilo, *QUIMIOMETRIA II: PLANILHAS ELETRÔNICAS PARA CÁLCULOS DE PLANEJAMENTOS EXPERIMENTAIS, UM TUTORIAL* Reinaldo F. Teófilo e Márcia M. C. Ferreira\*, *Quim. Nova*. 29 (2006) 338-350.

- [39] J. Willian, B. Braga, R. Jesus, VALIDAÇÃO DE MODELOS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA: UMA APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE PUREZA POLIMÓRFICA DE CARBAMAZEPINA POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO Jez Willian B. Braga e Ronei Jesus Poppi\*, 27 (2004) 1004-1011.
- [40] R.J. Poppi, Construção de um espectrofotometro com transformada de Hadamard e sua aplicação na análise por injeção em fluxo, Campinas: Universidade De Campinas. (1993).
- [41] E.L. Reis, voltametria multielementar em fluxo aplicação de técnicas de calibração multivariada, Universida Estadual de Campinas (UNICAMP), 1997.
- [42] Pirouette, (n.d.).
- [43] P. Geladi, B.R. Kowalski, Partial least-squares regression: a tutorial, *Analytica Chimica Acta*. 186 (1986).
- [44] J. Luypaert, S. Heuerding, D.L. Massart, Y.V. Heyden, Direct orthogonal signal correction as data pretreatment in the classification of clinical lots of creams from near infrared spectroscopy data., *Analytica Chimica Acta*. 582 (2007) 181-9.
- [45] J. Westerhuis, Direct orthogonal signal correction, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 56 (2001) 13-25.
- [46] R.G. Brereton, M.J. Adams, G.L. Smith, *Chemometrics papers*, *Analytical Proceedings*. 28 (1991) 145.
- [47] J. Camacho, J. Picó, A. Ferrer, Data understanding with PCA: Structural and Variance Information plots, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 100 (2010) 48-56.
- [48] F.A.L. Ribeiro, Aplicação de métodos de análise multivariada no estudo de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 2001.
- [49] N.H. Timm, *Applied Mutivariate Analysis*, n.d.
- [50] R. Brereton, Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry, *Analyst*. (2000) 2125-2154.
- [51] G.L. Smith, Principal Component Analysis: An introduction, *Analytical Proceedings*. 28 (1991).
- [52] M. DASZYKOWSKI, K. KACZMAREK, Y. VANDERHEYDEN, B. WALCZAK, Robust statistics in data analysis — A reviewBasic concepts, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 85 (2007) 203-219.
- [53] R.G. Brereton, Chemometrics in analytical chemistry. A review, *The Analyst*. 112 (1987) 1635.

- [54] R. Barthus, L. Mazo, DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE NADH E ÁCIDO ASCÓRBICO USANDO VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA COM ELETRODO DE CARBONO VÍTREO E, *Redalyc.uaemex.mx*. 30 (2005) 51-58.
- [55] S. Wold, Cross Validatory estimation of the number of componentes in factor and principal components, *Technometrics*. 20 (1978).
- [56] R. De Maesschalck, The Mahalanobis distance, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 50 (2000) 1-18.
- [57] L.M. Aleixo, Voltametria: conceitos e técnicas, Universidade Estadual De Campinas, São Paulo. 40 (2003).
- [58] W. Kemula, Z. Galus, Z. Kublik, Application of the Hanging Mercury Drop Electrode to an Investigation of Intermetallic Compounds in Mercury, *Nature*. 182 (1958) 1228-1229.
- [59] G.S. Garbellini, V.A. Pedrosa, G.R. Salazar-banda, L.A. Avaca, I.D. Química, D.S. Carlos, et al., Metodologias eletrolíticas para a determinação de herbicidas triazínicos por voltametria de onda quadrada e técnicas de deconvolução, *Quimica Nova*. 30 (2007) 2025-2030.
- [60] A.M. Zimer, Desenvolvimento de uma metodologia para determinação de Cu, Cr e As utilizando microeletrodos, Universidade Federal de São Carlos, n.d.
- [61] P.D. Marreto, Determinação simultânea de íons metálicos utilizando voltametria de redissolução anódica e métodos de calibração., Universidade Federal de São Carlos, n.d.
- [62] D.A. Roston, E.E. Brooks, W.R. Heineman, Elimination of Intermetallic Compound Interferences in Twin-Electrode Thin-Layer Anodic Stripping Voltammetry, *Society*. (1979) 0-4.
- [63] S. Wold, M. Sjostrom, PLS-regression: a basic tool of chemometrics, *Chemometrics and Intelligent Laboratory*. (2001) 109-130.
- [64] A. Lorber, P.O. Box, K. Faber, B.R. Kowalski, Net Analyte Signal Calculation in Multivariate Calibration, *Society*. 69 (1997) 1620-1626.
- [65] C. Pizarro, I. Esteban-d, A.-josé Nistal, Influence of data pre-processing on the quantitative determination of the ash content and lipids in roasted coffee by near infrared spectroscopy, *Analytica Chimica Acta*. 509 (2004) 217-227.
- [66] L. Gidskehaug, E. Anderssen, B.K. Alsberg, Cross model validation and optimisation of bilinear regression models, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 93 (2008) 1 - 10.