

MARTA CRISTINA BATALHA

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE POR
INJEÇÃO EM FLUXO PARA DETERMINAÇÃO
MULTICOMPONENTE E SIMULTÂNEA DE ÍONS METÁLICOS EM
AMOSTRAS SINTÉTICAS, AMBIENTAIS E EM LIGAS

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-Graduação
em Agroquímica, para obtenção do título
de "Magister Scientiae".

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2000

MARTA CRISTINA BATALHA

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE POR
INJEÇÃO EM FLUXO PARA DETERMINAÇÃO
MULTICOMPONENTE E SIMULTÂNEA DE ÍONS METÁLICOS EM
AMOSTRAS SINTÉTICAS, AMBIENTAIS E EM LIGAS

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-Graduação
em Agroquímica, para obtenção do título
de "Magister Scientiae".

APROVADA: 22 de novembro de 2000.

Prof. Cláudio Pereira Jordão
(Conselheiro)

Prof. Efraim Lázaro Reis
(Conselheiro)

Prof. César Reis

Prof.^a Elita Duarte Costa

Prof. Carlos Roberto Bellato
(Orientador)

A Deus, por tudo.

Aos meus pais, Hildebrando e Marta, pelo amor e pela vida.

Aos meus irmãos, Marcos e Juninho, pela amizade.

Ao meu marido Marcelo, pela força constante e pela certeza de que não há coincidências no amor.

Aos meus sogros, Juarez e Maria Sílvia, pelo apoio e carinho.

À minha querida avó, D. Idalina, pelo amor incondicional.

A todos os meus amigos que, pela presença e pelo carinho, me ajudam a viver.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química com todos seus professores e funcionários, pela oportunidade e ajuda.

À FAPEMIG, pelo financiamento do projeto.

Ao CNPq, pela bolsa.

Ao professor e orientador Carlos Roberto Bellato, pela orientação.

Aos professores Cláudio Jordão, Efraim, César e Elita, pelos conselhos e pela ajuda que em muito somaram para a realização deste trabalho.

À amiga Débora, pela essencial participação nos trabalhos em todo o experimento.

Aos amigos José Luís, Onezina, Lucinha, Cida, Marisa, Carla, Alexandre, e tantos outros, que conviveram comigo desde a época da graduação, pela amizade e paciência, principalmente nos piores momentos.

BIOGRAFIA

MARTA CRISTINA BATALHA, filha de Hildebrando Batalha e Marta da Silva Batalha, nasceu em 14 de abril de 1970, na cidade de Ubá, Minas Gerais.

Concluiu o segundo grau no colégio Equipe em Ubá, Minas Gerais, em dezembro de 1987.

Em março de 1988, iniciou o curso de Química na Universidade Federal de Viçosa - UFV, graduando-se em janeiro de 1994.

Em agosto de 1994, foi contratada pela Empresa de Caulim, como responsável técnico de produção, onde ficou até março do ano seguinte.

Em agosto de 1995, iniciou sua jornada na área docente.

Em dezembro de 1996, foi contratada pela Niquelagem Romagnoli, como responsável técnico, onde permanece até hoje.

Em março de 1998, ingressou no programa de Mestrado em Agroquímica, na área de Química Analítica, na Universidade Federal de Viçosa, sob a orientação do professor Carlos Roberto Bellato.

Em novembro de 2000, submeteu-se à defesa de tese para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Análise por injeção em fluxo.....	5
2.1.1. Aspectos físicos da análise por injeção em fluxo.....	6
2.1.2. Fiagramas e dimensões dos picos.....	8
2.1.3. Dispersão da zona de amostra.....	11
2.1.4. Gradientes gerados por dispersão em sistemas de fluxo.....	13
2.2. Métodos de calibração multivariada.....	15
2.2.1. Introdução.....	15
2.2.2. Matrizes.....	17
2.2.3. Métodos de calibração.....	18
2.2.4. PLS-Multidimensional.....	26
2.3. Determinação multicomponente simultânea em fluxo.....	28
2.4. Otimização e planejamentos experimentais.....	31
2.5. 4-(2-Piridilazo)-Resorcinol (PAR).....	35
2.6. Caulim.....	39

3. MATERIAL E MÉTODOS.....	43
3.1. Construção de um sistema contador de tempo.....	43
3.2. Geração de gradiente de pH no sistema de fluxo.....	45
3.3. Determinação dos valores de pH do gradiente gerado pelo sistema..	47
3.4. Calibração espectrofotométrica para determinação dos valores de pH.	49
3.5. Otimização do sistema de análise em fluxo.....	50
3.6. Determinação simultânea de cobre e zinco em amostras de latão	51
3.7. Determinação simultânea de cálcio, ferro e zinco em amostras de águas residuárias de indústria de beneficiamento de caulim	52
3.8. Controle do instrumento, aquisição e processamento quimiométrico dos dados	53
3.9. Preparo de soluções.....	54
3.9.1. Solução de Na_3PO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$	55
3.9.2. Solução tampão ácida.....	55
3.9.3. Preparo das soluções tampão para calibração do pH.....	55
3.9.4. Preparo das soluções de indicadores.....	56
• Vermelho de metila $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, solução hidroalcolica a 60% (v/v)....	56
• Azul de bromotimol $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, solução hidroalcolica a 20% (v/v)....	57
• Fenolftaleína $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, solução hidroalcolica a 60% (v/v) .	57
• Timolftaleína $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, solução hidroalcolica a 60% (v/v) .	57
3.9.5. Preparo de mistura de indicadores.....	57
3.9.6. Preparo de soluções estoque de metais.....	58
3.9.7. Preparo de soluções de PAR.....	58
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1. Otimização e determinação dos valores de pH do gradiente gerado pelo sistema de fluxo	60
4.2. Otimização do sistema FIA para determinação simultânea de cobre e zinco em amostras sintéticas	65
4.2.1. Efeito da concentração de PAR.....	73
4.2.2. Efeito do volume de amostra injetado.....	75
4.2.3. Efeito da vazão da bomba peristáltica.....	76

4.2.4. Efeito da adição de interferentes.....	77
4.3. Determinação simultânea de cobre e zinco em amostras de latão	77
4.4. Determinação simultânea de ferro e zinco em amostras sintéticas .	80
4.5. Determinação simultânea de cobre, ferro e zinco em amostras sintéticas	83
4.5.1. Efeito da adição de interferentes.....	89
4.6. Determinação simultânea de cálcio, ferro e zinco em amostras sintéticas ...	93
4.6.1. Efeito da adição de interferentes.....	93
4.7. Determinação simultânea de cálcio, ferro e zinco em amostras de águas residuárias de indústria de beneficiamento de caulim	94
5. RESUMO E CONCLUSÕES	99
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
APÊNDICE.....	108

RESUMO

BATALHA, Marta Cristina, M.S., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2000. **Desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo para determinação multicomponente e simultânea de íons metálicos em amostras sintéticas, ambientais e em ligas.** Orientador: Carlos Roberto Bellato. Conselheiros: Cláudio Pereira Jordão e Efraim Lázaro Reis.

Um experimento em duas etapas foi conduzido no Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Na primeira etapa, objetivou-se gerar um gradiente linear de pH em um sistema de fluxo, enquanto na segunda o gradiente gerado foi utilizado na determinação simultânea de íons metálicos em amostras de ligas de latão e águas residuárias de indústria de beneficiamento de caulim. Foi montado um sistema de análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica, utilizando o espectrofotômetro Cary 50 acoplado a um microcomputador Celeron 586, capaz de obter espectros na região do UV-visível, de 190 a 1100 nm, em intervalos de tempo maiores ou iguais a 0,01 minuto. Um sistema contador de tempo foi construído para sincronizar o tempo entre a injeção da amostra e o início da aquisição dos dados. Na primeira etapa do experimento, o gradiente de pH foi gerado por meio da alternância de uma linha contendo tampão ácido e outra com tampão básico convergindo para uma câmara de dispersão. A determinação dos valores de pH gerados no gradiente foi feita utilizando uma mistura de indicadores; os dados obtidos foram tratados em

ambiente Matlab, por intermédio de calibração multivariada, pelo método dos mínimos quadrados parciais (PLS). Na segunda etapa do experimento, o gradiente gerado em fluxo foi empregado na determinação multicomponente simultânea de misturas binárias e ternárias de íons metálicos, utilizando-se o método de calibração multivariada pelo método dos mínimos quadrados parciais multidimensional (N-PLS). A análise simultânea de cobre e zinco em amostras de ligas de latão mostrou resultados em boa concordância com aqueles obtidos pelo método de espectrometria por absorção atômica, apresentando erros percentuais inferiores a 2,5%. A análise simultânea de cálcio, ferro e zinco, em amostras de águas residuárias de indústria de beneficiamento de caulim, apresentou erros percentuais inferiores a 10% em relação aos resultados obtidos nestas amostras pelo método de espectrometria de absorção atômica. Observou-se também que os constituintes presentes em menor concentração tanto nas amostras das ligas de latão como nas de águas residuárias não causaram interferência nas análises. O procedimento proposto apresentou frequência analítica de 15 amostras por hora.

ABSTRACT

BATALHA, Marta Cristina, M.S., Universidade Federal de Viçosa, November 2000. **Development of a system by flow injection analysis in the simultaneous and multicomponent determination of metallic ions in synthetic, environmental samples and in brass.** Adviser: Carlos Roberto Bellato. Committee members: Cláudio Pereira Jordão and Efraim Lázaro Reis.

In this piece of work an experiment was carried out in two stages. In the first one, the objective was to generate a linear gradient of pH in a system of flow, while in the second one the generated gradient was used in the simultaneous determination of metallic ions. This was done first in synthetic samples and afterwards in samples of both brass and residuary water from industries of kaolin benefaction. An system by flow injection analysis with spectrophotometer detection was set up, using a Varian spectrophotometer, Cary 50 model, interfaced with a Celeron 586 microcomputer, which was able to provide spectra in the region of the visible UV, from 190 to 1100 nm, at time intervals superior or equal to 0,01 minute. A time counting system was developed to synchronize the time from the injection of the sample to the beginning of the data aquisition. In the first stage of the experiment, the gradient of pH was generated by alternating a line containing an acid bung and another one with a basic bung, converging to a dispersion chamber. The determination of pH values which were generated in the gradient was carried out by using a

mixture of indicators. The obtained data was treated in a Matlab environment and through the multivariate calibration by the partial minimum squares method (PLS). In the second stage of the experiment, the gradient generated in flux was used in the simultaneous multicomponent determination of metallic ions binary and ternary mixtures, using multivariate calibration through the method of multidimensional partial minimum squares (N-PLS). The simultaneous analysis of copper and zinc in brass alloy samples showed results which were in good agreement with those obtained through the method of spectrometry by atomic absorption, showing percentual errors which were inferior to 2.5%. The simultaneous analysis of calcium, iron, and zinc in samples of residuary water from industries of kaolin benefaction, presented percentual errors which were inferior to 10% in relation to the results obtained in these samples through spectrometry of atomic absorption. It was also observed that the constituents which were present in a smaller concentration, both in the zinc alloy samples and in the ones of residuary water, did not cause interference in the analysis. The proposed procedure presented an analytical frequency of 15 samples per hour.

1. INTRODUÇÃO

Na corrida pelo desenvolvimento de novos produtos e com menores custos, a Química Analítica ocupa um lugar de destaque, como por exemplo no controle da qualidade, que hoje em dia é de fundamental importância. Além disso, o volume dos produtos processados é cada vez maior, sendo também necessário rígido controle dos detritos e resíduos químicos lançados nos efluentes industriais, para evitar a deterioração da qualidade de vida das populações que vivem ao redor dos centros industriais.

Vários são os métodos e técnicas de análise disponíveis. Entretanto, a escolha de uma metodologia pode se tornar difícil, devido à complexidade da matriz a se analisar. Muitas vezes, a determinação da concentração de elementos ou compostos é mais adequada utilizando-se uma técnica mais simples, evitando-se o uso de aparelhos sofisticados.

Na década de 70, desenvolveu-se uma técnica de baixo custo a ser aplicada em processos de automação de métodos químicos. Proposta inicialmente por RUZICKA e HANSEN e, independentemente, por STEWART e colaboradores em 1975, a Análise por Injeção em Fluxo, FIA, cuja sigla provém do inglês *Flow Injection Analysis*, mostrou-se de manipulação rápida, reprodutível, precisa e versátil (VALCARCEL e LUQUE DE CASTRO, 1984).

Em 1976, a técnica foi disseminada no Brasil pelos pesquisadores da Seção de Radioquímica e Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da ESALQ-USP, em Piracicaba.

Desde a publicação do primeiro artigo sobre FIA em 1975, o número de publicações em periódicos internacionais cresceu exponencialmente. Foram contribuições de mais de 35 diferentes países (HANSEN, 1988). Embora seja uma das mais recentes técnicas baseadas em fluxo, a aplicação dos sistemas FIA compreende mais de 5.000 artigos publicados, abrangendo desde analitos inorgânicos a enzimáticos, desde íons a macromoléculas, desde quantidades vestigiais a altas concentrações, podendo ser utilizada em meios aquosos ou não-aquosos (COUTO et al., 2000).

Sistemas de detecção de varredura rápida, como os espectrofotômetros, tornam os sistemas FIA bastante atraentes na determinação de misturas complexas. São empregados procedimentos baseados nos gradientes de concentração gerados por dispersão (HANSEN, 1988), como a titulação em análise por injeção em fluxo (RUZICKA e HANSEN, 1977), na qual um ácido é injetado em um fluxo de base, e vice-versa, sendo gradualmente neutralizado, obtendo-se superfícies com vários mínimos e máximos, que fornecem informações importantes sobre as espécies presentes na amostra.

BETTERIGE e FIELDS (1981) foram pioneiros ao explorarem o gradiente gerado por dispersão, para analisar misturas binárias de íons metálicos, pela formação de complexos em dependência com o pH de formação a partir da determinação espectrofotométrica com sinais obtidos em um único comprimento de onda.

A análise dos dados obtidos em sistemas FIA, quando se utilizam gradientes de concentração e detecção multicomponente, é bastante complexa, sendo necessária a utilização de métodos sofisticados de interpretação dos resultados, como técnicas de calibração multivariada (SHARAF et al., 1986).

A análise multicomponente simultânea por espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta e visível, usando reagentes cromogênicos, é tradicionalmente realizada utilizando-se um reagente específico

para cada componente ou separando-se o elemento de interesse de seus interferentes. Todavia, na prática, nem sempre se dispõe de um reagente específico para cada espécie, e a separação de elementos interferentes presentes na amostra pode ser trabalhosa e demorada. Por esse motivo, a análise espectrofotométrica multicomponente simultânea de misturas normalmente limita-se à análise parcial de apenas um ou dois componentes, usando bandas de absorção características, quando essas aparecem isoladas. Os sistemas com mais de dois componentes são usualmente analisados por etapas, determinando-se um componente de cada vez. Portanto, as pesquisas sobre análise multicomponente simultânea por espectrofotometria na região do ultravioleta e visível vêm se desenvolvendo no sentido de evitar a exaustiva tarefa de separação de interferentes e permitir a determinação simultânea de um número cada vez maior de componentes, favorecendo, conseqüentemente, a redução do tempo e do custo das análises.

Na década de 80, o rápido desenvolvimento da microeletrônica e da ciência computacional favoreceu a redução do preço dos computadores, tornando seu uso cada vez maior em laboratórios químicos. Hoje, são comuns espectrofotômetros ultravioleta e visível interfaceados com microcomputadores, para aquisição, controle e tratamento de dados, o que tem tornando a análise multicomponente simultânea uma ferramenta atrativa para os pesquisadores (SALDANHA et al., 1999).

O surgimento da Quimiometria, que é a área da Química na qual se utilizam métodos matemáticos e estatísticos para resolução de problemas químicos (BRUNS e FAIGLE, 1985), veio contribuir também no avanço das análises simultâneas de sistemas multicomponentes.

Os métodos de calibração multivariada de ordem superior são capazes de quantificar amostras de misturas com várias espécies presentes, não importando a presença ou ausência de diferenças espectrais marcantes entre elas, nem a existência de alta correlação entre os dados, por comparação de superfícies de

resposta gerada por padrões previamente estabelecidos (FERRREIRA et al., 1999).

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e a otimização de um sistema de análise por injeção em fluxo, para a determinação multicomponente e simultânea de íons metálicos, utilizando-se o agente cromogênico 4-(2-piridilazo)-resorcinol (PAR), que forma complexos solúveis com íons, em função do pH do meio reacional. Para isso, um gradiente de pH foi gerado por meio da alternância de uma linha contendo um tampão ácido e outra com uma base, que convergem para uma câmara de dispersão. A determinação do gradiente gerado foi feita utilizando uma mistura de indicadores. Um espectrofotômetro Varian, modelo Cary 50, interfaceado a um microcomputador, foi utilizado na aquisição dos dados. Os dados obtidos foram tratados em ambiente Matlab (Mathworks), utilizando calibração multivariada. Os métodos de Quadrado Mínimo Parcial, PLS (do inglês *Partial Least Squares*) e N-PLS (do inglês *N-Way Partial Least Squares*), foram empregados na determinação do gradiente de pH gerado em linha e nas determinações multicomponente simultâneas de misturas binárias e ternárias de íons metálicos, respectivamente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Análise por injeção em fluxo

De acordo com VALCARCEL e LUQUE DE CASTRO (1984), a Análise por Injeção em Fluxo (FIA) é uma metodologia relativamente recente e importante em Química Analítica, que se caracteriza por sua simplicidade, economia de tempo e reagentes e facilidade no manejo, na precisão e exatidão de resultados. Sua extrema versatilidade a distingue das demais técnicas analíticas. Pode se adaptar facilmente a todo tipo de necessidades, sem requerer técnicas complexas, e o químico analítico pode intervir diretamente em seu funcionamento, adaptando seu próprio sistema técnico, além de controlar as variáveis químicas. A denominação da modalidade de métodos de análise contínua, como “Análise por Injeção em Fluxo”, foi proposta por Ruzicka e Hansen, em 1975, podendo-se afirmar que foi definitivamente aceita pela comunidade científica, apesar de alguns autores empregarem de maneira indistinta a denominação de “Análise em Fluxo não Segmentado”.

A inclusão do termo “injeção” no nome da técnica responde mais a um aspecto histórico que atual, já que nos primeiros sistemas FIA descritos era usado uma seringa hipodérmica para injeção da amostra no fluxo. O uso de válvulas

Rotatórias, atualmente, trata-se mais da inserção que da injeção propriamente dita (VALCARCEL e LUQUE DE CASTRO, 1984).

Se for considerada a definição de “Análise” exposta por Pardue como “o conjunto de etapas que vão desde o planejamento da estratégia para abordar o problema analítico até o tratamento e interpretação dos resultados”, não é correta a inclusão deste termo no nome da nova metodologia, já que esta não aborda todas as etapas que conFiguram um método analítico (MOTTOLA, 1981).

Em química clínica existe outra modalidade analítica, o ensaio fluorimuno, que também emprega a sigla FIA (*Fluoroimuno Assay*), porém pode dar lugar a confusões, ainda que se trate de métodos muito diferentes (VALCARCEL e LUQUE DE CASTRO, 1984).

2.1.1. Aspectos físicos da análise por injeção em fluxo

Segundo RUZICKA e HANSEN (1988), a técnica baseia-se na inserção de pequenas quantidades da amostra em solução, dentro de uma linha contendo um reagente adequado, também, em solução. Após a sua inserção, a amostra é transportada até a unidade de detecção, por fluxo carregador, que pode ser o próprio reagente, onde o sinal é detectado e, então, registrado. Como unidade de detecção, pode ser utilizado qualquer instrumento que indique variação nas propriedades físico-químicas do sistema, como um colorímetro ou um potenciômetro, entre outros.

O sistema FIA (Figura 1a) consiste, basicamente, de uma bomba peristáltica operando com intensidade de fluxo de 0,1 a 10 mL min⁻¹, comutador, bobinas de homogeneização e/ou desenvolvimento de reações químicas, detector e registrador. Os reagentes e a amostra são bombeados pela bomba peristáltica, por intermédio de tubos condutores de teflon, polietileno, propileno, de diâmetro interno que varia entre 0,5 e 1,0 mm.

A Figura 1b mostra o sinal típico obtido em sistemas FIA, os chamados fiagramas, usando-se um espectrofotômetro como unidade de detecção. A altura

H está relacionada com a concentração da amostra. O tempo de residência, T , decorrido entre o ponto de inserção da amostra e o máximo do pico, é o tempo transcorrido entre a inserção e a detecção do pico transiente. A resposta é, geralmente, rápida, porque t_b usualmente situa-se entre 5 e 20 segundos, o que possibilita, na maioria dos casos, duas ou mais determinações por minuto.

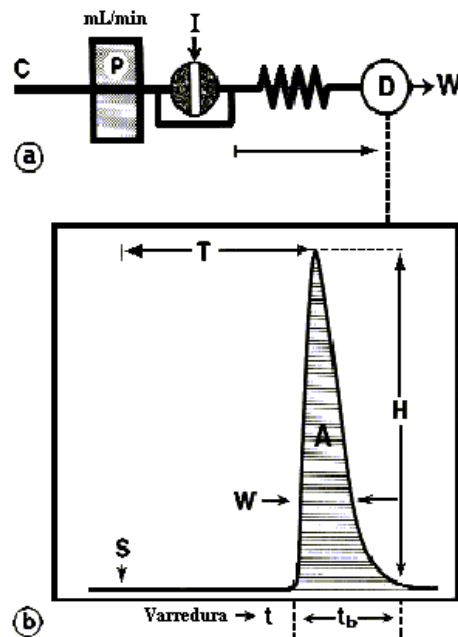


Figura 1 - (a) componentes básicos de um sistema para análise por injeção em fluxo. C - carregador; P - bomba peristáltica; I - injetor de amostra; L - bobina de reação; D - detector; W - descarte. (b) sinal típico obtido pelo sistema. H - altura do pico; A - área do pico; W - largura do pico; T - tempo de residência; S - linha de base; t_b - tempo de residência da amostra no detector .

Desde a sua introdução, a versatilidade dos sistemas FIA permite que o método seja adaptado a diferentes detectores e técnicas e usado em numerosas montagens de tubulações.

A técnica FIA permite que as determinações possam ser efetuadas antes que a reação atinja o seu estado de equilíbrio. Isto aumenta a flexibilidade de uso desta técnica, pois esta pode ser aplicada tanto a sistemas que apresentam cinética rápida como também àqueles de cinética lenta. O fato de uma reação lenta não ter o seu produto completamente formado na linha no momento da sua passagem pelo detector influirá apenas na sensibilidade do método (ou na velocidade de amostragem, caso seja usada a técnica de “Stopped-Flow”), mas, se as respostas forem reprodutíveis, a técnica FIA poderá ser aplicada. A sensibilidade de determinações envolvendo reações com cinéticas lentas pode ser aumentada usando-se a técnica “Stopped-Flow”, a qual se baseia na interrupção do fluxo em intervalos de tempo regulares. Isto pode ser efetuado automaticamente, adaptando-se dispositivos eletrônicos à bomba peristáltica ou ao comutador, possibilitando um bombeamento de reagentes e amostra. Na falta de tais dispositivos, outra opção seria fazer modificações nas linhas de fluxo no comutador, de modo que o fluxo pare manualmente.

2.1.2. Diagramas e dimensões dos picos

Conforme RUZICKA e HANSEN (1988), quando registrado, o sinal transiente observado pelo detector durante a passagem da zona dispersa da amostra (Figura 1b) possui a forma de um pico, com altura H , largura W e área A , os quais fornecem dados analíticos referentes ao sistema.

Na ausência de reações químicas, quando o detector responde linear e instantaneamente às espécies registradas, não faz qualquer diferença se forem medidas altura ou largura de pico, desde que possuam informações úteis, embora a concentração do material injetado esteja relacionada a um destes parâmetros de

maneira diferente. O mesmo se aplica a experimentos baseados na produção de espécies mensuráveis, como em espectrofotometria, provando que, à exceção de processos de dispersão, um excesso de reagente é quantificado através de toda a faixa de comprimento de onda da zona dispersa.

A altura do pico é a dimensão mais freqüentemente medida, desde que seja facilmente identificada e diretamente relacionada à resposta do detector, tal como absorvância, potencial, condutância, fluorescência etc. A relação entre a altura do pico e a concentração do analito é a seguinte:

$$H = K * C$$

em que K é a constante de proporcionalidade.

Similar à altura do pico, a área está diretamente relacionada com a concentração do analito:

$$A = K * C$$

A desvantagem da qualificação em termos de área deve-se ao seu caráter integral, que pode ser solucionado com o uso de integradores encontrados no comércio de equipamentos cromatográficos. A área A não pode estar relacionada com estudo de gradientes de concentração.

A largura do pico, por ser uma informação horizontal, medida paralelamente à linha de base, não está diretamente relacionada à resposta do detector e, portanto, não possui informações baseadas no espectro. Sua medida está relacionada ao tempo, ou mais precisamente, à variação de tempo Δt . Dependendo da geometria do fluxo, $\Delta t = K * \log C$ para um sistema com apenas um reator, ou Δt para um modelo diferente de fluxo. Como a altura, a largura do pico também pode ser feita em tempos definidos, fazendo “cortes horizontais”, escolhendo assim o nível em que o detector ajustará a resolução de Δt . Enquanto o registro da linearidade da resposta do detector pode ser estendido para medidas de largura de pico, o registro de velocidade constante do fluxo carregador é tão

rígido como para medidas de altura do pico. Dentro da dependência logarítmica da concentração, medidas de largura de pico permitem a cobertura de larga faixa de concentração do analito, usando um detector de faixa linear pequena.

Titulações em FIA são um caso especial de medida de largura do pico, bastante confiáveis para o uso de indicadores, os quais permitem que resoluções da largura de pico sejam localizadas no nível da interface entre a zona da amostra e o carregador, onde o equilíbrio químico é atingido. Para este propósito, o fluido carregador consiste de um titulante, no qual é adicionado um indicador, a amostra é injetada e a ausência de um excesso estequiométrico de titulante no centro da zona dispersa da amostra resulta em dois pontos de equivalência (pontos A e B, Figura 2) nas interfaces da zona de amostra-fluido carregador. Acréscimo nas concentrações do analito resulta em aumento da largura do pico, desde que:

$$\Delta t = K * \log C$$

As titulações em FIA podem ser amplamente empregadas utilizando-se os sistemas clássicos de titrimetria, assim como todos os procedimentos das titulações convencionais.

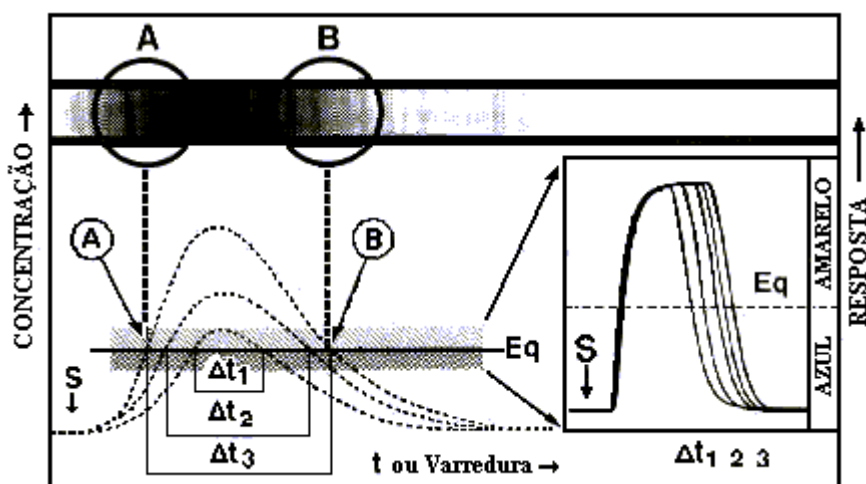


Figura 2 - Curvas de titulação em FIA. A e B indicam os pontos de equivalência da zona dispersa, e a distância entre eles é proporcional à concentração do ácido na zona de amostra injetada.

2.1.3. Dispersão da zona de amostra

VALCARCEL e LUQUE de CASTRO (1984) citam que os fundamentos físicos da FIA estão relacionados com a “dispersão”, que pode ser definida como a diluição pela qual o volume da amostra injetada passa em um fluxo, em determinado sistema. A análise por injeção em fluxo é definida também como uma combinação de três princípios básicos: injeção de uma amostra, dispersão controlada da amostra injetada e reprodutibilidade no tempo dos eventos que ocorrem desde a injeção até a chegada ao detector (POPPI, 1993). Diferente de outros métodos, a reação química ocorre enquanto a amostra injetada está dispersando no fluido carregador, ou seja, à medida que se forma um gradiente de concentração. Como exemplo, citam-se as determinações colorimétricas, em que a amostra é convertida em espécies sensíveis ao detector, por meio de reações com reagentes adequados. Para que isto ocorra durante o transporte, amostra e reagentes devem se misturar ao máximo no menor espaço de tempo possível, produzindo quantidades detectáveis do produto, pois ocorrerá inevitavelmente dispersão e diluição da amostra na linha. Estes dois parâmetros devem ser muito

bem controlados, pois a sensibilidade do método em fluxo é inversamente proporcional à diluição e à dispersão da zona da amostra sofrida na linha.

O coeficiente de dispersão proposto por Ruzicka, em 1977 (RUZICKA e HANSEN, 1988), é o parâmetro mais antigo usado para caracterizar a dispersão. É definido como a relação matemática de concentração de uma amostra antes (C_0) e depois (C) da passagem em um sistema FIA. A cada ponto do fiograma (Figura 3) corresponde um coeficiente de dispersão e, quando se trata do máximo da curva, tem-se o coeficiente de dispersão máximo.

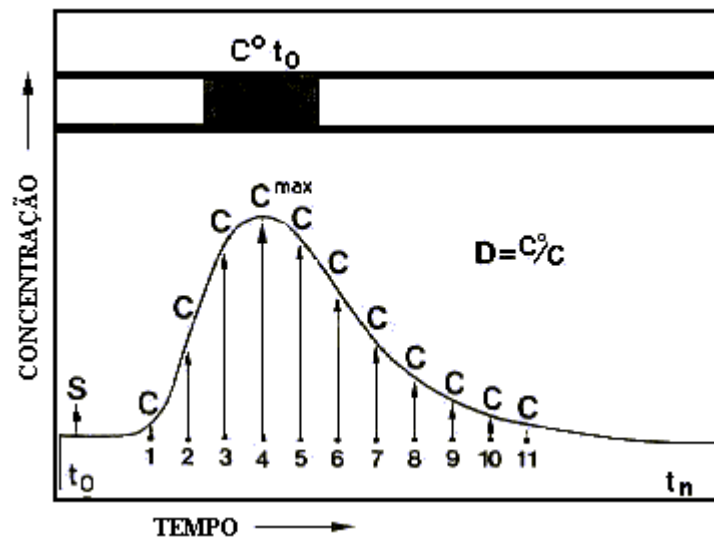


Figura 3 - Perfil de uma zona de amostra dispersa durante o movimento através do tubo de reação. C_0 é a concentração real da espécie na amostra e C_{max} , concentração da espécie química no detector.

Nas análises por injeção em fluxo, as leituras dos sinais analíticos são geralmente baseadas na medida das alturas dos picos. A zona de dispersão da amostra (D) foi definida por RUZICKA e HANSEN, tanto em termos da concentração das espécies como da altura do pico, como:

$$D_{\max} = \frac{C_0}{C_{\max}} = \frac{H_0}{H_{\max}}$$

em que C_0 é a concentração real da espécie contida na amostra e C_{\max} , a concentração da espécie medida no detector.

Por exemplo, se $D = 2$, significa que a amostra foi diluída na linha pelo carregador na razão de 1:1. Além do parâmetro de diluição, a dispersão está também relacionada com o tempo de residência da amostra na linha, t_b , que aumenta proporcionalmente com a distância a ser percorrida entre a inserção da amostra e o detector e decresce com a velocidade do fluxo. A sensibilidade do método pode ser modificada variando-se o volume de amostra inserido.

2.1.4. Gradientes gerados por dispersão em sistemas de fluxo

Quase todos os métodos FIA baseiam-se na altura do pico, uma vez que é neste ponto que se alcança a máxima sensibilidade e, por ser o ponto de inflexão, é mais fácil de se localizar e medir. Já as “técnicas de gradiente FIA” fazem uso da informação proporcionada pelo resto do diagrama; baseiam-se nos gradientes de concentração, que sempre se estabelecem em duas interfaces, altamente reproduzíveis, formados entre a zona de amostra e o fluido carregador em análises por injeção em fluxo (VALCARCEL e LUQUE de CASTRO, 1984).

A chamada “Titulação por Análise em Fluxo” foi a primeira aplicação desenvolvida entre as técnicas baseadas na geração do gradiente (RUZICKA e HANSEN, 1988). Se injetamos, por exemplo, uma amostra de um ácido em um fluxo carregador de uma base, a zona dispersa do ácido começará a neutralizar gradualmente a base, fornecendo informações importantes sobre as espécies presentes a partir de eventos que ocorrem com o tempo. Sistemas de fluxo contendo configurações similares às utilizadas em titulações em fluxo foram desenvolvidos no sentido de se obterem gradientes lineares de pH, por meio de misturas de soluções-tampão ácido-base (PORTER, 1995).

Em 1978, BETTERIDGE e colaboradores descreveram as primeiras determinações simultâneas por gradientes de pH não-lineares e, em 1981, exploraram o gradiente gerado por dispersão, para analisar misturas binárias de íons metálicos pela formação de complexos em dependência com o pH de formação, com determinação espectrofotométrica com sinais obtidos em um único comprimento de onda (BETTERIDGE e FIELDS, 1981).

PASQUINI et al. (1996) citam a determinação de constantes de equilíbrio de indicadores e sistemas de ligas de metais por medidas com detecção espectrofotométrica, por arranjos lineares de fotodiodos, explorada por Vithanage e Dasgupta, em 1986 (PASQUINI, et al. 1996). FISCHER e RABE (1993) relataram o uso de gradientes de pH em fluxo na identificação de corantes orgânicos.

A técnica é bastante versátil e não se limita apenas a determinações espectrofotométricas. Vários outros métodos de detecção vêm sendo utilizados nas análises em fluxo, por exemplo o trabalho de PORTER et al. (1995), que relataram a determinação de zinco, cádmio, chumbo, magnésio e alumínio, por determinação fluorimétrica de misturas ternárias e quaternárias, empregando sistema de geração de gradiente de pH.

Por ser um método bastante rápido e econômico, a técnica de geração de gradiente de pH em sistemas de fluxo tem tido aplicabilidade cada vez maior em vários setores de análises. BLASCO et al. (1997) relataram a utilização de gradientes de pH em fluxo na determinação de metionina e cisteína em compostos farmacêuticos. ZHAO et al. (1998) demonstraram a aplicação de gradientes de pH na determinação simultânea de ferro e zinco em cabelos humanos.

Além da técnica de geração de gradiente de pH em fluxo, existem outras que também exploram o processo de gradiente em fluxo, como a técnica de diluição por gradiente. Nesta técnica, são realizadas leituras em tempos preestabelecidos, a partir do máximo do pico, em que o processo de dispersão já causou diluição da amostra, evitando a necessidade de diluições manuais. Como

extensão da técnica, tem-se a calibração por gradiente, na qual são evitadas calibrações repetitivas, realizando uma reação química juntamente com a diluição causada pela dispersão (RUZICKA e HANSEN 1988).

RUZICKA e HANSEN (1988) descreveram também a técnica da parada de fluxo ou *Stopped Flow*, que, à exceção das titulações em FIA, é uma das técnicas de gradiente mais utilizadas. A fim de aumentar a sensibilidade das medidas, conta com a combinação de adequada dispersão da amostra no reagente, enquanto é medida a taxa de reação química durante um período de parada do fluxo.

Com o desenvolvimento de detectores multicanais de varredura rápida, como os de arranjos lineares de fotodiodos, o número de aplicações das técnicas de gradientes vem crescendo rapidamente. Inúmeros são os trabalhos descritos e as respostas são cada vez mais complexas. LUKKARI et al. (1998) realizaram titulações simultâneas de ácidos orgânicos fracos, a partir das medidas dos espectros na região do ultravioleta nas suas formas ácida e básica. Neste trabalho, foram utilizadas técnicas quimiométricas de análise para obter informações sobre as complexas superfícies de resposta obtidas.

2.2. Métodos de calibração multivariada

2.2.1. Introdução

Com o crescente avanço tecnológico ocorrido nos últimos anos, o rápido desenvolvimento da microeletrônica e da ciência computacional favoreceu a redução do preço dos computadores e, como consequência, surgiram os microcomputadores, de uso cada vez mais crescente em laboratórios químicos, tornando a aquisição de dados, principalmente na Química Analítica, bastante sofisticada, devido ao interfaceamento dos instrumentos com os microcomputadores. As informações obtidas têm tomado proporções cada vez maiores, mais complexas e variadas, tornando necessários tratamentos mais

complexos do ponto de vista matemático e estatístico, para relacionar os sinais obtidos com os resultados desejados.

Devido a esta necessidade de ferramentas novas e mais sofisticadas para tratar e extrair informações relevantes destes dados, nasceu a quimiometria. Segundo BRUNS e FAIGLE (1985), “a quimiometria é a parte da química que utiliza métodos matemáticos e estatísticos para definir ou selecionar as condições ótimas de medidas e experiências e permitir a obtenção do máximo de informações a partir da análise dos dados químicos”.

Nas aplicações em sistemas de fluxo para determinação quantitativas, têm-se utilizado procedimentos quimiométricos clássicos para calibração multivariada, como o Método dos Mínimos Quadrados Parciais, a Regressão de Componentes Principais, ou ainda a Regressão Linear Múltipla (DRAPER, 1981). Entretanto, essas metodologias não são totalmente adequadas para o tratamento de curvas ou superfícies obtidas como resposta. As curvas ou superfícies podem fornecer informações sobre várias espécies simultaneamente (sistemas multivariados). Tem-se realizado uma transformação inicial dos dados, de modo que possam ser utilizados pelos programas existentes.

Atualmente, estão disponíveis novos métodos quimiométricos específicos para o tratamento de dados multidimensionais (tridimensionais ou maiores) (GELADI, 1989). Estes métodos vêm sendo empregados em estudos ambientais (ZENG, 1990) e na modelagem em cromatografia (SMILDE et al., 1990). WOLD et al. (1987) adaptaram o método dos mínimos quadrados parciais (PLS) para sistemas multidimensionais (PLS-multidimensional), visando seu emprego em determinações multicomponentes de imagens.

Segundo ZAMORA et al. (1997), métodos empregando calibração multivariada têm sido cada vez mais utilizados em Química Analítica, principalmente quando os componentes presentes em uma mistura necessitam ser determinados, mas a informação analítica disponível não apresenta seletividade, ou seja, em uma mistura onde não é possível identificar os componentes individuais de cada espécie a partir da resposta instrumental. A base da calibração

multivariada é estabelecer uma relação entre duas matrizes de dados químicos, quando houver dependência entre as propriedades que descrevem cada uma delas.

2.2.2. Matrizes

BEEB e KOWALSKI (1987) publicaram extensa revisão sobre as notações e representações de matrizes. Chama-se “matriz” ao conjunto retangular de números dispostos em linhas e colunas. Normalmente, representa-se uma matriz por letras maiúsculas em negrito. As letras minúsculas em negrito representam os vetores, que são as linhas ou colunas das matrizes. Denominam-se “escalares” os elementos pertencentes a uma matriz de vetores ou constante e são representados por letras minúsculas normais. Abaixo é representada uma matriz com m linhas e n colunas, definida matriz tipo m por n ($m \times n$). Os elementos são identificados por índices; assim, a_{ij} refere-se a um elemento da i -ésima linha e j -ésima coluna.

$$\mathbf{A} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \dots & a_{1j} \\ a_{21} & a_{22} & \dots & a_{2j} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ a_{i1} & a_{i2} & \dots & a_{ij} \end{bmatrix}$$

Se o número de linhas é igual ao número de colunas, tem-se uma matriz quadrada. A transposta de uma matriz é obtida, quando se opera a troca das linhas pelas colunas e vice-versa, e representada por um “T” sobrescrito (\mathbf{A}^T). Por exemplo se:

$$\mathbf{A} = \begin{bmatrix} 2 & 3 & 5 \\ 5 & 0 & 4 \end{bmatrix} \quad \text{temos:} \quad \mathbf{A}^T = \begin{bmatrix} 2 & 5 \\ 3 & 0 \\ 5 & 4 \end{bmatrix}$$

Uma matriz com uma única linha é chamada vetor linha e aquela contendo uma coluna, vetor coluna.

Duas matrizes são iguais quando têm as mesmas dimensões e seus elementos correspondentes são iguais. Assim $\mathbf{A} = \mathbf{B}$ somente se $\mathbf{B} = \begin{bmatrix} b_{11} & b_{12} & b_{13} \\ b_{21} & b_{22} & b_{23} \end{bmatrix}$

$$\text{logo, } b_{11} = 2, \quad b_{12} = 3, \quad b_{13} = 5,$$

$$b_{21} = 5, \quad b_{22} = 0, \quad b_{23} = 4.$$

Segundo BEEB e KOWALSKI (1987), a matriz pode ser representada graficamente tanto no espaço das linhas como no das colunas. Considere a matriz **A** apresentada acima, o espaço das linhas será aquele formado tendo as linhas de **A** como eixos, sendo, portanto, representada em um gráfico bidimensional (Figura 4), e o espaço das colunas tem as colunas de **A** como eixos (Figura 5) e será representada em um gráfico tridimensional.

Também é bastante importante o conceito de projeção de um vetor sobre um plano. Cada um deles pode ser visto como a sombra perpendicular de um objeto sobre o plano, como é mostrado na Figura 6. A projeção do vetor originado da matriz **A** resulta em dois vetores: os “scores” e os “loadings”, que serão vistos mais adiante.

Finalmente, outro conceito importante a se entender é o de fator, uma vez que este é a base dos métodos de calibração multivariada. O fator é definido como uma combinação linear das variáveis originadas de uma matriz **X** e **Y**, que são relacionadas quando houver dependência entre as propriedades que descrevem cada uma.

2.2.3. Métodos de calibração

O processo geral dos métodos de calibração consiste de duas etapas: a *modelagem*, que estabelece uma relação matemática entre **X** e **Y** no conjunto de calibração, e a *validação*, que otimiza a relação no sentido de melhor descrição do analito interesse (FERREIRA et al., 1999). Uma vez concluída a calibração, o sistema desenvolvido (instrumento físico + modelo matemático) estará apto a ser utilizado para previsão das amostras.

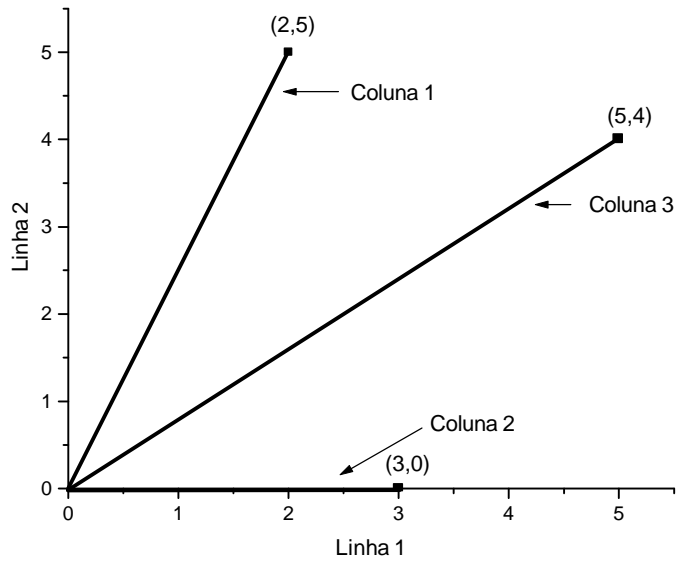


Figura 4 - Matriz A no espaço das linhas

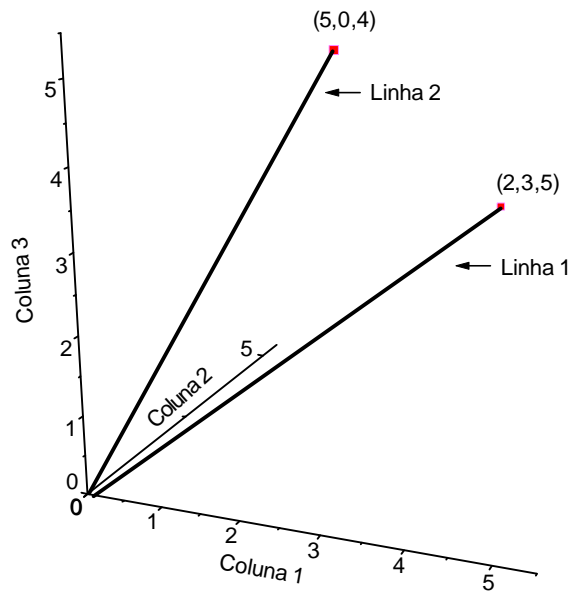


Figura 5 - Matriz A no espaço das colunas.

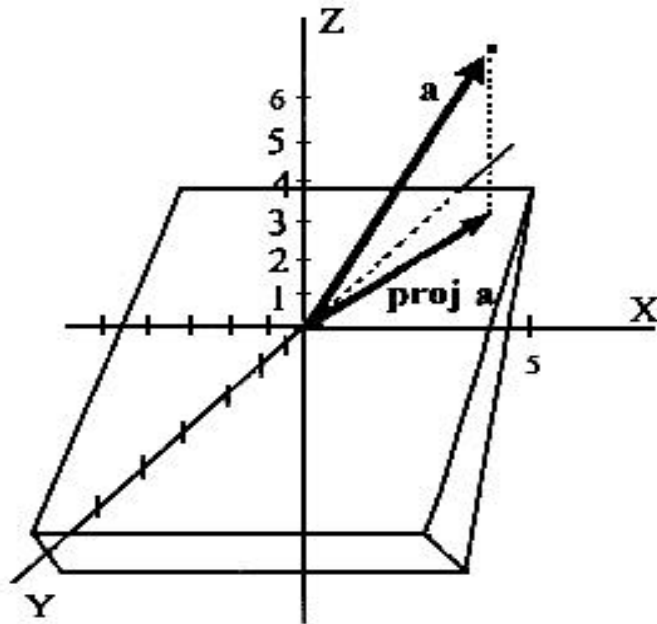


Figura 6 - Projeção de um vetor em um plano.

Na fase de calibração, tomando como exemplo o caso a ser estudado neste trabalho, “n” espectros de misturas de metais ou indicadores são obtidos em “p” comprimentos de ondas diferentes (intervalo de comprimento de onda), formando uma matriz \mathbf{X} , com “n” linhas e “p” colunas, mostrada genericamente na Figura 7, para um conjunto de amostras (misturas de metais ou indicadores) que apresenta composição conhecida. Também uma matriz \mathbf{Y} com os valores de concentração pode ser formada contendo “n” linhas, correspondendo às diferentes amostras, e “q” colunas, indicando o número de diferentes metais presentes nas amostras. Os dados utilizados nesta etapa constituem o conjunto de treinamento.

A seguir, deve-se desenvolver um modelo matemático apropriado que melhor reproduza \mathbf{Y} a partir dos dados de \mathbf{X} , a ser utilizado na fase de previsão, para estimar as concentrações dos constituintes de novas amostras, a partir de seus espectros. Os dados desta fase formam o conjunto de teste.

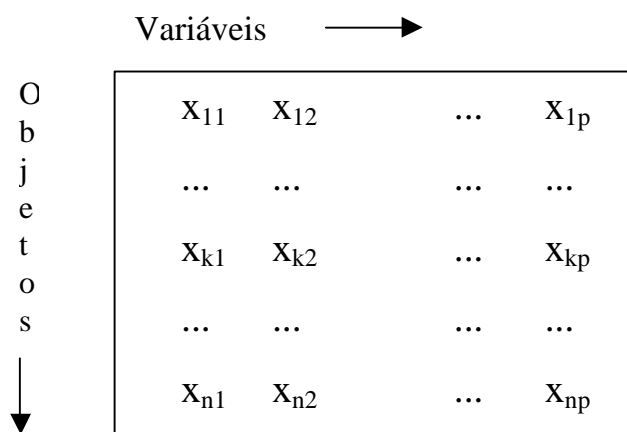


Figura 7 - Matriz de dados químicos.

Os dados para a calibração multivariada podem ser organizados conforme mostrado na Figura 8. Os valores de absorvância dos espectros, correspondentes a cada comprimento de onda, são as variáveis independentes e as concentrações dos metais nas amostras, as variáveis dependentes.

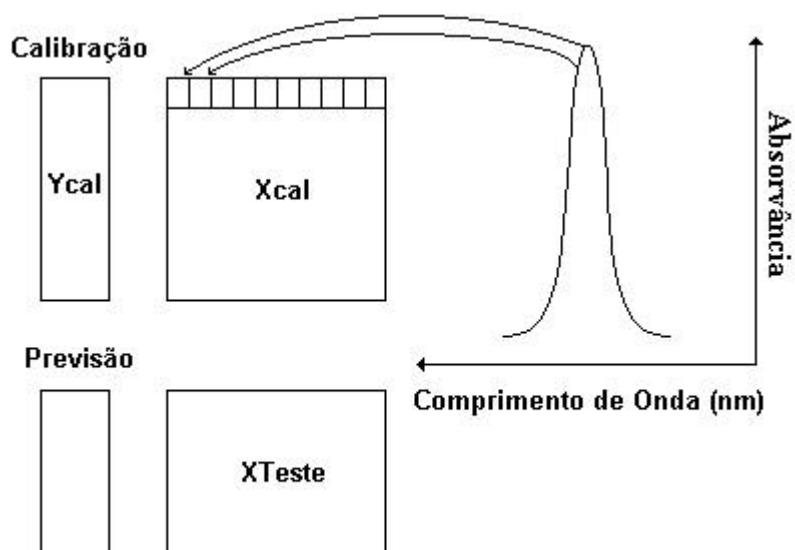


Figura 8 - Organização dos dados para a calibração multivariada no PLS bidimensional.

Vários são os métodos matemáticos para calibração multivariada, como a regressão linear múltipla (LORBER et al., 1987), a regressão de componentes principais (WOLD, 1978) e o método dos mínimos quadrados parciais (WELSCH, 1983), que vem se tornando uma ferramenta extremamente útil e importante em muitos campos da química, como físico-química, analítica, medicinal e ambiental, e ainda no controle de vários processos industriais, devido principalmente à simplicidade do algoritmo e ao excelente poder de previsão, sendo utilizado nos cálculos realizados neste trabalho. É um método bastante robusto, ou seja, seus parâmetros praticamente não se alteram com a inclusão de novas amostras no conjunto de calibração.

No trabalho de FERREIRA et al. (1999) é mostrado que a base fundamental da maioria dos métodos modernos para tratamento de dados multivariados é a Análise das Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), que consiste em uma manipulação da matriz de dados, com o objetivo de representar as variáveis presentes em muitas variáveis, por um número menor de “fatores”. Constrói-se um novo sistema de eixos, denominado rotineiramente de fatores, componentes principais ou ainda autovetores, para representar as amostras, nas quais a natureza multivariada dos dados pode ser visualizada em poucas dimensões.

Toma-se um exemplo pedagógico simples com duas variáveis para melhor entender como funciona o PCA. O conjunto de 30 amostras ($n = 30$) e duas colunas ($m = 2$) representando as medidas de intensidades registradas para dois comprimentos de onda λ_1 e λ_2 nas 30 amostras é mostrado na Figura 9.

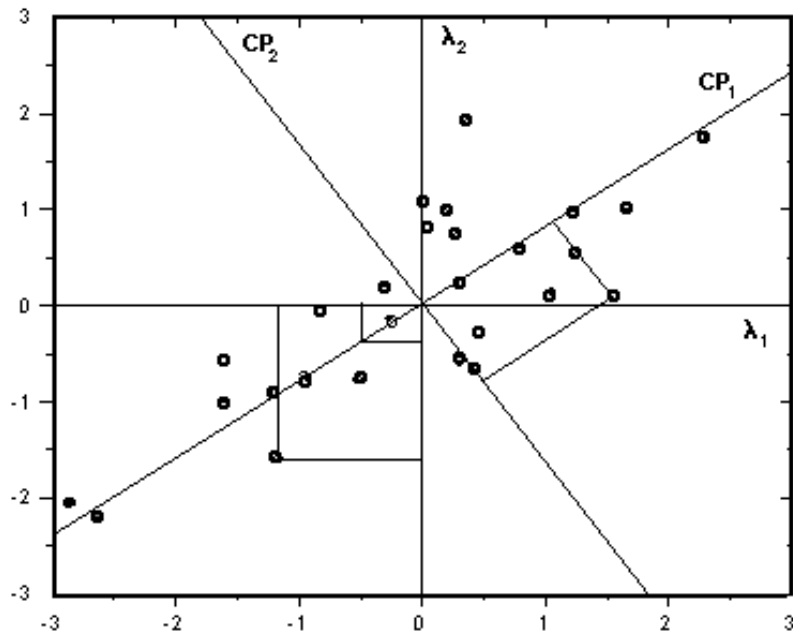


Figura 9 - Gráfico de um conjunto de dados bidimensional (λ_1, λ_2), mostrando os eixos das componentes principais (CP_1, CP_2).

Cada linha da matriz de dados é representada por um ponto no gráfico. Em termos geométricos, a função das componentes principais é descrever a variação ou espalhamento entre os pontos usando o menor número possível de eixos. Isso é feito definindo novos eixos, as componentes principais, que se alinham com os dados. Nota-se que, na Figura 9, λ_1 e λ_2 não descrevem a maior variação nos dados, mas a primeira componente principal PC_1 tem uma direção tal que descreve o máximo espalhamento das amostras mais que quaisquer uma das variáveis originais. A porcentagem da variação total nos dados, descrita por qualquer componente principal, pode ser previamente calculada. Neste exemplo, PC_1 descreve 92,5% da variação e PC_2 , ortogonal a PC_1 , é estimada para descrever a máxima variação restante, isto é, 7,5%. Essas novas coordenadas das amostras no novo sistema de eixo das componentes principais são denominados “scores”. Cada componente principal é uma combinação linear das variáveis originais e os coeficientes desta combinação linear, o peso (ou quanto cada

variável antiga contribui), são denominados “loadings”. Na realidade, são os cossenos dos ângulos entre os eixos originais e o novo eixo (PC).

Existem vários algoritmos para calcular os “loadings” e “scores”, sendo bastante utilizado um método chamado decomposição de valores singulares (DVS), que, para uma matriz \mathbf{X} , $\mathbf{m} \times \mathbf{n}$, é descrito como:

$$\mathbf{X} = \mathbf{U} * \mathbf{S} * \mathbf{V}^T = \mathbf{R} * \mathbf{C}$$

em que \mathbf{U} é a matriz $\mathbf{n} \times \mathbf{m}$ e \mathbf{S} e \mathbf{V} , as matrizes $\mathbf{n} \times \mathbf{n}$ (\mathbf{S} é uma matriz diagonal). A matriz $\mathbf{R} = \mathbf{U} * \mathbf{S}$ é a matriz dos “scores” e a matriz $\mathbf{C} = \mathbf{V}^T$, a matriz dos “loadings”.

No método de Regressão pelas Componentes Principais, utiliza-se a modelagem de componentes principais. Tem como aspecto característico a construção das componentes principais, utilizando unicamente as respostas instrumentais (\mathbf{X}), sem levar em consideração informações provenientes das concentrações (\mathbf{Y}), o que pode constituir uma fragilidade do método, caso o analito de interesse tenha um sinal muito fraco e, portanto, não influencie as primeiras componentes principais, tornando maior o número necessário para construção do modelo.

Já o método dos mínimos quadrados parciais (PLS) contorna esta dificuldade característica do PCR, usando a informação das concentrações na obtenção dos fatores, o que só é justificável se tais concentrações tiverem valores confiáveis. Neste caso, o primeiro fator chamado variável latente descreve a direção de máxima variância, que também se correlaciona com a concentração, e, na realidade, é uma combinação linear das componentes principais calculadas pelo método PCR. KOWALSKI e SEASHOLTZ (1991) citam um algoritmo simples para PLS que utiliza a decomposição de valores singulares.

Segundo ZAMORA et al. (1997), a base do método PLS está na decomposição de uma matriz \mathbf{X} das variáveis independentes e a matriz \mathbf{Y} das variáveis dependentes, em um produto de duas matrizes menores mais uma matriz de erro, que corresponde à parte não-modelada da matriz \mathbf{X} , que é

decomposta em uma soma de matrizes \mathbf{M}_i de dimensionalidade um, que constituem os componentes principais e formados pelo produto de dois vetores, \mathbf{t} (“scores”) e \mathbf{p} (“loadings”):

$$\mathbf{X} = \mathbf{M}_1 + \mathbf{M}_2 + \dots + \mathbf{M}_a + \mathbf{E} \quad \text{ou}$$

$$\mathbf{X} = \mathbf{t}_1\mathbf{p}_1 + \mathbf{t}_2\mathbf{p}_2 + \dots + \mathbf{t}_a\mathbf{p}_a + \mathbf{E} \quad \text{ou}$$

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} * \mathbf{P}^T + \mathbf{E}$$

Similar à matriz \mathbf{X} , a matriz \mathbf{Y} é descrita:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{u}_1\mathbf{q}_1 + \mathbf{u}_2\mathbf{q}_2 + \dots + \mathbf{u}_a\mathbf{q}_a + \mathbf{F} \quad \text{ou}$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{U} * \mathbf{Q}^T + \mathbf{F}$$

em que \mathbf{U} , \mathbf{Q} e \mathbf{F} são, respectivamente, os “scores”, os “loadings” e a matriz dos erros para \mathbf{Y} . Esta decomposição é útil nos casos em que a matriz \mathbf{X} é mal condicionada ou, ainda, quando o número de amostras é menor que o número de variáveis independentes, visto que se pode utilizar uma matriz \mathbf{T} de dimensão inferior à da matriz \mathbf{X} , sem perda de informação útil, eliminando ruído e colinearidade dos dados.

Uma relação entre as duas matrizes de dados \mathbf{X} e \mathbf{Y} pode ser construída correlacionando-se os scores de cada bloco, utilizando um modelo linear:

$$\mathbf{U}_a = \mathbf{b}_a\mathbf{t}_a \quad \text{ou}$$

$$\mathbf{U} = \mathbf{bT}$$

Esse modelo, entretanto, não é o melhor possível, porque cada matriz (\mathbf{X} e \mathbf{Y}) é decomposta separadamente, o que pode resultar em uma relação não-linear entre os scores dos dois blocos. Deve-se então buscar um modelo em que as matrizes de resíduos \mathbf{E} e \mathbf{F} sejam as menores possíveis e, ao mesmo tempo, conseguir uma relação linear entre \mathbf{t} e \mathbf{u} . No PLS, isto é realizado por uma leve mudança nos valores dos scores, de forma a produzir a melhor relação possível. Como pode ser notado, existe um compromisso entre a habilidade de descrever a modelagem dos blocos \mathbf{X} e \mathbf{Y} e o aumento na correlação entre \mathbf{t} e \mathbf{u} .

2.2.4. PLS-Multidimensional

Segundo XIE et al. (1995), no PLS tridimensional, cada amostra de calibração é caracterizada por uma matriz \mathbf{X} de ordem $J \times K$, de variáveis medidas. Isto significa que, para cada variável na ordem de J , as mesmas variáveis K foram determinadas e vice-versa. Estas matrizes são dispostas em um paralelepípedo $\underline{\mathbf{X}}$, que tem dimensão $\mathbf{I} \times \mathbf{J} \times \mathbf{K}$, na qual há I amostras na primeira ordem, J medidas na segunda ordem e K medidas na terceira ordem. Para cada amostra, há uma concentração conhecida, ou variável ou conjunto de variáveis, a ser estimada pelas variáveis independentes. Estas variáveis são armazenadas em um vetor $I \times 1$ denominado \mathbf{y} . Quando há mais de uma variável a ser determinada, estas são armazenadas em uma matriz \mathbf{Y} , que tem dimensão $I \times M$, em que M é o número de diferentes espécies analisadas.

A análise de regressão baseada no PLS é um método para construir modelos de regressão entre variáveis independentes e dependentes. O algoritmo trabalha de tal maneira que para cada amostra/objeto são determinadas diversas variáveis. O conjunto de amostras de calibração pode ser então arranjado em duas matrizes, uma matriz \mathbf{X} contendo as variáveis independentes e a matriz \mathbf{Y} contendo as variáveis dependentes. Cada linha destas matrizes contém as variáveis determinadas para cada amostra.

A principal diferença do PLS em relação à PCR, e o aspecto mais importante do PLS, é que a decomposição é realizada de tal maneira que os vetores “scores” computados sucessivamente têm a propriedade de máxima covariância com a parte não explicada das variáveis dependentes.

WOLD et al., em 1987, generaliza PLS para um conjunto de dados em mais de duas dimensões. Se \mathbf{X} e \mathbf{Y} consistem dos valores reais e estimados, respectivamente, o PLS tridimensional leva ao seguinte modelo:

$$\mathbf{X}_{nij} = \sum t_{ns} \mathbf{P}_{nij} + \mathbf{e}_{nij}; n = 1, \dots, N; i = 1, \dots, I; j = 1, \dots, J$$

$$\mathbf{Y}_{bij} = \sum u_{ns} \mathbf{q}_{sij} + \mathbf{f}_{nij}; n = 1, \dots, N; i = 1, \dots, M; j = 1, \dots, P$$

que pode ser escrito na forma matricial:

$$\underline{\mathbf{X}} = \mathbf{T} \ddot{\mathbf{A}} \underline{\mathbf{P}}^T + \underline{\mathbf{E}},$$

$$\underline{\mathbf{Y}} = \mathbf{U} \ddot{\mathbf{A}} \underline{\mathbf{Q}}^T + \underline{\mathbf{F}},$$

e

$$\mathbf{U} = \mathbf{T} * \mathbf{B} + \mathbf{H},$$

em que $\underline{\mathbf{P}}$ é uma matriz tridimensional com os elementos típicos p_{sij} ; $\underline{\mathbf{Q}}$, $\underline{\mathbf{E}}$ e $\underline{\mathbf{F}}$ são análogos a $\underline{\mathbf{P}}$; e \otimes , o produto de Kronecker, que para duas matrizes \mathbf{A} e \mathbf{B} é definido como a matriz \mathbf{C} , que tem a seguinte forma particionada:

$$\mathbf{C} = \begin{bmatrix} a_{11}\mathbf{B} & \dots & a_{1W}\mathbf{B} \\ a_{v1}\mathbf{B} & \dots & a_{vW}\mathbf{B} \end{bmatrix}$$

isto é, cada elemento da matriz \mathbf{A} é multiplicado por toda a matriz \mathbf{B} .

As ordens de \mathbf{X} e \mathbf{Y} podem ser diferentes. A decomposição dos blocos de matrizes tanto no PLS bidimensional como no PLS tridimensional é ilustrada na Figura 10 (XIE et al., 1995).

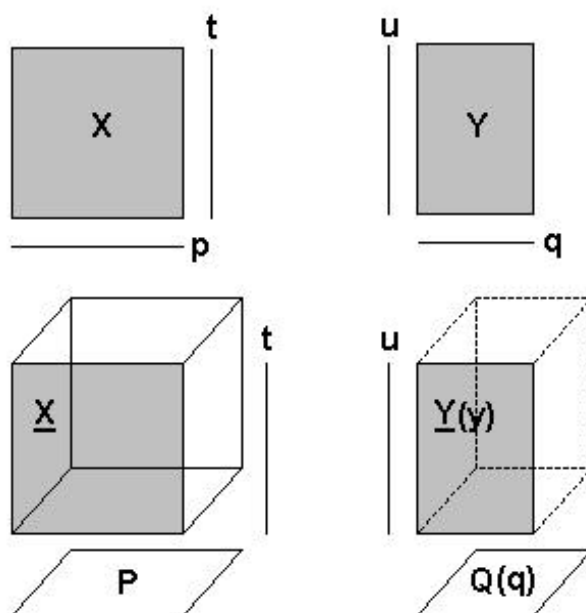


Figura 10 - Esquemas comparativos entre os modelos de PLS bi e tri-dimensional. O modelo de PLS com uma variável latente para dois blocos de matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} e para matrizes tridimensionais $\underline{\mathbf{Y}}$ e $\underline{\mathbf{X}}$. As linhas pontilhadas representam a possível ausência da terceira dimensão.

2.3. Determinação multicomponente simultânea em fluxo

SALDANHA et al. (1999) relatam que as primeiras tentativas de Análise Multicomponente Simultânea (AMS) são citadas por STEARNS, em 1953, acerca de uma metodologia para análise simultânea de uma mistura de três componentes aplicando equações simultâneas, com resultados absurdos, como valores negativos de concentração para componentes reconhecidamente presentes nas amostras. Essas discrepâncias foram atribuídas a desvios da lei de Lambert-Beer, causadas talvez por interações entre os componentes ou pela presença de interferências absorventes.

SALDANHA et al. (1999) também citam que novas tentativas foram realizadas no início da década de 70, por STERNBERG e colaboradores,

utilizando uma misturas de cinco componentes e empregando o método dos mínimos quadrados, por intermédio de dados obtidos por espectrofotometria de absorção molecular UV-VIS (EAM). Neste trabalho foi possível identificar a principal causa das dificuldades encontradas nas AMS-EAM, baseadas na aplicação direta da lei de Lambert-Beer aos espectros de absorção das misturas, segundo os quais, quando os componentes da mistura têm máximos e mínimos em comprimentos de onda muito próximos, o sistema de equações simultâneas resultante é numericamente instável, pois há uma relação linear entre as equações que torna impossível encontrar uma solução única para o problema. Embora os autores deste trabalho tenham apontado a real causa das dificuldades da AMS-EAM, na verdade não foram analisados simultaneamente os cinco componentes, e sim misturas sintéticas de dois ou três componentes, ou seja misturas binárias e ternárias.

SALDANHA et al. (1999) citam ainda que ZSCHEILE et al., em 1976, aproveitando estas considerações, propuseram um método para determinar a estabilidade dos sistemas lineares encontrados em AMS-EAM e, assim, estimar a precisão que poderia ser esperada para a solução do problema. Entretanto, ao analisar misturas quaternárias em condições diferentes, obtiveram erros de até 37,7% na melhor série de medidas, outros chegaram a mais de 3000%.

Os avanços nos equipamentos e, principalmente, o surgimento da quimiometria deram grande impulso nas pesquisas sobre análise simultânea de sistemas multicomponentes.

Alguns trabalhos têm empregado métodos de quimiometria em sistema FIA e detector multicanal ou monocanal de varredura rápida. HERNÁNDEZ et al. (1995) empregaram o método multivariado por mínimos quadrados parciais (PLS) para determinação simultânea de metais utilizando zincon como reagente cromogênico para a resolução de misturas binárias e ternárias de Co(II), Zn(II) e Cu(II), em soro sanguíneo e formulações veterinárias. O mesmo grupo de pesquisadores desenvolveu outro método para determinação simultânea de cobre e zinco, com 4-(4'-metil-2'-tiazolilazo)-2-metil-resorcinol usando FIA-PLS

(HERNÁNDEZ et al., 1996). Segundo os autores, o método proposto prova que a combinação de um sistema FIA com método de calibração multivariada pode ser aplicada a determinações simultâneas, usando uma quantidade mínima de amostras, e alcança resultados comparáveis aos obtidos em determinações monocomponentes em amostras similares. BLANCO et al. (1995) empregaram o reagente cromogênico 4-(2-piridilazo) resorcinol (PAR) para o deslocamento dos metais dos complexos Cu(II), Co(II) e Zn(II) com EGTA, empregando a técnica de fluxo interrompido (“Stopped Flow”) e posterior quantificação das misturas por redes neurais. BLANCO et al. (1992) também desenvolveram estudos sobre o potencial de um sistema de diluição automático, por injeção em fluxo baseado na técnica de amostragem por zona, para análise de rotina de soluções concentradas, via PLS. O desempenho do método proposto foi testado aplicando-se a resolução de misturas de complexos de Cu(II) e Zn(II) com o reagente cromogênico PAR.

ZOLOTOV et al. (1995) publicaram um artigo sobre a determinação de misturas binárias de alumínio, manganês, ferro, cálcio e magnésio, com determinação espectrofotométrica em amostras de solo, e conseguiram analisar 32 amostras por hora. Em 1997, NI e WU relataram a determinação de misturas binárias ternárias e quaternárias de íons metálicos em pequenas quantidades, empregando método titulométrico com complexação e utilizando detecção potenciométrica com um eletrodo de filme de mercúrio como eletrodo indicador, e um de Ag/AgCl como eletrodo de referencia.

Pode-se destacar ainda trabalhos com detecção espectrofotométrica e utilização de complexantes, como o de ENGSTRÖM et al. (1998), que analisaram metais pesados em água do mar, utilizando o complexante 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR). ZHAO et al. (1998) propuseram um método rápido e simples para determinação simultânea de ferro e zinco utilizando gradiente de pH e complexação com 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol (5-Br-PADAP). RODRIGUEZ et al. (1998) utilizaram o 1,5-bis(di-2-piridilmetileno) tiocarbazida (DPTH) para determinação simultânea de cobalto, cobre, ferro e níquel.

SILVA e OLIVEIRA (1999) relataram a análise simultânea de cádmio, chumbo, cobalto, níquel e zinco em misturas binárias e ternárias, com base em reações de complexação dos metais com o PAR e EDTA, utilizando o modelo PARAFAC de calibração multivariada.

2.4. Otimização e planejamentos experimentais

Os objetivos de aplicar métodos de otimização e planejamentos em Química Analítica são diversos. A influência de diferentes fatores no sinal analítico deve ser investigada para que se julgue a robustez do método ou avalie a importância destes fatores. Processos de otimização são aqueles que visam melhorar algum tipo de resposta de interesse, estudando diferentes variáveis que possam exercer influência sobre aquele tipo de resposta. Frequentemente, os procedimentos em processos analíticos são otimizados, visando melhorar a qualidade de critérios como precisão, sensibilidade, limite de detecção, seletividade etc (KELLNER et al., 1998).

Segundo KELLNER et al. (1998), a otimização dos processos deve seguir determinada seqüência: primeiro deve-se determinar os objetivos do trabalho. Muitas vezes isto é bastante simples, como medir um sinal analítico ou tempo de análise, mas podem surgir situações mais complicadas em que devem ser considerados critérios como seletividade, sensibilidade e precisão. Em seguida, deve-se selecionar os fatores mais importantes, como aqueles que possam afetar a resposta. Os testes de significância da influência de fatores são a base do modelo experimental. E por último a otimização, a combinação adequada dos fatores, pode distinguir entre otimização simultânea ou seqüencial.

Com a estratégia simultânea, a relação entre resposta e fatores são estudados no curso do modelo experimental, construindo um modelo matemático e investigando a relação pelos chamados métodos de superfície de resposta (RSM do inglês *Response Surface Methodology*). As estratégias de otimização seqüencial são baseadas em um modelo inicial de experimentos seguidos de uma seqüência de medidas adicionais em direções ascendentes e descendentes.

CORNELL (1990) cita que o conjunto de respostas obtidos por um pesquisador são denominadas variáveis dependentes, pois seu valor pode variar de acordo com os níveis assumidos por outras variáveis, chamadas variáveis independentes. Valores limitados das variáveis independentes formam a chamada “região experimental”, que é a região onde o pesquisador tem a liberdade de variar os níveis das variáveis, com o objetivo de melhorar sua resposta.

A otimização pode ser feita de duas maneiras. A primeira maneira, que não é muito eficiente, apesar de ser a mais utilizada, consiste em variar apenas um parâmetro de cada vez, mantendo os outros fixos. Já segunda é mais eficiente e visa variar simultaneamente todas as variáveis (BOX et al., 1978).

O planejamento de um experimento, que é a especificação detalhada das operações a se realizar, depende dos objetivos propostos. Cada objetivo requer um planejamento diferente (BARROS NETO, 1996).

Experimentos fatoriais baseiam-se em variar todos os fatores simultaneamente. Este tipo de experimentação é especialmente importante no início do estudo experimental, em que o maior número de fatores influencia, e a ordem de influência e as interações de fatores não são bem conhecidas. Um planejamento fatorial requer a execução de experimentos para todas as possíveis combinações dos níveis de fatores. Cada um desses experimentos, em que o sistema é submetido a um conjunto de níveis, é definido como um “ensaio experimental”. Por exemplo, se houver quatro níveis em um fator e três no outro, serão necessários $4 \times 3 = 12$ ensaios diferentes, e o planejamento é chamado de “fatorial 4×3 ”. Em geral, se houver n_1 níveis de um fator 1, n_2 níveis de um fator 2, ..., e n_k níveis de um fator k, o planejamento será um fatorial $n_1 \times n_2 \times \dots \times n_k$. Não significa necessariamente que serão realizados apenas $n_1 \times n_2 \times \dots \times n_k$ experimentos, este é o número mínimo para se ter um planejamento fatorial completo.

Ainda segundo BARROS NETO (1996), para se estudar o efeito de qualquer fator sobre a resposta, é preciso fazê-lo variar e observar o resultado dessa variação, o que implica obviamente em realizar os ensaios em pelo menos dois níveis desse fator, que é o mais simples de todos. Havendo k fatores, ou seja, k variáveis controladas pelo

pesquisador, o planejamento de dois níveis irá requerer a realização de $2 \times 2 \times \dots \times 2 = 2^k$ ensaios diferentes, sendo chamado planejamento fatorial 2^k .

Os planejamentos fatoriais de dois níveis são de grande importância em investigações preliminares, quando se deseja saber se determinados fatores têm ou não influência sobre a resposta, e não se está preocupado ainda com a descrição muito rigorosa desta influência. São planejamentos simples de executar e podem ser ampliados para formar um planejamento mais sofisticado, que é necessário quando se quer conhecer melhor a relação funcional existente entre a resposta e os fatores.

Os planejamentos experimentais para o estudo de misturas têm uma importante diferença em relação aos de influência de fatores experimentais, porque as propriedades das misturas são determinadas pelas proporções de seus integrantes, e não pela sua quantidade total. Além disso, as proporções dos diversos componentes de uma mistura não são independentes; a soma de todas elas tem que ser sempre igual a 100%. Estes planejamentos são bastante utilizados para otimizar misturas de solventes em cromatografia.

A interpretação da superfície para misturas ternárias pode ser representada por pontos no interior de um triângulo. O valor da resposta é a soma das contribuições lineares devidas aos componentes puros com as contribuições das misturas binárias, que geralmente conseguem reproduzir satisfatoriamente os valores de respostas. O planejamento representado pelos seis pontos da Figura 11a é usado com frequência e, na literatura sobre misturas, recebe o nome de Planejamento em Rede Simplex (do inglês *Simplex Lattice Design*).

Pode acontecer, no entanto, que os efeitos não-aditivos envolvendo a presença simultânea dos três componentes sejam importantes na descrição da resposta de determinadas misturas (os pontos no interior do triângulo), sendo necessário acrescentar um ponto central, que representará a mistura ternária em partes iguais. Este novo modelo é o chamado Centróide Simplex (Figura 11b).

Em 1988, CAHN e COMPTON utilizaram planejamentos experimentais para prever a composição de misturas binárias e ternárias de isômeros do xileno por espectros FT-IR (do inglês *Fourier Transformed – Infra Red*). Nas misturas ternárias foi utilizado um planejamento em rede simplex, acrescentando-se no interior do triângulo mais seis pontos além do ponto central.

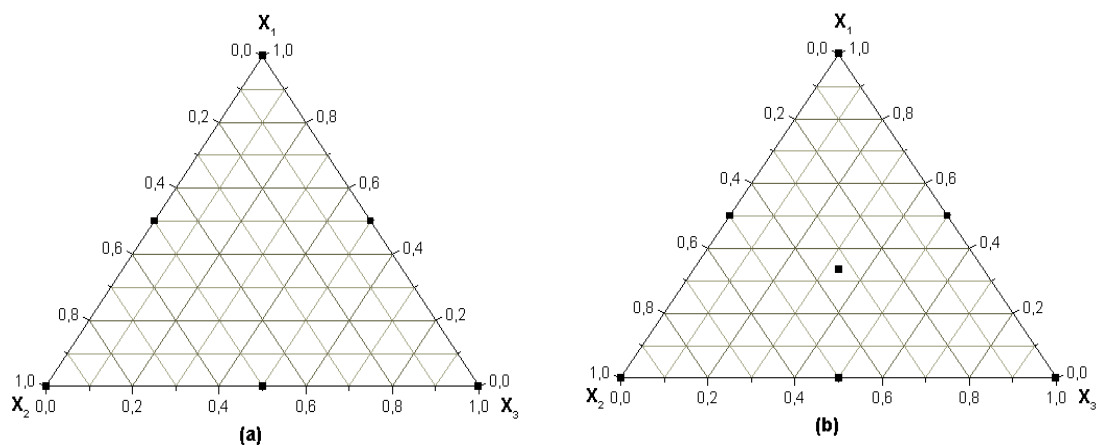


Figura 11 - Modelo genérico de planejamentos de misturas ternárias. (a) Planejamento em rede simplex. (b) Planejamento centróide simplex.

DÍAZ et al. (1994) utilizaram dois diferentes modelos de planejamentos experimentais na determinação de misturas ternárias do pesticida naptalm e dois de seus metabólitos em águas de rios. O primeiro foi um planejamento triangular contendo 19 misturas com concentrações variadas e o segundo, um planejamento ortogonal (Figura 12) contendo 27 misturas.

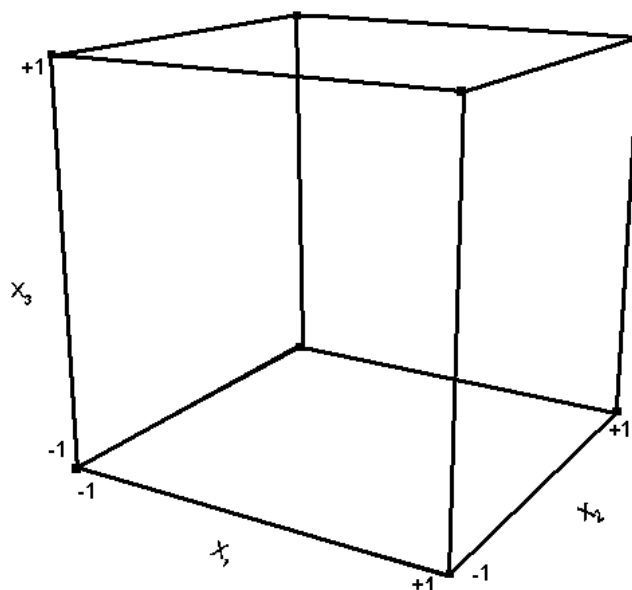


Figura 12 - Representação genérica de um planejamento ortogonal.

Um trabalho recente utilizando planejamentos experimentais foi desenvolvido por AZUBEL et al. (1999), que utilizaram um fatorial 2^3 mais estrela, ou seja, adicionaram ao planejamento já existente os mesmos pontos girados em 45° , na determinação simultânea de misturas ternárias de metais, obtendo bons resultados, com frequência de 180 amostras por hora a baixo custo. Utilizaram também um planejamento experimental, para a determinação simultânea de seis metais, percorrendo uma série linear de concentrações, perfazendo um total de 30 misturas mais um branco.

2.5.4- (2-Piridilazo)-Resorcinol (PAR)

Um agente cromogênico bastante versátil é o 4-(2-Piridilazo)-Resorcinol (PAR), que forma complexos solúveis com diversos íons metálicos, em função do

pH do meio reacional. Geralmente, as metodologias que empregam este reagente são bastante sensíveis, devido à elevada absorvidade dos complexos formados, $10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (GRZERIK e GROSSMAN, 1996).

O PAR é um sólido marrom e amorfo, podendo ser obtido nas formas de sal mono e dissódico, sendo que o derivado dissódico é ligeiramente higroscópico. É solúvel em soluções alcalinas e em água, com solubilidade de 5 mg/100 mL de solução a 10°C. O aspecto da curva de absorvância do PAR em solução aquosa depende do pH do meio.

O PAR forma complexos de coloração intensa, normalmente vermelho ou vermelho-arrocheado, com metais em meio aquoso (Quadro 1).

O PAR pode ser encontrado nas formas catiônica, neutra e aniônica e visto na Figura 13. A dissociação do grupo hidroxila na posição orto ocorre primeiro que a da posição para, desde que possa suportar uma ligação intramolecular com o grupo azo. Provavelmente devem existir duas outras formas catiônicas, H_4L^{2+} e H_5L^{3+} , que podem existir em soluções aquosas de ácido sulfúrico, 50 e 90%, respectivamente.

Quadro 1 - Coloração de alguns íons metálicos com PAR

Meio	Metal*
Ácido	Cu(II), Bi, Zr(IV), Ti(IV), Tl(III), Ni(V), Ta(V), Pd(II) (verde), V(V) (púrpura)
Fracamente ácido ou neutro	Pb(II), Zn (rosa), Cd, Co(II), Ni(II), Hg(II), Mg(II), U(VI), Ga, Fe(II) (marrom avermelhado), Fe(III) (marrom), I, Sc(III), Al, Th, Tl, Pt, Rh(III), Ir(IV), Sn(III) (rosa amarelado), Y(III)
Alcalino (2 F NH_3)	Ca, Sr, Ba, Ag

* Coloração vermelha ou vermelho-púrpura, exceto aquelas indicadas entre parênteses.

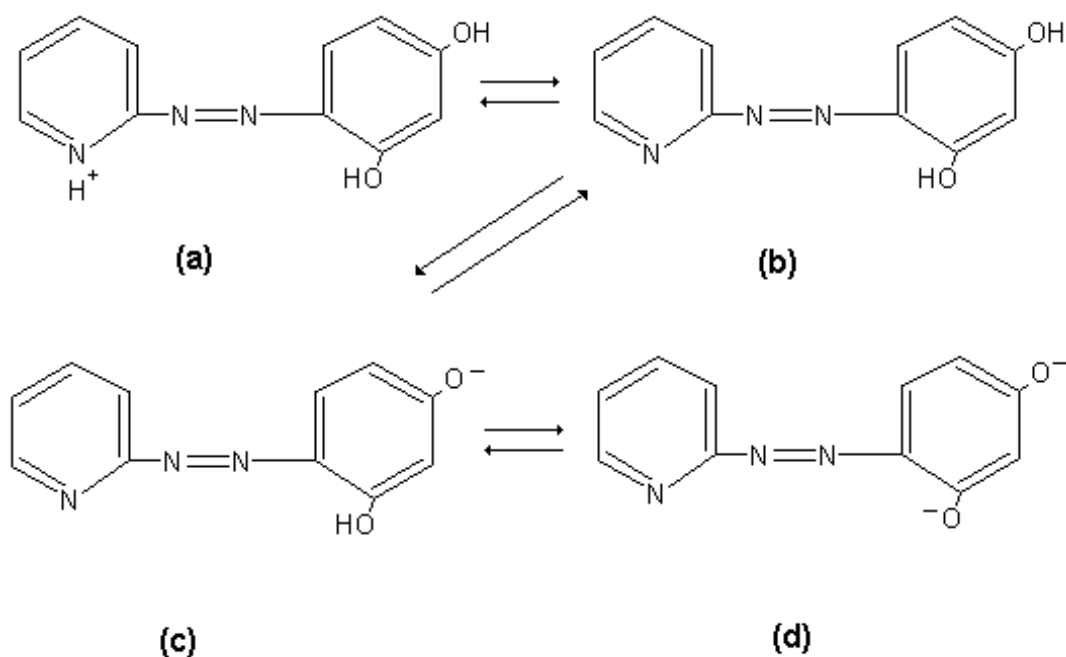


Figura 13 - (a) forma catiônica, H_3L^+ ; (b) forma neutra H_2L ; (c) e (d) duas formas aniônicas existentes, HL^- e L^{2-} , respectivamente.

O PAR pode ser sintetizado a partir da diazotização da 2-aminopiridina em etanol, empregando nitrito de isopentil, tratando com etóxido de sódio e acoplado o resorcinol.

O PAR é um reagente não-seletivo, mas sua sensibilidade fotométrica para certos metais é mais alta que a de outros reagentes conhecidos. Normalmente forma complexos metais-ligante na proporção 1:1 e 1:2, ou seja, MHL e ML_2 (Figura 14), mas há relatos de espécies com tório do tipo ThL_4 , que é exceção. Hnilicková e Sommer investigaram a formação e estequiometria de alguns quelatos metal-PAR, em função do pH, e mostraram que em meio ácido predomina a forma MHL^+ e em meio alcalino, ML_2 (FLASCHKA, 1972).

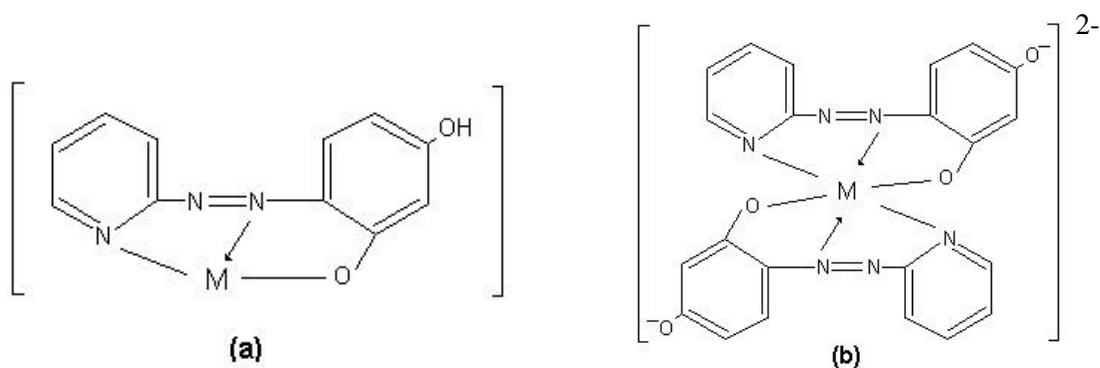


Figura 14 - Estruturas dos quelatos metal-PAR. (a) quelato 1:1; (b) quelato 1:2.

O PAR, apesar de não ser um complexante seletivo, pode ser utilizado na determinação simultânea de metais, uma vez que pode complexá-los em diferentes valores de pH. É menos seletivo que o 1-(2-piridilazo)2-naftol, PAN (insolúvel em água) e, na maioria das determinações, é necessário eliminar ou mascarar os íons interferentes (FLASCHKA, 1972).

ARRUDA et al. (1993) utilizaram o PAR na determinação de cobalto e níquel em fluxo com determinação espectrofotométrica. O método explorou as diferenças das reações entre cobalto e níquel com o PAR, estudando a influência de pH, concentração dos reagentes, temperatura, força iônica, proporção entre os metais e influência de interferentes.

TAYLOR et al. (1996) utilizaram o PAR na determinação de vanádio pentavalente na presença de vanádio tetravalente em sistemas de fluxo, mas foi adicionado ao ácido 1,2-ciclohexanodiaminotetracético (CDTA) para mascarar a interferência do V(IV).

Também em 1996, GRZESIK e GROSSMAN relataram a determinação simultânea de íons metálicos utilizando o PAR como agente complexante. Os autores utilizaram espectrofotometria derivativa na eliminação de interferências espectrais na análise de misturas binárias, ternárias e quaternárias, de íons bivalentes de cobalto, cobre, chumbo, manganês, níquel, zinco e ferro.

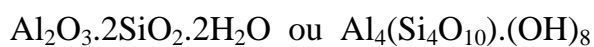
ENGSTRÖM et al. (1998) utilizaram o PAR na determinação simultânea de metais em água do mar, em que à amostra foi adicionada uma solução tampão pH 9 contendo PAR, e os espectros tomados em comprimentos de onda de 260 a 600 nm.

CULLEN e CROUCH (2000) exploraram a combinação da complexação com PAR, que tem baixa seletividade com técnicas de calibração multivariada de alta seletividade (PLS, PCR, MLR e Regressão Contínua por Cinética-Espectrofotométrica).

2.6. Caulim

O caulim é uma substância branca, quando pura, e seu nome origina-se do chinês *Kao Ling*, o qual provém da colina em que pela primeira vez foi encontrado e significa cume alto (CAULIM, 1989).

Segundo informe técnico publicado pela Mineração Caulinita, empresa que explora e beneficia o mineral em Ubá - MG (CAULIM, 1989), a formação de caulim foi devida à erosão de rochas aluminosas como feldspato e pegmatito, onde a desintegração das rochas primárias foi realizada pela ação mecânica de águas, ventos e movimentos da crosta terrestre, associada à ação química das águas, do dióxido de carbono, dos ácidos e, às vezes, dos gases de enxofre e flúor, auxiliado por temperaturas elevadas. A rocha-mãe é decomposta em dois colóides típicos, sais de sílica ácida e óxido de alumínio, que reagem entre si formando um alumínio-silicato hidratado, ou caulim. A composição química pode variar por causa de eventual dissolução de outros sais, mas basicamente pode ser expressa como:



Quando puro, é uma substância branca, refratária, friável e alva, com propriedades físicas e químicas importantes, sendo normalmente classificado por alvura, umidade, resíduo, pH, abrasividade, diâmetro e forma de suas partículas.

O caulim, como “mineral industrial”, tem várias utilizações, devido à sua alvura natural, baixa granulometria, pouca abrasividade (textura macia), forma específica das partículas, além das propriedades geológicas específicas, adequadas em diferentes meios líquidos. Pode ser utilizado na produção de papel, cerâmica, borracha, plásticos, tintas, adesivos, inseticidas, pesticidas, produtos farmacêuticos e alimentícios, rações, catalisadores, produtos absorventes e clarificantes, cimento, fertilizantes, gesso, auxiliares de filtração, cosméticos, produtos químicos, lápis, detergentes e abrasivos, esmaltes cerâmicos, pós-dentifrícios, pigmentos, cargas e enchimentos para as mais variadas finalidades. É encontrado em depósitos de natureza variada, em muitos pontos do mundo. No Brasil, ocorre nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Espírito Santo e, principalmente, de Minas Gerais, onde tem sido encontrado em sua forma mais pura (CAULIM, 1989).

Devido às impurezas normalmente presentes na rocha, o caulim pode ser encontrado em diversas tonalidades, dependendo da quantidade e do tipo de óxido ou pigmento a ele misturado, que podem ser em tons de rosa e amarelo (óxidos de ferro), creme (óxidos de ferro ou titânio) ou cinza (óxidos de manganês) (CAULIM, 1989).

Devido à presença destas impurezas, faz-se necessário um beneficiamento do caulim, que pode ser feito a seco ou a úmido. O beneficiamento a seco é indicado no caso de caulins com pouca quantidade de quartzo e distribuição granulométrica adequada das partículas. O produto obtido é de baixo custo, porém de qualidade inferior ao gerado no processo por via úmida. Como a maioria dos caulins não atende a estas exigências, o beneficiamento mais comum é aquele feito por via úmida (D’ALMEIDA, 1991).

O caulim bruto pré-selecionado na lavra é lavado com jatos d’água e passa por processo de desintegração em misturadores helicoidais e, através de

tubos, é carregado para uma série de peneiras de choque providas de telas de poliuretano com orientação transversal de fluxo. A mistura desaguada pelas peneiras é conduzida aos hidro-ciclones, e o caulim fino recuperado é projetado em peneiras circulares vibratórias para a retirada do restante dos resíduos pesados. A mistura que passou pelas peneiras vibratórias é encaminhada para o tanque de decantação, onde se deposita o caulim em suspensão (Figura 15).

A etapa de alvejamento é efetuada em tanques verticais cilíndricos, providos de eixo e palhetas para agitação da mistura, onde a uma suspensão de caulim são adicionados H_2SO_4 , SO_2 e zinco metálico em pó e, posteriormente, H_3PO_4 , em proporção adequada a quantidade de óxidos contidos.

Em seguida, o caulim alvejado é filtrado em filtros-prensa para a eliminação da maior parte da água. O caulim pode ser ensacado seco ou úmido e a secagem pode ser feita de duas maneiras: natural e mecânica.

A água retirada dos filtros prensa tem seu pH, elevado mediante a adição de $Ca(OH)_2$ para a eliminação dos resíduos de metais derivados do processo, filtrada em filtros-prensa e, posteriormente, lançada ao curso d'água. Entre os poluentes que podem estar contidos nas águas residuárias de beneficiamento do caulim, encontram-se, principalmente, alumínio, ferro e zinco.

O ferro é um elemento essencial aos seres vivos, já que participa de várias reações no organismo, como na formação da hemoglobina e mioglobina e no transporte de oxigênio para as células. Em excesso, pode ocasionar aumento na produção de radicais livres, responsáveis pelas doenças degenerativas e pelo processo de envelhecimento (SHIMMA, 1995).

O zinco também é essencial ao organismo de seres humanos, animais e vegetais superiores, uma vez que participa do processo de crescimento celular. Também ajuda a regular o sistema enzimático e atua na síntese protéica e de ácidos nucléicos. Participa ainda do processo de crescimento, maturação sexual, manutenção da saúde dos músculos e cicatrização de feridas. Quando em excesso, pode causar distúrbios, como a redução de cobre, dor de cabeça, anorexia, sangramento intestinal e anomalias cerebrais (SHIMMA, 1995).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Construção de um sistema contador de tempo

Em sistemas de análise por injeção em fluxo, é necessário sincronizar o momento da injeção da amostra e sua chegada ao detector, para só então iniciar a aquisição dos dados. Este procedimento pode ser realizado, se o detector estiver interfaceado a um microcomputador, que, por intermédio de programas desenvolvidos com esta finalidade e de sistemas de injeção eletrônica, realiza a contagem de tempo necessária para acionar o instrumento e iniciar a aquisição espectral no momento em que a amostra chega ao detector.

Os equipamentos espectrofotométricos modernos normalmente são interfaceados a microcomputadores, nos quais os programas de gerenciamento do instrumento são fornecidos pelos fabricantes na forma executável. Estes programas não permitem alterações em suas rotinas, dificultando o seu acoplamento a sistemas de análise por injeção em fluxo.

Para solucionar este problema, desenvolveu-se o sistema contador de tempo mostrado na Figura 16. Este sistema foi construído adaptando-se uma chave óptica de transmissão (CH) a um injetor tipo proporcional (I), ligado a um circuito temporizador baseado no LM555, que aciona um relê eletromagnético (RL).

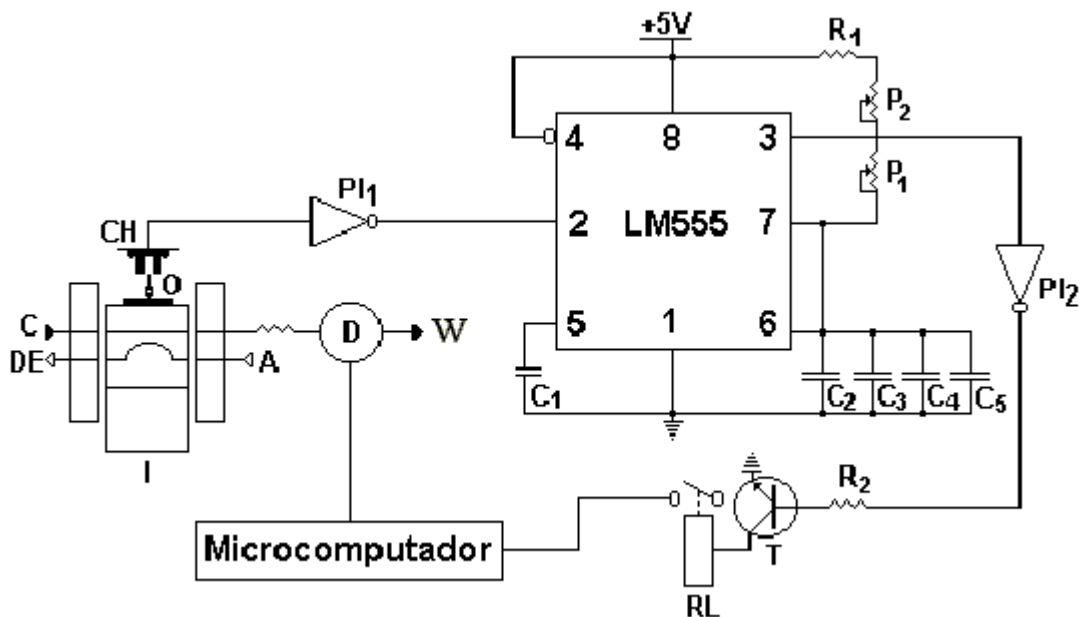


Figura 16 - Sistema contador de tempo. I: injetor tipo proporcional; CH: chave óptica; O: obstrutor da chave óptica; D: espectrofotômetro; C: linha do carregador; A: linha da amostra; DE: descarte; PI1 e PI2: portas inversoras (CI 4069); C1: capacitor de 0,01 μF ; C2, C3, C4 e C5: capacitores de 2,2 μF ; P1 e P2 potenciômetros 4,7 M Ω ; R1 e R2: resistências de 3,3 M Ω e 10K Ω , respectivamente; T: transistor (CI TIP122) e RL: relê eletromagnético.

O temporizador LM555 é um circuito de sincronização digital que pode ser conectado como um circuito com dois estados de saída, mas nenhum estável, ou como um circuito monoestável, que tem dois estados de saída, mas somente um é estável, e pode ser usado como um oscilador para proporcionar uma forma de onda quadrada, semelhante à do *timer* do computador. É basicamente um circuito de comutação com dois níveis de saída distintos. Na construção do sistema contador de tempo, o LM555 foi utilizado na forma monoestável, com um estado estável e um estado quase estável. Esta forma de circuito é largamente usada na indústria, em várias aplicações diferentes de sincronização. O modo normal de funcionamento é disparar o circuito para seu estado quase estável, no qual ele permanecerá por um período de tempo pré-determinado. O circuito irá se regenerar ao seu estado estável, no qual permanecerá até receber outro pulso de disparo de entrada. Como ele tem somente um estado estável, o

circuito é caracterizado pelo termo multivibrador monoestável ou, simplesmente, monoestável (MALVINO, 1987).

O sistema foi acoplado ao espectrofotômetro da Varian, modelo Cary 50, que se apresenta interfaceado a um microcomputador Celeron 586. Antes de iniciar a injeção da amostra, executa-se o programa computacional que opera o instrumento, até o momento em que, para a aquisição dos espectros, seja necessário acionar o mouse (BATALHA et al., 2000).

No momento em que o injetor é comutado para a posição de injeção da amostra, a chave óptica gera um nível lógico que, apresentado ao temporizador, inicia a contagem do tempo necessário para que a amostra chegue ao detector. Após este intervalo de tempo, o temporizador aciona o relê eletromagnético, que se apresenta ligado à saída serial do mouse, iniciando a aquisição dos espectros.

O obstrutor da chave óptica (O) foi confeccionado na forma de dobradiça, para que, após a injeção da amostra, o operador possa desobstruir a chave para proporcionar a lógica necessária ao funcionamento do sistema. O circuito que compõe o sistema contador de tempo dispõe de potenciômetros (P1, P2), pelos quais o operador pode ajustar o tempo entre 15 e 90 segundos. Este intervalo de tempo pode ser alterado trocando-se os capacitores (C2, C3, C4 e C5) que compõem o circuito.

3.2. Geração de gradiente de pH no sistema de fluxo

Para se gerar o gradiente de pH no sistema de fluxo, utilizou-se a montagem esquematizada na Figura 17, na qual se observa que uma solução de fosfato de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, com pH 12,44, foi dispersa em uma linha contendo uma mistura de ácido cítrico $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido bórico $0,20 \text{ mol L}^{-1}$, de pH 1,86, formando, assim, sistemas-tampão ao longo do gradiente e o pH variando lentamente em uma câmara de dispersão de aproximadamente 1,0 mL de volume, confeccionada em vidro e com agitador magnético em seu interior, que promove a dispersão.

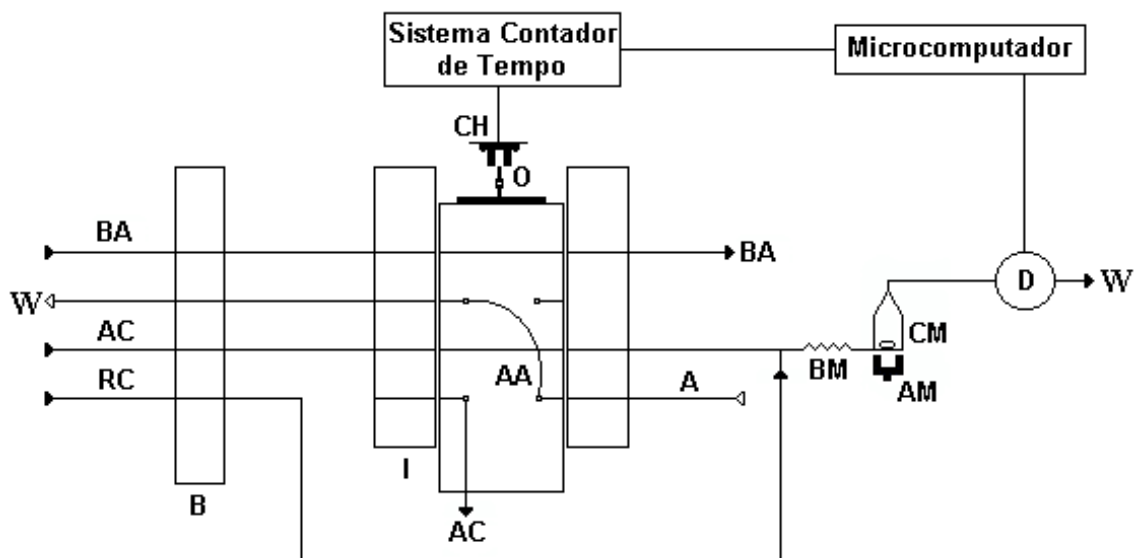


Figura 17 - Esquema do sistema de fluxo utilizado na geração do gradiente de pH. B: bomba peristáltica; I: injetor tipo proporcional; AA: alça de amostragem (188 μL); BM: bobina de mistura (128 cm); AM: agitador magnético; CM: câmara de dispersão (1 mL); D: espectrofotômetro; W: descarte; A: fluxo da amostra (1,2 mL min^{-1}); BA: fluxo da solução alcalina (0,75 mL min^{-1}) (solução de fosfato de sódio 0,10 mol L^{-1}); AC: fluxo da solução ácida (0,75 mL min^{-1}) (mistura de ácido cítrico 0,05 mol L^{-1} e ácido bórico 0,20 mol L^{-1}); RC: fluxo do agente cromogênico PAR (0,75 mL min^{-1}); CH: chave óptica; O: obstrutor da chave óptica.

Se o gradiente fosse gerado por injeção da amostra, ocorreria variação ascendente, quando a amostra chegasse à cela de fluxo, e descendente, quando ela fosse arrastada pelo fluxo carregador, gerando o mesmo fenômeno duas vezes. A fim de evitar a redundância de informações que poderiam ocorrer nestes casos, optou-se pela permutação do fluxo entre as duas soluções, gerando apenas o gradiente ascendente. Assim, tem-se o gradiente de uma espécie cuja concentração começa inicialmente baixo e tende a um valor fixo igual à razão entre as vazões das linhas presentes no sistema de fluxo, multiplicado pela respectiva concentração (CERQUEIRA, 1997).

Este sistema de fluxo proposto foi utilizado na determinação simultânea multicomponente de metais em efluentes de indústria de beneficiamento de caulim e ligas metálicas.

3.3. Determinação dos valores de pH do gradiente gerado pelo sistema

Para otimização do sistema de fluxo mostrado na Figura 17, isto é, determinação da vazão, tamanho da alça de amostragem e concentração dos reagentes e dos tempos nos quais foram realizadas as leituras dos espectros, foi necessário acompanhamento do pH gerado.

Eletrodos de vidro não podem ser utilizados para este fim, porque possuem resposta relativamente lenta. Optou-se, então, pela determinação espectrofotométrica do pH, por intermédio de espectros de uma mistura de indicadores ácido/base. Vários tampões distintos de pH fixos foram preparados (PERRIN e DEMPSEY, 1974) e, por meio de calibração multivariada (PLS bidimensional), foram previstos os valores de pH no gradiente gerado. Consta da Figura 18 o esquema do sistema de fluxo utilizado para este fim. Foram obtidos os espectros de 16 soluções-tampão individualmente e em triplicata, confluindo-os com uma mistura de indicadores ácido-base.

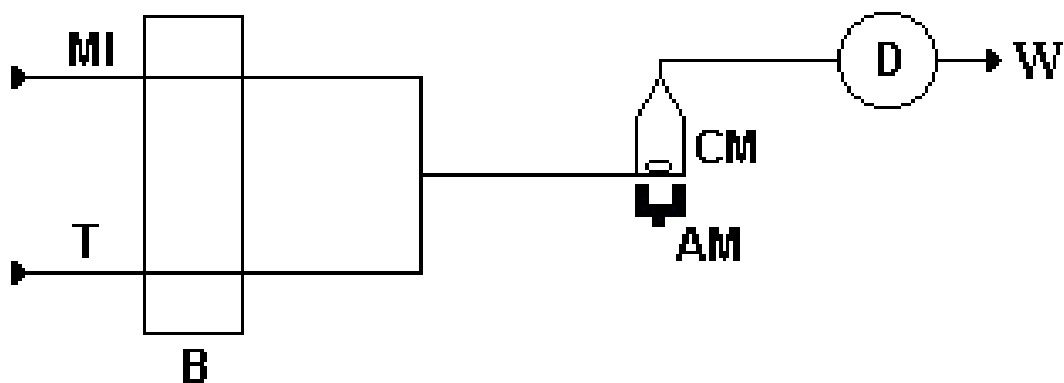


Figura 18 - Esquema do sistema de fluxo utilizado na etapa de calibração dos valores de pH, ou seja, para a construção do modelo de calibração multivariada entre os espectros e os valores de pH. MI: mistura de indicadores; T: tampão, B: bomba peristáltica; AM: agitador magnético; CM: câmara de dispersão, D: espectrofotômetro; W: descarte.

Para que as absorvâncias dos espectros obtidas pelo sistema de fluxo empregado na etapa de calibração de pH fossem iguais às obtidas com o sistema de fluxo da etapa de previsão, a mistura de indicadores confluía com a solução-tampão na proporção de duas vezes o volume do segundo para cada volume do primeiro. A solução resultante foi coletada após a tomada do espectro e o pH, medido com o auxílio de um medidor de pH, marca TECNOW, modelo IRIS 7, digital, equipado com eletrodos combinados de vidro de Ag/AgCl (referência), previamente calibrado com soluções-tampão 4,0 e 7,0.

Após obter o espectro da mistura de indicadores em cada solução-tampão, faz-se a modelagem dos mesmos aos respectivos valores de pH utilizando calibração multivariada (etapa de calibração), empregando-se a técnica PLS. Com o modelo de calibração construído, pode-se determinar os valores de pH do gradiente gerado (etapa de previsão), a partir da superfície de resposta. Esta é obtida com o sistema de fluxo mostrado na Figura 17, substituindo-se o fluxo do reagente cromogênico PAR pela mistura de indicadores ácido-base e injetando-se água deionizada.

Para estimar os valores de pH do gradiente de acidez gerado, ajustaram-se as variáveis do sistema de fluxo empregado na etapa de previsão (Figura 17), para se obter uma faixa de valores de pH entre 2 e 12.

3.4. Calibração espectrofotométrica para determinação dos valores de pH

Para a calibração multivariada entre os espectros da mistura de indicadores (350 a 700 nm) nas diversas soluções-tampão e os valores de pH, utilizou-se o método dos Mínimos Quadrados Parciais, contido no pacote quimiométrico “Toolbox” (PLS Bidimensional), dentro do ambiente Matlab. Na calibração multivariada utilizando-se a técnica PLS, o primeiro passo a ser seguido é a determinação do número de componentes principais necessários para os cálculos. Em princípio, esse número deve estar relacionado com o número de espécies em solução.

A escolha do número de componentes principais foi feita por validação cruzada, ou seja, tomando-se os 16 espectros e excluindo-se um deles, faz-se o modelo e com o modelo construído realiza-se a previsão do valor de pH relativo ao espectro excluído da modelagem. Repete-se o processo com as demais amostras, excluindo uma a uma. Com isso, pode-se estimar a soma residual dos quadrados da previsão estimada (PRESS, do inglês *Prevision Residual Estimative Square Sum*) e finalmente utilizá-la para determinar o número de componentes principais. Este procedimento é realizado pelo próprio programa utilizado.

Tomaram-se três superfícies de resposta (três replicatas) da mistura de indicadores no gradiente de pH gerado e, com o modelo de calibração multivariada construído com o PLS, estimaram-se os valores de pH do gradiente, bem como o desvio-padrão e desvio-padrão relativo na determinação do mesmo.

3.5. Otimização do sistema de análise em fluxo

A proposta deste sistema em fluxo é a análise simultânea de dois e três metais em ligas metálicas e em efluentes industriais, utilizando o agente cromogênico PAR, que não é um agente seletivo, mas que pode complexar metais em valores de pH diferentes, daí a necessidade de se gerar um gradiente de pH.

Em um sistema em fluxo, existem inúmeras variáveis a serem controladas. A fim de se otimizar o sistema, foram testadas variáveis como vazão do fluxo, tamanho da alça de amostragem e concentração dos reagentes. Foram testados também diferentes planejamentos experimentais utilizando misturas binárias e ternárias de metais, em amostras sintéticas e, posteriormente, em amostras reais.

Enquanto uma das variáveis era testada, as demais permaneciam fixas, sendo os experimentos repetidos de forma sistemática em cada um dos casos, tomando-se o cuidado de manter as condições mais constantes possíveis, como realizar em um mesmo dia os testes de uma mesma variável, sem desligar a bomba peristáltica para evitar uma mudança no fluxo.

Uma vez fixadas as variáveis do sistema de fluxo, partiu-se para a otimização do planejamento experimental. Foram testados dois tipos de planejamento para cada caso e, por intermédio da média dos erros, escolheu-se o melhor.

Para a determinação simultânea de dois metais, foi utilizada a técnica de otimização baseada no emprego de planejamentos fatoriais (BARROS NETO, 1996), em amostras contendo íons Cu^{2+} e Zn^{2+} . Assim que todas as variáveis foram devidamente controladas para o planejamento que apresentou os melhores resultados, este também foi testado em amostras sintéticas de ferro e zinco e, posteriormente, utilizado na determinação simultânea de cobre e zinco em amostras de latão.

Para a determinação simultânea de três metais, foram utilizadas duas técnicas de otimização, uma baseada no emprego de planejamentos fatoriais e outra, em modelagem de misturas, o modelo em rede simplex (BARROS NETO,

1996). O melhor planejamento foi testado também na análise simultânea de misturas de cálcio, ferro e zinco e, posteriormente, em amostras de águas residuárias de indústria de tratamento de caulim.

3.6. Determinação simultânea de cobre e zinco em amostras de latão

O latão tem o cobre e o zinco como os constituintes em maior quantidade. Essas ligas são utilizadas na indústria automobilística para a produção de pastilhas e lonas de freio, ou como matéria-prima dentária (GULHÁEV, 1981). Em alguns casos, a matéria-prima utilizada na produção deste tipo de liga é adquirida como sucata de latão e, posteriormente, fundida para obter um produto comercial. Nesse caso, quantidade significativa de análises é requerida para o controle da qualidade do produto reciclado. Na área metalúrgica, o controle de qualidade requer procedimentos analíticos que forneçam resultados com boa precisão e exatidão, elevada produtividade analítica e baixo custo. O sistema de fluxo proposto mostrou-se adequado para ser utilizado no controle de qualidade deste material, uma vez que apresentou resultados com boa precisão e exatidão, velocidade analítica da ordem de 15 amostras por hora e, principalmente, baixo consumo de reagentes.

Foram analisadas seis amostras de latão. Foi feita dissolução ácida das amostras da mesma forma que as soluções-estoque; as massas pesadas são apresentadas no Quadro 2. A massa de cada amostra na forma de limalha foi transferida para um béquer de 100 mL, ao qual se adicionaram 10 mL de uma solução aquosa de ácido nítrico 1:1, sendo mantida em chapa aquecedora a 200°C, durante 20 minutos. Após o resfriamento, o volume foi completado para 500 mL com água deionizada. Sucessivas diluições das amostras foram feitas até atingir a faixa de concentração das misturas do planejamento experimental usado na etapa de calibração para cobre e zinco.

As amostras de latão foram analisadas em triplicata utilizando um planejamento fatorial 2^2 com nove pontos, nas mesmas condições de análise

otimizadas e utilizadas na determinação de cobre e zinco em misturas sintéticas.

Quadro 2 - Massas das amostras das ligas de latão

Amostra	Massa (g)
Liga 01	1,0249
Liga 02	1,0604
Liga 03	1,0344
Liga 04	1,0058
Liga 05	1,0127
Liga 06	1,0038

3.7. Determinação simultânea de cálcio, ferro e zinco em amostras de águas residuárias de indústria de beneficiamento de caulim

Todo o processo de beneficiamento do caulim da região de Ubá é feito por via úmida, sendo as águas residuárias ricas em metais, principalmente ferro e zinco. O tratamento dos resíduos é feito a partir da elevação do pH com cal para precipitação dos metais e posterior filtragem em filtro prensa. Após esta etapa, as águas estão prontas para devolução ao curso d'água, onde se faz necessário análises químicas para o controle da qualidade do produto reciclado. É indicado um método que forneça resultados com boa precisão e exatidão e de baixo custo; neste caso, o sistema de fluxo proposto mostrou-se adequado para a análise simultânea de ferro, zinco e cálcio, este último proveniente da introdução de cal durante o tratamento do efluente. Uma vez que o caulim é um alumino-silicato, também esperava-se encontrar alumínio nas águas residuárias, mas as análises feitas por absorção atômica não mostraram a presença deste elemento.

Foram analisadas amostras de águas residuárias após tratamento com cal provenientes de beneficiamento de caulim de Ubá e de Mar de Espanha (MG). As amostras foram examinadas em triplicata, utilizando o planejamento simplex mostrado no Quadro 8, e nas mesmas condições otimizadas e utilizadas na determinação de cálcio, ferro e zinco em misturas sintéticas.

As amostras foram colhidas dos tanques em frascos apropriados e

devidamente ambientados. Tomou-se uma alíquota de 50 mL, transferiu-se para béquer, adicionaram-se 10 mL de HNO₃ concentrado e aqueceu-se em placa aquecedora até próximo à secura. Adicionaram-se mais 10 mL de HNO₃ permanecendo em aquecimento por 30 minutos. Transferiu-se para balão volumétrico de 50 mL e completou-se com água deionizada. Sucessivas diluições foram feitas até que as amostras estivessem na mesma faixa de concentração das misturas que constituem o planejamento experimental usado na etapa de calibração.

3.8. Controle do instrumento, aquisição e processamento quimiométrico dos dados

A aquisição dos dados foi realizada com o espectrofotômetro da marca Varian, modelo Cary 50, que apresenta um único fotodiodo de silício como unidade de detecção, sendo classificado como monocanal (BUCH e BUCH, 1990). Este instrumento possibilita realizar varreduras de comprimento de onda pelo movimento do monocromador no intervalo de comprimento de onda de 190 a 1.100 nm, com velocidade máxima de 2.400 nm min⁻¹. O programa utilizado na obtenção dos dados e no controle do espectrofotômetro foi fornecido pelo fabricante. Este programa, quando executado, possibilita a seleção do intervalo de comprimentos de onda, velocidade de leitura (varredura) de comprimentos de onda, intervalo de tempo de cada leitura e o número de leituras.

Após a injeção da amostra, e no momento em que o gradiente de pH gerado chega ao detector, são realizadas as 50 leituras espectrais no intervalo de 350 a 700 nm, com intervalos de 0,05 minutos entre cada leitura. Os dados adquiridos na forma de uma superfície de resposta (Absorvância / Comprimento de Onda / pH) são trabalhados em ambiente Matlab. O Matlab fornece recursos matemáticos para implementação de análise quimiométrica de calibração multivariada.

O ambiente Matlab (Matrix Laboratory) (MATH WORKS Inc., 1994) é um ambiente computacional de alta eficiência em computação em numérica e visualização de dados, no qual podem ser realizados cálculos em numéricos com matrizes de qualquer grandeza (a princípio limitado apenas pela memória do computador), de modo que o mesmo é facilmente utilizável para cálculos quimiométricos. O Matlab integra análise em numérica, computação matricial, processamento de sinais e visualização gráfica em um ambiente que possui comandos similares aos utilizados em álgebra linear, inclusive no que se refere à notação dos comandos. O Matlab é disponível comercialmente com os seus “Toolbox”, que são bibliotecas de funções matemáticas adicionadas ao Matlab para habilitá-lo a resolver classes particulares de problemas. Assim, estas bibliotecas expandem a capacidade do Matlab, fornecendo aplicações específicas. Os “Toolbox” para o Matlab são disponíveis para redes neurais, estatística, processamento de sinais, otimização e técnicas quimiométricas. São disponíveis comercialmente, sendo que o pacote mais recente foi escrito por Barry Wise e Neal Gallanger e denominado “PLS Toolbox” (WISE, 1992). O Toolbox Quimiométrico é um módulo para uso com o Matlab contendo ferramentas para as técnicas quimiométricas básicas, como regressão linear múltipla, regressão de componentes principais, regressão de componentes principais e regressão dos quadrados mínimos parciais em variáveis latentes (WISE, 1992).

Os programas para PLS multidimensional foram desenvolvidos por BRO e estão disponíveis para cópia em alguns endereços da Internet na área de Quimiometria (BRO, 1996).

3.9. Preparo de soluções

Os reagentes utilizados no preparo das soluções deste trabalho foram todos de grau analítico. Todas as pesagens foram feitas em balança analítica até décimo de miligramas.

3.9.1. Solução de Na_3PO_4 0,10 mol L⁻¹

O fosfato de sódio, de massa molar 380,12 g mol⁻¹, é um sal de caráter básico e, por isso, é utilizado como solução básica no preparo das soluções-tampão na etapa de calibração do pH e, também, no sistema de fluxo na geração do gradiente de pH. No preparo de 2 litros da solução, pesaram-se 76,0240 g do sal em béquer de 100 mL e dissolveram-se com água deionizada. Posteriormente, transferiu-se para balão volumétrico e aferiu-se com água deionizada.

3.9.2. Solução-tampão ácida

Uma mistura de ácido cítrico ($\text{C}_2\text{H}_8\text{O}_7$) 0,05 mol L⁻¹ e ácido bórico (H_3BO_3) 0,20 mol L⁻¹ foi utilizada como tampão ácido no preparo dos tampões para calibração do pH e no sistema de geração do gradiente de pH. No preparo de 2,0 litros de solução, pesaram-se 19,2130 g de ácido cítrico, de massa molar 192,1 g mol⁻¹, em béquer de 100 mL, dissolveram-se com água deionizada e transferiu-se para balão volumétrico. Em outro béquer de 150 mL, pesaram-se 24,7360 g de ácido bórico, de massa molar 61,84 g mol⁻¹, adicionaram-se aproximadamente 50 mL de água deionizada e aqueceram-se em placa a 150°C por cerca de 15 minutos até que o ácido tivesse se dissolvido. Após o resfriamento, transferiu-se quantitativamente para o balão onde já se encontrava o ácido cítrico e completou-se o volume com água deionizada.

3.9.3. Preparo de soluções-tampão para calibração do pH

Utilizando a solução ácida composta pela mistura de ácido cítrico 0,05 mol L⁻¹ e ácido bórico 0,20 mol L⁻¹ e a solução básica de fosfato de sódio 0,10 mol L⁻¹, foram preparadas 16 soluções-tampão com pH variados, listados no

Quadro 3. O preparo das soluções foi feito com o auxílio de balões volumétricos e uma bureta, ambos de 50 mL. O pH de cada solução-tampão foi medido antes e depois da passagem pelo sistema de fluxo mostrado na Figura 18. Estas soluções foram utilizadas na etapa de calibração do gradiente de pH gerado pelo sistema de fluxo, tomando-se os espectros de cada uma individualmente.

3.9.4. Preparo de soluções de indicadores

· **Vermelho de metila 10^{-3} mol L⁻¹, solução hidroalcolica a 60% (v/v)**

Pesou-se 0,0256 g de vermelho de metila, massa molar 256,30 g mol⁻¹, em béquer de 40 mL, dissolveu-se em aproximadamente 20 mL de etanol, transferiu-se quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL, lavando com mais 40 mL de álcool, e aferiu-se com água deionizada.

Quadro 3 - Soluções-tampão utilizadas na calibração do gradiente de pH gerado

Tampão	Vol. de sol. Ácida (mL)	Vol. de sol. Alcalina (mL)	pH inicial	pH final
01	50,0	00,0	1,86	2,10
02	38,8	11,2	4,17	4,23
03	36,0	14,0	4,73	4,86
04	33,5	16,5	5,39	5,51
05	31,5	18,5	5,91	6,05
06	29,5	20,5	6,43	6,58
07	27,3	22,7	6,93	7,05
08	24,7	25,3	7,52	7,64
09	23,0	27,0	8,04	8,10
10	21,3	28,7	8,51	8,54
11	19,5	30,5	8,90	8,94
12	17,3	32,7	9,29	9,29
13	15,0	35,0	9,79	9,75
14	13,5	36,5	10,34	10,17
15	12,3	37,7	10,87	10,54
16	00,0	50,0	12,44	12,36

· **Azul de bromotimol 10^{-3} mol L⁻¹, solução hidroalcolica a 20% (v/v)**

Pesou-se 0,0624 g de azul de bromotimol, massa molar 624,39 g mol⁻¹, em béquer de 40 mL, dissolveu-se em aproximadamente 20 mL de etanol, transferiu-se quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL e aferiu-se com água deionizada.

· **Fenolftaleína 10^{-2} mol L⁻¹, solução hidroalcolica a 60% (v/v)**

Pesou-se 0,3183 g de fenolftaleína, massa molar 318,33 g mol⁻¹, em béquer de 40 mL, dissolveu-se em aproximadamente 20 mL de etanol, transferiu-se quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL, lavando com mais 40 mL de etanol, e aferiu-se com água deionizada.

· **Timolftaleína 10^{-3} mol L⁻¹, solução hidroalcolica a 60% (v/v)**

Pesou-se 0,0430 g de timolftaleína, massa molar 430,52 g mol⁻¹, em béquer de 40 mL, dissolveu-se em aproximadamente 20 mL de etanol, transferiu-se quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL, lavando com mais 40 mL de etanol, e aferiu-se com água deionizada.

3.9.5. Preparo de mistura de indicadores

A mistura de indicadores utilizada foi adaptada quanto às proporções dos indicadores I. M. Kolthoff (MORITA e ASSUMPCÃO, 1972), constituída por:

- 80,0 mL de solução de vermelho de metila 10^{-3} mol L⁻¹ (60% v/v de etanol)
- 40,0 mL de solução de azul de bromotimol 10^{-3} mol L⁻¹ (20% v/v de etanol)
- 20,0 mL de solução de fenolftaleína 10^{-2} mol L⁻¹ (60% v/v de etanol)
- 40,0 mL de timolftaleína 10^{-3} mol L⁻¹ (60% v/v de etanol)
- 208,0 mL de etanol

misturados e aferidos em balão volumétrico de 1 L de modo a manter a mistura

final com um teor alcoólico de 30% (v/v). Posteriormente, a mistura de indicadores foi diluída em solução alcóolica, na proporção de 1:4, a fim de evitar valores muito elevados de absorvância e para que houvesse concordância entre os valores nas etapas de previsão e calibração.

3.9.6. Preparo de soluções estoque de metais

Todas as soluções-padrão estoque de metais foram preparadas a partir dos metais puros, em ácido nítrico (Merck). No preparo de 1,0 litro de solução-estoque 1000 mg L^{-1} , pesou-se cerca de 1,0 g do metal, dissolveu-se em cerca de 10 mL de solução aquosa de ácido nítrico 1:1, mantida em chapa aquecedora a 200°C por cerca de 20 minutos. Após o resfriamento, transferiu-se quantitativamente para balão volumétrico de 1 L, sendo o volume foi completado com água deionizada.

A partir das soluções-estoque dos metais, sucessivas diluições foram feitas. Primeiramente, foram diluídas a 100 mg L^{-1} , transferindo com o auxílio de pipeta volumétrica 20 mL da solução 1000 mg L^{-1} para balão de 200 mL e completando-se o volume com água deionizada. Então, diluíram-se as soluções, conforme os dados mostrados nos Quadros 6 a 13, os quais serão apresentados no item Resultados e Discussão.

3.9.7. Preparo de solução de PAR

O 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR) é um sólido amorfo, de coloração marrom, massa molar $259,20 \text{ g mol}^{-1}$, solúvel em soluções alcalinas e em água até $5 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ de solução a 10°C . Foram preparadas várias soluções de PAR e, a fim de minimizar os erros, todas foram preparadas a partir de uma solução $0,30 \text{ mmol L}^{-1}$. No preparo de 2,0 litros de solução $0,30 \text{ mmol L}^{-1}$, pesou-se 0,1555 g de PAR em béquer de 40 mL, diluiu-se com água deionizada, transferiu-se quantitativamente para balão de 2 L e

aferiu-se com água deionizada. Posteriormente, foram feitas as diluições necessárias para obter as soluções nas outras concentrações de PAR.

No Quadro 4 encontram-se os volumes gastos no preparo de 200 mL das demais soluções de PAR, que foram obtidas medindo-se os volumes com pipeta graduada, transferidos para balão de 200 mL e completando-se o volume com água deionizada.

Quadro 4 - Volumes de solução de PAR 0,30 mmol L⁻¹ utilizados no preparo de 200 mL das soluções

Concentração de PAR (mmol L ⁻¹)	Volume (mL)
0,24	160
0,21	140
0,18	120
0,15	100
0,12	80
0,09	60
0,06	40

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Otimização e determinação dos valores de pH do gradiente gerado pelo sistema de fluxo

Constam da Figura 19 os espectros da mistura de indicadores obtidos a partir das diversas soluções-tampão e empregados na etapa de calibração dos valores de pH, fazendo a modelagem dos mesmos aos respectivos valores de pH, utilizando calibração multivariada. Na Figura 20 é apresentado o espectro da superfície de resposta obtido pela mistura de indicadores no gradiente de pH. Esta superfície de resposta é obtida com o sistema de fluxo ilustrado na Figura 17.

Os espectros obtidos em fluxo, um em cada pH, geram uma matriz de dados (\mathbf{X}), a qual será decomposta em um somatório de produtos de vetores “scores” e “loadings”, acrescido de uma matriz de erros, como mostrado na Figura 21. Cada espectro é considerado um ponto no espaço multidimensional formado pelas variáveis. A direção de maior dispersão dos pontos é o primeiro “loading” (p_1) e a projeção desse ponto nessa direção, o primeiro “score” (t_1). Subtraindo-se a matriz \mathbf{X} do produto $t_1 p_1'$, obtém-se uma matriz de resíduos, que é submetida novamente ao processo, obtendo-se uma série de produtos de “loadings” e “scores”, e no final a matriz de erros tão pequena quanto se queira.

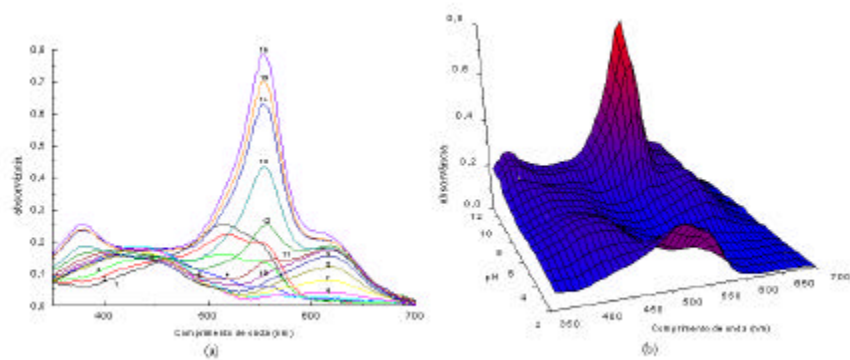


Figura 19 - (a) espectros da mistura de indicadores em diversos valores de pH distintos. Os números referem-se às soluções-tampão contidas no Quadro 1, em que foram obtidos os respectivos espectros; (b) superfície de resposta da mistura de indicadores em valores de pH distintos.

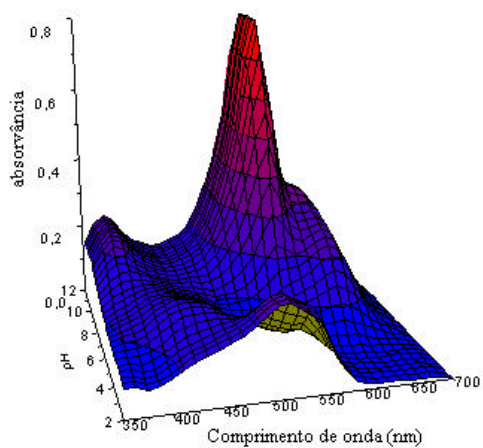


Figura 20 - Espectros da mistura de indicadores nos valores de pH gerados por intermédio do sistema de fluxo ilustrado na Figura 17.

$$X = TP' + E = \sum t_h p_h' + E$$

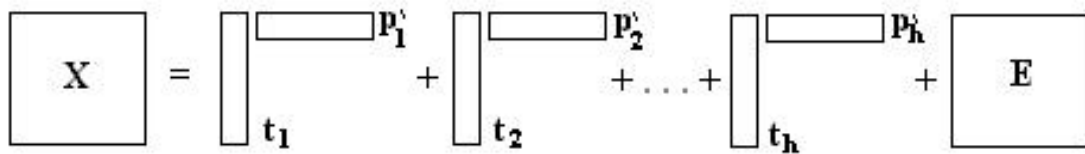


Figura 21 - Esquema da decomposição da matriz de dados \mathbf{X} , em que \mathbf{h} é o número de componentes principais.

Da mesma maneira, a matriz de respostas \mathbf{Y} pode ser decomposta e cada linha é constituída por um valor de pH, formando também um conjunto de “loadings” e “scores”. Na calibração, utilizando o modelo PLS, otimiza-se simultaneamente a projeção das amostras sobre os “loadings” e o ajuste, por uma função matemática dos “scores” da matriz \mathbf{X} , aos scores da matriz \mathbf{Y} , minimizando os desvios.

Já na etapa de previsão, faz-se uma projeção dos dados das amostras; neste caso, o espectro da mistura de indicadores no gradiente de pH gerado (Figura 20), na direção dos “loadings” usados na etapa de calibração, obtendo novos “scores”. Com os parâmetros do modelo na etapa de calibração, obtêm-se os respectivos valores de “scores” para o bloco de variáveis dependentes (\mathbf{Y}).

No Quadro 5 encontram-se os valores de pH e desvio-padrão relativo, determinados por intermédio da calibração multivariada com o modelo PLS. Na Figura 22 é apresentado o perfil do gradiente gerado com os parâmetros otimizados.

Na Figura 23 encontra-se o gráfico que determina o número de componentes principais necessários para estabelecer o modelo. Pode-se verificar que o mínimo valor da soma residual dos quadrados (PRESS) é obtido para um sistema com cinco componentes principais. Esperava-se que fossem necessários apenas quatro componentes principais, visto que existem quatro indicadores na mistura, talvez devido ao comportamento espectrofotométrico dos indicadores.

Na Figura 22, nota-se que a relação entre os espectros e o pH do gradiente gerado não é perfeitamente linear, o que pode explicar a necessidade do uso de mais componentes principais. Assim, a previsão dos valores de pH do gradiente gerado foi realizada com cinco componentes principais.

Quadro 5 - Valores de pH obtidos utilizando o sistema de fluxo proposto

Espectro	pH \pm DP*	RSD (%)**	Espectro	pH \pm DP*	RSD (%)**
01	2,62 \pm 0,04	1,42	26	9,02 \pm 0,11	1,26
02	2,64 \pm 0,01	0,2	27	9,38 \pm 0,15	1,59
03	2,63 \pm 0,03	1,04	28	9,69 \pm 0,12	1,25
04	2,65 \pm 0,04	1,35	29	9,98 \pm 0,13	1,27
05	2,75 \pm 0,03	1,17	30	10,25 \pm 0,11	1,08
06	2,82 \pm 0,02	0,6	31	10,46 \pm 0,09	0,89
07	2,88 \pm 0,01	0,47	32	10,64 \pm 0,12	1,13
08	3,03 \pm 0,05	1,36	33	10,70 \pm 0,11	1,04
09	3,21 \pm 0,03	0,11	34	10,71 \pm 0,08	0,75
10	3,44 \pm 0,04	0,06	35	10,80 \pm 0,09	0,79
11	3,69 \pm 0,01	0,25	36	10,86 \pm 0,09	0,87
12	4,06 \pm 0,02	0,15	37	10,95 \pm 0,03	0,25
13	4,41 \pm 0,01	0,15	38	11,10 \pm 0,05	0,43
14	4,74 \pm 0,0	0,06	39	11,17 \pm 0,06	0,56
15	5,11 \pm 0,01	0,22	40	11,33 \pm 0,07	0,64
16	5,47 \pm 0,03	0,6	41	11,37 \pm 0,11	0,98
17	5,81 \pm 0,01	0,18	42	11,54 \pm 0,1	0,87
18	6,19 \pm 0,03	0,55	43	11,61 \pm 0,05	0,42
19	6,53 \pm 0,04	0,58	44	11,71 \pm 0,04	0,3
20	6,80 \pm 0,03	0,37	45	11,93 \pm 0,08	0,68
21	7,12 \pm 0,04	0,54	46	11,99 \pm 0,04	0,35
22	7,48 \pm 0,09	1,15	47	12,05 \pm 0,02	0,19
23	7,85 \pm 0,10	1,26	48	12,02 \pm 0,01	0,11
24	8,26 \pm 0,10	1,19	49	11,98 \pm 0,01	0,05
25	8,64 \pm 0,14	1,61	50	11,97 \pm 0,01	0,09

*Média de três repetições \pm Desvio-padrão. ** Desvio-padrão relativo, em porcentagem.

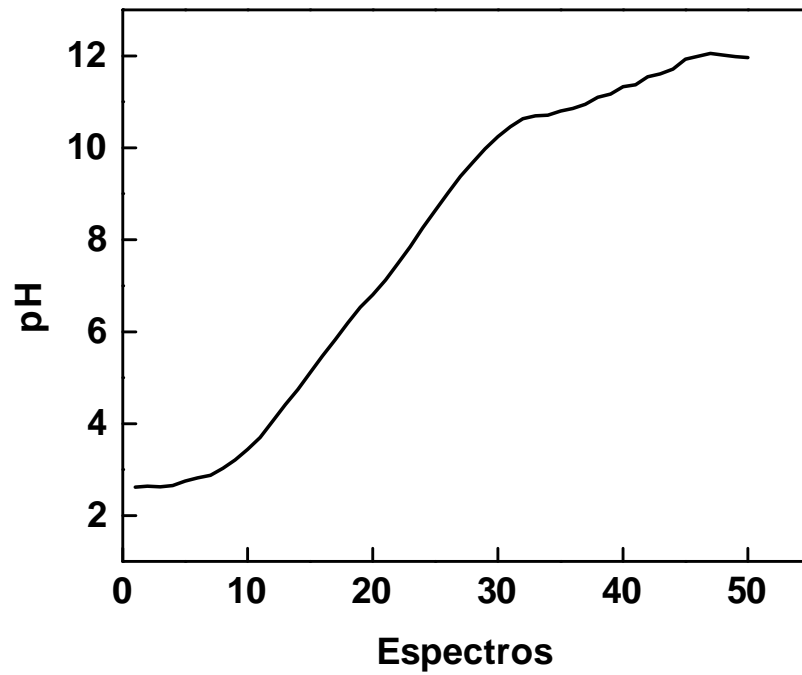


Figura 22 - Perfil do gradiente de pH gerado pelo sistema de fluxo.

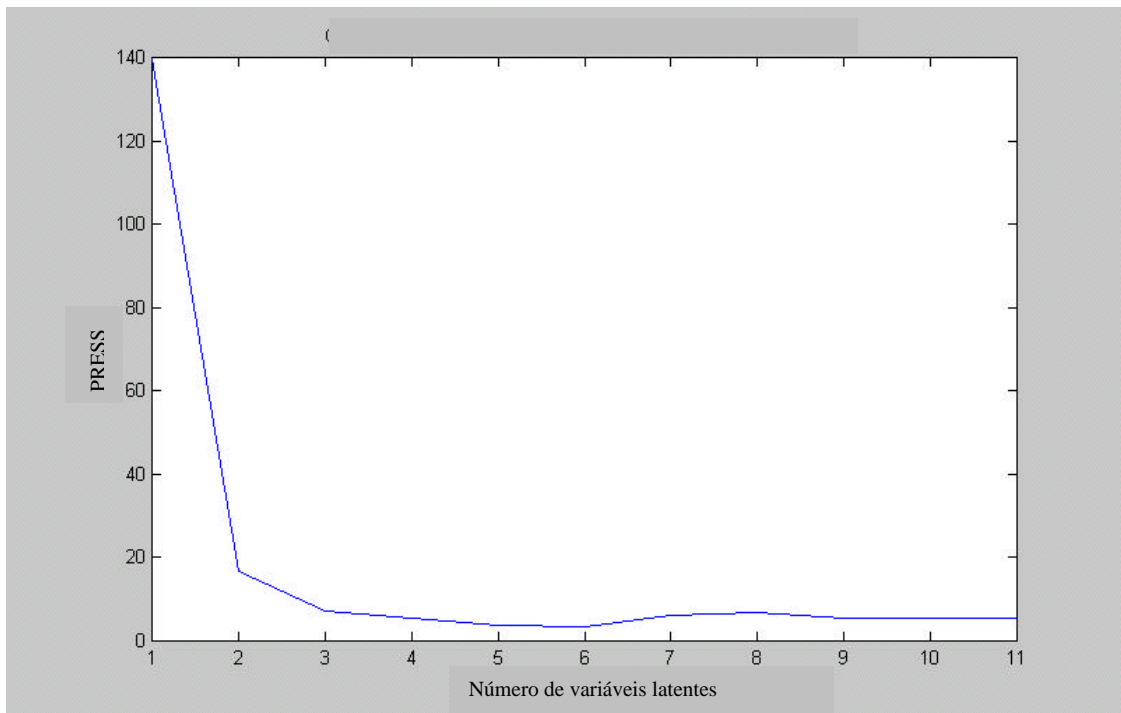


Figura 23 - Gráfico da soma residual dos quadrados da previsão estimada (PRESS), em função do número de componentes principais.

4.2. Otimização do sistema FIA para determinação simultânea de cobre e zinco em amostras sintéticas

Para determinação simultânea de dois metais, montou-se um planejamento fatorial 2^2 com ponto central perfazendo um total de cinco pontos, conforme mostrado no Quadro 6, e os valores varrendo três níveis de cada variável, como é mostrado na Figura 24.

Quadro 6 - Valores de concentração e volumes usados na preparação da calibração para o planejamento fatorial 2^2 , com ponto central, para a determinação de cobre e zinco

Experimento	Concentração (mg L^{-1})		Volume (mL)*	
	Cu	Zn	Cu	Zn
01	-	-	-	-
02	-	10,0	-	5,0
03	12,0	-	6,0	-
04	12,0	10,0	6,0	5,0
05	6,0	5,0	3,0	2,5

* Volume pipetado de solução 100 mg L^{-1} do metal, aferido para 50 mL.

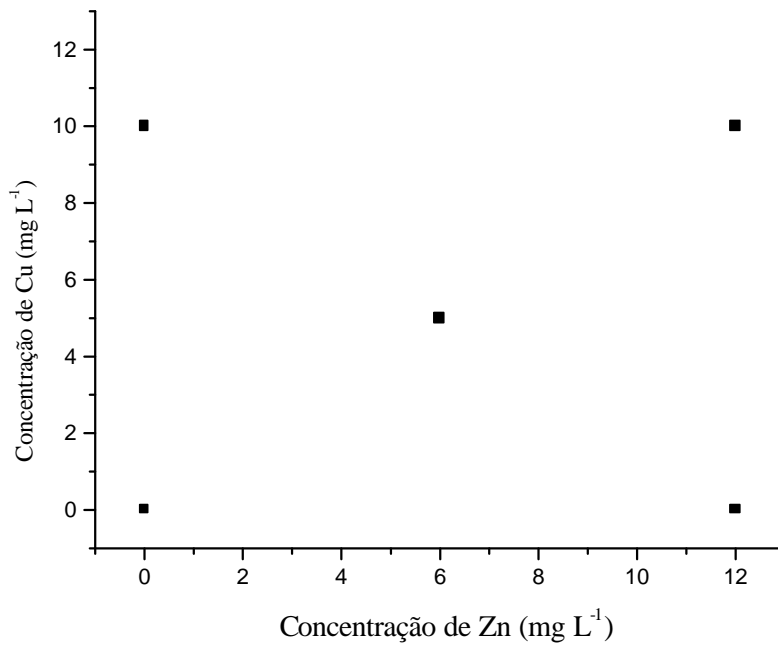


Figura 24 - Planejamento fatorial de dois níveis com ponto central.

Como os resultados utilizando este modelo apresentaram erros superiores a 8% para os dois metais, em algumas amostras, o planejamento foi ampliado. A primeira tentativa foi a introdução de pontos médios entre os pontos extremos do planejamento descrito acima. Os novos valores são mostrados no Quadro 7 e na Figura 25.

Quadro 7 - Concentrações e volumes usados na preparação da calibração para o planejamento fatorial 2^2 , com pontos médios entre os pontos extremos, para a determinação de cobre e zinco

Experimento	Concentração (mg L^{-1})		Volume (mL) [*]	
	Cu	Zn	Cu	Zn
01	-	-	-	-
02	6,0	-	3,0	-
03	12,0	-	6,0	-
04	-	5,0	-	2,5
05	-	10,0	-	5,0
06	6,0	5,0	3,0	2,5
07	6,0	10,0	3,0	5,0
08	12,0	5,0	6,0	2,5
09	12,0	10,0	6,0	5,0

* Volume pipetado de solução 100 mg L^{-1} do metal, aferido para 50 mL.

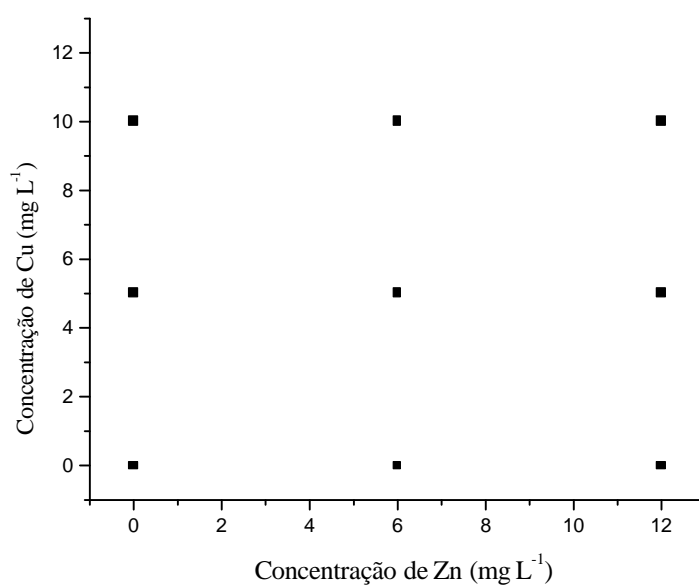


Figura 25 - Planejamento experimental utilizando nove pontos.

A outra alternativa foi a construção do chamado planejamento em estrela, que consiste em acrescentar ao planejamento existente (2²) um planejamento idêntico, porém girado de 45 graus em relação à orientação de partida (BARROS NETO, 1996). O resultado é uma distribuição octogonal, como mostra a Figura 26. A fim de se obter melhor simetria, as concentrações do íon Zn²⁺ foram ligeiramente alteradas, como mostrado no Quadro 8.

Quadro 8 - Concentrações e volumes usados na preparação da calibração para o planejamento em estrela, para a determinação de cobre e zinco

Experimento	Concentração (mg L ⁻¹)		Volume (mL)*	
	Cu	Zn	Cu	Zn
01	6,0	6,0	3,0	3,0
02	6,0	12,0	3,0	6,0
03	12,0	6,0	6,0	3,0
04	12,0	12,0	6,0	6,0
05	9,0	4,8	4,5	2,4
06	9,0	13,3	4,5	6,6
07	4,8	9,0	2,4	4,5
08	13,3	9,0	6,6	4,5
09	9,0	9,0	4,5	4,5

* Volume pipetado de solução 100 mg L⁻¹ do metal, aferido para 50 mL.

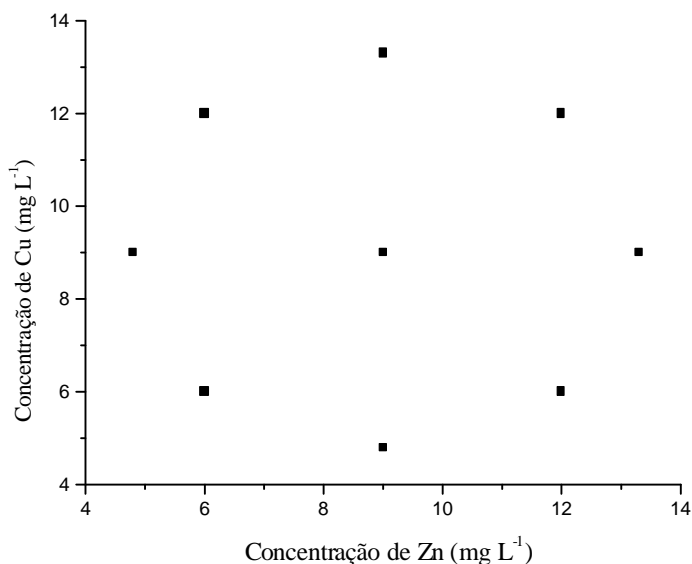


Figura 26 - Planejamento em estrela.

Uma vez definido qual o tipo de planejamento a ser utilizado, inúmeras variáveis devem ser testadas, quando se trata de sistemas por injeção em fluxo, como velocidade de fluxo, concentração de reagentes, volume de amostra injetado, limite de detecção, estudo de interferentes etc. A otimização destes parâmetros é de suma importância para que se possam obter os melhores resultados, com dados precisos e exatos. Para testar cada parâmetro, é necessário realizar todo o experimento e, se possível, sempre nas mesmas condições de análise. Após a otimização de determinado parâmetro, torna-se necessário, algumas vezes, retornar a outro já otimizado, testando-o novamente, pois os resultados podem ter resultados mais precisos em outra condição.

O processo de calibração é bastante complexo, pois existe uma sobreposição de picos nos espectros dos complexos dos metais com o PAR, que pode ser observada nas Figuras 27 e 28, nas quais se observam os espectros dos complexos do cobre e zinco, individualmente com o PAR, respectivamente. Este problema é contornado com o uso das técnicas de calibração multivariada.

Na quantificação dos íons Cu^{2+} e Zn^{2+} , os melhores resultados foram obtidos com o planejamento apresentado no Quadro 7, ou seja, um planejamento experimental com nove experimentos contendo concentrações variadas, formando o conjunto de calibração, o qual foi empregado na construção da calibração multivariada. As superfícies de resposta são mostradas na figura 29. Em todas as determinações, foram necessários três componentes principais para estabelecer o modelo utilizado na etapa de previsão. Este número de componentes principais foi o que forneceu menores erros percentuais para cada amostra usada na etapa de previsão da concentração de cobre e zinco. Quanto mais próximos estiverem os valores previstos (estimados) dos reais, menores serão os erros percentuais, indicando que o modelo está bem ajustado e com boa capacidade de previsão (MARTENS, 1991). Os erros percentuais para cada amostra usada na etapa de previsão foram determinados por intermédio da equação:

$$\text{Erro (\%)} = \left(\frac{C_{\text{estimado}} - C_{\text{real}}}{C_{\text{real}}} \right) \times 100$$

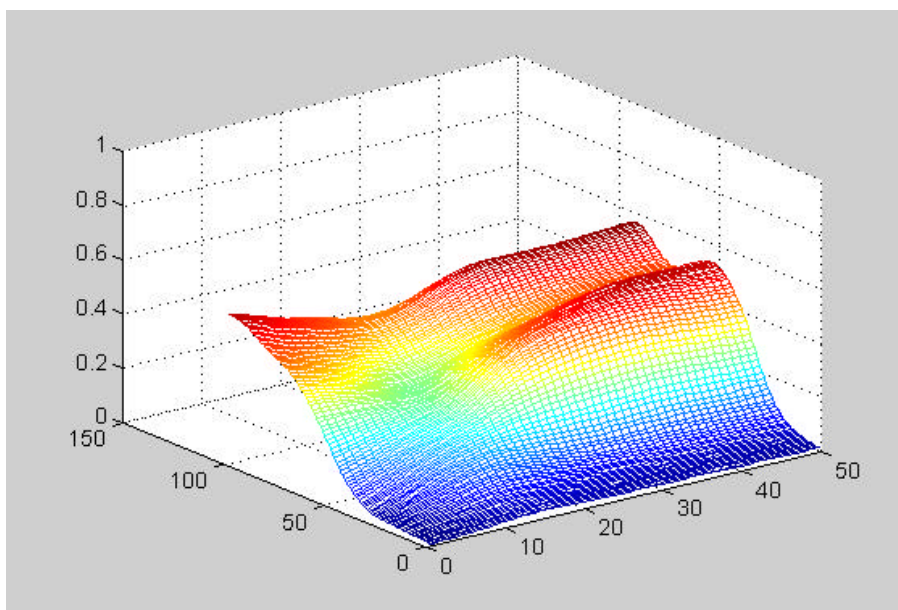


Figura 27 - Espectro da amostra contendo 12 mg L^{-1} de cobre com PAR, obtido com o sistema de fluxo proposto, nas condições estabelecidas

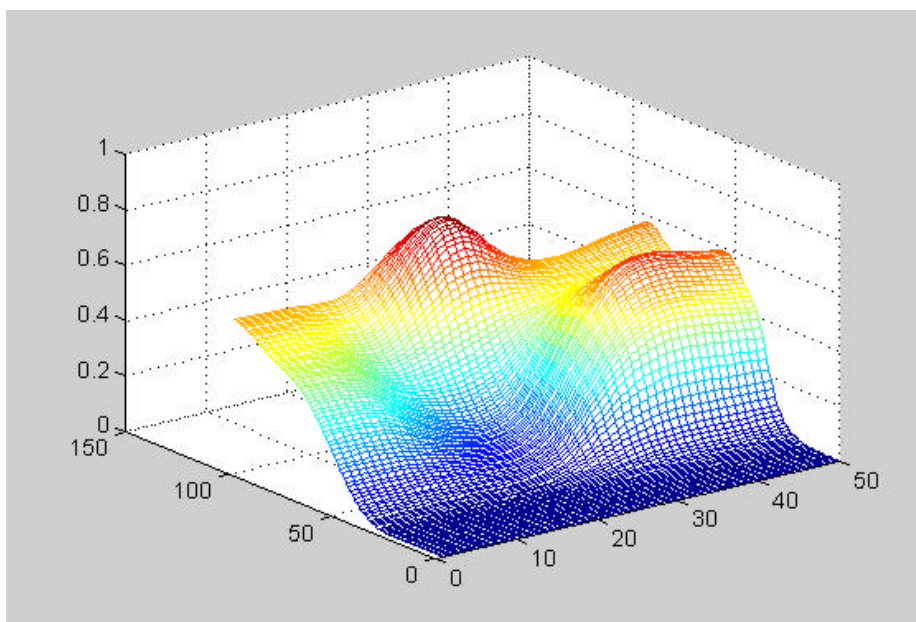


Figura 28 - Espectro da amostra contendo 10 mg L^{-1} de zinco com PAR, obtido com o sistema de fluxo proposto, nas condições estabelecidas

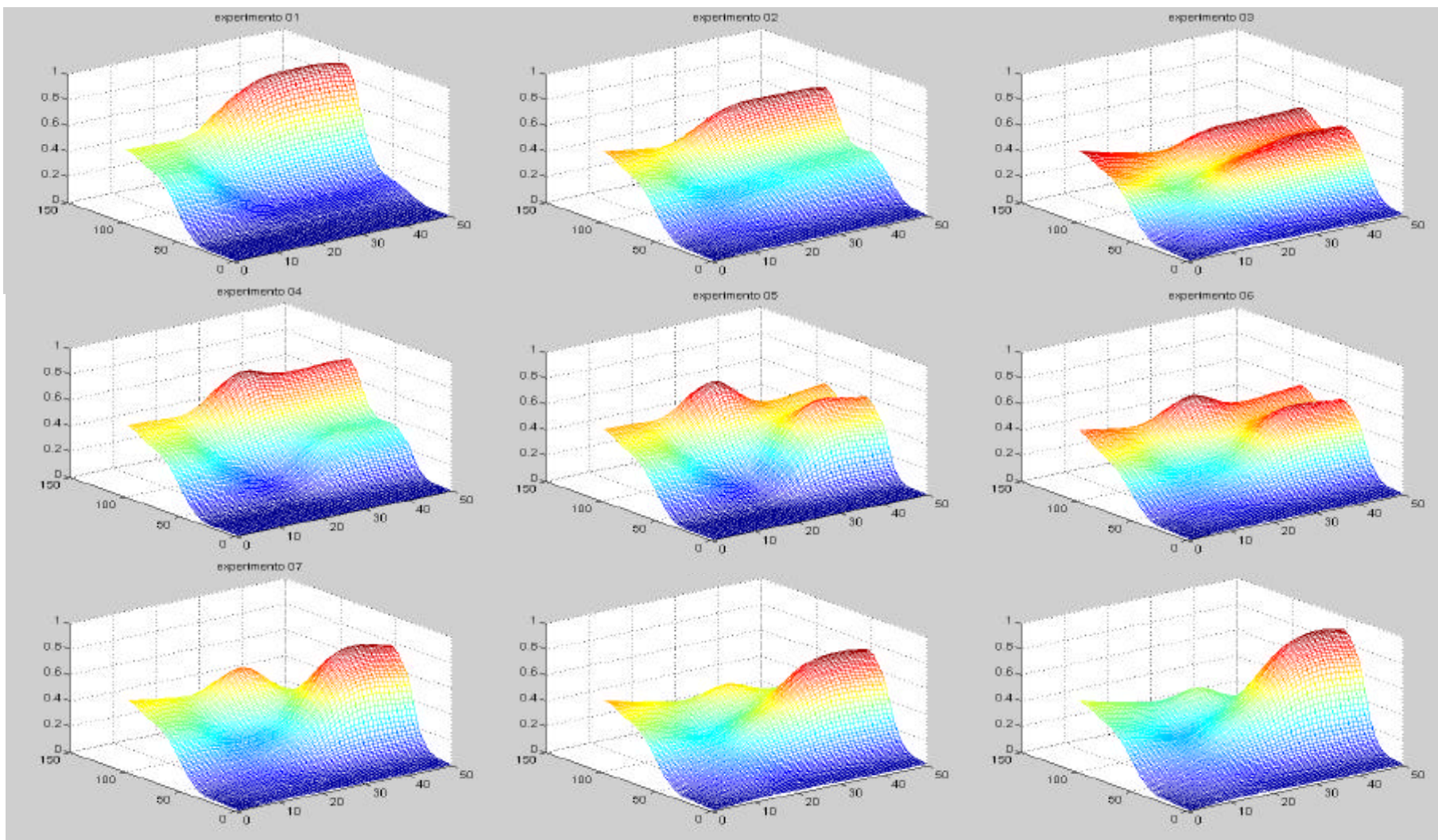


Figura 29 - Superfícies de resposta do planejamento 2^2 , com ponto central empregado na determinação de Cu e Zn.

4.2.1. Efeito da concentração de PAR

O primeiro parâmetro otimizado, apresentado no Quadro 9, é o efeito da concentração do agente cromogênico PAR na determinação dos metais. Uma vez utilizada uma câmara de dispersão no sistema, as concentrações de PAR não poderiam ser muito baixas, devido à diluição que poderia ocorrer. Então, foram testadas soluções com concentrações de PAR entre 0,06 e 0,30 mmol L⁻¹. No intervalo de 0,12 a 0,21 mmol L⁻¹, o percentual de erro obtido é menor que 4%. À medida que a concentração do PAR aumenta, para a mesma concentração de cobre e zinco, ocorre aumento na absorvância. Observa-se na Figura 30 que, com a concentração de PAR acima de 0,21 mmol L⁻¹, ocorre pequena variação na absorvância. Fixou-se a concentração máxima de PAR em 0,21 mmol L⁻¹, pois acima desta concentração a porcentagem de erro ficou superior a 20, devido ao surgimento de ruído nos pontos de máxima absorvância. Além disso, o acréscimo no valor da absorvância com o aumento da concentração de PAR, a partir deste ponto, é relativamente desprezível. Erros desta ordem também foram obtidos com as concentrações de PAR inferiores a 0,12 mmol L⁻¹.

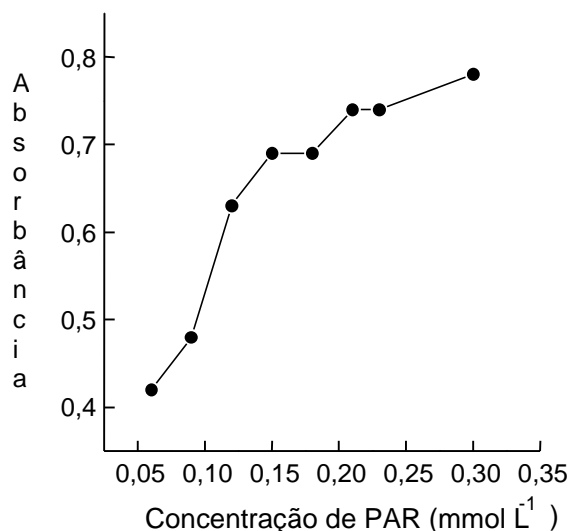


Figura 30 - Variação da absorvância, em função da concentração do agente cromogênico PAR, no gradiente, utilizando o ponto de máxima absorvância da amostra contendo $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de cobre e $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$ zinco.

Quadro 9 - Efeito da concentração de PAR na determinação de mistura de cobre e zinco, utilizando calibração multivariada

Concentração PAR (mmol L^{-1})	Concentração (mg L^{-1}) \pm DP					
	Cu(II) _{real}	Cu(II) _{estimado}	Erro (%)	Zn(II) _{real}	Zn(II) _{estimado}	Erro (%)
0,12	8,0	$7,8 \pm 0,7$	-3,2	9,0	$9,0 \pm 0,4$	0,6
	10,0	$9,8 \pm 0,6$	-1,6	7,0	$7,3 \pm 0,2$	4,2
	10,0	$9,9 \pm 0,4$	-0,8	9,0	$8,8 \pm 0,3$	-2,8
	8,0	$7,9 \pm 0,7$	-1,1	7,0	$7,2 \pm 0,2$	3,1
0,15	8,0	$8,1 \pm 0,4$	1,1	9,0	$9,0 \pm 0,2$	0,1
	10,0	$10,1 \pm 0,6$	1,1	7,0	$7,1 \pm 0,5$	1,5
	10,0	$10,1 \pm 0,3$	0,5	9,0	$8,8 \pm 0,6$	-2,1
	8,0	$7,9 \pm 0,2$	-1,3	7,0	$7,2 \pm 0,4$	2,3
0,18	8,0	$7,9 \pm 0,4$	-0,8	9,0	$9,1 \pm 1,0$	1,1
	10,0	$10,0 \pm 0,8$	-0,2	7,0	$7,1 \pm 0,7$	1,6
	10,0	$9,8 \pm 0,8$	-2,2	9,0	$9,0 \pm 0,9$	0,3
	8,0	$7,7 \pm 0,3$	-3,5	7,0	$7,1 \pm 0,4$	0,7
0,21	8,0	$8,0 \pm 1,0$	0,5	9,0	$9,1 \pm 0,5$	1,1
	10,0	$10,1 \pm 0,8$	1,0	7,0	$7,1 \pm 0,2$	1,8
	10,0	$10,1 \pm 0,7$	0,5	9,0	$8,9 \pm 0,3$	-1,1
	8,0	$8,1 \pm 0,7$	0,7	7,0	$7,2 \pm 0,4$	2,6

* Média de quatro repetições \pm desvio-padrão.

4.2.2. Efeito do volume de amostra injetado

Para determinar qual seria o melhor volume de amostra injetada, foram avaliados tamanhos de alça de amostragem entre 127 e 305 μL .

No Quadro 10 observa-se que, com os volumes injetados acima de 188 μL , são obtidos erros superiores a 10% para a determinação de zinco. A injeção de elevado volume da amostra pode proporcionar alta diluição da solução solução-tampão no interior da câmara de dispersão, ocasionando mudanças no gradiente pH gerado, além de haver quantidade insuficiente de agente complexante, já que a quantidade de metais presentes é maior.

Quadro 10 - Efeito do volume de amostra injetada

Volume Amostra Injetado (μL)	Concentração (mg L^{-1}) \pm DP					
	Cu(II) _{real}	Cu(II) [*] _{estimado}	Erro (%)	Zn(II) [*] _{real}	Zn(II) _{estimado}	Erro (%)
127	8,0	7,8 \pm 0,2	-2,7	9,0	9,1 \pm 0,8	1,0
	10,0	9,9 \pm 0,3	-0,7	7,0	7,1 \pm 0,5	1,8
	10,0	9,9 \pm 0,5	-1,5	9,0	8,6 \pm 0,9	-4,9
	8,0	7,8 \pm 0,3	-2,5	7,0	7,2 \pm 0,4	2,6
152	8,0	8,0 \pm 0,4	-0,3	9,0	9,1 \pm 0,6	1,3
	10,0	10,3 \pm 0,6	3,1	7,0	7,1 \pm 0,4	1,5
	10,0	10,1 \pm 0,5	0,7	9,0	8,8 \pm 0,8	-2,6
	8,0	8,0 \pm 0,3	0,4	7,0	7,2 \pm 0,2	2,4
188	8,0	7,8 \pm 0,7	-3,2	9,0	9,1 \pm 0,3	0,6
	10,0	9,8 \pm 0,4	-1,6	7,0	7,3 \pm 0,2	4,2
	10,0	9,9 \pm 0,2	-0,8	9,0	8,8 \pm 0,5	-2,8
	8,0	7,9 \pm 0,3	-1,1	7,0	7,2 \pm 0,2	3,1
229	8,0	7,9 \pm 0,6	-1,3	9,0	9,1 \pm 0,4	1,2
	10,0	9,7 \pm 0,7	-2,8	7,0	7,4 \pm 1,2	5,4
	10,0	9,8 \pm 0,4	-2,0	9,0	8,8 \pm 0,5	-2,4
	8,0	7,7 \pm 0,5	-3,7	7,0	7,8 \pm 0,6	9,0
305	8,0	8,0 \pm 0,4	-0,4	9,0	9,0 \pm 0,9	-0,5
	10,0	9,8 \pm 1,0	-1,6	7,0	7,3 \pm 3,9	3,9
	10,0	9,9 \pm 0,6	-1,5	9,0	8,1 \pm 0,7	-10,3
	8,0	7,8 \pm 0,4	-2,5	7,0	7,7 \pm 0,8	10,6

*Média de quatro repetições \pm desvio-padrão.

4.2.3. Efeito da vazão da bomba peristáltica

Outro fator estudado foi a vazão do fluxo, ou seja, a velocidade da bomba peristáltica. Foram realizados experimentos com velocidades de 0,47 a 0,9 mL min⁻¹. Observou-se que, adotando-se vazão muito pequena, como a de 0,47 mL min⁻¹, o experimento se tornou muito demorado, apenas seis amostras por hora, tornado-se inviável. Por outro lado, o fluxo mais alto como o de 0,9 mL min⁻¹ também não foi interessante, uma vez que o gradiente era gerado rápido demais, não sendo possível visualizar alguns valores de pH. Os melhores resultados foram obtidos com fluxo de 0,74 mL min⁻¹, conforme pode ser observado no Quadro 11.

Quadro 11 - Efeito da velocidade do fluxo na determinação de mistura de cobre e zinco, utilizando calibração multivariada

Vazão da bomba e N.º leituras**	Concentração (mg L ⁻¹) ± DP					
	Cu(II) _{real}	Cu(II) _{estimado} *	Erro (%)	Zn(II) _{real} *	Zn(II) _{estimado}	Erro (%)
0,61 mL min ⁻¹ 1	8,0	8,0 ± 0,6	9,7	9,0	8,6 ± 1,7	-5,0
	10,0	9,7 ± 0,2	-0,4	7,0	7,1 ± 0,4	1,5
40 de 0,11'	10,0	10,4 ± 0,6	4,3	9,0	8,8 ± 0,9	-2,4
	8,0	8,2 ± 0,3	2,7	7,0	7,5 ± 0,3	7,0
0,74 mL min ⁻¹ 1	8,0	7,9 ± 0,6	-1,3	9,0	9,1 ± 0,7	1,2
	10,0	9,7 ± 0,7	-2,8	7,0	7,4 ± 1,0	5,4
50 de 0,05'	10,0	9,8 ± 0,4	2,0	9,0	8,8 ± 0,2	-2,4
	8,0	7,7 ± 0,5	-3,7	7,0	7,8 ± 0,4	11,4

*Média de três repetições ± desvio-padrão; ** número de leituras e intervalo entre elas.

4.2.4. Efeito da adição de interferentes

Constam do Quadro 12 os efeitos da adição dos metais ferro, alumínio, estanho, chumbo, níquel e manganês, que são os principais constituintes das ligas de latão à amostra sintética contendo 8 mg L^{-1} de cobre e zinco. Comparando os resultados da amostra com adição dos metais com o branco, não se observou aumento significativo nos erros das análises para a adição de 3, 5 ou 8% (m/v) para nenhum dos metais avaliados. Erros significativos (acima de 10%) foram encontrados apenas na adição de 10% (m/v) de chumbo e níquel, o que, neste caso não representa problema, uma vez que são encontrados níveis de no máximo 3% para estes metais no latão (GULHÁEV, 1981). As amostras de latão foram analisadas pelo método de espectrometria de absorção atômica para determinação da concentração de outros metais (Apêndice 1).

4.3. Determinação simultânea de cobre e zinco em amostras de latão

Nos Quadros 13 e 14 verificam-se os resultados obtidos na análise de seis amostras de latão. Estes resultados obtidos pelo sistema de fluxo foram comparados com os observados por espectrometria de absorção atômica. Os erros percentuais de previsão foram menores que 2,3 e 1,9 para cobre e zinco, respectivamente. Estes resultados demonstram que o sistema de fluxo proposto apresenta alta exatidão na determinação multicomponente simultânea de cobre e zinco em ligas metálicas.

Quadro 12 - Efeito da adição de interferentes na determinação de mistura sintética de cobre e zinco, utilizando calibração multivariada

Interferente (mg L ⁻¹)	Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*						
	Cu(II) _{real}	Cu(II) _{estimado}	Erro (%)	Zn(II) _{real}	Zn(II) _{estimad}	Erro (%)	
branco	8,0	8,0 ± 0,1	0,5	8,0	8,0 ± 0,6	0,1	
0,24	Fe	8,0	8,2 ± 0,6	2,2	8,0	8,1 ± 1,0	1,5
	Al	8,0	8,1 ± 0,5	1,5	8,0	7,9 ± 1,0	-1,1
	Sn	8,0	8,1 ± 0,5	1,0	8,0	7,9 ± 0,8	-0,6
	Pb	8,0	8,0 ± 1,1	0,5	8,0	8,1 ± 1,0	1,4
	Ni	8,0	8,2 ± 0,9	2,3	8,0	8,2 ± 1,5	2,4
	Mn	8,0	8,0 ± 0,4	0,6	8,0	7,8 ± 1,1	-2,0
0,40	Fe	8,0	8,0 ± 0,5	-0,2	8,0	7,8 ± 0,7	-2,5
	Al	8,0	8,0 ± 0,7	0,1	8,0	8,1 ± 0,3	1,1
	Sn	8,0	8,0 ± 0,6	0,4	8,0	8,1 ± 0,4	1,1
	Pb	8,0	8,1 ± 0,2	1,1	8,0	8,1 ± 0,2	1,9
	Ni	8,0	8,2 ± 0,5	2,6	8,0	8,1 ± 0,5	1,4
	Mn	8,0	8,1 ± 0,4	1,8	8,0	8,1 ± 0,2	1,8
0,64	Fe	8,0	8,0 ± 0,1	0,5	8,0	8,1 ± 0,7	2,0
	Al	8,0	8,2 ± 0,8	3,0	8,0	8,1 ± 0,4	2,1
	Sn	8,0	8,3 ± 0,4	4,2	8,0	8,2 ± 0,3	2,6
	Pb	8,0	8,1 ± 0,3	1,8	8,0	8,2 ± 0,4	1,9
	Ni	8,0	8,5 ± 0,6	6,3	8,0	8,1 ± 0,3	1,1
	Mn	8,0	8,2 ± 0,7	2,3	8,0	8,1 ± 0,2	1,5
0,80	Fe	8,0	8,4 ± 0,2	5,1	8,0	8,4 ± 1,0	4,8
	Al	8,0	8,4 ± 0,3	4,9	8,0	8,2 ± 1,1	2,9
	Sn	8,0	8,7 ± 0,6	8,3	8,0	8,5 ± 0,7	6,1
	Pb	8,0	8,9 ± 0,6	11,5	8,0	8,8 ± 1,0	10,4
	Ni	8,0	9,4 ± 0,4	17,3	8,0	9,3 ± 0,8	16,0
	Mn	8,0	8,5 ± 1,1	6,4	8,0	8,4 ± 0,9	4,8

*Média de quatro repetições ± Desvio-padrão.

Quadro 13 - Concentração de Cu(II) em amostras de latão, determinada pelo sistema de fluxo e por espectrometria de absorção atômica

Amostra	Sistema de fluxo		Absorção atômica		Erro (%)
	mg L ⁻¹ ± DP*	%**	mg L ⁻¹ ± DP*	%**	
L1	1173,0 ± 1,3	57,2	1142,5 ± 0,1	55,7	2,7
L2	1201,9 ± 0,7	56,7	1228,5 ± 0,6	57,2	-0,9
L3	1233,7 ± 1,4	59,6	1227,6 ± 0,1	59,3	0,5
L4	1240,0 ± 0,3	61,4	1212,2 ± 0,2	60,3	1,8
L5	1265,0 ± 0,3	62,5	1283,3 ± 0,2	63,4	-1,4
L6	1205,0 ± 1,6	60,0	1190,5 ± 0,1	59,3	1,2

*Média de quatro repetições ± Desvio-padrão. ** Porcentagem em relação à massa da amostra.

Quadro 14 - Concentração de Zn(II) em amostras de latão, determinada pelo sistema de fluxo e por espectrometria de absorção atômica

Amostra	Sistema de fluxo		Absorção atômica		Erro (%)
	mg L ⁻¹ ± DP*	%**	mg L ⁻¹ ± DP*	%**	
L1	753,0 ± 1,1	36,7	759,7 ± 0,3	37,0	- 0,8
L2	748,7 ± 1,5	35,3	745,1 ± 0,1	35,0	0,9
L3	831,2 ± 1,9	40,2	849,7 ± 0,4	41,1	- 2,2
L4	773,7 ± 1,0	38,5	771,5 ± 0,1	38,3	0,5
L5	728,7 ± 1,8	36,0	741,2 ± 0,3	36,6	- 1,6
L6	761,2 ± 4,3	37,9	771,4 ± 0,2	38,4	- 1,3

*Média de quatro repetições ± Desvio-padrão. ** Porcentagem em relação à massa da amostra.

4.4. Determinação simultânea de ferro e zinco em amostras sintéticas

Os valores das concentrações apresentados no Quadro 15 foram utilizados na determinação simultânea dos íons Fe^{3+} e Zn^{2+} em amostras sintéticas. Com a mudança dos metais, testes foram realizados em relação à concentração dos reagentes e velocidade do fluxo. Nas Figuras 31 e 32 observam-se os espectros individuais do ferro e zinco com o PAR. As superfícies de resposta são mostradas na Figura 33.

Quadro 15 - Valores de concentração e volumes usados na preparação da calibração para o planejamento fatorial 2^2 , para determinação de ferro e zinco

Experimento	Concentração (mg L^{-1})		Volume (mL)*	
	Fe	Zn	Fe	Zn
01	-	-	-	-
02	6,0	-	3,0	-
03	12,0	-	6,0	-
04	-	5,0	-	2,5
05	-	10,0	-	5,0
06	6,0	5,0	3,0	2,5
07	6,0	10,0	3,0	5,0
08	12,0	5,0	6,0	2,5
09	12,0	10,0	6,0	5,0

* Volume pipetado de solução 100 mg L^{-1} do metal, aferido para 50 mL.

Observou-se, com a realização do planejamento experimental, que a cinética do ferro foi diferente daquela do cobre e zinco. Então, testes acerca da velocidade do fluxo foram novamente realizados, conforme mostrado no Quadro 16. Como pode ser observado, os menores erros percentuais foram encontrados, quando a vazão do fluxo foi de $0,67 \text{ mL min}^{-1}$.

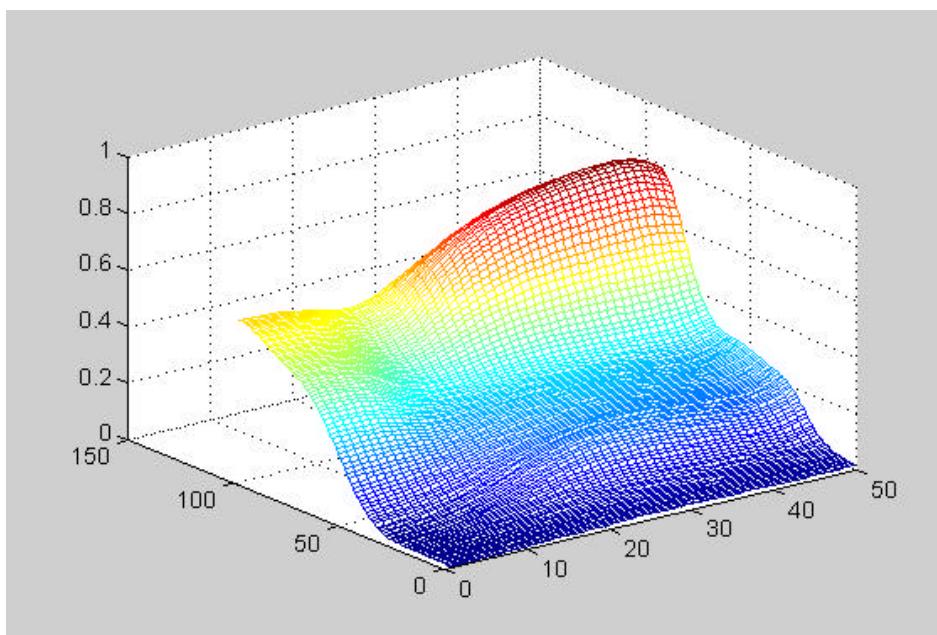


Figura 31 - Espectro da amostra contendo 12 mg L^{-1} de ferro com PAR, obtido com o sistema de fluxo proposto, nas condições estabelecidas

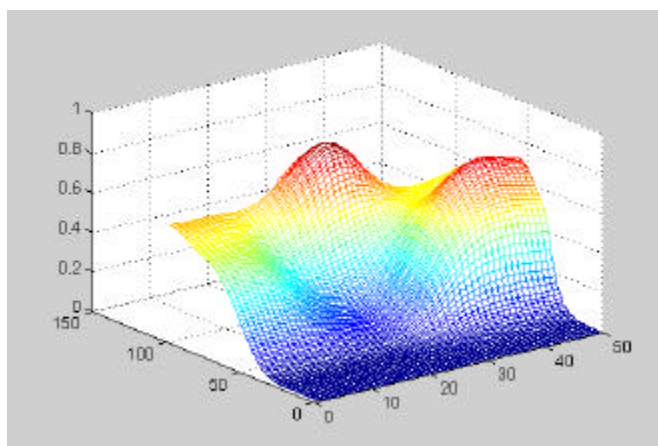


Figura 32 - Espectro da amostra contendo 12 mg L^{-1} de cobre com PAR, obtido com o sistema de fluxo proposto, nas condições estabelecidas.

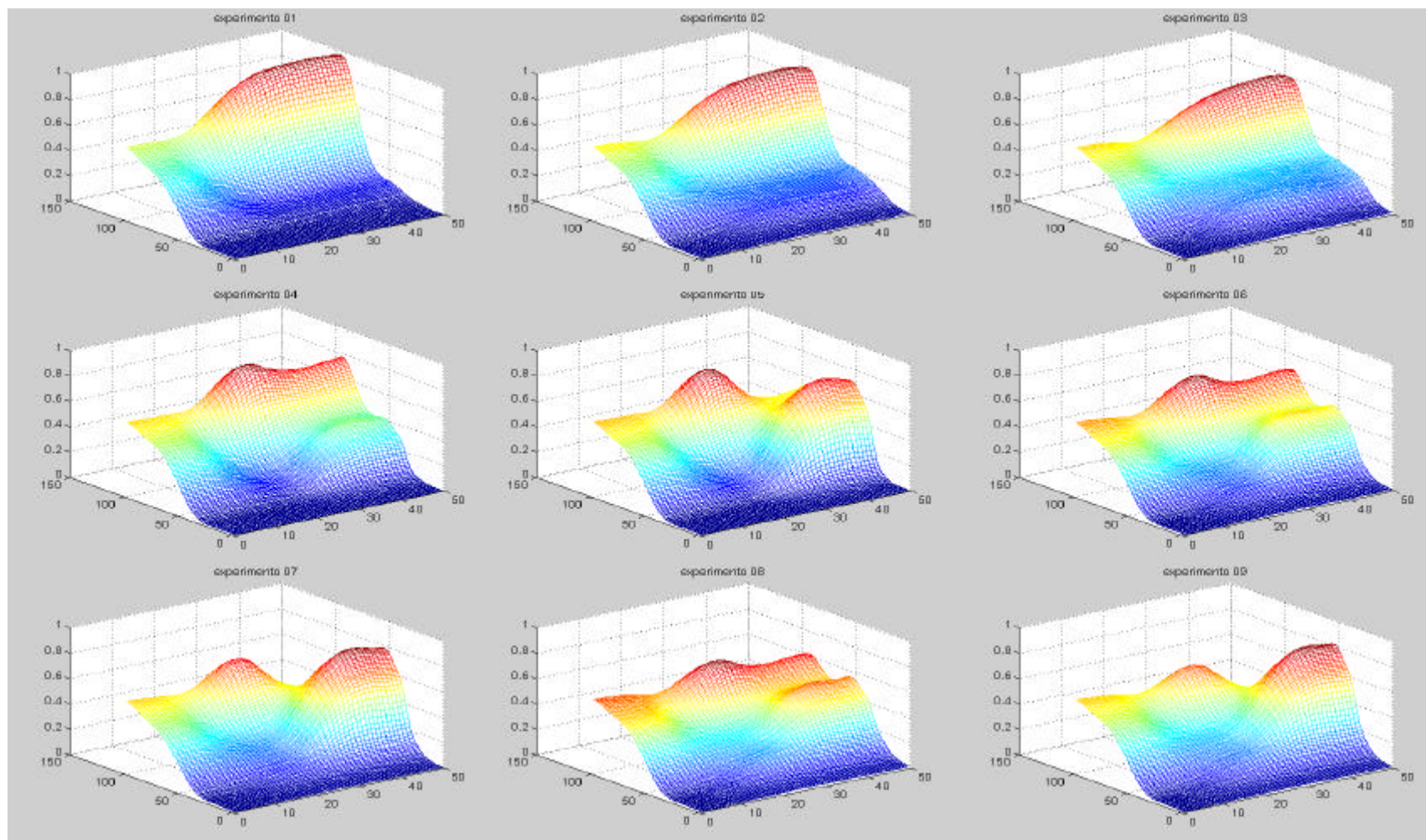


Figura 33 - Superfícies de resposta do planejamento 2^2 com ponto central, empregado na determinação de Fe e Zn.

Quadro 16 - Efeito da vazão da bomba peristáltica na determinação de mistura sintética de ferro e zinco, utilizando-se calibração multivariada

Vazão da bomba e N.º leituras**	Concentração (mg L ⁻¹) ± DP					
	Fe ³⁺ _{real}	Fe ³⁺ _{estimado}	Erro (%)	Zn ²⁺ _{real}	Zn ²⁺ _{estimado}	Erro(%)
0,61 mL min ⁻¹ 90 de 0,05'	8,0	8,6 ± 0,8	6,9	-	-	-
	8,0	8,0 ± 1,9	0,5	10,0	9,8 ± 0,3	-2,0
	10,0	9,8 ± 3,1	-1,7	8,0	8,1 ± 2,6	1,6
	10,0	9,5 ± 2,2	-5,0	10,0	9,7 ± 0,7	-3,3
0,67 mL min ⁻¹ 70 de 0,05'	8,0	8,3 ± 2,3	3,9	-	-	-
	8,0	8,1 ± 0,6	1,7	10,0	9,9 ± 0,8	-1,0
	10,0	9,9 ± 2,1	-1,3	8,0	8,1 ± 1,1	1,4
	10,0	9,3 ± 1,1	-6,7	10,0	9,9 ± 0,5	-1,5
0,74 mL min ⁻¹ 70 de 0,04'	8,0	8,7 ± 2,4	8,7	-	-	-
	8,0	8,1 ± 0,8	0,8	10,0	9,9 ± 1,6	-1,0
	10,0	10,0 ± 2,1	0,3	8,0	8,3 ± 3,5	3,5
	10,0	9,7 ± 1,8	-3,1	10,0	9,9 ± 1,1	-0,4

* Média de três repetições ± Desvio-padrão relativo (%); ** n.º de leituras e intervalo entre elas.

4.5. Determinação simultânea de cobre, ferro e zinco em amostras sintéticas

Na determinação simultânea de três metais, optou-se inicialmente por utilizar também um planejamento fatorial do tipo 2³, o qual tem a forma de um cubo, mostrado na Figura 34. Os valores das concentrações dos metais são mostrados no Quadro 17. Um planejamento deste tipo necessita de, no mínimo, oito ensaios. A fim de se abranger uma região maior, optou-se por inserir também um ponto central, perfazendo um total de nove soluções.

Como os erros nos resultados obtidos acima foram superiores a 10%, para os três metais, em algumas amostras, foram inseridos mais alguns pontos no planejamento; primeiro, pontos médios nas faces do cubo e, depois, pontos médios nos lados do cubo, de forma que o planejamento final continha 27 soluções, como é mostrado no Quadro 17.

Quadro 17 - Concentrações e volumes usados no preparo da calibração do planejamento fatorial 2^3 com ponto central, para determinação simultânea de cobre, ferro e zinco

Experimento	Concentração (mg L^{-1})			Volume (mL) [*]		
	Cu	Fe	Zn	Cu	Fe	Zn
01	-	-	-	-	-	-
02	12,0	-	-	6,0	-	-
03	-	12,0	-	-	6,0	-
04	-	-	20,0	-	-	10,0
05	12,0	12,0	-	6,0	6,0	-
06	12,0	-	20,0	6,0	-	10,0
07	-	12,0	20,0	0,0	6,0	10,0
08	12,0	12,0	20,0	6,0	6,0	10,0
09	6,0	6,0	10,0	3,0	3,0	5,0

* Volume pipetado de solução 100 mg L^{-1} do metal, aferido para 50 mL.

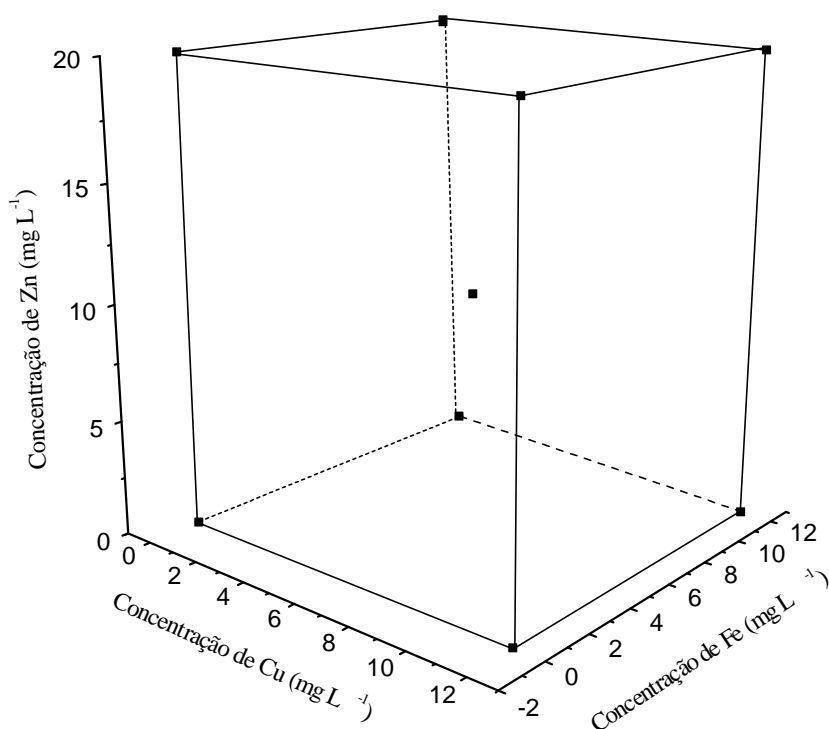


Figura 34 - Planejamento 2^3 com ponto central.

Quadro 18 - Concentrações e volumes usados no preparo da calibração do planejamento 2^3 , para determinação de cobre, ferro e zinco

Experimento	Concentração (mg L^{-1})			Volume (mL) [*]		
	Cu	Fe	Zn	Cu	Fe	Zn
01	-	-	-	-	-	-
02	6,0	-	-	3,0	-	-
03	12,0	-	-	6,0	-	-
04	-	-	10,0	-	-	5,0
05	-	-	20,0	-	-	10,0
06	-	6,0	-	-	3,0	-
07	-	12,0	-	6,0	6,0	-
08	6,0	-	10,0	3,0	-	5,0
09	6,0	-	20,0	3,0	-	10,0
10	12,0	-	10,0	6,0	-	5,0
11	12,0	-	20,0	6,0	-	10,0
12	6,0	6,0	-	3,0	3,0	-
13	6,0	12,0	-	3,0	6,0	-
14	12,0	6,0	-	6,0	3,0	-
15	12,0	12,0	-	6,0	6,0	-
16	-	6,0	10,0	-	3,0	5,0
17	-	12,0	10,0	-	6,0	5,0
18	-	6,0	20,0	-	3,0	10,0
19	-	12,0	20,0	-	6,0	10,0
20	6,0	6,0	10,0	3,0	3,0	5,0
21	6,0	12,0	10,0	3,0	6,0	5,0
22	6,0	6,0	20,0	3,0	3,0	10,0
23	6,0	12,0	20,0	3,0	6,0	10,0
24	12,0	6,0	10,0	6,0	3,0	5,0
25	12,0	12,0	10,0	6,0	6,0	5,0
26	12,0	6,0	20,0	6,0	3,0	10,0
27	12,0	12,0	20,0	6,0	6,0	10,0

* Volume pipetado de solução 100 mg L^{-1} do metal, aferido para 50 mL.

Este experimento apresentou bons resultados, mas ficou bastante demorado; então, um novo modelo de planejamento foi testado, o modelo em rede simplex, no qual os componentes da mistura estão distribuídos no interior de um triângulo, como mostram as Figuras 35 e 36. Este experimento necessitaria de, no mínimo, seis soluções, mas, a fim de abranger uma área maior, foram inseridos mais alguns pontos no interior do triângulo (simplex centróide), como mostra o Quadro 19.

Quadro 19 - Concentrações e volumes usados no preparo da calibração do planejamento em rede simplex com 16 soluções, para determinação de cobre, ferro e zinco

Experimento	Concentração (mg L ⁻¹)			Volume (mL) [*]		
	Cu	Fe	Zn	Cu	Fe	Zn
01	16,0	2,0	2,0	16,0	2,0	2,0
02	2,0	16,0	2,0	2,0	16,0	2,0
03	2,0	2,0	16,0	2,0	2,0	16,0
04	6,5	2,0	11,5	6,5	2,0	11,5
05	11,5	2,0	6,5	11,5	2,0	6,5
06	11,5	6,5	2,0	11,5	6,5	2,0
07	6,5	11,5	2,0	6,5	11,5	2,0
08	2,0	11,5	6,5	2,0	11,5	6,5
09	2,0	6,5	11,5	2,0	6,5	11,5
10	5,3	5,3	9,4	5,3	5,3	9,4
11	8,0	4,0	8,0	8,0	4,0	8,0
12	9,4	5,3	5,3	9,4	5,3	5,3
13	8,0	8,0	4,0	8,0	8,0	4,0
14	5,3	9,4	5,3	5,3	9,4	5,3
15	4,0	8,0	8,0	4,0	8,0	8,0
16	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7

* Volume pipetado de solução 100 mg L⁻¹ do metal, aferido para 100 mL.

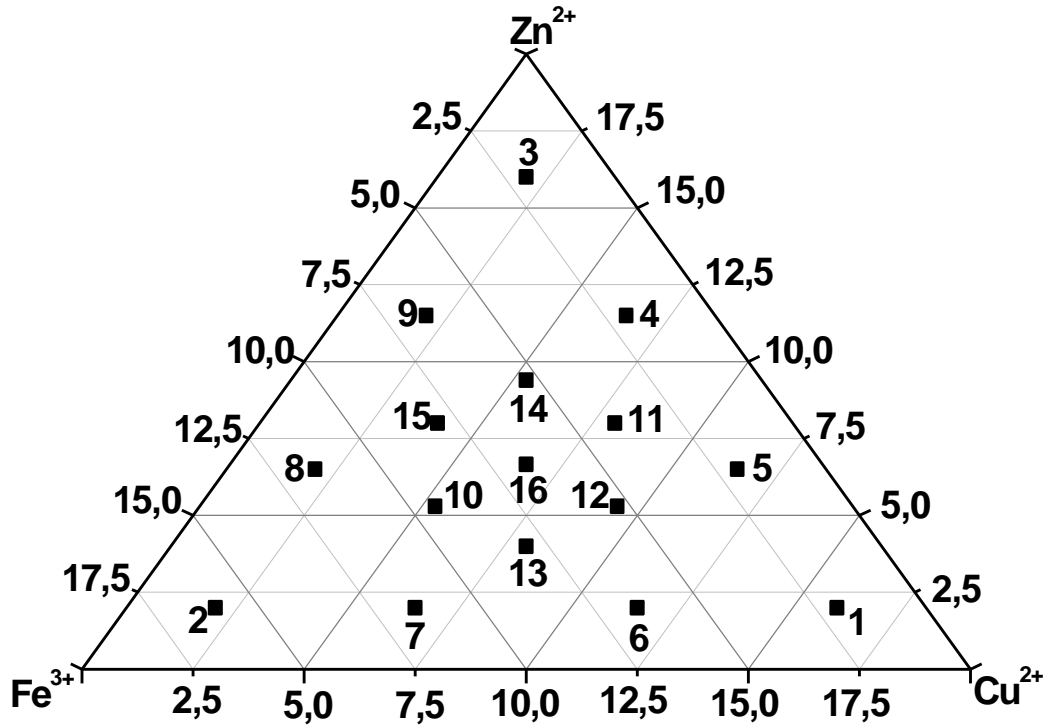


Figura 35 - Planejamento simplex com 16 pontos.

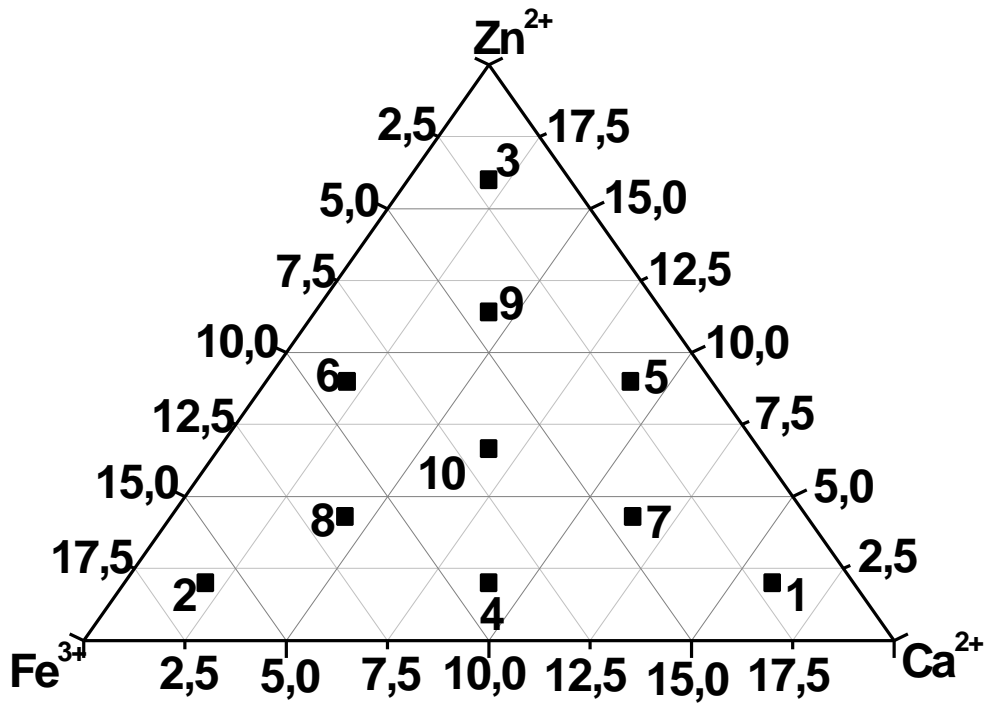


Figura 36 - Planejamento Simplex com 10 soluções.

Este planejamento, apesar de abranger toda a área do triângulo como mostra a Figura 35, não apresentou bons resultados. Embora tenham apresentado boa precisão, os erros foram bastante altos, ultrapassando os 10% para todos os metais, principalmente o ferro, em várias amostras, além de o experimento estar ainda muito moroso. Estes erros poderiam ser atribuídos à proximidade entre os pontos. Optou-se, então, por um planejamento com apenas 10 soluções, que também abrangia toda a área do triângulo, mas com uma distância pouco maior entre os pontos. O novo planejamento é mostrado no Quadro 20.

Quadro 20 - Concentrações e volumes usados no preparo da calibração do planejamento em rede simplex com 10 soluções, para determinação de cobre, ferro e zinco

Experimento	Concentração (mg L ⁻¹)			Volume (mL)*		
	Cu	Fe	Zn	Cu	Fe	Zn
01	16,0	2,0	2,0	8,0	1,0	1,0
02	2,0	16,0	2,0	1,0	8,0	1,0
03	2,0	2,0	16,0	1,0	1,0	8,0
04	9,0	9,0	2,0	4,5	4,5	1,0
05	9,0	2,0	9,0	4,5	1,0	4,5
06	2,0	9,0	4,2	1,0	4,5	2,1
07	11,4	4,2	9,0	5,7	2,1	4,5
08	4,2	11,4	4,2	2,1	5,7	2,1
09	4,2	4,2	11,4	2,1	2,1	5,7
10	6,6	6,6	6,6	3,3	3,3	3,3

*Volume pipetado de solução 100 mg L⁻¹ do metal, aferido para 50 mL.

Na quantificação dos íons Cu²⁺, Fe³⁺ e Zn²⁺, foi feito um planejamento experimental com 10 experimentos com concentrações variadas, formando o conjunto de calibração, segundo o Quadro 20, sendo as superfícies de resposta apresentadas na Figura 37. Este conjunto de calibração foi empregado na construção da curva de calibração multivariada. Em todas as determinações, foram necessários quatro componentes principais para estabelecer o modelo

utilizado na etapa de previsão. Este número de componentes principais foi o que forneceu o menor erro nas previsões da concentração de cobre, ferro e zinco.

No Quadro 21 apresentam-se os resultados obtidos na determinação das misturas ternárias de cobre, ferro e zinco. Estes resultados foram obtidos para verificar a performance do sistema de fluxo proposto na determinação simultânea de uma mistura ternária. Observa-se que porcentagens de erro de previsão da ordem de 9% foram obtidas para o zinco.

4.5.1. Efeito da adição de interferentes

Constam do Quadro 22 os resultados da adição de metais interferentes a uma das amostras sintéticas de cobre (II), ferro(III) e zinco(II). Na amostra contendo $7,0 \text{ mg L}^{-1}$ de cobre e ferro e $6,0 \text{ mg L}^{-1}$ de zinco, adicionaram-se níveis de 3 e 5% (m/v) de alumínio, cálcio, chumbo, magnésio e manganês, que poderiam ser encontrados em solos e sedimentos da região de Minas Gerais (JORDÃO et al., 1999). Também foi feito um branco para avaliar o grau de interferência ocasionado pelos outros metais. Pode-se observar que, para o alumínio e o chumbo, não foram encontrados erros percentuais significativos. O cobre sofreu apenas uma interferência com erro inferior a 7%, quando na presença de 5% (m/v) de magnésio. O ferro sofreu interferência na presença de 3 e 5% (m/v) de cálcio e 5% (m/v) de chumbo, manganês e magnésio. O zinco sofreu interferência significativa apenas na presença de 5% (m/v) de manganês. Contudo, em todos os casos, a presença de 3 e 5% (m/v) dos íons estudados não ocasionou interferências com erros percentuais superiores a 13%.

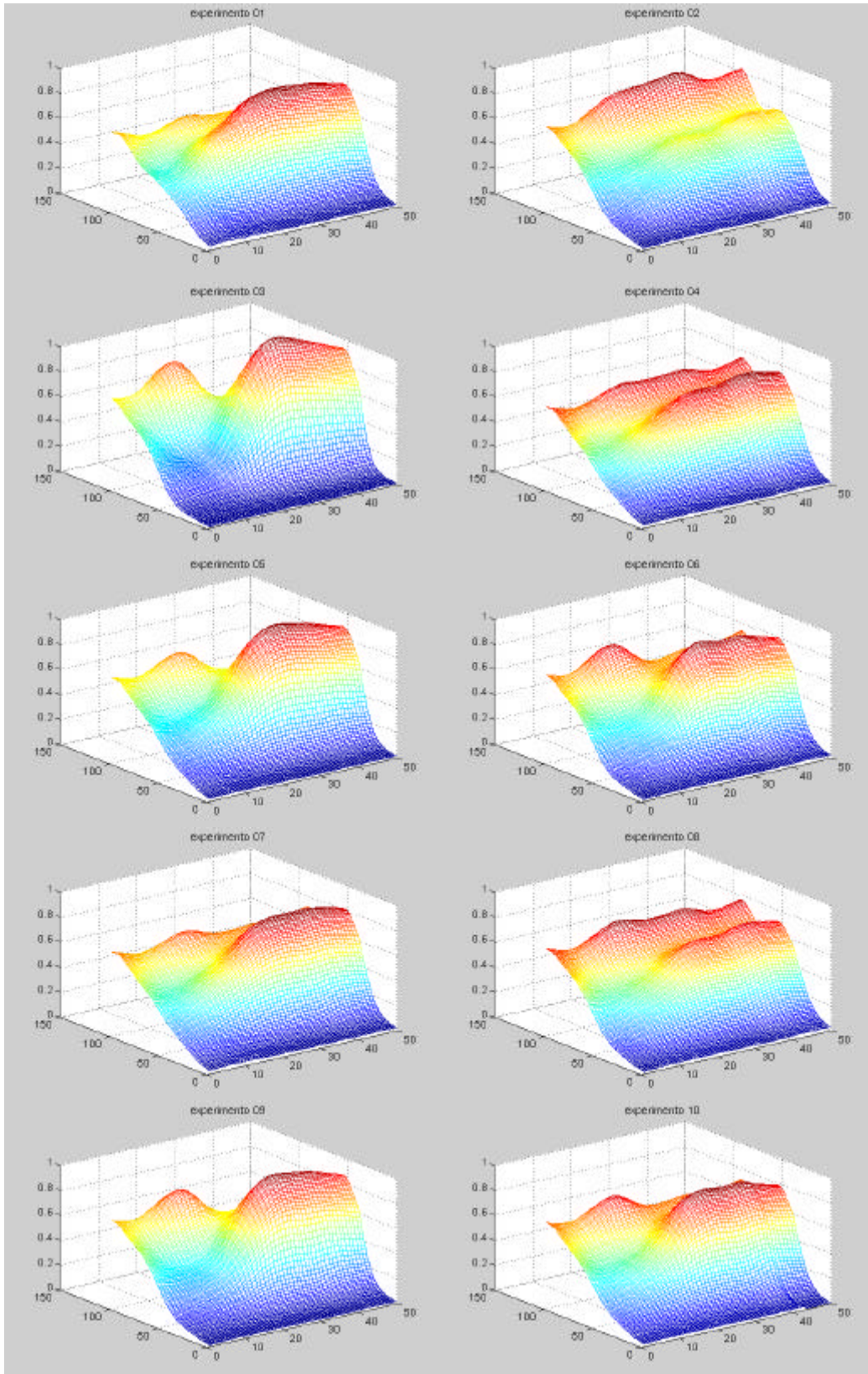


Figura 37 - Superfícies de resposta do planejamento simplex centróide, empregado na determinação de cobre, ferro e zinco.

Quadro 21 - Avaliação do sistema de fluxo na determinação de mistura sintéticas de cobre(II), zinco(II) e ferro(III), utilizando-se calibração multivariada

			Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*					
Cu(II) _{real}	Cu(II) _{estimado}	Erro (%)	Fe(III) _{real}	Fe(III) _{estimado}	Erro (%)	Zn(II) _{real}	Zn(II) _{estimado}	Erro (%)
4,0	4,1 ± 0,2	2,5	4,0	4,2 ± 0,1	5,0	12,0	11,5 ± 0,8	-4,2
10,0	9,9 ± 0,7	-1,0	2,0	2,2 ± 0,0	10,0	8,0	7,7 ± 0,4	-3,8
12,0	11,8 ± 0,9	-1,7	4,0	4,3 ± 0,2	7,5	4,0	3,9 ± 0,2	-2,5
4,0	3,8 ± 0,3	-5,0	12,0	12,4 ± 0,9	3,3	4,0	4,0 ± 0,3	0,0
2,0	1,9 ± 0,2	-5,0	10,0	9,8 ± 0,7	-2,0	8,0	7,7 ± 0,5	-3,8

* Média de três repetições ± Desvio-padrão.

Quadro 22 - Efeito da adição de interferentes na determinação simultânea de cobre, ferro e zinco

Interferente (mg L ⁻¹)	Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*									
	Cu(II) _{real}	Cu(II) _{estimado}	Erro (%)	Fe(III) _{real}	Fe(III) _{estimado}	Erro (%)	Zn(II) _{real}	Zn(II) _{estimado}	Erro (%)	
branco	7,0	6,65 ± 0,1	-5,0	7,0	7,35 ± 0,2	5,1	6,0	5,86 ± 0,1	-2,3	
0,21	Al	7,0	6,78 ± 0,2	-3,1	7,0	6,84 ± 0,2	-2,3	6,0	6,42 ± 0,2	7,0
	Mn	7,0	7,32 ± 0,1	4,5	7,0	7,21 ± 0,1	3,0	6,0	6,16 ± 0,1	2,7
	Pb	7,0	6,88 ± 0,1	-1,8	7,0	7,12 ± 0,2	1,7	6,0	6,18 ± 0,1	3,1
	Ca	7,0	7,29 ± 0,1	4,2	7,0	6,44 ± 0,0	-8,0	6,0	6,31 ± 0,1	5,2
	Mg	7,0	6,73 ± 0,0	-3,9	7,0	7,11 ± 0,1	1,6	6,0	6,19 ± 0,0	3,2
0,35	Al	7,0	6,73 ± 0,2	-3,9	7,0	7,21 ± 0,1	3,0	6,0	6,15 ± 0,1	2,5
	Mn	7,0	6,81 ± 0,1	-2,7	7,0	6,14 ± 0,2	-12,2	6,0	6,71 ± 0,1	11,8
	Pb	7,0	6,72 ± 0,1	-4,0	7,0	7,47 ± 0,1	6,7	6,0	6,07 ± 0,1	1,1
	Ca	7,0	6,46 ± 0,3	-7,7	7,0	7,66 ± 0,3	9,4	6,0	5,83 ± 0,5	-2,8
	Mg	7,0	6,52 ± 0,1	-6,8	7,0	7,46 ± 0,2	6,6	6,0	6,04 ± 0,0	0,7

* Média de três repetições ± Desvio-padrão.

4.6. Determinação simultânea de cálcio, ferro e zinco em amostras sintéticas

Na quantificação dos íons Ca^{2+} , Fe^{3+} e Zn^{2+} , foi aplicado o mesmo planejamento experimental com 10 experimentos contendo concentrações variadas, utilizado na determinação simultânea de cobre, ferro e zinco, mostrado no Quadro 20. As superfícies de resposta são apresentadas na Figura 38. Assim como no caso anterior, em todas as determinações, foram necessários quatro componentes principais para estabelecer o modelo utilizado na etapa de previsão. Este modelo foi o que forneceu menor erro nas previsões da concentração das amostras de cálcio, ferro e zinco.

Apresentam-se no Quadro 23 os resultados obtidos na determinação das misturas ternária do cálcio, ferro e zinco. Este experimento foi realizado com o intuito de determinar estes metais em amostras de águas residuárias de indústria de beneficiamento de caulim. Observa-se que porcentagens de erro superiores a 5% só foram encontradas quando as concentrações de ferro ou zinco eram muito inferiores às de cálcio.

4.6.1. Efeito da adição de interferentes

Observando-se os resultados da análise por espectrometria de absorção atômica das amostras de águas residuárias de beneficiamento de caulim das regiões de Ubá e Mar de Espanha (Quadro 2, Apêndice 1), foram encontrados nestas águas cálcio, ferro e zinco. Estes metais são provenientes do processo de beneficiamento e tratamento dos efluentes da indústria. Em quantidades muito inferiores, foram encontrados magnésio e manganês.

Foram realizados testes para avaliar os efeitos destes dois metais na determinação simultânea de cálcio, ferro e zinco. Constam do Quadro 24 os resultados da adição de metais interferentes à amostra sintética de cálcio, ferro e zinco contendo $6,6 \text{ mg L}^{-1}$ dos metais, em que foram adicionados níveis de 3 e 5% (m/v) de magnésio e manganês (II). Também foi feito o branco para avaliar o

grau de interferência ocasionado pelos outros metais. Não foram observados erros percentuais significativos na determinação de cálcio, ferro e zinco na presença de 3 e 5% (m/v) de manganês e magnésio.

4.7. Determinação simultânea de cálcio, ferro e zinco em amostras de águas residuárias de indústria de beneficiamento de caulim

Uma vez otimizadas as variáveis do sistema, este foi utilizado na determinação simultânea de cálcio, ferro e zinco em amostras de águas residuárias de beneficiamento de caulim de Ubá e Mar de Espanha. No Quadro 25 verificam-se os resultados obtidos na análise. Os resultados obtidos pelo sistema de fluxo foram comparados com os verificados por espectrometria de absorção atômica. Os erros percentuais de previsão foram inferiores a 10% para os três metais. Estes resultados demonstram que o sistema de fluxo proposto apresenta alta exatidão na determinação multicomponente simultânea de cálcio, ferro e zinco em águas residuárias de beneficiamento de caulim.

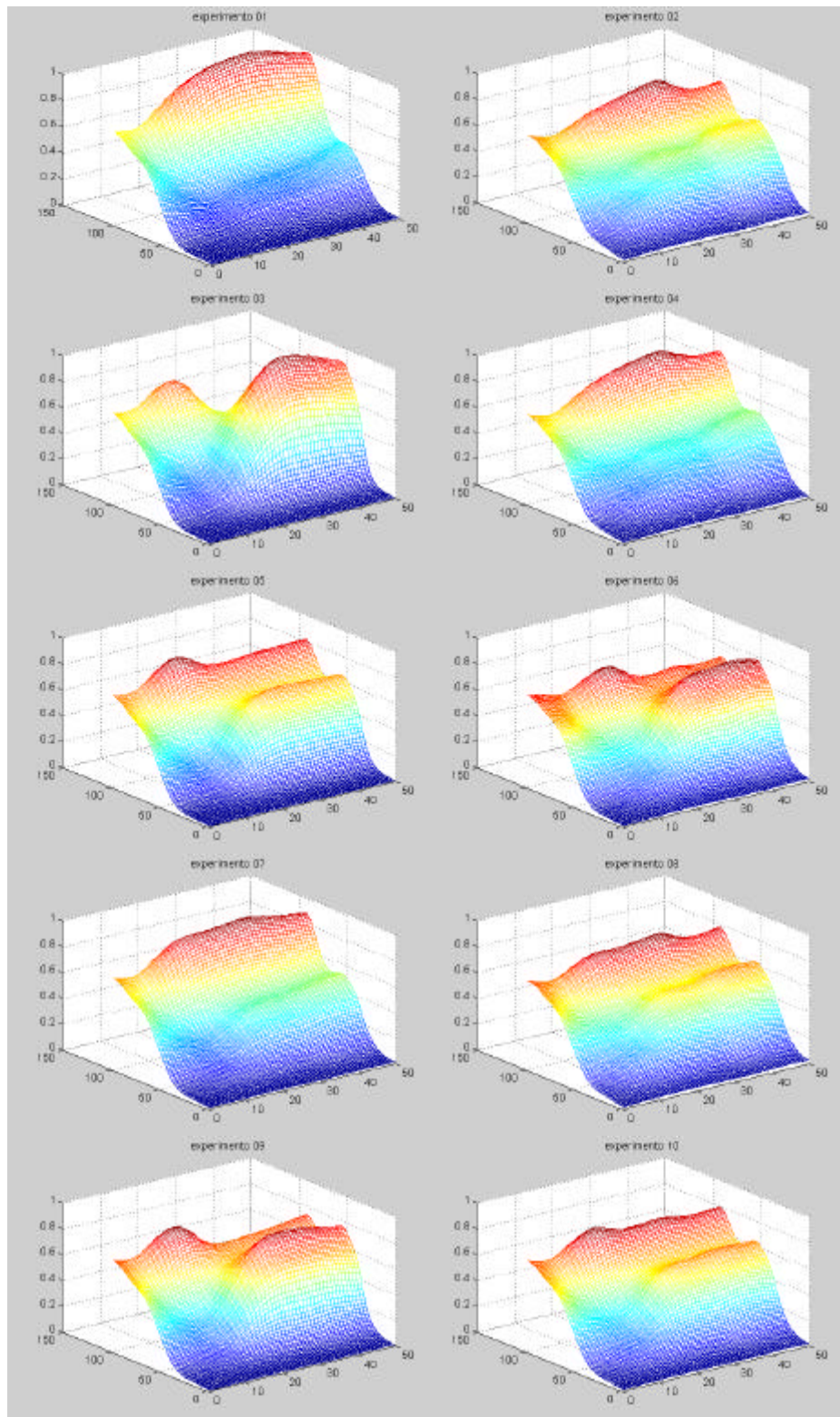


Figura 38 - Superfícies de resposta do planejamento simplex centróide, empregado na determinação de cálcio, ferro e zinco.

Quadro 23 - Estudo de mistura sintética de cálcio, ferro e zinco, utilizando calibração multivariada

Amostra	Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*								
	Ca(II) _{real}	Ca(II) _{estimado}	Erro (%)	Fe(III) _{real}	Fe(III) _{estimado}	Erro (%)	Zn(II) _{real}	Zn(II) _{estimado}	Erro (%)
A01	8,0	7,6 ± 0,5	-5,4	8,0	8,2 ± 0,5	2,3	4,0	4,0 ± 0,3	0,7
A02	6,0	5,6 ± 0,7	-5,8	6,0	5,9 ± 0,3	-0,3	8,0	8,1 ± 0,1	1,3
A03	8,0	8,3 ± 0,2	4,1	10,0	9,8 ± 0,7	-2,0	2,0	1,8 ± 0,3	-7,4
A04	9,0	9,2 ± 0,3	2,0	2,0	1,7 ± 1,0	-12,8	9,0	9,3 ± 0,1	2,9
A05	2,0	1,9 ± 0,7	-2,9	9,0	9,3 ± 0,1	3,5	9,0	9,2 ± 0,3	2,5
A06	6,6	6,5 ± 0,9	-2,0	6,6	6,7 ± 0,2	2,1	6,6	6,7 ± 0,1	1,4

*Média de três repetições ± Desvio-padrão.

Quadro 24 – Efeito da adição de interferentes em mistura sintética de cálcio, ferro e zinco, utilizando calibração multivariada

Interferente (mg L ⁻¹)	Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*			Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*			Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*			
	Ca(II) _{real}	Ca(II) _{estimado}	Erro (%)	Fe(III) _{real}	Fe(III) _{estimado}	Erro (%)	Zn(II) _{real}	Zn(II) _{estimado}	Erro (%)	
0,18	Mn	6,6	6,5 ± 0,3	-1,2	6,6	6,8 ± 0,3	2,5	6,6	6,8 ± 0,1	3,1
	Mg	6,6	6,7 ± 0,1	2,3	6,6	6,6 ± 0,0	0,3	6,6	6,7 ± 0,2	1,9
0,30	Mn	6,6	6,6 ± 0,1	0,4	6,6	6,7 ± 0,1	2,1	6,6	6,8 ± 0,2	3,8
	Mg	6,6	6,9 ± 0,2	5,3	6,6	6,5 ± 0,1	-0,9	6,6	6,7 ± 0,1	1,6

*Média de três repetições ± Desvio-padrão.

Quadro 25 - Análise das amostras de águas residuárias de tratamento de caulim de Ubá e Mar de Espanha

Amostras	Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*								
	Ca(II)			Fe(III)			Zn(II)		
	AAS	FIA	Erro (%)	AAS	FIA	Erro (%)	AAS	FIA	Erro (%)
CU	330,7	361,4 ± 0,4	9,3	579,1	548,7 ± 0,1	-5,5	1261,5	1244,0 ± 0,5	-1,4
CU	387,0	371,7 ± 0,6	-4,0	620,0	598,8 ± 0,2	-3,4	1344,6	1294,4 ± 0,1	-3,7
CME	471,0	454,0 ± 0,8	-3,6	102,8	98,1 ± 0,1	-4,6	500,7	507,8 ± 0,2	1,4
CME	516,4	543,1 ± 0,2	5,2	141,4	132,2 ± 0,5	-6,5	542,7	568,2 ± 0,3	4,7

CU: caulim de Ubá; CME: caulim de Mar de Espanha. AAS: Espectrometria de Absorção Atômica. *Média de três repetições ± Desvio-padrão.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Com o objetivo de realizar determinações simultâneas multicomponente, por meio de complexação de metais com o agente cromogênico PAR, em função do pH do meio reacional, desenvolveu-se um sistema de fluxo com detecção por espectrometria de absorção molecular.

Na primeira etapa do experimento, foi gerado um gradiente linear de pH de 2 a 12, por dispersão de uma solução-tampão básica, em um fluxo de solução-tampão ácida pelo sistema de análise por injeção em fluxo proposto. Para determinação dos valores de pH, utilizou-se calibração multivariada pelo método PLS em ambiente Matlab.

Na segunda etapa do experimento, o gradiente gerado foi utilizado na determinação multicomponente e simultânea de misturas binárias de cobre e zinco em amostras de ligas de latão e de misturas ternárias de cálcio, ferro e zinco em amostras de águas residuárias de indústria de beneficiamento de caulim. No tratamento destes dados, utilizou-se calibração multivariada pelo método PLS multidimensional em ambiente Matlab.

Os resultados das análises das misturas binárias de cobre e zinco mostraram boa concordância com aqueles obtidos pelo método de espectrometria de absorção atômica, sendo que os erros percentuais não ultrapassaram 2,5%.

Os resultados também mostraram que os constituintes que estão em menor concentração nas amostras de ligas de latão não causaram interferência na

análise. Os estudos realizados com possíveis metais presentes nas amostras de ligas de latão mostraram que estes, quando presentes em níveis inferiores a 8% (m/m), não interferem na determinação simultânea de cobre e zinco.

A avaliação do sistema de fluxo na determinação de misturas ternárias de cálcio, ferro e zinco apresentou resultados promissores, com erros percentuais inferiores a 10%. Observou-se que os metais presentes nas águas residuárias da indústria de beneficiamento de caulim não interferiram significativamente nas análises.

O procedimento proposto apresentou frequência analítica de 15 amostras por hora; número que poderá ser ampliado com o emprego de instrumentos espectrofotométricos, com velocidade de aquisição de dados mais rápida que a empregada neste trabalho.

O desenvolvimento de circuito eletrônico para sincronizar a injeção da amostra e o início das leituras espectrais permitiu o emprego dos programas gerenciadores do espectrofotômetro Varian, modelo Cary 50. Este sistema pode ser utilizado para adaptação da técnica de análise por injeção em fluxo a equipamentos espectrofotométricos interfaceados a microcomputador, visando o controle de tempo entre a injeção da amostra e o início da aquisição de intervalos espectrais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRUDA, M.A.Z., ZAGGATO, E.A.G., MANIASSO, N. Kinetic determination of cobalt and nickel by flow-injection spectrophotometry. **Anal. Chem. Acta**, v.283, p.476-480, 1993.
- AZUBEL, M., FERNÁNDEZ, F.M., TUDINO, M.B., TROCCOLI, O.E. Novel application and comparison of multivariate calibration for the Simultaneous determination of Cu, Zn and Mn at trace levels using flow injection diode array spectrophotometry. **Anal. Chem. Acta**, v.398, n.1999, p.93-102.
- BARROS NETO, B., SCARMÍNIO, I.S., BRUNS, R.E. **Planejamentos e Otimização de Experimentos**, Campinas: Editora: UNICAMP, 1996.
- BATALHA, M.C., BELLATO, C.R., MOREIRA, D.A., REIS, E.L., JORDÃO, C.P. Desenvolvimento de um sistema contador de tempo para o sincronismo entre a injeção da amostra e detecção em sistemas FIA, In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23, Poços de Caldas, 2000. **Anais...** Poços de Caldas, MG: CNPq/FAPEMIG, 2000, QA.129.
- BETTERIDGE, D., FIELDS, B. The application of pH gradients in flow injection analysis. A method for simultaneous determination of binary of metal ions in solution. **Anal. Chem. Acta**, v.132, p.139-155, 1981.
- BEEBE, K.R., KOWALSKI, B.R. An introduction to multivariate calibration and analysis. **Anal. Chem.**, v.59, p.1007A-1017A, 1987.

- BLANCO, M., COELHO, J., ITURRIAGA, H., MASPOSH, S., REDÓN, M., RIBA, J. Multi-component analysis of concentrated solutions by flow-injection analysis with zone sampling and partial least-squares resolution. **Anal. Chem. Acta**, v.259, p.219-224, 1992.
- BLANCO, M., COELHO, J., ITURRIAGA, H., MASPOSH, S., REDÓN, M. Artificial neural networks for multicomponent kinetic determinations. **Anal. Chem. Acta**, v.67, p.4477-4483, 1995.
- BLASCO, F., HERNÁNDEZ, M.J.M., SAGRADO, S. Use of pH gradients in continuous-flow system and multivariate regression techniques applied to be determination of methionine and cysteine in pharmaceuticals. **Anal. Chem. Acta**, v.348, p.151-159, 1997.
- BOX, G.E.P., HUNTER, W.G., HUNTER, J.S. **Statistics for experiments**. New York: John Wiley & Sons Inc. 1978.
- BRO, R. Multiway calibration multilinear PLS. **J. Chemometrics**, v.10, p.47-61, 1996.
- BRUNS, R.E., FAIGLE, J.F.G. Quimiometria, **Química Nova**, v.2, p.84-99, 1985.
- BUCH, K.W., BUCH, M.A. **Multielement detection systems for spectrochemical analysis**. New York: John Wiley, 1990. p.452-462.
- BURGUERA, J.L. **Flow injection atomic spectroscopy**. New York: Marcel Dekker, 1989.
- CAHN, F., COMPTON, S. Multivariate calibration of infrared spectra for quantitative analysis using designed experiments. **Applied Spectroscopy**, v.42, n.5, p.865-872, 1988.
- CAULIM [Informe Técnico] [s. l.], **Mineração Caulinita**, 1989.
- CERQUEIRA, E.O. **Desenvolvimento de um espectrofotômetro multicanal para análise multivariada em sistema de fluxo**. Campinas, SP: UECAMP, 1997. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, 1997.

- CORNELL, J.A. **How to apply to response surface methodology**, USA, A-R Editions, Inc. v.8, 1990.
- COUTO, C.M.C.M., MONTENEGRO, M.C.B.S.M. Detectores potenciométricos para sistemas de análise por injeção em fluxo, evolução e aplicação. **Química Nova**, v.23, n.6, p.774-784, 2000.
- CULLEN, T.F., CROUCH, S.R. Factor affecting the accuracy of multicomponent kinetic-spectrophotometric determinations based on multivariate calibration methods. **Anal. Chem. Acta**, v.407, p.135-146, 2000.
- D'ALMEIDA, M.L.O. **Metodologias de avaliação de minerais para a indústria de papel**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., 1991.
- DÍAZ, T.G., VALENZUELA, M.I.A., SALINAS, F. Multicomponent determination of the pesticide naptalam and its metabolites in river water, by applying partial least squares calibration to the derivate spectrophotometric signals. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v.350, p.692-701, 1994.
- DRAPER, N., SMITH, H. **Applied regression analysis**. 2.ed., New York: Wiley, 1981.
- ENGSTÖM, E., KARLBERG, B. Screening method for metals based on array spectrophotometry and multivariate analysis. **J. Chemometrics**, v.10, p.509-520, 1996.
- ENGSTÖM, E., JÖNEBRING, I., KARLBERG, B. Assessment of a screening method for metals in seawater based on the non-selective reagent 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR). **Anal. Chem. Acta**, v.371, p.227-234, 1998.
- FERREIRA, M.M.C., ANTUNES, A.M., MELGO, M.S., VOLPE, P.L.O. Quimiometria I: Calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v.22, n.5, 1999.
- FISHER, C.H., RABE, J.G. Flow-injection analysis with a linear pH gradient and diode-array detection applied to organic dyes. **Anal. Chem. Acta**, v.284, p.257-263, 1993.

- FLASCHKA, H.A., BARNARD JR., A.J. **Chelates in analytical chemistry**. New York: Marcel Dekker Inc., v.4. 1972.
- GELADI, P., KOWALSKI, B.R. Partial Least square regression: a tutorial. **Anal. Chem. Acta**, v.185, p.1-17, 1987.
- GELADI, P., ISAKSSON, H., LINDQVIST, L., WOLD, S., ESBENSEN, K. Principal component analysis on multivariate images. **Chemometrics Intell. Lab. Syst.**, v.5, p.209-220, 1989.
- GRZERIK, E.B., GROSSMAN, A.M. Derivate spectrophotometry in the determination of metal ions with 4-(pirydyl-2-azo)resorcinol (PAR). **Fresenius Z. Anal. Chem.**, v.354, p.468-475, 1996.
- GULHÁEV, A.P. **Metais e suas ligas**. Editora Mir Moscovo, v.2. 1981.
- HANSELMAN, D., LITTLEFIELD, B. **Matlab[®] Versão do Estudante. Guia do Usuário, Makron do Brasil**. São Paulo: Editora Ltda. 1999.
- HANSEN, E.H. Exploitation of gradient techniques in flow injection analysis. **Fresenius Z. Anal. Chem.**, v.329, p.656-659, 1988.
- HERNANDEZ, O., JIMENEZ, F., JIMENEZ, A.I., ARIAS, J.J. Evaluation of multicomponent flow-injection analysis data by use of a partial least square calibration method. **Anal. Chem. Acta**, v.310, p.53-61, 1995.
- HERNANDEZ, O., JIMENEZ, F., JIMENEZ, A.I., ARIAS, J.J., HARVEL, J. Multicomponent flow injection based analysis with diode array detection and partial least squares multivariate calibration evaluation. Rapid determination of Ca(II) and Mg(II) in waters and dialysis liquids. **Anal. Chem. Acta**, v.320, 177-183, 1996.
- JORDÃO, C.P., BRUNE, W., SIQUEIRA, M.O., PEREIRA, J.L., CECON, P.R. Heavy metal concentrations in soil and river sediments from an industrial area in Brasil, Na. **Acad. Bras. Ci.**, v.71, n3-I, p.361-369, 1999.
- KELLNER, R., MERMET, J.M., WIDMER, H.M. **Analytical chemistry: the authentic text to the FECS curriculum analytical chemistry**. New York: Wiley-VCH, 1998.

- KOWALSKI, B.R., SEASHOLTZ, M.A. Recent developments in multivariate calibration. **J. Chemom.**, v.5, p.129-145, 1991.
- KUBAN, V. Simultaneous determination of several components by flow injection analysis. **Crit. Rev. In Anal. Chem.**, v.23, p.15-21, 1992.
- LUKKARI, I., LINDBERG, W. Multicomponent determination in flow systems by partial least square modelling. **Anal. Chem. Acta**, v.211, p.1-10, 1988.
- MALVINO, A.P. **Eletrônica digital: princípios e aplicações**. São Paulo: McGraw-Hill, v.2, 1987.
- MARTENS, H., NAES, T. **Multivariate calibrations**. New York: John Wiley & Sons, Chichester, 1991.
- Matlab for Windows, V.4.2.1.c., The Math Works Inc., 1994.
- MORRITA, T., ASSUMPÇÃO, R.M.V. **Manual de Soluções Reagentes & Solventes**. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, 1972.
- MOTTOLA, H.A. Continuous flow analyses revisited. **Anal. Chem.**, v.53, p.1312 A., 1981.
- NI, Y., WU, Y. Simultaneous determination of mixtures of metal ions by complexometric titration and multivariate calibration. **Anal. Chem. Acta**, v.354, p.233-240, 1997.
- Operation Manual, Atomic Absorption Spectrometer, Varian Australia Pty Lda, 1996.
- PASQUINI, C., LU, J., TRAN, C.D., SMIRNOV, S. Detection of flow injection analysis with pH gradient by acousto-optic tunable filter based spectrophotometry. **Anal. Chem. Acta**, v.319, p.315-324, 1996.
- PERRIN, D.D., DEMPSEY, B. **Buffers for pH and metal ion control**. London: Editora Science Paperbacks, 1974.

- POPPI, R.J. **Construção de um espectrofotômetro com transformada de hadamard e sua aplicação na análise por injeção em fluxo.** Campinas, SP, 1993. Dissertação (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, 1993.
- PORTER, N., HART, B.T., MORRISSON, R., HAMILTON, I.C. The use of a pH gradient in flow-injection analysis in differentiating zinc and cadmium in a binary mixture. **Anal. Chem. Acta**, v.281, p.229-242, 1993.
- PORTER, N., HART, B.T., MORRISSON, R., HAMILTON, I.C. Determination of metal ion mixtures using pH gradient flow-injection analysis with fluorescence detection. **Anal. Chem. Acta**, v.308, p.313-328, 1995.
- RODRIGUEZ, A.M.G., TORRES, A.G., PAVON, J.M.C., OJEDA, C.B. Simultaneous determination of iron, cobalt, nickel and copper by UV-visible spectrophotometry with multivariate calibration. **Talanta**, v.47, p.463-470, 1998.
- RUZICKA, J.E., HANSEN, E.H. **Flow injection analysis**, 2.ed., New York: Wiley, 1988.
- SALDANHA, T.C.B., ARAÚJO, M.C.U., BARROS NETO, B. Análise multicomponente simultânea por espectrofotometria de absorção molecular UV-VIS. **Química Nova**, v.22, n.6, p.847-853, 1999.
- SHARAF, M.A., ILMAN, D.L., KOWALSKI, B.R. **Chemometrics**. New York: Wiley, 1986.
- SHIMMA, E. M. I. **Nutrição - Nosso Corpo Mineral**, Revista Globo Ciência, v.5, n.52, p.33-38, 1995.
- SILVA, J.C.G.E., OLIVEIRA, C.J.S. Parafac decomposition of three-way kinetic-spectrophotometric spectral matrices corresponding to mixtures of heavy metal ions. **Talanta**, v.49, p.889-897, 1999.
- SLAVIN, W. **Atomic absorption spectroscopy**. Paris: Masson Et Cie, 1971.

- SMILDE, A.K., VAN DER GRAAF, P.H., DOORNBOS, D.A., STEERNEMAN, T., SLEURINK, A. Multivariate calibration of reversed-phase chromatographic systems. some designs based on tree-way data analysis. **Anal. Chem. Acta**, v.235, p.41-51, 1990.
- TAYLOR, M.J.C., MARSHALL, G.D., WILLIAMS, S.J.S., STADEN, J.F. van e SALING, C. The determination of vanadium (V) in the presence of vanadium (IV) using 4-(2-pyridylazo)resorcinol in a flow-injection manifold. **Anal. Chem. Acta**, v.329, p. 275-284, 1996.
- VALCARCEL, M., LUQUE de CASTRO, M. D. **Análisis por inyección em fluxo**. Córdoba: Imprensa San Pablo, 1984.
- WELSCH, R.E. Developments in linear regression methodology –1959-1982 – discussion. **Technometrics**, v.25, n.3, p. 245-246, 1983.
- WISE, B.M., GALLANGER, N.B. **PLS_Toolbox for use with Matlab**. Manson, W.A.: Eigenvector Technologies, 1992.
- WOLD, S., GELADI, P., ESBENSEN, K., ÖHMAN, J. Multi-way principal component and PLS analysis. **J. Chemom.**, v.1, p.41-56, 1987.
- XIE, Y.L., BAEZA-BAEZA, J.J., RAMIS-RAMOS, G. Kinetic spectrophotometric resolution of binary mixture using three-way partial peast squares. **Chem. Intell. Lab. Syst.**, v.27, p. 211-220, 1995.
- ZAMORA, P.P., PONCE, L.C., NAGATA, N., POPPI, R.J. Alternativas quimiométricas para a resolução de problemas analíticos clássicos. determinação espectrofotométrica de misturas de zircônio e háfnio. **Química Nova**, v.20, n.5, p.469-474, 1997.
- ZENG, Y., HOPKE, P.K. Methodological study applying tree-mode factor analysis to three-way chemical data sets. **Intell La. Syst.**, v.7, p.237-250, 1990.
- ZHAO, S., XIA, X., YU, G., YANG, B. Simultaneous determination of iron and zinc by pH gradient construction in a flow-injection system. **Talanta**, v.46, p.845-850, 1998.
- ZOLOTOV, Y.A., MAROSANOVA, E.I., ZHALOVANNAYA, S.V., DYUKAREV, S.S. Continuous flow analysis: simultaneous spectrophotometric determinations of metals. **Anal. Chem. Acta**, v.308, p.386-396, 1995.

APÊNDICE

Quadro 1 - Valores de concentração dos possíveis metais presentes em amostras de latão, obtidos pelo método de espectrometria de absorção atômica

Amostra	Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*					
	Cu	Zn	Fe	Pb	Ni	Al
liga 01	1142,5 ± 0,1	759,7 ± 0,3	2,2 ± 0,7	35,3 ± 0,3	6,0 ± 0,1	2,2 ± 0,2
liga 02	1228,5 ± 0,6	745,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1	36,0 ± 0,5	0,1 ± 0,2	< 0,1
liga 03	1227,6 ± 0,1	849,7 ± 0,4	1,8 ± 0,5	33,0 ± 0,3	0,6 ± 0,6	< 0,1
liga 04	1212,2 ± 0,2	771,5 ± 0,1	0,3 ± 0,5	19,0 ± 5,7	1,3 ± 0,5	< 0,1
liga 05	1283,3 ± 0,2	741,2 ± 0,3	1,8 ± 0,1	37,0 ± 2,6	< 0,1	6,1 ± 0,1
liga 06	1190,5 ± 0,1	771,4 ± 0,2	3,5 ± 0,5	44,0 ± 1,0	1,3 ± 0,1	2,8 ± 0,7
Amostra	Concentração (% m/m)					
	Cu	Zn	Fe	Pb	Ni	Al
liga 01	55,7	37,0	< 0,1	1,7	0,3	< 0,1
liga 02	57,2	35,0	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
liga 03	59,3	41,1	< 0,1	1,6	< 0,1	< 0,1
liga 04	60,3	38,3	0,0	0,9	< 0,1	< 0,1
liga 05	63,4	36,6	< 0,1	1,8	< 0,1	0,3
liga 06	59,3	38,4	0,2	2,2	1,3	< 0,1

* Média de três repetições ± desvio-padrão.

Quadro 2 - Valores de concentração dos possíveis metais presentes em amostras de águas de indústria de beneficiamento de caulim, obtidos pelo método de espectrometria de absorção atômica

Amostra	Concentração (mg L ⁻¹) ± DP*					
	Ca	Zn	Fe	Al	Mg	Mn
CU	330,7 ± 0,2	1261,5 ± 0,3	548,1 ± 0,7	< 0,1	24,0 ± 0,1	22,1 ± 0,3
CME	471,0 ± 0,6	500,7 ± 0,1	102,1 ± 0,1	< 0,1	24,2 ± 0,2	21,8 ± 0,4
CME**	68,1 ± 0,8	510,5 ± 0,9	303,6 ± 0,6	< 0,1	27,6 ± 0,3	< 0,1

* Média de três repetições ± desvio-padrão. ** Lama de caulim de Mar de Espanha.