

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

PAULA REGINA FORTES

Calibração multivariada e cinética diferencial
em sistemas de análises em fluxo com detecção espectrofotométrica

PIRACICABA - SP

2006

PAULA REGINA FORTES

Calibração multivariada e cinética diferencial
em sistemas de análises em fluxo com detecção espectrofotométrica

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Energia Nuclear na Agricultura.

Orientador: Prof. Elias Ayres Guidetti Zagatto

PIRACICABA - SP

2006

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Fortes, Paula Regina

Calibração multivariada e cinética diferencial em sistemas de análises em fluxo com detecção espectrofotométrica / Paula Regina Fortes; orientador Elias Ayres Guidetti Zagatto. - - Piracicaba, 2006.
54 f. : fig.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Análise em fluxo contínuo 2. Análise multivariada
3. Espectrofotometria 4. Ligas metálicas 5. PLS 6. Quimiometria
I. Título

CDU 543.42

Tudo que sou
e espero ser
eu devo à dedicação
e ao incentivo
dos meus pais.

AGRADECIMENTOS

O término de um projeto de pesquisa é, antes de tudo, o resultado da troca de experiências e o respeito à personalidade de cada um. Esta expressão de conviência simboliza as dificuldades superadas e as vitórias conquistadas. Por estas razões, se faz necessário agradecer, neste momento, todos aqueles que colaboraram para a conclusão deste trabalho de mestrado.

Em primeiro lugar, meus agradecimentos ao Prof. Elias A.G. Zagatto, que sempre esteve disposto a me ajudar e, acima de tudo, foi um grande incentivador de novos desafios.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura e à Universidade de São Paulo, que me ofereceram apoio institucional e infraestrutura necessária para o desenvolvimento das atividades de pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa e auxílio financeiro.

Aos pesquisadores do Laboratório de Química Analítica do CENA, Prof. Boaventura F. Reis, Prof. Francisco J. Krug e Profa. Maria Fernanda Giné pela amizade e colaborações.

Aos técnicos e funcionários do Laboratório de Química Analítica Sheila, Fátima, Tatinha, Mi, Zezinho e Otávio pelo carinho e auxílio.

As bibliotecárias do CENA pela atenção e excelente ajuda.

Aos companheiros de laboratório Mi, Cherrine, Cristi, Silvia, Viviane, Simone, Eduardo, Evandro, Diego e Luciana pela amizade. Da mesma forma, agradeço aos companheiros de departamento pela agradável convivência.

Aos meus novos amigos Carlos, Fernanda, Silvia, Sady, Quienly, Silvio e Mário, e aos amigos de sempre Yumi, Pepita, Alessandra, Danilo, Paulinho, Freire e Mathias que fizeram dos nossos curtos encontros momentos inesquecíveis.

À minha família que acredita nos meus sonhos e me faz sorrir todos os dias.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente auxiliaram na realização deste trabalho.

"Nunca te deixes abater pelas despedidas.
São indispensáveis como preparo para o reencontro
E é certo que os amigos voltarão a se encontrar,
Depois de algum tempo ou de uma vida toda."

De ilusões (Richard Bach)

RESUMO

Fortes, P.R. **Calibração multivariada e cinética diferencial em sistemas de análises em fluxo com detecção espectrofotométrica**. 2006. 54 f. Dissertação (mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

A associação dos métodos cinéticos de análises e dos sistemas de análises em fluxo foi demonstrada em relação à determinação espectrofotométrica de ferro e vanádio em ligas Fe-V. O método se baseia na influência de Fe^{2+} e VO^{2+} na taxa de oxidação de iodeto por dicromato sob condições ácidas; por esta razão o emprego do redutor de Jones foi necessário. Um sistema de análises por injeção em fluxo (FIA) e um sistema multi-impulsão foram dimensionados e avaliados. Em ambos os sistemas, a solução da amostra era inserida no fluxo transportador / reagente iodeto, e a solução de dicromato era adicionada por confluência. Sucessivas medidas eram realizadas durante a passagem da zona de amostra processada pelo detector, cada uma relacionada a uma diferente condição para o desenvolvimento da reação. O tratamento dos dados envolveu calibração multivariada, particularmente o algoritmo PLS.

O sistema FIA se mostrou pouco adequado para as determinações multi-paramétricas, uma vez que os elementos de fluido resultantes da natureza de escoamento laminar não continham informações cinéticas suficientes para compor as etapas de modelagem. Por outro lado, MPFS mostrou que a natureza do fluxo pulsado resulta em melhorias nas figuras de mérito devido ao movimento caótico dos elementos de fluido.

O sistema proposto é simples e robusto, capaz de analisar 50 amostras por hora, significando em um consumo de 48 mg KI por determinação. As duas primeiras variáveis latentes contém ca 94 % da informação analítica, mostrando que a dimensionalidade dupla

intrínseca ao conjunto de dados. Os resultados se apresentaram concordantes com aqueles obtidos por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido em argônio.

Palavras-chave: Sistemas de análises em fluxo, cinética diferencial, mínimos quadrados parciais, métodos catalíticos, multi-impulsão, espectrofotometria.

ABSTRACT

Fortes, P.R. **Multivariate calibration and differential kinetic analysis in flow systems with spectrophotometric detection.** 2006. 54 f. Dissertation (M.S.) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

Differential kinetic analysis can be implemented in a flow system analyser, and this was demonstrated in designing an improved spectrophotometric catalytic determination of iron and vanadium in Fe-V alloys. The method relied on the influence of Fe^{2+} and VO^{2+} on the rate of the iodide oxidation by Cr_2O_7 under acidic conditions; therefore the Jones reductor was needed. To this end, a flow injection system (FIA) and a multi-pumping flow system (MPFS) were dimensioned and evaluated. In both systems, the alloy solution was inserted into an acidic KI solution that acted also as carrier stream, and a dichromate solution was added by confluence. Successive measurements were performed during sample passage through the detector, each one related to a different yet reproducible condition for reaction development. Data treatment involved multivariate calibration by the PLS algorithm.

The FIA system was less recommended for multi-parametric determination, as the laminar flow regimen could not provide suitable kinetic information. On the other hand, a MPFS demonstrated that pulsed flow led to enhance figures of merit due to chaotic movement of its fluid elements.

The proposed MPFS system is very simple and rugged, allowing 50 samples to be run per hour, meaning 48 mg KI per determination. The first two latent variables carry ca 94 % of the analytical information, pointing out that the intrinsic dimensionality of the data set is two.

Results are in agreement with inductively coupled argon plasma – optical emission spectrometry.

Key-words: flow analysis, differential kinetic analysis, partial least squares, catalytic methods, multi-pumping flow system, spectrophotometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de fluxos do sistema FIA inicial	19
Figura 2. Diagrama de fluxos do sistema FIA explorando gradientes de concentração ..	20
Figura 3. Diagrama de fluxos do sistema MPFS	21
Figura 4. Espectro de absorção	26
Figura 5. Registro do sinal analítico após processamento da amostra e parada de fluxos	27
Figura 6. Influência da acidez	28
Figura 7. Influência da concentração de dicromato	29
Figura 8. Influência da concentração de iodeto	30
Figura 9. Registros dos sinais analíticos referentes ao planejamento (3 x 3) do sistema FIA da Figura 2	33
Figura 10. Sinais registrados no sistema FIA da Figura 2	34
Figura 11. Sinais registrados no sistema MPFS da Figura 3	35
Figura 12. Erro padrão das previsões em função do comprimento da alça de amostragem e da vazão	37
Figura 13. Valores de “loading” referentes ao sistema FIA da Figura 2	38
Figura 14. Erro padrão das previsões em função do comprimento do reator B ₁ no sistema MPFS	40
Figura 15. Valores de “loading” referentes ao sistema MPFS da Figura 3	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações de Fe e V nas soluções empregadas para a calibração e validação do modelo matemático	17
Tabela 2. Procedimento para a determinação de ferro e vanádio	22
Tabela 3. Erro padrão das previsões e desvio relativo ao experimento fatorial (3 x 3) ...	36
Tabela 4. Resultados comparativos envolvendo o sistema FIA da Figura 2	39
Tabela 5. Resultados comparativos envolvendo o sistema MPFS da Figura 3	42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Exploração de cinética diferencial em sistemas de análises em fluxo	3
2.2. Calibração multivariada	7
2.3. Sistemas de análises em fluxo para calibração multivarida	12
3. MATERIAIS	14
3.1. Equipamentos e acessórios	14
3.2. Soluções-padrão, reagentes	15
3.3. Amostras	16
4. MÉTODO	18
4.1. Diagrama de fluxos	18
4.2. Influência dos principais parâmetros envolvidos	22
4.2.1. Acidez	22
4.2.2. Concentrações dos reagentes	22
4.2.3. Intervalo de tempo disponível para a reação	23
4.3. Desenvolvimento do modelo	23
4.4. Figuras de mérito	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1. Aspectos gerais	25
5.2. Estudo dos principais parâmetros envolvidos	27
5.2.1. Acidez	27
5.2.2. Concentração de dicromato	28
5.2.3. Concentração de iodeto	29
5.2.4. Geometria do sistema	30
5.3. Desenvolvimento do modelo	36
5.4. Figuras de mérito	42
6. CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS	46

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por análises químicas envolvendo equipamentos de baixo custo e por procedimentos analíticos com alta produtividade tem contribuído para o desenvolvimento dos sistemas de análises químicas em fluxo. Este desenvolvimento se relaciona frequentemente à utilização de detectores multicanais, cujo emprego possibilita que informações ocultas contidas nas superfícies de resposta geradas sejam adquiridas. Entretanto, esta interpretação de dados se tornou mais acessível após o advento da quimiometria.

Há um grande interesse em associar os fundamentos dos sistemas de análises em fluxo com técnicas quimiométricas. Esta combinação torna possível o contorno de problemas analíticos tais como a presença de espécies químicas interferentes, de amostras anômalas, etc, viabilizando as análises multicomponentes. Isto pode ser evidenciado pela crescente aplicação destas técnicas aos sistemas de análises em fluxo, devido à versatilidade e aplicabilidade resultantes.

Com o intuito de se verificar o potencial desta união, explorou-se a diferença cinética existente entre Fe^{2+} e VO^{2+} frente a um mesmo reagente. Para isto, o desempenho dos sistemas de análises por injeção em fluxo (FIA, do inglês “Flow Injection Analysis”) e dos sistemas multi implusão (MPFS, do inglês “Multi-Pumping Flow Analysis”) foram avaliados e comparados. Estas duas modalidades diferem basicamente na natureza do fluxo. Os sistemas FIA apresentam escoamento do fluxos contínuo e constante, enquanto os sistemas MPFS são caracterizados por fluxo pulsante. Este tem se mostrado benéfico por prover melhores condições de mistura, tornando os módulos de análises mais flexíveis e versáteis.

Determinações simultâneas explorando o domínio temporal são facilmente conseguidas nestes sistemas, quando se emprega uma zona de amostra suficientemente longa capaz de prevenir dispersão, especialmente nas porções mais centrais. Com isso, são estabelecidos gradientes de concentração ao longo da zona de amostra. Cada fração representa

um elemento de fluido caracterizado por diferentes condições de reação química, tempo de processamento, grau de diluição, etc. Nesta monografia, os elementos de fluido referente às medidas obtidas são considerados como pseudo-sensores, e as informações contidas acerca das cinéticas reacionais são fundamentais para compor as etapas de modelagem.

O presente trabalho teve por objetivo desenvolver e avaliar sistemas de análises em fluxo com detecção espectrofotométrica associado às técnicas quimiométricas. Espera-se, com isto, uma contribuição importante no que se refere às determinações multicomponentes. Como aplicação, foi selecionada a determinação simultânea de ferro e vanádio em amostras de ligas metálicas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Esta revisão abrange a associação entre os métodos cinéticos, os sistemas de análises em fluxo e a quimiometria. Serão abordados aspectos relativos aos benefícios apresentados por esta junção, bem como sua potencialidade.

2.1. Exploração de cinética diferencial em sistemas de análises em fluxo

Desde sua concepção (Skeggs, 1957), os sistemas de análises em fluxo, têm experimentado uma grande diversificação nas suas configurações estruturais, o que levou à proposta de inúmeras modalidades. Dentre elas, podem-se citar os sistemas de análises por injeção em fluxo (Ruzicka e Hansen, 1975; Stewart et al., 1976), os sistemas com multicomutação (Reis et al., 1994), sistemas de análises por injeção sequencial (Ruzicka e Marshall, 1990), os sistemas explorando fluxos pulsados (Francis et al., 2002), os “multi-syringe” (Cerdeira et al., 1999), módulos de análises do tipo “lab-on-valve” (Ruzicka, 2000), etc. Estes sistemas, em sua maioria, buscam atender à necessidade de adaptação às novas exigências, proporcionando versatilidade, flexibilidade e qualidade nos resultados analíticos. Em função de sua simplicidade operacional e aceitação em larga escala, os sistemas de análises por injeção em fluxo (FIA, do inglês “Flow Injection Analysis”) devem ser destacados. Os sistemas multi-impulsão (MPFS, do inglês “Multi-pumping Flow System”) também merecem destaque, pois são portáteis, simples e apresentam as mesmas características acima descritas.

A estrutura modular dos sistemas FIA se constitui em uma alternativa eficiente e viável uma vez que são de fácil desenvolvimento podendo ser reconfigurados para atender às diferentes situações analíticas. Tais sistemas têm sido bastante empregados para a consecução de análises de rotina, pois se constituem em excelentes gerenciadores de soluções (Krug et al., 1986).

A essência dos sistemas FIA é a introdução de um volume reprodutível de amostra em um fluxo transportador constante e não segmentado, o qual é conduzido ao detector. Em geral, estes sistemas utilizam como unidade propulsora dos fluídos uma bomba peristáltica, resultando em um regime laminar de escoamento. Os reagentes necessários para uma análise específica podem estar presentes neste fluxo transportador ou, como mais comum ocorre, podem ser introduzidos por confluência ao longo do percurso analítico.

Durante seu transporte, a amostra se dispersa no fluxo transportador formando gradientes de concentração. Desta forma, cada fração da zona da amostra apresenta então um estágio intermediário da reação, um grau de diluição, um diferente tempo de processamento. A passagem da amostra processada pelo detector resulta em uma modificação transiente no sinal monitorado, cuja área ou altura do pico registrado é idealmente proporcional ao teor do analito a ser determinado (Trojanowicz, 2000). Alternativamente, os elementos de fluído correspondente a cada ponto do sinal analítico podem ser utilizados como base de cálculo para quantificação dos analitos.

Diferentemente dos sistemas FIA, os sistemas MPFS utilizam diversas bombas solenóide como unidades propulsoras individuais dos fluídos. Estas unidades, disponíveis comercialmente, são adequadas para a implementação nos sistemas de análises em fluxo (Lapa et al., 2002). As mesmas são operadas individualmente, permitindo que novas estratégias de amostragem e adição de reagente no percurso analítico sejam adotadas sem a necessidade de modificar o módulo de análises.

Estas bombas aspiram um volume fixo da solução de interesse quando o solenóide em seu interior é acionado, e dispensam este volume quando desligado, voltando na sua posição original. Este movimento resulta em um fluxo de natureza pulsante com movimento caótico

dos elementos de fluido (Dias, 2006). Esta característica mostrou ser altamente benéfica no que se refere à sensibilidade analítica, pois promove melhores condições de mistura¹.

As características inerentes aos sistemas de análises em fluxo permitem o desenvolvimento de métodos que empregam reações químicas ou processos fisico-químicos relativamente lentos (1 – 10 s). O controle eficiente das condições no meio reacional tais como intervalo de tempo disponível para o desenvolvimento da reação, pH do ambiente reacional, temperatura, concentração dos reagentes, etc, permitiu avanços significativos no que tange às determinações que exploram cinética diferencial (Painton e Mottola, 1984), bem como determinações multicomponentes no mesmo sistema analítico (Fernandez et al., 1984).

A estratégia utilizada por Betteridge e Fields (1978) para a determinação de misturas binárias se consistiu na exploração pioneira dos gradientes de pH formados ao longo da zona da amostra, condicionando assim diferentes interações entre analitos-reagentes em uma única análise. Além disso, os gradientes formados são matematicamente previstos (Wada et al., 1986), e reprodutíveis. Com isto, foi possível se obter dados preliminares para a quantificação de chumbo e vanádio. Mais tarde, os mesmo autores (1981) propuseram a técnica de bifurcação de fluxos, que empregou a divisão da zona de amostra no sistema de análise para tratamentos individualizados. Entretanto, este conceito de análises é restrito a aplicações que apresentem respostas distintas para os analitos em estudo, o que levou ao desenvolvimento de um estudo teórico nos sistemas FIA (Betteridge et al., 1984). Um aspecto importante desta simulação baseada em modelos “random-walk” consistiu em utilizar uma aproximação probabilística e cinética química, o que resultou em flexibilidade ao volume de amostra empregado. Com isto, foi possível afirmar que a reação química é um processo dinâmico, e a mistura entre a zona de amostra e o fluxo transportador / reagente ocorre primeiramente no início e final desta.

¹ Do inglês “mixing conditions”.

Um estudo mais detalhado acerca de modelos envolvendo cinética química e dispersão, em sistemas de análises em fluxo, foi conduzido por Hungerford e Christian em 1987. Os autores concluíram que a dispersão do reagente tem um efeito pronunciado na definição da zona de mistura, e que a cinética reacional pode ser modelada desde que a reação ocorra em condições fixas relativamente ao comprimento dos reatores.

Em outro contexto, a busca por sistemas que satisfizessem as diversas necessidades analíticas e apresentassem respostas precisas, levou ao desenvolvimento de estratégias que utilizassem um detector sincronizado com dupla injeção (Kagenow e Jensen, 1980); injeção simples com parada de fluxos (Kagenow e Jensen, 1983); relocalização de reatores (Arruda et al., 1993) ou do detector (Grassi et al., 2005); dupla injeção considerando os diferentes tempos de reação ao longo do percurso analítico (Whitman et al., 1991), dentre outras.

Tendo em vista que o estudo dos métodos cinéticos bem como as suas aplicações necessitam do monitoramento da reação, alternativas utilizando módulos de análises simplificados, baseados na introdução de grandes volumes de amostra devem ser salientados (Whitman et al., 1991). Nesta situação, a zona de amostra utilizada é suficientemente grande para minimizar a dispersão axial em porções centrais. Obtêm-se assim, diferenças significativas em relação à dispersão e ao tempo de reação nos elementos de fluido referentes ao início e ao final da zona de amostra (Hungerford e Christian, 1987) controlada, fundamentalmente, pela vazão do sistema e volume de amostra (Luque de Castro e Valcárcel, 1986).

Esta estratégia tem sido empregada em situações que exploram o domínio temporal. Os sinais analíticos obtidos podem ser facilmente modelados, uma vez que os mesmos não se apresentam como um único pico, mas sim como vários máximos e mínimos. Os dados obtidos se referem, então, aos elementos de fluido ao longo da zona de amostra, e estão associados a diferentes tempos de residência, tempos de processamento, concentrações amostra / reagente e

graus de diluição. Nesta dissertação os diversos elementos de fluido se referem à pseudo-sensores.

Os sinais registrados podem se constituir em respostas complexas, e apresentar informações cinéticas sobre as espécies presentes (Poppi, 1993). A interpretação dos dados, porém só é possível com o auxílio de técnicas quimiométricas, e apresentam limitações quanto à sua aplicabilidade quando as diferenças cinéticas entre os analitos frente a um mesmo reagente não são pronunciadas (Crouch, 1993).

A grande vantagem da associação dos métodos cinéticos aos sistemas de análises em fluxo consiste na simplicidade, velocidade e precisão das análises (Kawashima e Nakano, 2002). Com isso, estudos pioneiros resultaram em avanços significativos no conhecimento das cinéticas reacionais, e a sua utilização se evidencia como promissora, principalmente em processos automatizados.

2.2. Calibração multivariada

A calibração multivariada é uma vertente importante da quimiometria que tem como objetivo “projetar e/ou selecionar procedimentos e experimentos de forma otimizada para aquisição de dados químicos, visando à obtenção do máximo de informação através da análise destes” (Massart et al., 1988). Torna-se possível determinar componentes em misturas, eliminar ou minimizar os efeitos de espécies químicas potencialmente interferentes, compensar ruídos, etc, bem como reduzir algumas etapas necessárias no preparo de amostras com consequente redução do tempo de análises e do custo envolvido (Martens e Naes, 1989).

Os métodos multi-paramétricos de análises químicas são baseados nas relações entre os sinais analíticos e as concentrações, as quais são descritas por equações desenvolvidas a partir de modelos matemáticos. Dentre eles podem ser salientadas a regressão linear múltipla (MLR, do inglês “Multiple Linear Regression”), a regressão por componentes principais

(PCR, do inglês “Principal Component Regression”) e a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês “Partial Least Squares”).

A principal diferença entre estes métodos de calibração multivariada está na forma como os coeficientes de regressão são obtidos. MLR é o modelo mais simples de calibração multivariada (Lavine e Workman, 2002), e os resultados analíticos são estimados através de uma combinação linear das medidas instrumentais. É particularmente recomendado em situações de ausência de interações entre os componentes da amostra, de respostas lineares (ou linearizáveis) e de baixo ruído. PCR descreve os dados correlacionados utilizando uma combinação das variáveis originais (Braga e Poppi, 2004). Esta característica torna possível simplificar e reduzir a dimensionalidade dos dados, selecionar variáveis e classificar amostras de interesse (Martens e Naes, 1989).

Analogamente, PLS é um método de calibração multivariada que utiliza a análise de fatores, os quais são combinações lineares das variáveis originais, ortogonais entre si, construídas em ordem decrescente da quantidade de variância acumulada (Geladi e Kowalski, 1986). Desta forma, é possível visualizar as informações do conjunto de dados em um espaço de menor dimensionalidade.

O algoritmo PLS se destaca por sua robustez, e os parâmetros do modelo resultante praticamente não se alteram com a inclusão de novas amostras no conjunto de calibração (Geladi e Kowalski, 1986), proporcionando um incremento na capacidade preditiva do modelo à medida em que se aumenta a quantidade de informação. Entretanto, a inclusão de um grande número de variáveis leva à incorporação de ruídos (“overfitting”). Por outro lado, um número reduzido de parâmetros resulta em um modelo não ajustado (“underfitting”), inadequado para a previsão de novas amostras.

O fundamento da modelagem consiste na manipulação das matrizes de dados com o intuito de representar as propriedades do sistema em estudo, presente em muitas variáveis, em

um número menor de fatores, denominados autovetores, componentes principais ou ainda variáveis latentes, capazes de representar as amostras em poucas dimensões e descrever a direção de máxima variância correlacionada com a propriedade de interesse (Ferreira et al., 1999). Para isto, os dados obtidos são organizados em matrizes. A matriz das variáveis independentes $X_{(n, m)}$ é composta por espectros ou registros de sinais analíticos, onde cada linha (**n**) representa uma amostra, e cada coluna (**m**) corresponde a *e.g.* um comprimento de onda específico ou uma medida de tempo ao longo do progresso da análise. O conjunto de dados, constituídos pelas variáveis dependentes, compõe a matriz $Y_{(n, p)}$, onde as colunas (**p**) correspondem às concentrações dos analitos, e as linhas (**n**) a combinação entre elas.

As matrizes de dados originais X e Y são decompostas em vetores de “scores” e “loadings”, mais uma matriz de resíduos de dados não modelados (ruídos estatísticos). O produto destes vetores origina as variáveis latentes. Para otimizar esta relação, PLS executa ligeiras rotações com o intuito de produzir fatores em direções ortogonais. Assim, as variáveis latentes são construídas de forma que a primeira variável latente de X descreva a direção vetorial associada à máxima de variância que também se correlaciona com Y . As demais se apresentam nas direções ortogonais subsequentes.

Os “scores” são as coordenadas das amostras no novo sistema de eixos. Seu gráfico permite a indentificação destas, bem como a análise de semelhanças, agrupamentos e “outliers”. Analogamente, os “loadings” se referem as variáveis presentes nos conjuntos de dados, e seu gráfico permite a identificação das variáveis importantes, a classificação e a seleção das mesmas. Contêm ainda, informações sobre a relevância de cada variável original na formação dos novos eixos.

O processo de modelagem é dividido em duas etapas: (1) calibração, onde as relações entre sinais analíticos (Matriz X) e concentrações dos analitos (Matriz Y) são deduzidas a partir de padrões representativos para o conjunto de amostras a serem analisadas; os dados

utilizados nesta etapa constituem o conjunto de treinamento. (2) validação, que consiste na otimização da relação que descreve as espécies de interesse e na avaliação da habilidade preditiva do modelo construído. Para isso, realizam-se medidas instrumentais com os valores de concentração conhecidos, que são depois comparados com aqueles determinados pelo modelo desenvolvido. Recomenda-se que o conjunto de validação seja constituído por padrões que não tenham sido utilizados na elaboração do modelo, a fim de se evitarem resultados tendenciosos (Poppi, 1993; Wold et al., 1998; Ni et al., 2003).

Com o intuito de se avaliar o desempenho dos modelos desenvolvidos, empregam-se os métodos de validação cruzada, que consistem no procedimento utilizado para a escolha do número de variáveis latentes baseada na magnitude dos erros de previsão do modelo, e operam retirando subconjuntos de amostras do conjunto de treinamento para a formação do conjunto teste. Este é um procedimento frequentemente utilizado quando não se dispõem de um número razoável de amostras para compor ambos os conjuntos.

Um caso particular bastante empregado é validação cruzada do tipo “leave one out” (LO) (Ferreira et al., 1999). Este procedimento consiste na remoção de uma amostra do conjunto de treinamento, construindo o modelo com as demais, e assim sucessivamente. Este procedimento se repete até que todas as amostras sejam excluídas. Ao final, obtém-se **m** modelos com **m – 1** amostras, e o erro de previsão é avaliado através da somatória dos quadrados dos erros de previsão de todas as amostras (PRESS, do inglês “prediction residual sum of squares”) (Martens e Naes, 1989).

$$PRESS = \sum_{i=1}^m (Y_i - \hat{Y}_i)^2$$

Onde, Y é o valor da propriedade, e \hat{Y} o valor previsto pelo modelo.

A escolha do número adequado de variáveis latentes que devem compor o modelo será o que corresponde ao menor erro de previsão.

O erro padrão das previsões (RMSEP, do inglês “root mean standard error of prediction”) é calculado por (Thomas, 1994):

$$RMSEP = \sqrt{\frac{PRESS}{m}}$$

Onde m é o número de amostras. RMSEP pode ser utilizado como uma estimativa do desvio padrão relativo das previsões.

A detecção de amostras anômalas ou “outliers” no conjunto de calibração consiste em uma das etapas mais importantes no processo de modelagem, pois nela verifica-se a qualidade do conjunto de amostras (Martens e Naes, 1989). Este deve ser constituído por um conjunto homogêneo, sendo que as amostras que se distanciam da origem do conjunto ou apresentam-se acima dos limites estabelecidos devem ser cuidadosamente examinadas e se necessário removidas. Para a identificação de “outliers” utiliza-se a análise gráfica de duas grandezas: resíduos de “student” e “leverage”.

Pela medida da “leverage” (Massart et al., 1988) é possível conhecer a influência de uma determinada amostra no conjunto de regressão quando comparada com as restantes. As amostras que apresentam valores pequenos influenciam pouco no modelo, porém as que apresentam altas medidas provavelmente apresentarão uma influência alta, frequentemente inapropriada, uma vez que podem representar um “outlier”. O resíduo de “student” consiste na estimativa do resíduo para uma amostra assumindo que esta não tenha sido usada na construção do modelo (Ferreira, 1999), e apresenta o quanto da informação é mantido após o cálculo das variáveis latentes. Altos valores indicam que a amostra se diferencia das demais.

Concluídas as etapas inerentes ao desenvolvimento e avaliação do modelo matemático, este pode ser empregado para o monitoramento de espécies químicas durante uma análise ou para o controle de qualidade em linhas de produção.

O emprego de técnicas multivariadas para a determinação de misturas ternárias em indústrias alimentícias mostra-se promissor, pois torna possível adotar medidas remediativas

durante o processamento dos alimentos (Ni et al., 2003), bem como avaliar parâmetros físico-químicos a partir de espectros UV-vis (Garciajares e Medina, 1995). Além disso, resultados obtidos a partir da seleção comprimentos de onda UV-vis sugerem melhorias na habilidade de previsão dos parâmetros envolvidos (Frenich et al., 1995). Relativamente às indústrias químicas e farmacêuticas (Lopes et al., 2002) o emprego da análise multivariada tem se mostrado bastante eficaz na solução de problemas, minimizando o tempo e o custo envolvidos de etapas inerentes a produção e determinação de pureza de reativos (Costa-Filho e Poppi, 2002; Braga e Poppi, 2004).

2.3. Sistemas de análises em fluxo para calibração multivariada

Nos últimos anos, a implementação de métodos cinéticos em sistemas de análises em fluxos tem apresentado um aumento significativo (Ukeda, 2005). Estes sistemas são excelentes gerenciadores de soluções (Krug et al., 1986) e podem prover, eficientemente, condições diferenciadas na manipulação de amostras e gradientes de concentrações, ao longo do percurso analítico, fundamentais para a avaliação dos efeitos dos analitos em uma reação indicadora.

A versatilidade inerente aos sistemas de análises em fluxo permite que módulos de análises simples e robustos sejam projetados para determinações simultâneas. Gradientes de concentrações gerados ao longo da zona de amostra se referem, então, a diferentes pseudo-sensores, associados aos diferentes elementos de fluido considerados. Esta estratégia é análoga aos procedimentos de varredura espectral ou potenciométrica, permitindo que informações temporais sejam obtidas. Quando associados às técnicas quimiométricas, há uma expansão de suas potencialidades, uma vez que se torna possível compensar efeitos de elementos interferentes, detectar amostras anômalas e utilizar reagentes pouco seletivos (Valcarcel e Luque de Castro, 1987; Whitman et al., 1991).

De fato, as aplicações destas técnicas combinadas para o desenvolvimento de sistemas para determinações multi-paramétricos (Fernández et al., 2001; Teixeira et al., 2002) têm sido bem sucedidas. Além disso, a adaptação de novas estratégias aos sistemas de análises em fluxo (Karsten e Hitzmann, 1998) desempenha um importante papel quando o propósito é resolver problemas analíticos e não desenvolver novas metodologias (Bereton, 2000).

Face ao exposto, pode-se inferir que hifenção entre os métodos cinéticos, os sistemas de análises em fluxo e técnicas quimiométricas se afigura como promissora.

3. MATERIAIS

3.1. Equipamentos e acessórios

Nos experimentos realizados, inicialmente, foi utilizada como unidade propulsora uma bomba peristáltica modelo IPC-08 de fabricação Ismatec, provida de tubos de bombeamento de Tygon com diferentes diâmetros internos. Para a introdução das alíquotas de amostras no sistema de análises foi utilizado um injetor-comutador fabricado no CENA/USP (Bergamin et al., 1978).

Para a segunda etapa dos experimentos, foram utilizadas bombas solenóide modelos 090SP e 120SP de fabricação Bio-Chem Valve Inc. (Boonton NJ) com volumes de pulso 8 e 25 μ l, respectivamente. Estas eram controladas por meio de microcomputador provido de interface PCL – 711 Advantech sendo o programa desenvolvido em Quick Basic 5,0.

Para confecção das linhas de transmissão, bem como das alças de amostragem e dos reatores tubulares helicoidais, foram utilizados tubos de polietileno com diâmetro interno de 0,8 mm. Vidraria e demais acessórios foram os de uso rotineiro em laboratórios de Química Analítica.

A unidade de detecção era constituída pelo sistema comercial modelo 3000 de fabricação Fialab (Seattle WA), compreendendo: cubeta de fluxo tipo Z em acrílico com 10 μ l de volume interno e 10 mm de passo óptico (Ruzicka, 2000); e espectrofotômetro modelo USB 2000 de fabricação Ocean Optics. Os espectros de absorção referente às espécies químicas envolvidas no ambiente reacional foram registrados entre 300 e 600 nm utilizando o “software” Fialab – 3000, ajustando-se o tempo de integração em 25 ms. Alisamento (do inglês “smoothing”) baseado na média movel (Savitzky e Golay, 1964) foi fixado em cinco pontos, aproximando-se do tempo real. Medidas relacionadas a 2, 4, 6, 8... s foram consideradas para a implementação do algoritmo PLS. Desta forma, eram obtidas matrizes das variáveis independentes $X_{(n \times m)}$, onde cada linha (n) representa uma amostra, e cada

coluna (m) corresponde a uma medida de tempo ao longo do progresso da análise, ou “pseudo-sensores”. As matrizes das variáveis dependentes $Y_{(n \times p)}$ contiam em suas colunas (p) as concentrações dos analitos e as linhas (n) correspondem a combinação entre elas.

Os cálculos envolvidos nas determinações analíticas foram realizados empregando-se “software” MATLAB v 6,5 c (The Math Works, Inc) e PLS “Toolbox” (Eingenvector Technologies, Inc).

Para comprovação da exatidão nas determinações realizadas em ligas metálicas Fe/V empregadas no conjunto de validação, os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido em argônio, ICP-OES (Jacintho et al., 1985).

3.2. Soluções-padrão, reagentes

Todas as soluções utilizadas neste trabalho foram preparadas com água destilada-desionizada e reagentes de grau analítico.

As soluções-padrão estoque de ferro e de vanádio ($1000,0 \text{ mg l}^{-1}$ Fe ou V) foram preparadas dissolvendo-se $4,840 \text{ g FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ou $1,784 \text{ g V}_2\text{O}_5$ em $0,5 \%$ (v/v) HNO_3 ou HCl, respectivamente.

As soluções-padrão de trabalho ($0,0 - 20,0 \text{ mg l}^{-1}$ Fe ou V) empregadas para se investigar a influência dos principais parâmetros envolvidos eram preparadas a partir de diluições apropriadas da solução-padrão estoque em $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ HCl.

A solução $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol l}^{-1}$ de iodeto de potássio era preparada dissolvendo-se $1,66 \text{ g KI}$ em 100 ml de $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ HCl. A mesma era mantida ao abrigo da luz.

A solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ Cr era preparada dissolvendo-se $0,052 \text{ g K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em 1000 ml de $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ HCl.

Para se investigar a influência da acidez do meio reacional, da concentração dos reagentes, das vazões e do volume de amostra, empregaram-se soluções-padrão monoanalito (0,0 – 15,0 mg l⁻¹ Fe ou V) preparadas em 0,01 mol l⁻¹ HCl.

Para as análises das ligas metálicas envolvendo o algoritmo PLS, 36 soluções-padrão mistas nos intervalos de 10,0 – 15,0 mg l⁻¹ Fe e de 7,0 – 12,0 mg l⁻¹ V foram preparadas em 0,01 mol l⁻¹ HCl. Estas soluções foram definidas segundo um planejamento fatorial completo com 6 níveis de concentrações para ferro e vanádio. O conjunto de calibração compreendia as soluções especificadas na Tabela 1. Para compor o conjunto de validação, foram utilizadas 10 soluções escolhidas aleatoriamente dentre aquelas não utilizadas na construção do modelo.

3.3. Amostras

As amostras de ligas Fe/V eram inicialmente lavadas com 0,01 mol l⁻¹ HNO₃, secas e pulverizadas. Aproximadamente 0,1 g de amostra era então pesada e colocada em frasco Erlenmeyer de 250 ml, ao qual eram adicionados 10 ml de *aqua regia* (3 : 1 :: HCl : HNO₃ v/v). Os frascos eram aquecidos até completa dissolução, e resfriados à temperatura ambiente. Em seguida, 5,0 ml de solução de ácido perclórico a 70 % (v/v) eram adicionados, sendo os frascos novamente aquecidos até a liberação de fumos brancos. Após resfriamento à temperatura ambiente, os volumes eram completados para 100 ml com água (ASTM, 1991). Antes das análises as amostras eram diluídas 5000 vezes com solução 0,01 mol l⁻¹ HCl, e bombeadas através de uma mini-coluna (i.d. = 3 mm, h = 6 cm) contendo o redutor de Jones (Wang e He, 1993) de forma a que Fe⁺³ e V⁺⁵ fossem reduzidos a Fe⁺² e V⁺⁴, respectivamente.

Tabela 1. Concentrações de Fe e V nas soluções empregadas para a calibração e validação do modelo matemático. Dados em mg l⁻¹. As soluções marcadas por * foram empregadas na etapa de validação do modelo.

Solução	Ferro	Vanádio	Solução	Ferro	Vanádio
1	10,0	7,0	*19	10,0	10,0
2	11,0	7,0	20	11,0	10,0
3	12,0	7,0	21	12,0	10,0
*4	13,0	7,0	22	13,0	10,0
5	14,0	7,0	*23	14,0	10,0
6	15,0	7,0	24	15,0	10,0
7	10,0	8,0	25	10,0	11,0
*8	11,0	8,0	*26	11,0	11,0
9	12,0	8,0	27	12,0	11,0
10	13,0	8,0	28	13,0	11,0
*11	14,0	8,0	29	14,0	11,0
12	15,0	8,0	*30	15,0	11,0
13	10,0	9,0	31	10,0	12,0
*14	11,0	9,0	32	11,0	12,0
15	12,0	9,0	33	12,0	12,0
*16	13,0	9,0	*34	13,0	12,0
17	14,0	9,0	35	14,0	12,0
18	15,0	9,0	36	15,0	12,0

4. MÉTODO

A reação indicadora selecionada para a determinação de ferro e vanádio em ligas foi a oxidação de íons iodeto por dicromato em meio ácido sendo que, em presença de iodeto em excesso, ocorre a formação do complexo $[I_3]^-$, monitorado a 420 nm (Wang e He, 1993). Algumas espécies químicas tais como Fe^{2+} , VO^{2+} , Ti^{3+} , etc catalisam a reação, permitindo então que métodos catalíticos sejam desenvolvidos para as suas determinações (Motolla e Perez-Bendito, 1996). No presente trabalho, foi explorada a diferença em taxas de oxidação frente a Fe^{2+} e VO^{2+} . Neste sentido, foram investigados os principais parâmetros que determinam as condições reacionais relativamente a estas determinações, com o intuito de se obter um procedimento analítico robusto que pudesse representar uma contribuição significativa para as determinações multicomponentes.

4.1. Diagrama de fluxos

Inicialmente, um sistema de análises por injeção em fluxo foi projetado (Figura 1) no qual os reagentes R_1 (iodeto de potássio) e R_2 (Cr_2O_7) eram inseridos por confluência nos pontos x e y, respectivamente, iniciando o desenvolvimento da reação indicadora no reator B_2 . Conseqüentemente, o sinal estacionário registrado (linha base) refletia a extensão do desenvolvimento da reação indicadora não catalizada, descontada a absorbância devida aos íons dicromato.

A amostra era inserida no fluxo transportador ($0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$) e direcionada ao ponto de confluência x, misturando-se com o reagente R_1 e, em seguida, com o reagente R_2 (ponto de confluência y). Quando a amostra atingia o reator B_2 , a reação indicadora era acelerada devido aos efeitos catalíticos determinados pela presença dos analitos. Desta forma, a passagem da zona de amostra pela cubeta de fluxo resultava em um aumento na absorbância monitorada registrado sob forma de pico, cuja altura era proporcional à concentração do

analito, refletindo a extensão do desenvolvimento da reação indicadora sob condições catalizadas.

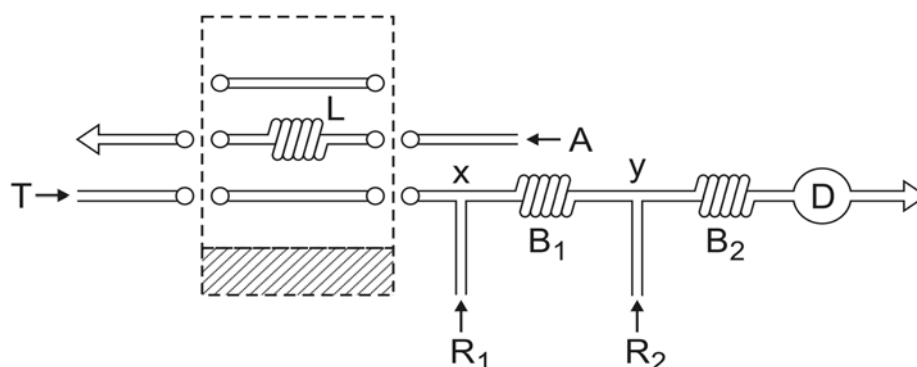


Figura 1. Diagrama de fluxos do sistema FIA inicial. A = amostra (50 μl); L = alça de amostragem (10 cm); T = fluxo transportador (0,01 mol l^{-1} HCl a 0,60 ml min^{-1}); R₁ = reagente redutor (4,5 x 10⁻² mol l^{-1} KI a 0,32 ml min^{-1}); R₂ = reagente oxidante (3,0 x 10⁻³ mol l^{-1} Cr a 0,32 ml min^{-1}); B₁ e B₂ = reatores (50 e 100 cm); x e y = pontos de confluência; D = detector (420 nm).

Para a determinação simultânea de ferro e vanádio, o sistema de análises em fluxo foi projetado de forma que a discriminação cinética entre os analitos fosse ressaltada. Neste sistema (Figura 2), a amostra era inserida diretamente no fluxo transportador / reagente R₁. Durante o transporte ocorria a dispersão da amostra, formando gradientes de concentração de R₁ ao longo desta. A seguir, o reagente R₂ era adicionado por confluência (ponto z), dando início à reação indicadora. Conseqüentemente, a formação dos compostos coloridos predominava no início e final da zona da amostra devido à menor concentração do reagente R₁ na porção central da mesma, não havendo sobreposição total destas duas zonas.

Neste contexto, a cada fração da zona de amostra correspondia um intervalo de tempo para o desenvolvimento da reação indicadora, concentrações específicas e um diferente grau de dispersão. Desta forma, os diferentes elementos de fluido considerados eram referentes a

diferentes “pseudo-sensores”, permitindo a diferenciação entre os analitos cuja presença induz as diferentes taxas de reação.

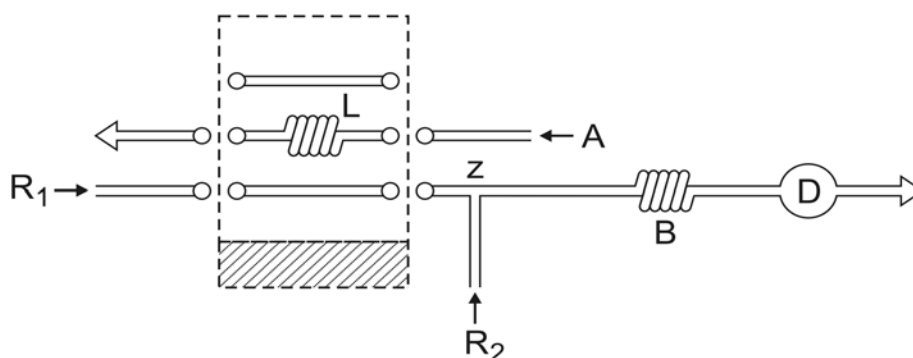


Figura 2. Diagrama de fluxos do sistema FIA explorando gradientes de concentração. A = amostra; L = alça de amostragem (80 cm, 400 μ l); R₁ = fluxo transportador / reagente 1,0 x 10⁻¹ mol l⁻¹ KI a 5,0 ml min⁻¹; R₂ = reagente confluyente, 1,0 x 10⁻³ mol l⁻¹ Cr a 1,6 ml min⁻¹; B = reator (200 cm); z = ponto de confluência; D = detector (420 nm).

Com o intuito de se avaliar possibilidade de exploração de fluxos pulsantes visando principalmente melhores condições de mistura (do inglês “mixing conditons”), o módulo de análises foi modificado, resultando em um sistema de análises químicas com multi-impulsão (Figura 3). Este sistema era análogo ao sistema FIA, porém, para cada solução utilizada no módulo de análises, uma mini-bomba como unidade propulsora era empregada.

Inicialmente, as mini-bombas P₁ e P₂ eram operadas em sincronismo, sendo os reagentes R₁ e R₂ adicionados por confluência no ponto y, dando início ao desenvolvimento da reação indicadora no reator B₂. A introdução da amostra era realizada substituindo-se o fluxo do reagente R₁ pelo da amostra. Para isto, a bomba P₁ permanecia desligada enquanto a bomba P₃ estivesse ligada. Para se evitar uma variação na absorbância da linha base, a bomba P₂ era mantida ligada. Após o período, previamente definido, correspondente ao volume de

amostra selecionado definido em termos de número e frequência de pulsos (Lima et al., 2004), a operação das bombas P_1 e P_3 foram invertidas (Tabela 2).

Analogamente ao sistema FIA, zona de amostra estabelecida se dispersava em R_1 à medida que era conduzida em direção ao detector. Consequentemente, gradientes de concentração eram estabelecidos ao longo da zona de amostra, sendo este fenômeno mais pronunciado no reator B_1 . A reação catalisada se processava no reator B_2 , predominando nas porções iniciais e finais da zona de amostra. A amostra processada transpassava o detector, e seu monitoramento em função do tempo permitia analogamente a exploração dos diferentes “pseudo-sensores”, essenciais para a discriminação cinética dos analitos e para as etapas de modelagem.

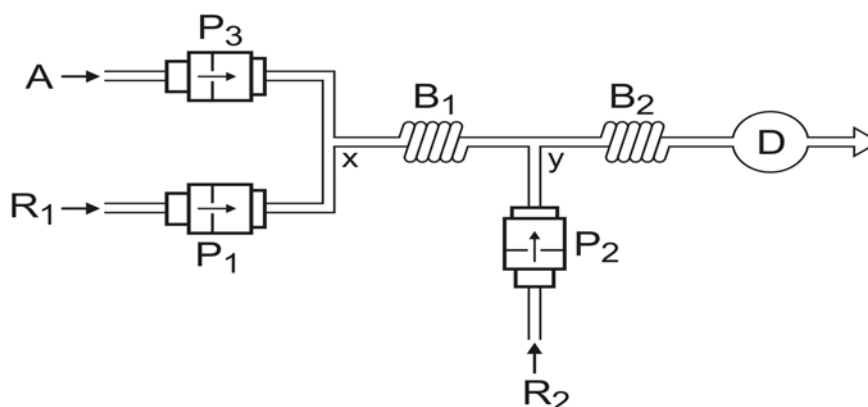


Figura 3. Diagrama de fluxos do sistema MPFS. P_1 , P_2 e P_3 = bombas solenóides (25, 8, 25 μl por pulso); A = amostra; R_1 = fluxo transportador / reagente $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol l}^{-1} \text{ KI}$; R_2 = reagente confluentes, $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol l}^{-1} \text{ Cr}$; B_1 e B_2 = reatores (25 e 200 cm); x e y = pontos de confluência; D = detector (420 nm).

Tabela 2. Procedimento para a determinação de ferro e vanádio. A Tabela se refere ao sistema MPFS da Figura 3.

Etapa	Operação	Bomba solenóide (volume/pulso)	# pulsos	Frequência (Hz)
1	Inserção da zona de amostra	P ₃ (25µl) + P ₂ (8µl)	16	3,0
2	Reação e transporte ao detector	P ₁ (25µl) + P ₂ (8µl)	100	3,0
3	Substituição da amostra	P ₃ (25µl) + P ₂ (8µl)	40	3,0
4	Limpeza do percurso analítico	P ₁ (25µl) + P ₂ (8µl)	150	3,0

4.2. Influência dos principais parâmetros envolvidos

Diversos parâmetros, tais como acidez do ambiente reacional, concentração dos reagentes, intervalo de tempo disponível para o desenvolvimento da reação foram avaliados, objetivando-se principalmente melhoria na discriminação cinética e na sensibilidade analítica.

4.2.1. Acidez

A concentração hidrogeniônica do meio reacional foi investigada variando-se a concentração de HCl (0,001 – 0,1 mol l⁻¹) em ambos reagentes R₁ e R₂. Para cada acidez, o conjunto de soluções-padrão monoanalito era modificado em conformidade, de forma a se evitar o estabelecimento de gradientes de pH após a inserção da amostra em R₁.

4.2.2. Concentrações dos reagentes

A influência das concentrações de iodeto e de dicromato nos reagentes R₁ e R₂ foi investigada variando-se estes parâmetros nas faixas de concentração entre 1,0 x 10⁻³ – 3,0 x 10⁻¹ mol l⁻¹ KI, e 5,0 x 10⁻⁵ – 5,0 x 10⁻³ mol l⁻¹ Cr, respectivamente, e mantendo-se os demais parâmetros do sistema. Menores concentrações de iodeto não foram investigadas, pois testes preliminares mostraram a ausência de sinais analíticos para < 1,0 x 10⁻³ mol l⁻¹ I. Para estas

faixas de concentração, a linha base se manteve entre 0,01 e 0,08 absorvância, o que garantia boas condições para o monitoramento espectrofotométrico (Gonçalves, 2001).

4.2.3. Intervalo de tempo disponível para a reação

O tempo de residência da amostra no percurso analítico (Ruzicka e Hansen, 1981), determina o intervalo de tempo disponível para a interação amostra/reagente, cuja influência foi avaliada variando-se a vazão total do sistema. Para esta finalidade, a rotação da bomba peristáltica foi variada entre 100 e 400 % relativamente àquela correspondente às vazões especificadas na Figura 1. Foram também conduzidos experimentos análogos, nos quais as vazões eram mantidas, sendo variado apenas o comprimento do reator e/ou o volume inserido de amostra.

Posteriormente, efeitos do volume de amostra (100 - 500 μl), comprimento dos reatores (0 - 50 cm para B₁; 50 - 400 cm para B₂) e vazão total (1,2 - 9,0 ml min^{-1}) foram investigadas, estes parâmetros sendo selecionadas em função do compromisso entre sensibilidade analítica, condições de mistura, repetibilidade das medidas, velocidade analítica e discriminação cinética.

Associado às características mencionadas acima, o critério fundamental utilizado para o dimensionamento do sistema foi o modelo matemático resultante. Este deveria apresentar poder de previsão que resultasse em erros menores que 10 %.

4.3. Desenvolvimento do modelo

Antes de iniciar o desenvolvimento do modelo os dados obtidos (matrizes X) eram centrados na média, e avaliados segundo validação cruzada LO com o intuito de verificar a habilidade para posteriores previsões (Martens e Naes, 1989). O número de variáveis latentes

a ser incluído no modelo era selecionado considerando-se a porcentagem de informação retida (% variância) em cada variável associada ao RMSEP.

Os modelos foram construídos utilizando-se de 2 a 10 variáveis latentes de forma a se definir o melhor modelo para cada configuração de sistema estudada e, assim, definir a condição que resultasse em melhor robustez e precisão. A capacidade de previsão dos modelos desenvolvidos era comparada através de curvas de correlação entre os valores previstos pelo método proposto e aqueles obtidos por ICP-OES.

4.4. Figuras de mérito analítico

Estabelecidas as condições ideais para os sistemas de análises propostos, as principais características analíticas foram avaliadas. Com o intuito de se verificar a estabilidade do módulo de análises, bem como a sua robustez, os sistemas foram mantidos em operação por 4 horas para avaliar a estabilidade da linha base. O consumo de reagentes foi estimado considerando a frequência analítica, as vazões e as concentrações utilizadas.

A repetibilidade dos sinais analíticos foi avaliada em termos da estimativa de desvio-padrão das absorbâncias após 10 análises consecutivas das amostras. Além disso, a exatidão foi avaliada comparando-se os resultados obtidos pelo método proposto com aqueles obtido por ICP-OES.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Aspectos gerais

A reação indicadora foi eficientemente implantada nos diferentes sistemas de análises em fluxo. De fato, resultados repetitivos foram sempre obtidos e, relativamente ao sistema da Figura 1, os desvios-padrão relativos referentes às alturas dos picos registrados após o processamento das soluções-padrão monoanalito foram em geral estimados como $< 5 \%$. Derivas de linha base não foram observados.

O comprimento de onda foi selecionado como 420 nm, pois a cubeta de fluxo era construída em acrílico, material que absorve pronunciadamente na região ultravioleta. Como o espectro de absorção do produto reacional (ânion complexo $[I_3]^-$) apresenta uma banda larga de absorção (Figura 4), a perda em sensibilidade resultante da mensuração a 420 nm foi de apenas 30 % relativamente ao comprimento de onda correspondente à máxima absorção, e a repetibilidade das medidas foi mantida.

Alternativamente, o monitoramento poderia ter sido realizado a 585 nm, em presença de amido (Mottola e Pérez-Bendito, 1996). Esta estratégia não foi aqui empregada porque a sensibilidade não era fator limitante e almejava-se um sistema simples e robusto.

Experimentos preliminares utilizando soluções-padrão monoanalito demonstraram que o sistema FIA da Figura 1 apresentava resposta linear para valores de absorbância entre 0,1 e 1,0. Neste sentido, coeficientes de regressão foram estimados como 0,979 para Fe e 0,985 para V ($n = 5$). Este aspecto é relevante para se projetar sistemas simples para determinações de um único analito, constituinte majoritário de ligas metálicas. Estudos neste sentido não foram conduzidos por não serem objeto do presente trabalho.

A aditividade da resposta analítica apresentada pelo sistema foi de *ca* 94 % para as soluções-padrão monoanalito. Deve-se aqui salientar que respostas referentes ao branco não foram notadas, uma vez que esta solução apresentava as mesmas condições de acidez do meio

reacional, o que evitava alterações na cinética da reação indicadora sob condições não catalisadas.

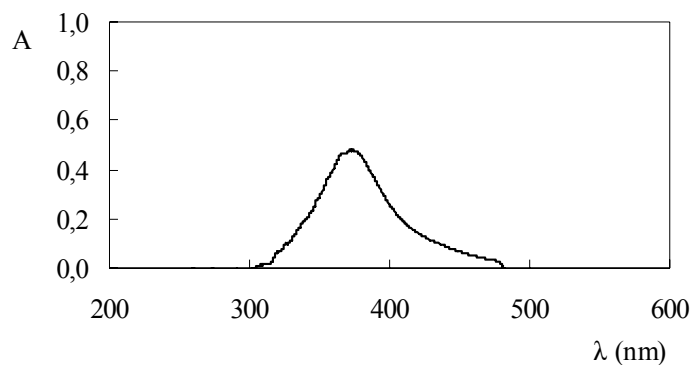


Figura 4. Espectro de absorção. A figura se refere ao sistema da Figura 1 provido de cubeta de fluxo de acrílico e a $50,0 \text{ mg l}^{-1} \text{ Fe}$. A = absorbância. Espectro obtido desligando-se a bomba peristáltica quando da passagem da região mais concentrada da amostra pelo detector.

As diferenças entre as velocidades da reação indicadora na presença de Fe^{2+} ou de VO^{2+} foram evidenciadas avaliando-se o progresso da reação em função do tempo. Para isso, foi utilizado o procedimento de parada de fluxos no instante em que o espectrofotômetro indicava a leitura máxima de absorbância, e o progresso posterior do desenvolvimento reacional pode ser avaliado em função do registro do aumento contínuo da absorbância. Pode ser observado (Figura 5) que em presença de VO^{2+} , a reação indicadora procede mais rapidamente relativamente à presença de Fe^{2+} . Este fator é fundamental para a determinação destes dois analitos explorando cinética diferencial.

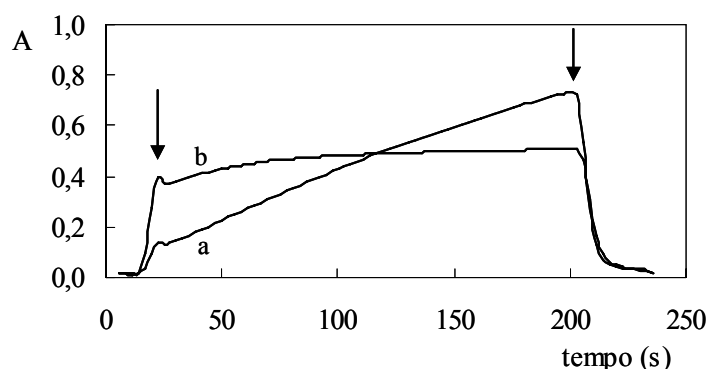


Figura 5. Registro do sinal analítico após processamento da amostra e parada de fluxos. As curvas a e b se referem a $50,0 \text{ mg l}^{-1}$ Fe ou de V. A = absorvância. Setas indicam instantes de desligamento e posterior re-acionamento da bomba peristáltica.

5.2. Estudo dos principais parâmetros envolvidos

5.2.1. Acidez

A acidez do ambiente reacional mostrou ser um parâmetro que influencia significativamente a taxa da reação indicadora, sendo que seu aumento resultou em perda de sensibilidade. Observou-se que a absorvância referente à linha base aumentou em função da elevação da taxa de reação indicadora na ausência dos analitos. Concentrações de HCl superiores a $0,02 \text{ mol l}^{-1}$ resultaram em sinais analíticos não repetitivos. Ainda, foi observado o efeito Schlieren, o qual poderia limitar a medida da absorvância (Dias et al., 2006). Deve-se salientar que para acidez correspondente a $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ HCl, os sinais analíticos apresentaram desvios aleatórios superiores a 7 %.

Por outro lado, a acidez não pode ser reduzida indefinidamente, pois a conseqüente melhoria em sinal analítico estava associada à redução da discriminação cinética. Neste contexto, a reação se processa mais livremente, tornando os efeitos catalíticos menos evidentes.

Desta forma, a acidez selecionada para os reagentes R_1 e R_2 foi de $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ HCl, confirmando relato anterior de Wang e He (1993). Nestas condições, as diferenças entre as

taxas reacionais bem como a repetitividade dos sinais analíticos apresentaram-se satisfatórias. Deve-se salientar ainda que, nestas condições, pequenas diferenças na acidez final das amostras, oriundas de possíveis erros durante o seu preparo, não seriam significativas.

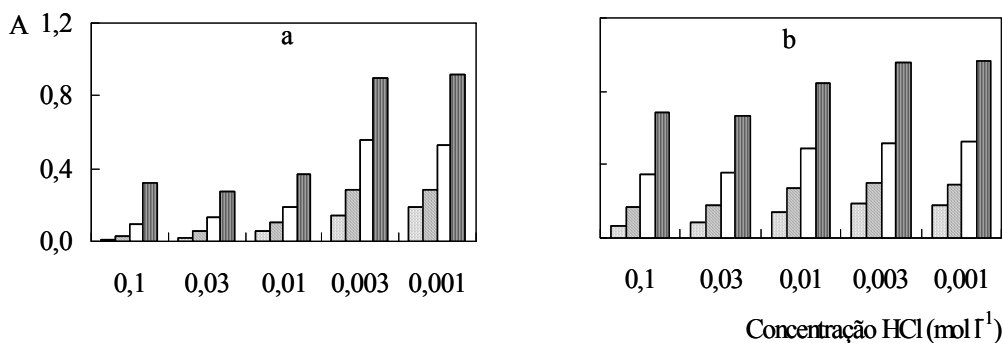


Figura 6. Influência da acidez. As letras a e b se referem a Fe e V. A = absorvância. Em cada conjunto, as diferentes barras correspondem a 10,0 – 20,0 – 40,0 e 80,0 mg l⁻¹.

5.2.2. Concentração de dicromato

Relativamente à influência da concentração de Cr₂O₇, observou-se que emprego de concentrações elevadas resultava em aumento dos sinais analíticos (Figura 7) e da linha base. Entretanto, esta concentração não pode ser aumentada indefinidamente para não aumentar excessivamente a absorvância correspondente à linha base. Foi então selecionada a concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mol l⁻¹ Cr, o que resultou em uma linha base de 0,07 absorvância. Nesta situação, as magnitudes dos picos não eram afetadas por pequenas variações (< 10 %) na concentração do reagente.

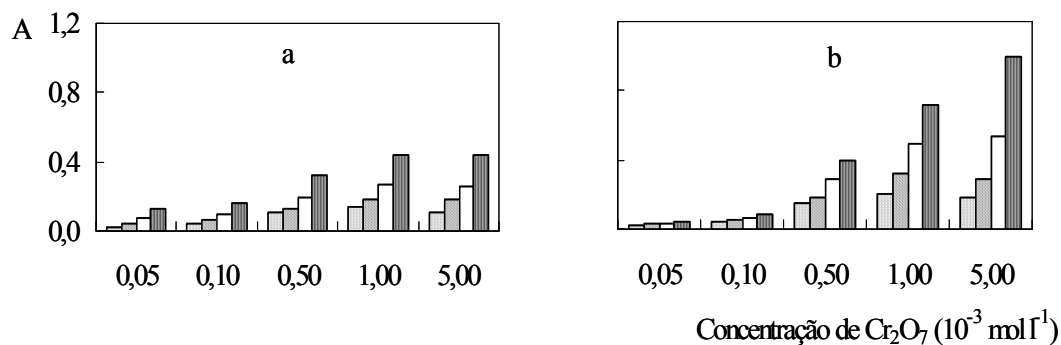


Figura 7. Influência da concentração de dicromato. As letras a e b se referem a ferro e vanádio. A = absorvância. Em cada conjunto, as diferentes barras correspondem a 10,0 – 20,0 – 40,0 e 80,0 mg l⁻¹.

5.2.3. Concentração de iodeto

A concentração de iodeto influencia a cinética reacional de maneira semelhante. Os valores de absorvância aumentaram quando esta concentração foi aumentada (Figura 8), mas a repetibilidade se deteriorou para $> 0,08 \text{ mol l}^{-1} \text{ I}$. Deve se salientar que a relação sinal/concentração se manteve linear para ambos os analitos $0,00 < [\text{I}] < 0,10$.

Devido às configurações dos sistemas de análises em fluxo representadas nas Figuras 2 e 3, a concentração deste reagente é baixa nas porções centrais da zona de amostra devido ao fato de a mesma ser inserida no fluxo transportador reagente. Isto é outro aspecto a justificar que a concentração dos íons iodeto deve ser a maior possível. Entretanto, esta não podia ser aumentada indefinidamente, uma vez que os sinais registrados para $> 0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ I}$ não apresentaram boa repetitividade. Isto indica a deterioração das condições de mistura, sendo mais evidente nas extremidades da zona de amostra, onde os gradientes de concentração são mais pronunciados. Neste contexto, deve-se ressaltar ainda o custo relativamente elevado do reagente KI. A concentração do reagente R₁ foi fixada em $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ I}$.

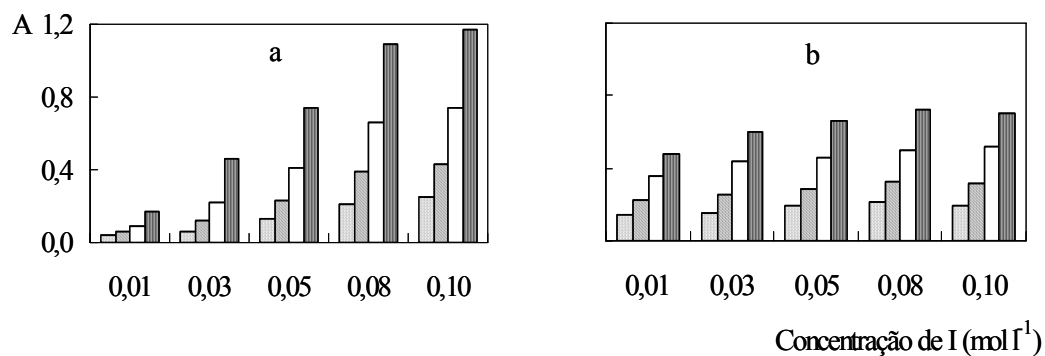


Figura 8. Influência da concentração de iodeto. As letras a e b se referem a ferro e vanádio. Em cada conjunto, as diferentes barras correspondem a 10,0 – 20,0 – 40,0 e 80,0 mg l⁻¹.

Nestas condições, os sinais analíticos registrados referentes a ferro e a vanádio apresentaram-se aditivos, sempre entre 98 e 103 %. Deve-se salientar que, para a construção dos modelos matemáticos, foram considerados apenas os sinais analíticos cuja absorvância era maior que 0,1.

5.2.4. Geometria do sistema

Os principais parâmetros dos sistemas de análises em fluxo propostos associados à geometria destes foram dimensionados levando-se em consideração que a taxa de formação do complexo em presença de VO²⁺ é maior relativamente a Fe²⁺. Neste sentido, o tempo disponível para o desenvolvimento da reação se mostrou como o parâmetro de maior relevância.

O diagrama de fluxos do sistema FIA representado na Figura 1 mostra a inserção da amostra em um fluxo transportador quimicamente inerte, e a adição dos reagentes R₁ e R₂ por confluência. Esta configuração apresentou a estabilidade característica dos sistemas em confluência (Zagatto et al., 1987), entretanto, a discriminação cinética resultante não foi satisfatória, pois o tempo disponível para o desenvolvimento da reação indicadora era praticamente o mesmo para todos os elementos de fluido da zona de amostra.

Conseqüentemente, os dados obtidos não apresentaram informações cinéticas relevantes para compor as etapas de modelagem.

Buscando melhorar a discriminação cinética, o sistema foi reconfigurado como mostra a Figura 2. A amostra era inserida diretamente no fluxo transportador / reagente R_1 , sendo o reagente R_2 adicionado por confluência. O inverso (inserção da amostra em R_2) não é recomendado, uma vez que os valores do branco seriam registrados na forma picos invertidos, devido à coloração apresentada pelo reagente R_2 ser diminuída na porção central da zona de amostra.

Um aspecto positivo em relação à configuração da Figura 2 se refere ao estabelecimento de gradientes de concentrações. A formação do complexo colorido predominava no início e no final da zona de amostra, consequência da baixa concentração do reagente R_1 nas porções centrais, havendo apenas uma sobreposição parcial destas duas zonas coloridas, fato que explica o pico duplo registrado. Deve-se salientar que isto possibilitou a modelagem dos dados obtidos, uma vez que os compostos eram quantificados por diferentes pseudo-sensores.

Com a finalidade de selecionar o comprimento do reator, o volume inserido de amostra e a vazão total que melhor condicionasse os gradientes de concentrações formados, diversos modelos matemáticos foram construídos e avaliados, sendo um para cada variação do parâmetro em estudo.

Inicialmente, foi estudado o efeito do comprimento do reator. Este foi fixado em 200 cm em função da necessidade de se obter discriminação cinética e melhores condições de mistura. Reatores < 200 cm resultaram em dispersão limitada da amostra, condições de mistura inadequadas e em um tempo médio de residência insuficiente para a formação do complexo colorido em quantidades adequadas para monitoração. Observou-se que a dispersão aumentava com o percurso analítico. Porém, sistemas com reatores > 200 cm apresentaram

tempo médio de residência elevado, minimizando os efeitos da discriminação cinética. Deve-se ainda salientar que a adição de um fluxo confluyente imediatamente após a introdução da amostra não se constituiu em estratégia relevante. Esta adição causa uma diluição pontual aumentando simultaneamente a extensão da zona de amostra (Zagatto et al., 1987). Este aspecto não foi aqui importante porque a vazão do fluxo confluyente era quatro vezes menor que a do fluxo transportador, sendo a diluição menos efetiva que a dispersão ao longo do percurso analítico. Este fato foi confirmado variando-se a distância entre o injetor e o ponto de adição do reagente confluyente entre 0 e 50 cm. Observaram-se pequenas modificações nos sinais registrados, as alterações no coeficiente de dispersão (Ruzicka e Hansen, 1981) sendo sempre $< 10\%$.

Os efeitos da dispersão nos sistemas MPFS, comparativamente aos sistemas FIA, são menos pronunciados, devido à natureza do fluxo pulsante (Dias et al., 2006). Neste sentido, foi necessário adicionar ao sistema MPFS um reator B_1 afim de que a zona de amostra apresentasse dispersão suficiente capaz de fornecer medidas relativas às diferenças nas taxas de reação.

Os efeitos de variação do volume de amostra e da vazão total foram avaliados, pois determinam o intervalo de tempo disponível para o desenvolvimento da reação indicadora. Para isto, foi realizado experimento fatorial (3×3) envolvendo variações destes parâmetros com o intuito de se avaliar sua influência no formato do pico registrado, na velocidade analítica e na discriminação cinética. Observou-se que para o menor volume investigado (200 μl), não foram observados picos duplos independentemente da vazão empregada (Figura 9). Isto se explica considerando-se que as zonas coloridas se formam inicialmente muito próximas entre si e coalescem rapidamente. Como os elementos de fluido da zona de amostra apresentaram tempos de reação similares entre si, informações cinéticas não foram relevantes. Para volumes de 400 μl a presença de pico duplos

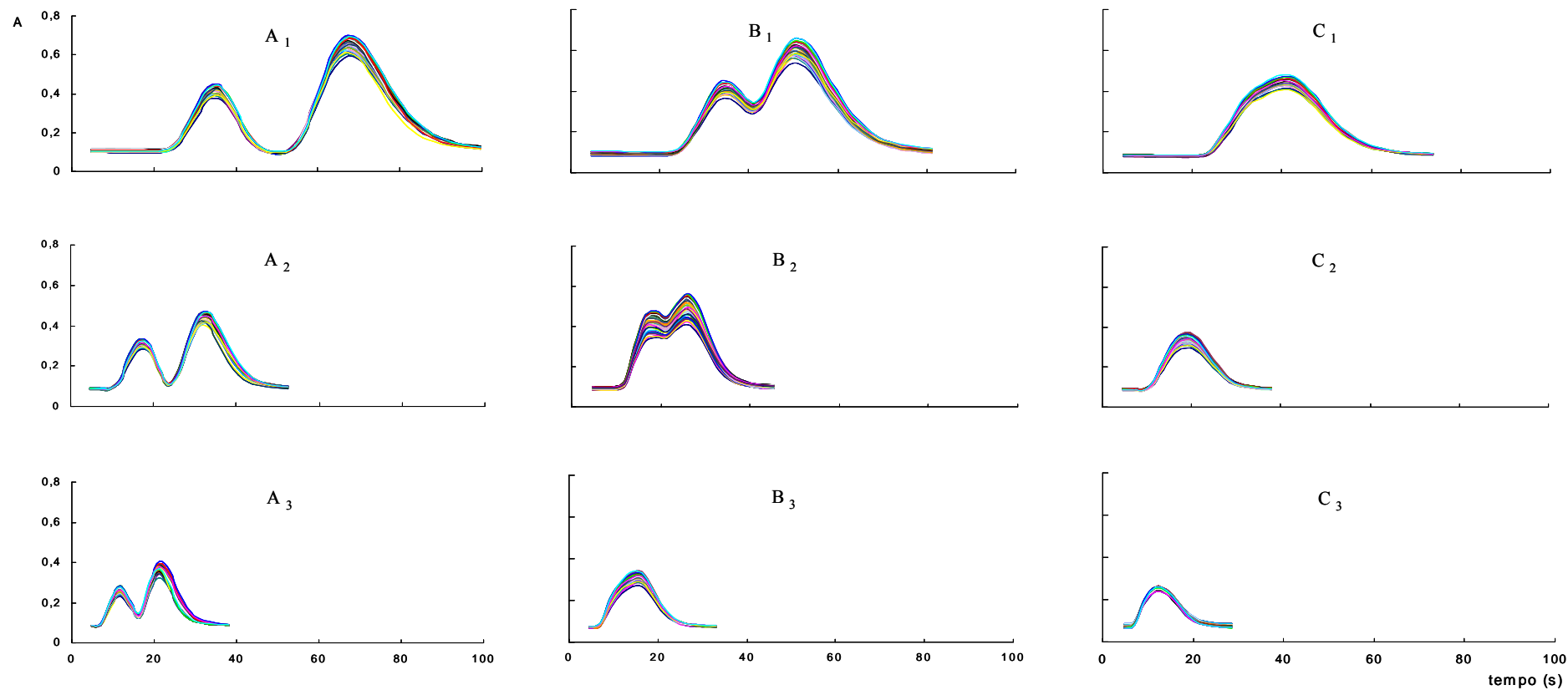


Figura 9. Registros dos sinais analíticos referentes ao planejamento fatorial (3 x 3) do sistema FIA da Figura 2. A, B, C e 1, 2, 3 correspondem a 160 – 80 e 40cm, 3,8 – 6,6 e 11,4 ml min⁻¹.

relativamente às vazões 3,8 e 6,6 ml min⁻¹ indicaram que este volume era adequado previnir parcialmente a mistura axial nas porções mais centrais da zona de amostra. Com isto, informações acerca da cinética reacional foram facilmente obtidas, e modeladas.

Entretanto, a zona de amostra não pode ser aumentada indefinidamente, pois para volumes > 800 µl, o comportamento apresentado assemelhou-se com aquele obtido para o menor volume. Este fato ocorre principalmente em função da ausência do reagente R₁ nas porções centrais da amostra dispersa, fato que praticamente subdividiu esta zona em duas menores, gerando duas interfaces independentes (Ribeiro et al., 2005).

Neste contexto, o procedimento adotado para o dimensionamento do sistema no que se refere ao volume de amostra e à vazão total, bem como para as etapas de calibração e determinação simultânea de ferro e vanádio, consistiu em preparar um conjunto de soluções-padrão mistas seguindo o planejamento fatorial associado à Tabela 1.

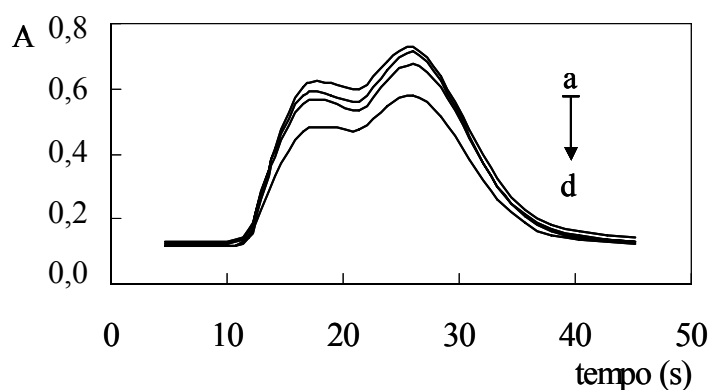


Figura 10. Sinais registrados no sistema FIA da Figura 2. Tempo = 0 corresponde ao instante da injeção. Os valores empregados para o planejamento experimental completo visando à determinação de Fe e V se referem 9 a 40 s, com intervalos de 25 ms. As curvas a – d correspondem a 13,0 e 7,0 – 15,0 e 9,0 – 14,0 e 10,0 – 11,0 e 12,0 mg l⁻¹ de Fe e de V respectivamente.

O sistema MPFS foi projetado seguindo os mesmos parâmetros definidos no sistema FIA. O reator B₁ foi estudado no intervalo entre 0 e 50 cm em função da baixa dispersão apresentada pelo fluxo pulsante. Deve-se salientar que as condições de mistura nos sistemas MPFS são melhores em função da mescla entre os pulsos de volumes pequenos.

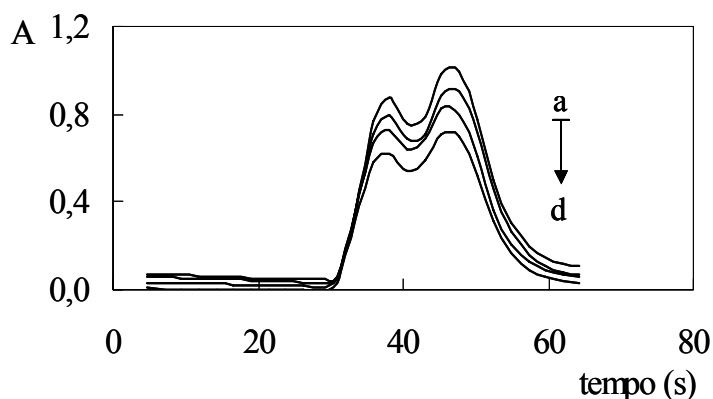


Figura 11. Sinais registrados no sistema MPFS da Figura 3. Tempo = 0 corresponde ao instante da injeção. Os valores empregados para o planejamento experimental completo para a determinação de Fe e V se referem 31 a 62 s, com intervalos de 25 ms. As curvas a – d correspondem a 13,0 e 7,0 – 15,0 e 9,0 – 14,0 e 10,0 – 11,0 e 12,0 mg l⁻¹ de Fe e de V respectivamente.

5.3. Desenvolvimento do modelo

Modelos referentes a volumes de amostra de 200, 400 e 800 µl e vazões de 3,8 - 6,6 e 11,4 ml min⁻¹ foram construídos, com o número de variáveis latentes variando entre 2 e 10. A escolha do modelo foi realizada de forma que o compromisso entre a calibração e a capacidade preditiva fosse otimizado. Desta forma, foi utilizado o procedimento de validação externa, que consistiu em se comparar os erros obtidos na previsão das concentrações conhecidas dos analitos (RMSEP), uma vez que os modelos possuíam diferentes números de variáveis latentes. Os dados referentes aos melhores modelos foram então selecionados.

Tabela 3. Erro padrão das previsões e desvio relativo ao experimento fatorial (3 x 3).

Configuração	Alça de amostragem (cm)	Vazão (ml min ⁻¹)	# variáveis latentes	% variância total	RMSEP		Desvio	
					Fe	V	Fe	V
A ₁	160	3,8	10	99,56	0,627	0,786	-1,63	1,93
A ₂	160	6,6	5	98,63	0,148	0,121	-0,28	0,40
A ₃	160	11,4	8	99,95	0,109	0,076	-0,83	-0,19
B ₁	80	3,8	4	98,46	0,177	0,165	-0,52	0,06
B ₂	80	6,6	2	99,16	0,086	0,118	-0,33	0,17
B ₃	80	11,4	4	99,44	0,175	0,178	-0,56	0,59
C ₁	40	3,8	1	67,55	0,076	0,014	0,12	0,09
C ₂	40	6,6	4	99,77	0,218	0,140	0,75	-0,38
C ₃	40	11,4	2	94,36	0,521	0,610	-1,26	1,60

Observou-se o modelo referente à configuração B₂ (alça de amostragem 80 cm e vazão total de 6,6 ml min⁻¹) apresentou-se adequado para representar o conjunto de dados. O modelo matemático mostrou que duas variáveis latentes eram capazes de descrever 99,16 % da variância total, confirmando a dimensionalidade intrínseca dupla do sistema. Além disso, os valores de RMSEP e de desvio mostraram que este apresentava boa capacidade preditiva, sendo assim, selecionado. Deve-se aqui salientar que, para a configuração C₁, menores valores RMSEP for observados para número de variáveis latentes igual a 01. Esta situação é, entretanto inviável em função da baixa porcentagem de informação capturada.

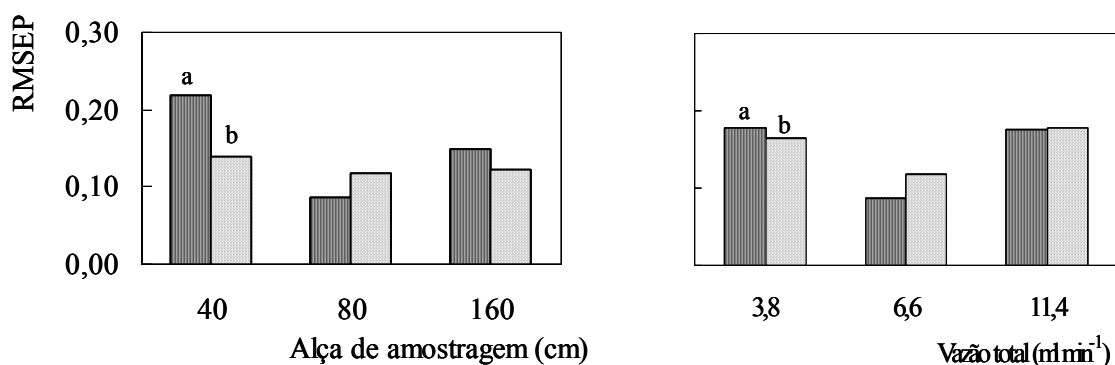


Figura 12. Erro padrão das previsões em função do comprimento da alça de amostragem e da vazão. A Figura se refere ao sistema FIA da Figura 2, sendo as letras a e b referentes a ferro e a vanádio. Para variações na alça de amostragem, a vazão foi fixada em 6,6 ml min⁻¹; e para variações na vazão a alça de amostragem 80 cm foi mantida.

Os desvios-padrão das medidas referentes aos pseudo-sensores associados às regiões da zona de amostra com gradientes de concentrações mais pronunciados foram tipicamente 3 %. Resultados mais precisos (d.p.r. < 0,5 %) foram observados para aqueles relativos ao máximo dos sinais analíticos.

Com relação aos valores “loadings” (Figura 13) é interessante notar que aqueles referentes a primeira variável latente se assemelham a um registro típico dos sistemas de análises em fluxo apresentando o fenômeno de picos duplos (Tyson, 1987). Isto sugere que ela está mais relacionada a vanádio, uma vez que este apresenta maior influência na reação indicadora. Os valores de “loadings” referentes a segunda variável latente parecem estar mais relacionados a ferro, pois sua quantificação é dependente dos pseudo-sensores referentes à porção posterior da zona de amostra, aos quais se associam maiores intervalos de tempo disponíveis para o desenvolvimento da reação indicadora. Conseqüentemente, não se nota o formato típico do registro FIA. As informações contidas nas duas variáveis latentes permitem que os analitos sejam quantificados simultaneamente.

A análise da Figura 13 permite se concluir que medidas < 0.1 absorvância não são realmente relevantes, uma vez que os valores de “loadings” são próximos de zero. Isto confirma que 14 s são suficientes para a coleta de dados. O intervalo de pseudo-sensores entre #3 e #13 foi selecionado resultando em um vetor com 14 colunas por amostra.

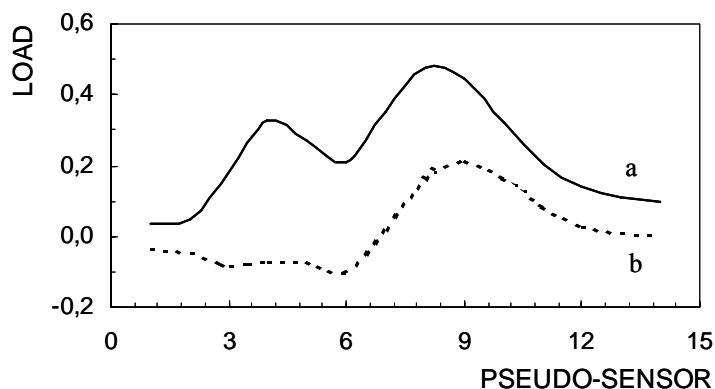


Figura 13. Valores de “loading” referentes ao sistema FIA da Figura 2. As curvas a e b se referem à primeira e segunda variáveis latentes. Abscissa: índice de pseudo-sensor. Ordenada: valores de “loading”.

A etapa de validação do modelo foi realizada utilizando-se amostras de ligas metálicas Fe/V e as concentrações de ferro e vanádio foram determinadas pelo sistema FIA proposto. Os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos por ICP-OES (Jacintho et al., 1985) e são apresentados na Tabela 4.

Os resultados obtidos não apresentaram concordância com aqueles obtidos por ICP-OES, provavelmente devido à carência de informações acerca do comportamento cinético, bem como a baixa discriminação cinética devida às condições de mistura inerentes à natureza do fluxo laminar. Com base nas informações adquiridas até esta etapa deste trabalho experimental, foi projetado um sistema MPFS análogo, empregando mini-bombas solenóide como unidades propulsoras dos fluidos.

Tabela 4. Resultados comparativos envolvendo o sistema FIA da Figura 2. Concentrações de ferro e de vanádio em ligas metálicas expressas em % (m/m) determinadas pelo procedimento proposto (FIA) e por ICP-OES (Jacintho et al., 1985). As incertezas (em %) referentes a FIA são baseadas em três replicações e as referentes a ICP-OES são tipicamente 3 %.

Amostra	Fe		V	
	FIA	ICP-OES	FIA	ICP-OES
1	58,3 ± 0,9	49,1	31,4 ± 1,7	40,8
2	61,7 ± 0,4	52,2	31,1 ± 0,7	40,9
3	55,9 ± 0,5	44,2	31,3 ± 0,7	31,5
4	53,2 ± 2,1	45,8	27,8 ± 3,4	34,7
5	44,5 ± 1,4	45,8	35,3 ± 2,8	41,0
6	48,9 ± 2,7	52,0	33,9 ± 5,2	41,0
7	40,8 ± 2,5	54,8	40,3 ± 4,9	43,6

Relativamente a este sistema, os modelos foram construídos e avaliados conforme descrito anteriormente. A configuração do sistema compreendendo o reator B₁ de 25 cm foi considerada superior quando comparada a outros reatores, resultando em melhor discriminação cinética e resultados mais precisos. O modelo matemático empregou duas variáveis latentes para descrever 94,36 % da variância total, confirmando novamente que a dimensionalidade do sistema era 2. Além disso, o modelo apresentou boa habilidade de previsão, pois os valores previstos apresentaram concordância com aqueles esperados. Os valores de RMSEP obtidos foram 0,420 para ferro e 0,483 para vanádio.

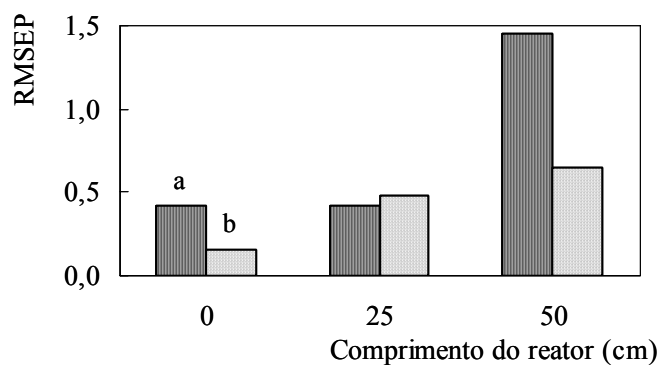


Figura 14. Erro padrão das previsões em função do comprimento do reator B_1 no sistema MPFS. A Figura se refere ao sistema MPFS da Figura 3, sendo as letras a e b referentes a ferro e a vanádio. Para este estudo o reator B_2 , o volume de amostra e a vazão foram mantidos em 200 cm, 400 μl e 6,6 ml min^{-1} .

Analogamente ao sistema FIA, os valores de “loadings” referentes a primeira variável latente se assemelharam a um sinal analítico, sugerindo mais uma vez a relação com o vanádio, em função de sua maior influência na velocidade da reação indicadora. A segunda variável latente se relacionou mais a ferro. Observa-se que a sua determinação é mais dependente dos pseudo-sensores associados ao início e final do registro do sinal analítico.

Observou-se que 31 s eram suficientes para a coleta de dados, e os pseudo-sensores utilizados na construção do modelo foram estabelecidos entre #4 e #16 o que resultou novamente em um vetor com 14 colunas para cada amostra.

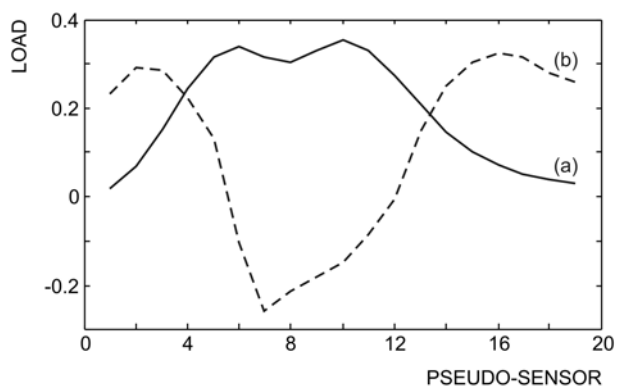


Figura 15. Valores de “loading” referentes ao sistema MPFS da Figura 3. As curvas a e b se referem à primeira e segunda variáveis latentes. Abscissa: índice de pseudo-sensor. Ordenada: valores de “loading”.

Os resultados obtidos foram concordantes com aqueles obtidos por ICP-OES (Jacintho et al., 1985) ao nível de 95 % de confiança, conforme se depreende da Tabela 5. A melhoria nos resultados obtidos com relação ao sistema FIA se deveu provavelmente às melhores condições de mistura inerentes aos sistemas MPFS bem como ao estabelecimento de gradientes de concentração mais pronunciados.

Tabela 5. Resultados comparativos envolvendo o sistema MPFS da Figura 3. Concentrações de ferro e de vanádio em ligas metálicas expressas em % (m/m) determinadas pelo procedimento proposto (MPFS) e por ICP-OES (Jacintho et al., 1985). As incertezas (em %) referentes a MPFS são baseadas em três replicações e as referentes a ICP-OES são tipicamente 3 %.

Amostra	Fe (m/m)		V (m/m)	
	MPFS	ICP-OES	MPFS	ICP-OES
1	49,7 ± 0,8	49,1	37,6 ± 1,6	40,8
2	51,0 ± 0,2	52,2	41,3 ± 0,8	40,9
3	49,0 ± 0,3	44,2	35,3 ± 0,9	31,5
4	49,6 ± 1,7	45,8	37,0 ± 3,5	34,7
5	50,8 ± 1,3	45,8	40,9 ± 3,0	41,0
6	51,8 ± 2,4	52,0	43,9 ± 4,0	41,0
7	51,4 ± 2,2	54,8	42,8 ± 4,0	43,6

5.4. Figuras de mérito

Em função das limitações em exatidão observadas relativamente ao sistema FIA da Figura 2, as principais características analíticas foram avaliadas somente em relação ao sistema MPFS da Figura 3.

Este sistema de análises em fluxo é bastante simples e robusto, fornecendo resultados repetitivos (d.p.r. de cada mensuração tipicamente < 4 %). Derivas de linha base não foram observados também relativamente a este sistema. A exatidão foi confirmada conforme discutido no item 5.3.

O método proposto é bastante seletivo, pois as principais espécies químicas que também influem na taxa da reação indicadora (Ti^{3+} , Ce^{3+} , Co^{2+} , Sb^{3+} e UO_4^{4-}) são praticamente ausentes nas amostras. Deve-se salientar que, relativamente a Ti, teores de até 30 mg l⁻¹ não interferiram. Esta boa seletividade é fator determinante na exatidão do método, acima comentada.

O sistema permite a análise de 50 amostras por hora, o que corresponde a um consumo de 96 mg de iodeto de potássio por amostra (48 mg por determinação). Em vista da baixa variabilidade de ferro e vanádio nas amostras de ligas metálicas, os limites do modelo construído foram estabelecidos de forma a que variações nas concentrações destas fossem abrangidas. Esta é uma garantia adicional de precisão do sistema proposto.

6. CONCLUSÕES

A possibilidade de associar estratégias de calibração multivariada aos sistemas de análises em fluxo para determinações simultâneas foi demonstrada. As potencialidades, vantagens e limitações dos sistemas FIA e MPFS foram avaliadas e permitiram concluir que esta junção possibilita a implementação de procedimentos analíticos apresentando excelentes figuras de mérito excelentes estratégias analíticas.

O presente trabalho foi desenvolvido baseado nas diferenças das taxas de uma reação indicadora na presença de Fe^{2+} e VO^{2+} . Experimentos paralelos revelaram a possibilidade de incluir o titânio como analito neste sistema, uma vez que Ti^{3+} também influencia a taxa de desenvolvimento da reação indicadora. Para isto, não seria necessário incluir novas etapas no processo de análises; entretanto, este aspecto não foi investigado em função da ausência de demanda por este tipo de análise em amostras de ligas metálicas.

Embora os sistemas de análises em fluxo apresentem como características a versatilidade e possibilidade de implementação a diversos sistemas químicos, o sistema FIA, em particular, não forneceu resultados precisos. Este fato se deve provavelmente à falta de informações cinéticas em virtude das características apresentadas pelo regime laminar de escoamento.

Por outro lado, as características apresentadas pelo sistema MPFS se mostraram mais adequadas para as determinações simultâneas, em função das melhores condições de mistura e da menor dispersão proporcionada pelo fluxo pulsante. Permitem ainda que diferentes estratégias analíticas sejam adotadas com pequenas modificações no módulo de análises. Além disso, comparativamente aos sistemas FIA, os MPFS apresentaram melhor sensibilidade analítica.

Os resultados obtidos neste projeto de pesquisa forneceram informações expressivas e confirmaram a viabilidade do desenvolvimento de módulos simples de análises em fluxo para determinações multiparamétricas.

Finalmente deve-se ressaltar que a viabilidade de aplicação de métodos catalíticos para a determinação de constituintes maiores de ligas metálicas foi recentemente demonstrada (Dias et al, 2004), aspecto confirmado pelo presente trabalho.

REFERÊNCIAS

ARRUDA, M.A.Z.; ZAGATTO, E.A.G.; MANIASSO, N. Kinetic determination of cobalt and niquel by flow-injection spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.283, p.476-480, 1993.

ASTM. **Annual Book of ASTM Standards**. Section 3. Metals test methods and analytical procedures - E13. Philadelphia, 1991.

BERGAMIN FILHO, H.; ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; REIS, B.F. Merging zones in flow injection analysis. 1. Double proportional injector and reagent consumption. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.101, p.17-23, 1978.

BETTERIDGE, D.; FIELDS, B. Construction of pH gradients in flow-injection analysis and their potential use for multielement analysis in a single sample bolus. **Analytical Chemistry**, Washington, v.50, p.654-656, 1978.

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. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.132, p.139-155, 1981.

BETTERIDGE, D.; MARCZEWSKI, C.Z.; WADE, A.P. A random walk simulation of flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.165, p.227-236, 1984.

BRAGA, J.W.B.; POPPI, R.J. Validação de modelos de calibração multivariada: uma aplicação na determinação de pureza polimórfica de carbamazepina por espectroscopia no infravermelho próximo. **Química Nova**, São Paulo, v.27, p.1004–1011, 2004.

BRERETON, R.G. Introduction to a multivariate calibration in analytical chemistry. **Analyst**, Cambridge, v.125, p.2125-2154, 2000.

CERDÁ, V.; FORTALEZA, J.M.; CLADERA, A.; BECERRA, E.; ALTIMIRA, P.; SITJAR, P. Flow techniques in water analysis. **Talanta**, Amsterdam, v.50, p.695-705, 1999.

COSTA-FILHO, P.A.; POPPI, R.J. Aplicação de algoritmos genéticos na seleção de variáveis em espectroscopia no infravermelho médio. Determinação simultânea de glicose, maltose e frutose. **Química Nova**, São Paulo, v.25, p.46–52, 2002.

CROUCH, S.R. Trends in kinetic methods of analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.283, p.453-470, 1993.

DIAS, A.C.B.; CARNEIRO, J.M.T.; GRASSI, V.; ZAGATTO, E.A.G. High sensitivity methods for sequential injection determination of main constituents of alloys. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.514, p.253-257, 2003.

DIAS, A.C.B. **Sistemas de análises químicas em fluxo explorando multi-impulsão e detecção espectrofotométrica: aplicação a formulações farmacêuticas e a extratos de solos**. 2006. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

DIAS, A.C.B.; BORGES, E.P.; ZAGATTO, E.A.G.; WORSFOLD, P.J. A critical examination of the components of the Schlieren effect in flow analysis. **Talanta**, Amsterdam, v.68, p.1076-1082, 2006.

FERNANDEZ, A.; LUQUE DE CASTRO, M.D.; VALCARCEL, M. Comparison of flow injection analysis configurations for differential kinetic determination of cobalt and niquel. **Analytical Chemistry**, Washington, v.56, p.1146-1151, 1984.

FERNÁNDEZ, F.M.; TUDINO, M.B.; TROCCOLI, O.E. Multicomponent kinetic determination of Cu, Zn, Co, Ni and Fe at trace levels by first and second order multivariate calibration. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.433, p.119-134, 2001.

FERREIRA, M.M.C.; ANTUNES, A.M.; MELGO, M.S.; VOLPE, P.L.O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, São Paulo, v.22, p.724-731, 1999.

FRANCIS, P.S.; LEWIS, S.W.; LIM, K.F.; CARLSSON, K.; KARLBERG, B. Flow analysis based on a pulsed flow of solution: theory, instrumentation and applications. **Talanta**, Amsterdam, v.58, p.1029-1042, 2002.

FRENICH, A.G., JOUANRIMBAUD, D.; MASSART, D.L.; KUTTATHARMMAKUL, S.; GALERA, M.M.; VIDAL, J.L.M. Wavelength selection method for multicomponent spectrophotometric determinations using partial least square. **Analyst**, Cambridge, v.120, p.2787-2797, 1995.

GARCIAJARES, C.; MEDINA, B. Prediction of some physicochemical parameters in red wines from ultraviolet-visible spectra using a partial least-square model in latent-variables. **Analyst**, Cambridge, v.120, p.1891-1896, 1995.

GELADI, P.; KOWALSKI, B.R. Partial least-square Regression: A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.185, p.1-7, 1986.

GONÇALVES, M.L.S.S. **Métodos instrumentais para análise de soluções**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

GRASSI, V.; ZAGATTO, A.G.; LIMA, L.F.C. Flow-injection systems with multi-site detection. **Trends in Analytical Chemistry**, London, v.24, p.880–886, 2005.

HUNGERFORD, J.M.; CHRISTIAN, G.D. Chemical kinetics with reagent dispersion in single-line flow-injection systems. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.200, p.1-19, 1987.

JACINTHO, A.O.; FIGUEIREDO, B.R.; REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; GINE, M.F.; ARAUJO, M.C.U.; PEREIRA, N.M.; BRUNS, R.E. **Análise Química de Rochas por ICP-AES**. Campinas: Ed. Unicamp, 1985.

KAGENOW, H.; JENSEN, A. Differential kinetic analysis and flow injection analysis: Part 3. The (2.2.2) cryptates of magnesium, calcium and strontium. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.114, p.227-234, 1980.

KAGENOW, H.; JENSEN, A. Kinetic determination of magnesium and calcium by stopped-flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.145, p.125-133, 1983.

KAWASHIMA, T.; NAKANO, S. Flow-injection analysis of trace elements by use of catalytic reactions. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.261, p.167-182, 1992.

KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; ZAGATTO, E.A.G. Commutation in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.179, p.103-118, 1986.

LAPA, R.A.S., LIMA, J.F.C.; REIS, B.F.; SANTOS, J.L.M.; ZAGATTO, E.A.G. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.466, p.125-132, 2002.

LAVINE, B.K.; WORKMAN, J. Chemometrics. **Analytical Chemistry**, Washington, v.74, p.2763-2770, 2002.

LIMA, J.L.F.C.; SANTOS, J.L.M.; DIAS, A.C.B.; RIBEIRO, M.F.T.; ZAGATTO, E.A.G. Multi-pumping flow systems: an automation tool, **Talanta**, Amsterdam, v.64, p.1091-1098, 2004.

LOPES, J.A.; MENEZES, J.C.; WESTERHUIS, J.A.; SMILDE, A.K. Multiblock PLS analysis of an industrial pharmaceutical process. **Biotechnology and Bioengineering**, Amsterdam, v.80, p.419-427, 2002.

LUQUE DE CASTRO, M.D.; VALCÁRCEL, M. Flow injection methods based on multidetection. **Trends in Analytical Chemistry**, London, v.5, p.71–74, 1986.

MARTENS, H.; NAES, T. **Multivariate calibration**. Chichester: John Wiley, 1989.

MASSART, D.L.; VANDEGINSTE, B.G.M.; DEMING, S.N.; MICHOTE, Y.; KAUFMAN, L. **Chemometrics**: a textbook. Amsterdam: Elsevier, 1988.

MOTTOLA, H.A.; PÉREZ-BENDITO, D. Kinetic determinations and some kinetic aspects of analytical chemistry. **Analytical Chemistry**, Washington, v.68, p.257R-289R, 1986.

NI, Y.; HUANG, C.; KOKOT, S. A kinetic spectrophotometric method for determination of ternary mixtures of reducing sugars with the aid of artificial neural and multivariate calibration. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.480, p.53-65, 2003.

PAINTON, C.C.; MOTTOLA, H.A. Kinetics in continuous flow sample processing. Chemical contributions to dispersion in flow-injection techniques. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.158, p.67-84, 1984.

POPPI, R.J. **Construção de um espectrofotômetro com transformada de Hadamard e sua aplicação na análise por injeção em fluxo**. 1993. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1993.

REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; ZAGATTO, E.A.G.; LIMA, J.L.F.C.; LAPA, R.A.S. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and

spectrophotometric determination of iron in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.293, p.129-138, 1994.

RIBEIRO, M.F.T.; SANTOS, J.L.M.; LIMA, J.L.F.C.; DIAS, A.C.B.; ZAGATTO, E.A.G. Single reaction interface in flow analysis. **Talanta**, Amsterdam, v.68, p.351-358, 2005.

RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.78, p.145-157, 1975.

RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. **Flow injection analysis**. Chichester: Wiley Interscience, 1981.

RUZICKA, J.; MARSHALL, G.D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.237, p.329-343, 1990.

RUZICKA, J. Lab-on-valve: universal micro flow analyzer based on sequential and bead injection. **Analyst**, Cambridge, v.125, p.1053-1060, 2000.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M.J.E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. **Analytical Chemistry**, Washington, v.36, p.1627-1639, 1964.

SCHONGARTH, K.; HITZMANN, B. Simultaneous calibration in flow-injection analysis using multiple-injection signals evaluated by partial least squares. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.363, p.183-189, 1998.

SKEGGS JUNIOR, L.T. An automatic method for colorimetric analysis. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v.28, p.311-322, 1957.

STEWART, K.K.; BEECHER, G.R.; HARE, P.E. Rapid analysis of discrete samples: the use of nonsegmented continuous flow. **Analytical Biochemistry**, Amsterdam, v.70, p.167-173, 1976.

TEIXEIRA, L.S.G.; COSTA, A.C.S.; GARRIGUES, S.; LA GUARDIA, M. Flow-injection solid phase partial least-square spectrophotometric simultaneous determination of iron, nickel and zinc. **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v.13, p.54-59, 2002.

THOMAS, E.V. A primer on multivariate calibration. **Analytical Chemistry**, Washington, v.66, p.796A-804, 1994.

TROJANOWICZ, M. **Flow injection analysis: instrumentation and applications**. 1. ed. Singapore: World Scientific Publications, 2000.

TYSON, J.F. Analytical information from doublet peaks in flow injection analysis. Part II. Determination of stability constants. **Analyst**, Cambridge, v.112, p.527-529, 1987.

UKEDA, H. Fia bibliography (43). **Journal of Flow Injection Analysis**, Toyota v.22, p.45-55, 2005.

VALCARCEL, M.; LUQUE DE CASTRO, M.D. **Flow injection analysis**. Principles and applications. Chichester: Ellis Horwood, 1987.

WADA, H.; HIRAOKA, S.; YUCHI, A.; NAKAGAWA, G. Sample dispersion with chemical reaction in a flow-injection system. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.179, p.181-188, 1986.

WANG, J.; HE, R. Stopped-flow kinetic spectrophotometric method for the simultaneous determination of iron, titanium and vanadium. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.276, p.419-424, 1993.

WHITMAN, D.A.; SEASHOLTZ, M.B.; CHRISTIAN, G.D.; RUZICKA, J.; KOWALSKI, B.R. Double-Injection flow injection analysis using multivariate calibration for multicomponent analysis, **Analytical Chemistry**, Washington, v.63, p.775-781, 1991.

WOLD, S.; SJÖSTRÖM, M. Chemometrics: present and future success. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam, v.44, p.3-14, 1998.

ZAGATTO, E.A.G.; REIS, B.F.; MARTINELLI, M.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; GINE, M.F. Confluent streams in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.198, p.153-163, 1987.