

o cat.
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA *l*

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida por FABIO AUGUSTO e aprovada
pela Comissão Julgadora.

Campinas, 15 de agosto de 1990

Antonio Luiz Pires Valente

PROF. DR. ANTONIO LUIZ PIRES VALENTE

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE SOFTWARE PARA
CROMATOGRAFIA GASOSA

Tese de Mestrado

Fabio Augusto *FA*

Orientador: Prof. Dr. ANTONIO LUIZ PIRES VALENTE *FA*

Campinas, 1990

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e UNICAMP, pelas bolsas de estudo concedidas.

Ao Eng. Luís Otávio S. Ferreira (LED - FEE - UNICAMP) e ao Prof. Pedro A. M. Vazques (IQ - UNICAMP), pelas sugestões que enriqueceram este trabalho. E ao colega Paulo Alves Jr., pela colaboração na parte de instrumentação.

A Profa.Dra. Isabel C.S.F. Jardim, à Profa.Dra. Carol H. Collins e ao Prof.Dr. Kenneth E. Collins, pelo apoio e amizade.

Aos habitantes, ex-habitantes e frequentadores da República Democrática e Popular do 103, pelos sete anos de convivência e chateação mútuas. E, principalmente, ao colega Marcos A. Nobre, de quem tenho a honra de ser amigo.

Ao meu orientador, Prof.Dr. Antonio Luiz Pires Valente, pela amizade e exemplo profissional durante todos estes anos.

As memórias de meus avôs Luis e
Maria Luiza, de minha tia Nanci e,
principalmente, de meu pai Écio
Luiz.

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos.....	11
Dedicatória.....	111
Índice Geral.....	iv
Índice de Figuras e Tabelas.....	vi
Resumo.....	x
Abstract.....	xi
I - INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS DO TRABALHO.....	7
II - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
1 - Coleta de Dados.....	10
1.1 - Digitalização Manual.....	10
1.2 - Mesas Digitalizadoras.....	11
1.3 - Conversores Eletrônicos.....	11
2 - Simulação de Dados.....	16
2.1 - Função de Lorentz-Cauchy.....	16
2.2 - Função Gaussiana.....	16
2.3 - Função Gaussiana Exponencialmente Modificada (EMG).....	17
3 - Rotinas de Filtro Digital.....	18
3.1 - Características de Ruídos.....	18
3.2 - Algoritmos de Tratamento de Ruídos.....	19
3.3 - Simulação de Ruídos.....	20
4 - Análise de Dados Cromatográficos: Detecção de Início e Fim de Picos.....	21
5 - Análise de Dados Cromatográficos: Alocação do Tempo de Retenção.....	22
6 - Análise de Dados Cromatográficos: Cálculos de Áreas dos Picos.....	24
7 - Otimização da Eficiência Cromatográfica: a Equação de van Deemter.....	26
III - MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
1 - Materiais Empregados.....	28
1.1 - Hardware.....	28
1.2 - Software.....	28

1.3 - Aparelhos e Colunas Cromatográficas.....	28
1.4 - Reagentes.....	29
2 - Software Desenvolvido.....	30
2.1 - Programas de Simulação de Dados.....	30
2.2 - Coleta de Dados: LECROM.....	38
2.3 - Análise de Dados: ANACROM.....	40
2.4 - Programa para Cálculo da Curva de van Deemter.....	53
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
1 - Caracterização dos Dados Coletados pelo programa LECROM.....	54
1.1 - Taxas de Coleta Permitidas por LECROM.....	54
1.2 - Níveis de Ruído Medidos.....	56
2 - Programa de Análise de Dados ANACROM.....	58
2.1 - Avaliação do Uso de Polinômios para Alocação dos Tempos de Retenção.....	59
2.2 - Avaliação da Eficiência dos Filtros Digitais na Redução de Ruídos.....	61
2.3 - Efeitos da Aplicação de Filtros Digitais sobre Picos Gaussianos.....	64
3 - Uso do Programa para Estimativa da Equação de van Deemter (VDEEMTER).....	81
3.1 - Cálculo das Difusibilidades de THM's nas Fases Líquida e Gasosa em Colunas Capilares.....	92
4 - Aplicação do Software de Coleta e Análise de Dados a uma Análise Quantitativa: Teor de Metanol na Fase Vapor da Mistura Metanol - Etanol - Gasolina.....	93
5 - Comparação dos Resultados Obtidos com o Software de Análise de Dados com os obtidos com o integrador HP-3392A.....	100
V - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	106
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111
APÊNDICE 1.....	117
APÊNDICE 2.....	131
APÊNDICE 3.....	132

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

Nota: Por conveniência, alguns dos títulos estão abreviados.

Figuras:

II.1 - Tempo de Retenção e Máximo Local.....	23
II.2 - "Tangent Skimming".....	25
III.1 - Programa GAUSSIAN.....	33
III.2 - Programa EMG2.....	35
III.3 - Programa RUIDO.....	37
III.4 - Programa LECROM.....	39
III.5 - Programa ANACROM.....	41
III.6 - Bloco de Leitura de Dados.....	43
III.7 - Bloco de Pré-Análise de Dados.....	44
III.8 - Bloco de Filtragem por Média Móvel.....	46
III.9 - Bloco de Filtragem por Savitzky-Golay.....	48
III.10 - Bloco de Análise de Dados e Redefinição.....	50
III.11 - Bloco de Impressão de Cromatogramas.....	52
IV.1 - Eficiência de Filtros Digitais.....	62
IV.2 a IV.5 - Efeito de Filtros sobre Áreas de Picos Gaussianos com $w_b = 4,109$ s.....	65
IV.6 a IV.9 - Efeito de Filtros sobre Áreas de Picos Gaussianos com $w_b = 7,943$ s.....	66
IV.10 a IV.13 - Efeito de Filtros sobre Áreas de Picos Gaussianos com $w_b = 11,371$ s.....	67
IV.14 a IV.17 - Efeito de Filtros sobre Áreas de Picos Gaussianos com $w_b = 14,842$ s.....	68
IV.18 a IV.21 - Efeito de Filtros sobre Tempos de Retenção de Picos Gaussianos com $w_b = 4,109$ s e $w_b = 7,943$ s.....	72
IV.22 a IV.25 - Efeito de Filtros sobre Tempos de Retenção de Picos Gaussianos com $w_b = 11,371$ s e $w_b = 14,842$ s.....	73
IV.26 a IV.29 - Efeito de Filtros sobre Larguras de Picos Gaussianos com $w_b = 4,109$ s.....	75

IV.30 a IV.33 - Efeito de Filtros sobre Larguras de Picos Gaussianos com $w_b = 7,943$ s.....	76
IV.34 a IV.37 - Efeito de Filtros sobre Larguras de Picos Gaussianos com $w_b = 11,371$ s.....	77
IV.38 a IV.41 - Efeito de Filtros sobre Áreas de Picos Gaussianos com $w_b = 14,842$ s.....	78
IV.42 - Curva de van Deemter para MeSi 25m / CHCl_3	83
IV.43 - Curva de van Deemter para CBX 20M / CHCl_3	84
IV.44 - Curva de van Deemter para OV-101 / CHCl_3	85
IV.45 - Curva de van Deemter para MeSi 12m / CHCl_3	86
IV.46 - Curva de van Deemter para MeSi 12m / CHBr_3	87
IV.47 - Curva de Calibração para Metanol.....	96
IV.48 - Teor em Metanol do Vapor de MEG.....	97
IV.49 - Cromatograma do Vapor de MEG.....	98
VII.1 - Cromatograma Simulado por Lorenzianas.....	131
VII.2 - Cromatograma Simulado por Gaussianas.....	131
VII.3 - Cromatograma Simulado por EMG.....	131

Tabelas:

I.1 - Comparação entre Métodos de Análise de Cromatogramas.....	4
II.1 - Número Mínimo de Pontos Coletados para Análise de um Pico Gaussiano.....	14
IV.1 - Tempos Usados pelo Programa LECROM para Coleta de uma Fatia.....	55
IV.2 e 3 - Ruído Quadrático Médio em Função do Número de Fatias para a Média Simples.....	57
IV.4 - Erros Máximos na Alocação Polinomial de Tempos de Retenção de Picos Gaussianos.....	60
IV.5 - Eficiência de Filtros Digitais.....	63
IV.6 - Filtros e Janelas de Filtragem para Tratamento de Picos Gaussianos.....	69
IV.7 - Características de Colunas Capilares.....	82
IV.8 - Alturas Equivalentes a um Prato Teórico e Velocidades de Gás de Arraste para coluna MeSi 25 m....	88

IV.9 - Alturas Equivalentes a um Prato Teórico e Velocidades de Gás de Arraste para coluna CBX 20M.....	89
IV.10 - Alturas Equivalentes a um Prato Teórico e Velocidades de Gás de Arraste para coluna OV-101.....	90
IV.11 - Alturas Equivalentes a um Prato Teórico e Velocidades de Gás de Arraste para coluna MeSi 12 m.....	91
IV.12 - Difusibilidades nas Fases de CHCl_3 e CHBr_3	92
IV.13 - Curva de Calibração para Metanol.....	95
IV.14 - Teor em Metanol do Vapor de MEG.....	99
IV.15 - Cromatograma de Teste do HP-5890.....	101
IV.16 - Comparação de GCAna com HP-3392A: Área do Primeiro Pico.....	102
IV.17 - Comparação de GCAna com HP-3392A: Área do Segundo Pico.....	102
IV.18 - Comparação de GCAna com HP-3392A: Área do Terceiro Pico.....	103
IV.19 - Comparação de GCAna com HP-3392A: Tempo de Retenção do Segundo Pico.....	103
IV.20 - Comparação de GCAna com HP-3392A: Tempo de Retenção do Terceiro Pico.....	104
VI.1 a VI.4 - Alocação Polinomial de Tempos de Retenção de Picos Gaussianos.....	118
VI.5 a VI.8 - Efeito de Filtros sobre Áreas de Picos Gaussianos com $w_b = 4,109$ s.....	119
VI.9 a VI.12 - Efeito de Filtros sobre Áreas de Picos Gaussianos com $w_b = 7,943$ s.....	120
VI.13 a VI.16 - Efeito de Filtros sobre Áreas de Picos Gaussianos com $w_b = 11,371$ s.....	121
VI.17 a VI.20 - Efeito de Filtros sobre Áreas de Picos Gaussianos com $w_b = 14,842$ s.....	122
VI.21 a VI.24 - Efeito de Filtros sobre Tempos de Retenção de Picos Gaussianos com $w_b = 4,109$ s.....	123
VI.25 a VI.28 - Efeito de Filtros sobre Tempos de Retenção de Picos Gaussianos com $w_b = 7,943$ s.....	124
VI.29 a VI.32 - Efeito de Filtros sobre Tempos de Retenção de Picos Gaussianos com $w_b = 11,371$ s.....	125

VI.33 a VI.36 - Efeito de Filtros sobre Tempos de Retenção de Picos Gaussianos com $w_b = 14,842$ s.....	126
VI.37 a VI.40 - Efeito de Filtros sobre Larguras de Picos Gaussianos com $w_b = 4,109$ s.....	127
VI.41 a VI.44 - Efeito de Filtros sobre Larguras de Picos Gaussianos com $w_b = 7,943$ s.....	128
VI.45 a VI.48 - Efeito de Filtros sobre Larguras de Picos Gaussianos com $w_b = 11,371$ s.....	129
VI.49 a VI.52 - Efeito de Filtros sobre Larguras de Picos Gaussianos com $w_b = 14,842$ s.....	130

RESUMO

Foram desenvolvidos programas para coleta e análise de cromatogramas digitalizados, para uso em microcomputadores compatíveis com a linha IBM-PC. Um programa (LECROM) faz a aquisição de dados, digitalizados por um conversor analógico-digital a 18,2044 pontos por segundo, e grava os dados coletados em disco. Este programa permite, em tempo real, filtrar os ruídos por média simples, e plotar o cromatograma em tela.

Os dados coletados são analisados pelo programa ANACROM. A detecção dos picos é feita por análise de derivadas; ela pode ser antecedida por filtragem de ruídos usando-se, opcionalmente ou sequencialmente, os filtros de Média Móvel e de Savitzky-Golay. Os tempos de retenção são calculados por regressão polinomial. Os parâmetros alocados pelo programa podem ser redefinidos. Os resultados (área, tempos de retenção e larguras de base dos picos) podem ser exportados para uso em planilhas eletrônicas. É possível imprimir os cromatogramas analisados.

O conjunto de programas foi depurado usando dados simulados e aplicado em análises reais, com resultados satisfatórios.

Foi desenvolvido um programa para calcular os coeficientes da equação de van Deemter. Este programa foi usado para otimizar as eficiências de colunas capilares para a separação de triálometanos, e estimar os seus coeficientes de difusibilidade nas fases estacionárias correspondentes.

ABSTRACT

A software package was developed to be used in IBM-PC compatible microcomputers for collection and analysis of digitized chromatograms. The data collection program, LECROM, performs the acquisition of data digitized by an analog-to-digital converter at a rate of 18.2044 points per second and records the data in disk. This program allows real time noise filtration using simple averaging. The chromatogram being acquired may be seen on the monitor screen.

The collected data are analyzed by the ANACROM program. This program permits noise filtration using two algorithms (moving average and Savitzky-Golay). Peak detection is performed by derivative analysis. Retention times are calculated using a polynomial regression. The parameters allocated by the software may be redefined. The calculated peak areas, retention times and base width may be exported for use in electronic spreadsheets. The analyzed chromatograms may be printed as hard-copies.

The software package was tested and improved with simulated chromatographic data and was satisfactorily used for real analysis.

A program that calculates the parameters of the van Deemter equation was also developed. It was used for optimization of the capillary column efficiency in the separation of trihalomethanes and to estimate the stationary phase diffusibility of these compounds.

1 - INTRODUÇÃO

A etapa final da análise cromatográfica é a obtenção de um cromatograma. O cromatograma é um registro do sinal cromatográfico em função do tempo, e só fornece dois parâmetros básicos para cada pico cromatográfico: a área e o tempo de retenção. A área é a integral do sinal cromatográfico durante o tempo de duração do pico. Portanto, ela é proporcional à quantidade de material eluído e constitui-se no parâmetro fundamental para análises quantitativas. O tempo de retenção, que é a posição do máximo do pico no eixo dos tempos em relação ao instante da injeção, é um parâmetro qualitativo. Desde que se otimize a separação cromatográfica, para não existir co-eluição, a área de cada pico é um dado unívoco, o que torna a análise cromatográfica quantitativa uma técnica extremamente confiável. O mesmo não é válido para o tempo de retenção, pois nada garante que compostos diferentes não possam ter tempos de retenção iguais. Estas considerações permitem definir o objetivo final da análise cromatográfica como sendo, a obtenção de dados quantitativos para a amostra analisada, a partir das áreas dos picos.

Nos primórdios da utilização da Cromatografia Gasosa, a análise dos cromatogramas era feita exclusivamente por métodos manuais. Com a evolução tecnológica, diferentes métodos e dispositivos para análise manual, mecânica ou eletrônica foram desenvolvidos para a apreciação dos cromatogramas. Todos estes métodos podem ser classificados em dois grupos. Num grupo estão os métodos manuais e mecânicos que são aplicados a cromatogramas registrados analógicamente; a confiabilidade destes métodos depende da qualidade do traçado (contínuo) dos cromatogramas. No segundo grupo estão os métodos computacionais automáticos, que não operam sobre o traçado de um registro analógico, mas sobre um conjunto de valores discretos da intensidade do sinal cromatográfico, que são coletados durante a corrida

cromatográfica. A confiabilidade destes métodos é dependente da qualidade destes sinais discretos.

1) Métodos que operam sobre o traçado analógico do cromatograma.

Estes métodos são fundamentalmente limitados pelas deformações que o registrador analógico pode impor ao sinal cromatográfico. A natureza e extensão de tais deformações será dependente de algumas características do registrador [49]. Três destas características, o Tempo de Resposta, a Sensibilidade e a Linearidade são comuns a todos os registradores. É conveniente discutir como elas afetam a qualidade dos cromatogramas.

- Tempo de Resposta: o mecanismo de acionamento da pena de um registrador, por melhor que seja, não responde instantaneamente a um sinal aplicado ao equipamento. Assim, existe um intervalo de tempo para a deflexão da pena, durante o qual podem ser perdidos detalhes importantes do sinal; isto pode ser crítico no caso de Cromatografia Gasosa com colunas capilares.

- Sensibilidade: a sensibilidade de um registrador analógico é definida como a menor variação no sinal de entrada que causa uma deflexão na pena. O valor ideal para a sensibilidade é referido como 0,1 % do fundo de escala [49]; uma sensibilidade maior que 0,5 % pode acarretar a perda de picos pequenos e outros detalhes importantes do sinal.

- Linearidade: a resposta de um registrador nunca é perfeitamente linear, constituindo-se numa fonte de erro [49].

Alguns métodos bastante utilizados para análise dos cromatogramas coletados por registradores analógicos são:

- Medida de Altura do Pico: é a técnica manual mais simples e rápida; consiste na suposição de que a quantidade de material correspondente a um pico é proporcional à sua altura, medida do máximo do pico à sua linha de base. A sua

aplicação principal é em cromatogramas com picos finos e de tempos de retenção próximos [10].

- Medida de Altura e Largura do Pico: a área do pico é calculada por:

$$A = h \cdot w_h$$

onde A é área do pico, h é sua altura máxima e w_h é a largura do pico medida à meia-altura. É o método manual mais difundido. Ele parte do princípio de que o pico cromatográfico pode ser aproximado por um triângulo isósceles. Existem modificações deste método em uso. A triangulação [10] substitui a medida da largura a meia altura pela largura de base, w_b :

$$A = 0,5 \cdot h \cdot w_b$$

A chamada aproximação trapezoidal de Condal-Bosch [13] usa medidas de largura do pico à 15 % da altura e a 85 % da altura para a medida da área:

$$A = 0,5 \cdot (w_{15x} + w_{85x}) \cdot h$$

A aproximação trapezoidal é usada para estimativas da área de picos deformados [13].

- Corte e pesagem: os picos são recortados do cromatograma e o papel é pesado. A área do pico é proporcional à massa da seção recortada. A exatidão e precisão deste método é altamente dependente da regularidade do papel, da habilidade manual do operador e do tamanho do pico [8]; é uma técnica mais precisa que os métodos manuais anteriormente citados [10], sendo referida como de precisão superior a 0,5 % [8].

- Integração Mecânica: este método está atualmente em declínio. Ele envolve o uso do planímetro, que é um dispositivo que mede áreas de figuras geométricas traçando o perímetro compreendido por elas: é trabalhoso e depende muito da habilidade manual do operador [13, 30]; além de depender do tamanho e forma do pico.

2) Métodos computacionais automáticos

No início da década de 60 surgiu uma alternativa poderosa para a análise de dados cromatográficos: o integrador eletrônico. Os primeiros integradores eletrônicos usavam circuitos analógicos para a detecção de picos, estabelecimento de suas linhas de base, tempos de retenção [49] e cálculo de suas áreas. Os tempos de retenção e áreas eram reportados de forma digital. Em 1971, surgiu o primeiro integrador eletrônico totalmente digitalizado; desde então, a capacidade de processamento de dados destes equipamentos tem aumentado sensivelmente, enquanto que o seu custo vem sofrendo uma contínua queda.

Os métodos de análise de dados cromatográficos baseados em integradores digitais apresentam duas grandes vantagens sobre os métodos que utilizam o traçado dos cromatogramas. Uma delas é a diminuição do tempo de operação, uma vantagem que é marcante na análise de cromatogramas complexos [40]. Além disso, eles constituem-se nos métodos mais confiáveis. A tabela 1.1 [30] compara a precisão e o tempo necessário para análise de 10 cromatogramas, usando diferentes métodos de análise de dados.

Tabela 1.1 - Comparação entre Métodos de Análise de Cromatogramas

<u>Método</u>	<u>Tempo para análise de 10 cromatogramas, min</u>	<u>Desvio padrão relativo</u>
Planímetro	45 a 60	4.06 %
Triangulação	45 a 60	4.06 %
$h \times w_h$	50 a 60	2.58 %
Corta & Pesa	100 a 200	1.74 %
Integrador	5 a 10	0.44 %

A primeira descrição de um sistema de análise de dados cromatográficos por computadores data de 1963 [24]. Devido às limitações de velocidade de processamento e capacidade de memória das máquinas então disponíveis, as aplicações

computacionais em cromatografia se limitavam à coleta de dados, estabelecimento de tempos de retenção e de áreas de picos. O custo elevado dos computadores da época também restringia a difusão dessas técnicas [38].

O desenvolvimento de tecnologias digitais em Cromatografia foi bastante lento, até surgirem os microprocessadores, na década de 70. Um dos primeiro deles, o Intel 4004, de 4 bits [55], surgiu em 1971; no ano seguinte a mesma empresa lançou o microprocessador Intel 8008, de 8 bits. Desde então, vários fabricantes tem lançado modelos cada vez mais poderosos. O resultado final desse processo foi a possibilidade de fabricarem-se computadores (no caso, microcomputadores) de dimensões, consumo de energia, confiabilidade, velocidade e custo bastante satisfatórios. Uma consequência deste desenvolvimento foi a popularização do uso de sistemas de análise de dados cromatográficos suportados por microcomputadores, que estão cada vez mais competindo com os integradores digitais.

Os sistemas de análise de dados cromatográficos por microcomputadores apresentam algumas vantagens sobre os que são baseados em integradores digitais. A mais importante delas é a mudança de hábitos do cromatografista, no que toca à análise de dados. Usando-se microcomputadores pode-se estocar os dados brutos (os sinais cromatográficos) para pós-processamento. Isto traz como benefício explorar profundamente o significado dos dados de um cromatograma, tornando menos trabalhosa e dispendiosa a prática comum de repetir-se os cromatogramas até que se consiga resultados satisfatórios. Outra vantagem do uso dos microcomputadores relaciona-se com o acesso aos programas e algoritmos de processamento dos dados. Embora ele seja limitado quando se usam pacotes comerciais que tem os programas na forma compilada, nada impede que se criem os próprios programas, ou que se procure um pacote comercial que possibilite a análise dos seus programas e algoritmos. Estas possibilidades são inexistentes com os integradores

digitais. Por outro lado, os fornecedores de pacotes comerciais tem interesse em fornecer atualizações, o que é outra impossibilidade nos integradores que tem o "software" gravado em memórias tipo EPROM ou ROM. Além disso, os microcomputadores atualmente disponíveis são mais baratos que um integrador digital.

OBJETIVOS DO TRABALHO:

O trabalho desenvolvido teve por objetivos:

1 - Desenvolvimento de um Sistema de Coleta e Análise de Dados Cromatográficos por Microcomputador

1.1 - Adaptar um conversor analógico-digital para coleta de dados cromatográficos por um microcomputador.

1.2 - Desenvolver software de coleta de dados cromatográficos com recursos de: acionamento do conversor analógico-digital usado no interfaceamento; coleta dos dados digitalizados e o seu armazenamento em dispositivos de memória de massa (disquetes ou discos rígidos)

1.3 - Desenvolver software para análise dos dados cromatográficos coletados com as seguintes características: ter, incorporadas, rotinas de filtragem digital de ruídos presentes nos dados coletados; fazer a detecção de picos cromatográficos, e calcular parâmetros cromatográficos como áreas, tempos de retenção e larguras dos picos detectados; possibilitar que o usuário interaja com o software, permitindo um melhor conhecimento dos dados coletados e um aproveitamento mais inteligente dos recursos disponíveis.

1.4 - Desenvolver software para cálculo de parâmetros cromatográficos com os resultados de análise dos dados obtidos.

2 - Estudos estruturais de sinais cromatográficos

2.1 - Estudar os efeitos da aplicação de filtros digitais sobre os dados cromatográficos analisados pelo software.

2.2 - Estudar a influência de características dos picos cromatográficos sobre os parâmetros calculados pelo programa.

3 - Aplicação do Sistema de Coleta e Análise de Dados Cromatográficos

3.1 - Análise dos vapores da mistura combustível metanol / etanol / gasolina: avaliar a exposição ocupacional a metanol em condições simuladas.

3.2 - Estudos preliminares para análise de triálometanos em águas: determinar a equação de van Deemter para colunas capilares usando triálometanos como substratos e calcular parâmetros físico-químicos como difusibilidade dos solutos na fase estacionária a partir das equações de van Deemter encontradas.

II - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Um sistema de aquisição e tratamento de dados cromatográficos por microcomputador deve ter os seguintes recursos básicos: conversão analógico-digital, armazenagem dos dados coletados e algoritmos para tratamento destes dados.

Os programas devem integrar as características operacionais do conversor analógico-digital com as necessidades da técnica analítica e com a capacidade de armazenagem e processamento de dados do microcomputador. São necessários programas que: 1) controlem a operação do "hardware", 2) que atenuem a influência dos ruídos sobre os sinais coletados e controlem a taxa de coleta de dados e 3) que determinem início, fim, tempo de retenção, área e, eventualmente, a largura a meia altura de cada pico cromatográfico.

Os programas devem ser testados para avaliação de suas confiabilidades, de preferência com sistemas de teste baseados em dados simulados. Assim avalia-se, sob condições controladas, como os programas e algoritmos poderão se comportar no processamento de dados reais. Na aplicação a dados reais podem ser necessárias novas modificações.

No desenvolvimento de um sistema de aquisição e tratamento de dados cromatográficos por computador é essencial um conhecimento bem fundamentado dos princípios de cromatografia e da estrutura dos sinais cromatográficos. A título de exemplo pode-se citar o trabalho com cromatogramas simulados para avaliação de programas que calculam início, fim, tempo de retenção e área de picos. O ideal é iniciar com um modelo matemático simples (que facilite as avaliações preliminares) e passar para os de complexidade crescente conforme os programas são melhor conhecidos, até se ter segurança para poder utilizar o melhor modelo cromatográfico. Esta tarefa exige uma boa compreensão dos

modelos cromatográficos, assim como da estrutura de dados cromatográficos.

Aqui serão discutidos os aspectos fundamentais do desenvolvimento de um sistema para coleta e tratamento de dados cromatográficos por microcomputador.

1 - Coleta de Dados

O sinal de saída de um sistema cromatográfico é de natureza analógica - uma variação contínua do sinal primário que é gerado pelo detector - que comumente se manifesta como uma variação de potencial elétrico. Tipicamente, este sinal é da ordem de 1 a 10 milivolts, com detetores de ionização em chama [7]. Este sinal analógico só pode ser tratado por um microcomputador se ele for convertido para sinal digitalizado. Os dispositivos que fazem esta conversão são genericamente denominados de conversores analógico-digitais, ADC's (Analogic-to-Digital Converters). Os sinais digitalizados são sequências de pontos discretos, cada qual proporcional ao sinal de entrada num determinado instante. Algumas das técnicas de digitalização mais importantes são:

1.1 - Digitalização Manual: a digitalização de um cromatograma coletado em um registrador potenciométrico, pode ser feita manualmente. Neste caso o conversor é o analista. A tarefa consiste em medir a amplitude do sinal em intervalos constantes e passar os dados para o computador via teclado. Esta é uma técnica primária, e impraticável para trabalhos de rotina, principalmente porque a digitalização manual de um cromatograma é muito mais trabalhosa e demorada do que a análise do mesmo pelos métodos usuais de medida de altura e largura de picos. Também existem as limitações da apreciação visual do cromatograma, que introduzem erros, e restringem a taxa de coleta (número de pontos tomados por unidade de tempo). Apesar de todas estas limitações, existem relatos na

literatura de aplicações específicas de análise de cromatogramas digitalizados manualmente [43].

1.2 - Mesas Digitalizadoras: a mesa digitalizadora é um dispositivo que aperfeiçoa as técnicas manuais. Ela é conectada ao computador, o cromatograma é depositado sobre ela, e um cursor ("mouse") é passado sobre o traçado do registrador. Em intervalos de tempo regulares um dado digitalizado é enviado para o computador. As mesas são mais rápidas e menos cansativas que a digitalização manual, mas dependem muito da habilidade do operador em fazer o cursor acompanhar o traçado.

1.3 - Conversores Eletrônicos: os equipamentos de conversão analógico-digital mais usados são os conversores analógico-digitais eletrônicos. Eles são dispositivos que conectam a saída analógica do sistema cromatográfico a uma entrada de dados do microcomputador. Estes conversores operam ciclicamente: em intervalos de tempo definidos, eles fazem a leitura do sinal proveniente do cromatógrafo, convertem em um dado digital e enviam ao microcomputador.

1.3.1 - Características Básicas de um ADC eletrônico: existem três características básicas do ADC que precisam ser conhecidas e, se possível, convenientemente controladas: a faixa de amplitude do sinal de entrada, a resolução e a taxa de coleta.

1.3.1.1 - Faixa de Amplitude do Sinal de Entrada: a amplitude do sinal de entrada da maioria dos ADC's está na faixa de alguns volts (0 a 1 ou 0 a 10 V). Ela deve ser compatível com a saída do sistema cromatográfico. Se a amplitude de saída for muito pequena em relação à de entrada do ADC, haverá perda de precisão na conversão; se for maior, picos cromatográficos altos poderão ser perdidos, por exceder a escala de conversão (o resultado é o mesmo de

picos fora de escala em registradores analógicos). O problema pode ser mais grave do que a perda de sinais, porque voltagens excessivas podem danificar o ADC. Os detectores mais usados em cromatografia são baseados em processos de ionização - o exemplo mais comum é o detector por ionização em chama (DIC). O sinal de saída destes detectores é usualmente bastante inferior à faixa de entrada dos ADC's comumente encontrados; assim, este sinal possivelmente necessitará de uma amplificação adicional [6]. Esta amplificação pode fazer parte da placa ADC, ou pode ser um dispositivo à parte; ela também pode ter o ganho variável manualmente, ou programável via software. Sistemas de amplificação com ganho programado por software [37] são bastante convenientes, especialmente se o sinal cromatográfico variar muito durante uma análise.

1.3.1.2 - Resolução: a resolução de um ADC é a relação entre o menor sinal e o maior sinal digital que ele gera. Assim, um conversor de 8 bits [33] tem resolução igual a $2^8 / 2^0$. São comuns sistemas cromatográficos com ADC's de resolução de 8 bits, 12 bits [23] (resolução de $1 / 4096$) e 16 bits [21, 44] (resolução de $1 / 65536$).

Quanto maior a faixa dinâmica de um ADC, menor é a possibilidade de perda de sinais analógicos intensos; os ADC's de maior precisão minimizam a perda de informação [37]. Sob este ponto de vista seria razoável procurar utilizar ADC's de grande precisão; contudo, existem outros fatores que podem levar à opção por resoluções inferiores às máximas disponíveis. Um deles é que, quanto maior a resolução, maior espaço em memória será ocupado pelos pontos digitalizados e mais lentos serão os cálculos que devem ser realizados com eles. Um outro aspecto limitante são os custos, que não variam linearmente com o aumento de resolução dos ADC's. Portanto, existe um compromisso entre estes fatores na escolha da resolução adequada.

1.3.1.3 - Taxa de Aquisição e Taxa de Coleta. No tratamento dos dados digitalizados por ADC's admite-se implicitamente uma suposição básica: que o valor digitalizado em um determinado instante representa o sinal original até que ocorra a aquisição do próximo valor digital. Por isto, um sinal analógico que aumenta constantemente, passa por um máximo e retorna ao valor inicial (um pico) tem sua representação digital na forma de um histograma. As alturas dos retângulos que formam o histograma são as intensidades dos sinais digitalizados; e as suas larguras representam o intervalo de tempo em que o sinal é considerado constante. Estes retângulos são comumente denominados de "fatias". A altura de uma fatia é tanto mais representativa da intensidade do sinal no correspondente intervalo de tempo se ela for a média de vários valores digitalizados. O conceito de fatia é muito útil para se entender a diferença entre taxa de aquisição e taxa de coleta.

Vários sistemas comerciais [23, 22] usam como pressuposto que qualquer pico cromatográfico pode ser bem definido por 20 fatias, o que leva à conclusão que as fatias são tanto mais largas quanto mais largo for o pico. Portanto, se a cada fração de segundo um dado é digitalizado, as fatias mais largas (dos picos mais largos) terão suas intensidades representadas por médias de maior número de pontos do que as fatias mais estreitas. O número de pontos convertidos pelo ADC por unidade de tempo é a taxa de conversão. A razão entre o número de pontos que compõe a média e a duração de cada fatia é a taxa de aquisição. A taxa de coleta corresponde ao número de fatias por unidade de tempo que são estocadas em memória para pós-processamento.

Da mesma forma que a resolução do ADC, a taxa de coleta mais adequada ao sistema é, em princípio, definida pelo compromisso entre procurar minimizar as perdas de informação que ocorrem com taxas muito baixas, evitar a ocupação

excessiva de memória e diminuir o tempo de processamento de dados. Em cromatografia, a taxa de coleta ótima se relaciona com a largura dos picos cromatográficos [7, 16, 50, 51]. Colunas capilares podem gerar picos muito estreitos, com larguras da ordem de alguns segundos, e exigem altas taxas de coleta. Com colunas empacotadas pode-se trabalhar com taxas de coleta bastante inferiores às usadas para as capilares. Existe controvérsia na literatura quanto aos valores adequados para as taxas de coleta. A tabela II.1 relaciona várias das sugestões encontradas para os números mínimos de pontos, e correspondentes taxas de coleta, necessários para boa definição de um pico gaussiano com largura a meia altura de 1 segundo.

Tabela II.1: Número mínimo de pontos coletados para análise de um pico gaussiano com $w_{0.5} = 1$ s e taxa de coleta necessária

<u>Número de Pontos</u>	<u>Taxa de Coleta, Hertz</u>	<u>Referência</u>
9	5,0	[6]
15	8,8	[53]
17	10,0	[50]
20	11,8	[17]
34	20,0	[16], [51]
40	23,6	[7]
85	50,0	[37]

No desenvolvimento do software de aquisição e filtragem dos dados digitalizados é necessário levar em consideração que a largura dos picos de um cromatograma tende a aumentar com o aumento dos tempos de retenção e que a taxa de coleta usada para os picos iniciais pode ser inadequada para os picos mais tardios, e vice-versa. Um recurso, comumente utilizado para contornar este problema é o de incluir no software recursos para diminuir a taxa de coleta conforme as

larguras dos picos detectados ultrapassam valores pré-definidos (denominados de janelas de tempo).

1.3.2 - Arquiteturas de ADC's: existem diversas arquiteturas de ADC's; os mais comumente usados em Cromatografia [6] são os conversores de dupla-rampa e os de aproximações sucessivas. Outras arquiteturas de ADC (rampa simples, conversores tensão-para-frequência) são utilizadas menos frequentemente [6].

1.3.2.1 - Conversores de Dupla Rampa: neste conversores o sinal de entrada alimenta, durante um intervalo fixo de tempo, um capacitor, o qual é, em seguida, descarregado em unidades discretas de carga, que são contadas. Este tipo de técnica é chamada de integradora: o sinal convertido é, na realidade, representativo da média sobre o intervalo de tempo de carga do capacitor; assim, o conversor atua como um pré-filtro de ruídos [29]. Existem relatos do uso de ADC de dupla rampa em Cromatografia, com taxa de conversão de 250 Hz [22].

1.3.2.2 - Conversores por Aproximações Sucessivas: nestes conversores a amplitude do sinal analógico de entrada é comparada com a saída de um DAC (Digital-to-Analogic Converter, conversor digital-analógico). Varia-se o dígito de entrada do DAC, até que a amplitude de sua saída se iguale à do sinal de entrada; o dígito de entrada do DAC é o sinal convertido [29]. Este tipo de conversor é mais rápido e barato que o de dupla rampa, porém, como não opera com base em técnica integradora, ele envia mais ruídos digitalizados para o computador que o de dupla rampa. Por seguir mais fielmente o sinal, deve-se ter o cuidado de implementar, no software de coleta e análise de dados, técnicas que permitam uma filtragem adequada do ruído [54].

2 - Simulação de Dados

Para o desenvolvimento e avaliação de software de tratamento de dados cromatográficos são necessários cromatogramas em que os parâmetros a serem estimados (tempos de retenção, áreas, etc.) sejam muito bem conhecidos. Assim, não é recomendável a utilização de dados reais no processo de desenvolvimento e depuração destes programas, já que nenhuma análise cromatográfica real está totalmente isenta de desvios experimentais. Portanto, a simulação de cromatogramas usando modelos matemáticos é imperativa.

Existe um grande número de funções que foram propostas como modelos para o processo de eluição cromatográfica [38]. Dentre elas, podem ser citadas:

2.1 - Função de Lorentz-Cauchy (ou Lorenziana) [1]: a função de Lorentz-Cauchy pode ser expressa pela equação:

$$Lz(t) = I_0 [a^2 + (t - t_0)^2]^{-1} \quad (\text{eq. 11.1})$$

onde a intensidade do sinal de um pico, $Lz(t)$, no instante t é função dos parâmetros de largura do pico a , de intensidade I_0 e do tempo do máximo do pico, t_0 . Cromatogramas com vários picos podem ser simulados como a soma de várias lorenzianas. Os picos gerados são simétricos em torno de t_0 . Conhecidos a , I_0 e t_0 de cada pico, calculam-se facilmente os valores das suas áreas e tempos de retenção, que podem ser comparados com os valores fornecidos pelos algoritmos de tratamento de dados.

2.2 - Função Gaussiana: em sistemas cromatográficos ideais, os picos eluídos são descritos pela função Gaussiana [20]. Uma das expressões para esta função é [3]:

$$G(x) = A \exp \left[-\frac{(x - x_0)^2}{2\sigma^2} \right] \quad (\text{eq. 11.2})$$

onde σ é o desvio padrão e x_0 é o ponto de máximo da função. Apesar dos sistemas cromatográficos reais sempre apresentarem desvios da idealidade, o que tornaria este

modelo de validade limitada [38], ele é a base da definição dos parâmetros cromatográficos.

2.3 - Função Gaussiana Exponencialmente Modificada (Exponentially Modified Gaussian, EMG): a função EMG é calculada por [15]:

$$h(t) = A \frac{\sigma}{\sqrt{2\pi}} \exp \left[\frac{1}{2} \left(\frac{\sigma}{\tau_b} \right)^2 - \left(\frac{t - t_0}{\tau_b} \right) \right] \cdot \int_{-\infty}^{Z/\sqrt{2}} \exp(-x) dx \quad (\text{eq. 11.3})$$

$$\text{sendo que: } Z = \frac{(t - t_0)}{\sigma} - \left(\frac{\sigma}{\tau_b} \right)$$

onde o sinal $h(t)$ do pico simulado no instante t é função do parâmetro de intensidade A , do desvio-padrão da gaussiana associada, da constante de decaimento exponencial e do máximo da gaussiana associada t_0 . A razão é denominada assimetria. Os picos gerados por esta função são assimétricos, apresentando "cauda". Esta "cauda" será tanto mais pronunciada quanto maior for a constante de decaimento exponencial associada ao pico. A EMG é considerada o mais bem fundamentado modelo matemático para picos cromatográficos assimétricos - segundo a literatura [14] mais de 90 % dos cromatogramas reais podem ter seus picos caracterizados por esta função.

O modelo usado para a fundamentação da EMG baseia-se na hipótese de que fatores extra- e intra-coluna distorcem o pico cromatográfico. Idealmente, o processo de separação cromatográfica de uma amostra infinitamente pequena geraria picos gaussianos. No entanto, a massa da amostra introduzida na coluna não é infinitesimal, nem os fenômenos de partição e adsorção responsáveis pela separação são termodinamicamente ideais [31]. Assim, a distribuição dos componentes da amostra na coluna não é perfeitamente gaussiana. Efeitos extra-coluna, tais como tempo finito de resposta de detetores, de amplificadores e de registradores [31, 32], o modo de injeção de amostra e os volumes mortos em conectores, detetores, etc. [27] também contribuem para a

assimetria do pico. É demonstrado na literatura que o resultado final de tais contribuições pode ser matematicamente expresso como a convolução da função gaussiana com outra função que descreva as distorções introduzidas [52]. A função EMG é resultante da convolução com uma função de decaimento exponencial, que descreve algumas das causas extra-coluna de assimetria de picos. No Apêndice 2, encontram-se cromatogramas simulados usando-se estas funções.

3 - Rotinas de Filtro Digital

O ruído de um sinal cromatográfico pode ser definido como todo componente deste sinal que não provém da resposta da amostra [6]. Os programas de análise de dados cromatográficos devem ser capazes de eliminar, ou atenuar, o ruído presente no sinal. Isto é feito pela incorporação, aos sistemas de tratamento de dados de rotinas que processam o sinal cromatográfico bruto de modo a aumentar a relação sinal/ruído. Tais rotinas são chamadas de filtros digitais.

3.1 - Características de Ruídos: na escolha do tipo de filtro digital, devem ser levadas em conta as características do ruído a ser eliminado. A escolha de um filtro inadequado pode levar a distorções no sinal cromatográfico [9]. Os ruídos podem ser classificados em dois grupos fundamentais:

3.1.1 - Ruído Branco: consiste em ruído que não pode ser reduzido a componentes individuais de frequência definida; também é chamado de aleatório. Os principais componentes de ruído aleatório em sistemas cromatográficos são as impurezas dos gases e fases estacionárias, os pulsos da corrente elétrica de alimentação e partículas que contaminam os detectores [38]. Por ser aleatório, o ruído branco é descrito por uma distribuição gaussiana em torno de um valor médio de intensidade e frequência.

3.1.2 - Interferência: é o ruído que pode ser reduzido a um ou mais componentes de frequência definida. Um exemplo típico de interferência é a corrente alternada de alimentação de frequência de 60 Hz; outras fontes são emissões de radiofrequência captadas pelos sistemas de amplificação, transformadores de alta voltagem e emissão de radiação eletromagnética do computador [38]. Este tipo de ruído é filtrado do sinal bruto exatamente porque a sua frequência pode ser conhecida.

3.2 - Algoritmos de Tratamento de Ruídos: existem, na literatura, diversos algoritmos descritos para a filtragem de ruído de sinais cromatográficos [2]. Para a filtragem de ruído aleatório, os mais difundidos são:

3.2.1 - Média Simples: cada dado coletado é a média de dados convertidos pelo ADC a taxas maiores que a taxa de coleta necessária para o sistema [38]. Como o ruído é de natureza aleatória, durante o processo de média ele tende a se cancelar, aumentando a relação sinal/ruído. Este filtro é muito rápido e geralmente é aplicado durante o processo de coleta dos dados. Ele é bastante efetivo na redução de ruído aleatório; no entanto, pode distorcer o sinal [9]. Além de atuar como filtro, a média simples reflete sobre a representatividade da fatia coletada (vide 1.3.1.3 - Taxa de Conversão e Taxa de Coleta).

3.2.2 - Média Móvel: cada fatia é substituída por uma média calculada usando ela própria, algumas fatias coletadas anteriormente e um número igual de fatias coletadas posteriormente. É um filtro bastante rápido e efetivo, não reduzindo a taxa de coleta final; reportam-se reduções entre 70,2 % e 82,5 % no ruído em cromatogramas simulados [9]. No entanto, a janela de convolução (número de fatias usadas para calcular a média) deve ser criteriosamente escolhida; janelas muito largas são bastante efetivas na redução de

ruídos, mas distorcem fortemente o sinal cromatográfico, principalmente se os picos forem deformados. Para janelas de convolução de 25 fatias, foram observados erros relativos de até 1,5 % no tempo de retenção e 13 % nas larguras de picos assimétricos após a aplicação do filtro digital [9].

3.2.3 - Filtro de Mínimos Quadrados Parciais: cada fatia é substituído por um valor calculado a partir de um polinômio que descreve o comportamento do sinal em torno desta fatia. O polinômio é determinado pelo método dos mínimos quadrados, usando a fatia a ser tratada e algumas fatias em torno dela. Savitzky e Golay [48] desenvolveram um procedimento que usa coeficientes numéricos (pré-calculados) para simplificar o processo de determinação do polinômio. Estas rotinas, conhecidas como filtros de Savitzky-Golay são muito mais rápidas do que tratar cada fatia por mínimos quadrados.

Os filtros de mínimos quadrados introduzem menos distorção no sinal tratado (erros relativos de 0,5 % no tempo de retenção e 0,2 % no desvio padrão de picos assimétricos) que a média móvel; no entanto, são menos efetivos na redução de ruídos [9]. Além da dimensão da janela usada, o grau do polinômio usado também deve ser otimizado em função das características dos picos presentes, de modo a combinar um mínimo de distorção do sinal com eficiência na redução de ruídos.

3.3 - Simulação de Ruídos: assim como a depuração de programas de análise de cromatogramas exige cromatogramas simulados, o desenvolvimento de rotinas de filtragem digital necessita de cromatogramas com nível de ruído conhecido, para que a eficiência do filtro seja corretamente avaliada. A simulação de ruído aleatório pode ser feita com facilidade utilizando-se de uma linguagem de programação que tenha funções residentes geradoras de sequências aleatórias de números.

4 - Análise de Dados Cromatográficos: Detecção de Início e Fim de Picos

A maioria dos programas de análise de dados cromatográficos detecta os picos pela análise de derivadas do sinal [38]. Para qualquer forma de pico, a primeira derivada torna-se positiva no seu início, passa por máximos nos pontos de inflexão, troca de sinal no máximo do pico e volta a ser zero no seu final. A segunda derivada é zerada nos pontos de inflexão do pico e é minimizada no máximo de amplitude do pico. Portanto, a variação da primeira derivada pode ser usada para detectar o início de um pico, e o comportamento da segunda derivada pode ser usado para confirmar se se trata de um pico e não de uma deriva de sinal, porque esta tem a primeira derivada constante e a segunda derivada nula.

As diferenças entre métodos de detecção de picos se referem principalmente ao algoritmo usado para o cálculo das derivadas. Um método extremamente rápido pode ser usado quando a taxa de coleta é constante. Neste caso a derivada é substituída pela diferença entre a amplitude do sinal digitalizado e a do sinal anterior [22]. O algoritmo de filtragem de Savitzky-Golay [48] também permite o cálculo de derivadas dos sinais.

No cálculo das derivadas dos sinais deve-se ter muito cuidado com os efeitos do ruído sobre as derivadas. Os ruídos são variações rápidas e os que não são filtrados, ou podem ser interpretados como picos, ou podem truncar a detecção de um pico quando surgem dentro dele. A adoção de um limite mínimo ("slope sensitivity") para que uma alteração do valor das derivadas seja considerada pelo algoritmo como pico detectado é bastante utilizada [22, 37].

Um outro aspecto crítico é o da detecção do final do pico. Picos cromatográficos são, via de regra, assimétricos, e esta assimetria geralmente se manifesta como cauda. Assim, quando as caudas estão terminando, o valor das derivadas

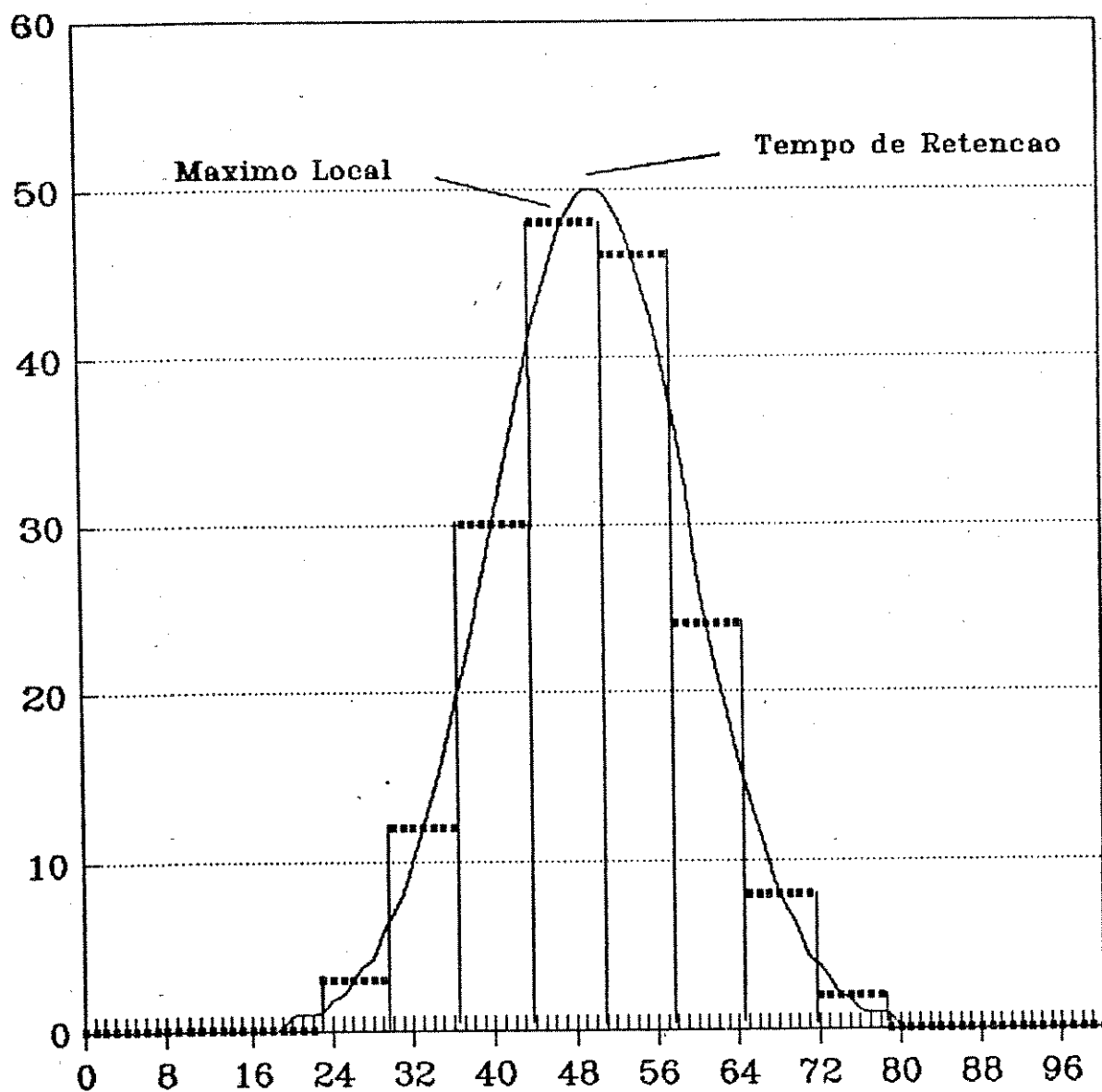
varia suavemente, comprometendo a sensibilidade da detecção do final do pico e tornando o mesmo excessivamente largo. Alguns algoritmos [22] consideram um pico encerrado quando, decorrido um intervalo de tempo após o seu máximo, os valores das derivadas não indicarem o final do pico; esta metodologia também pode levar a problemas similares. Aparentemente, a melhor alternativa seria a possibilidade de redefinição pelo usuário de parâmetros previamente calculados, tendo o software possibilidade de interagir com o usuário.

5 - Análise de Dados Cromatográficos: Alocação dos Tempos de Retenção

Uma primeira aproximação para o tempo de retenção de um pico cromatográfico digitalizado é o instante correspondente ao sinal de maior amplitude do pico, que denominamos de máximo local. Este procedimento é bastante aplicado em programas que fazem a análise dos dados simultaneamente à sua aquisição (análise em tempo real) [16, 37].

O uso do máximo local como tempo de retenção impõe uma restrição importante: a exatidão do tempo de retenção é limitada pela taxa de coleta, pois o sinal de maior amplitude é perdido quando ele ocorre no intervalo entre duas leituras consecutivas. Este problema é crítico quando os dados são coletados com taxas pequenas (por exemplo, cromatografia com colunas empacotadas), ou então em picos assimétricos. Na figura 11.1 está representado que considerar o tempo de retenção igual ao instante do máximo local pode ser uma fonte de erro caso o pico seja assimétrico ou assimetricamente digitalizado. Uma forma mais adequada de localizar o tempo de retenção é a que considere a os sinais que descrevem o perfil do pico cromatográfico, com uma regressão polinomial em torno do máximo local. Estimam-se os coeficientes de um polinômio em torno

Figura II.1



do máximo local, usando-se o método dos mínimos quadrados e atribui-se como tempo de retenção a projeção do máximo do polinômio no eixo dos tempos [26]. O grau do polinômio e o número de fatias (janela de regressão) usados para definir o polinômio, são parâmetros que devem ser ajustados de acordo com a forma e a largura do pico. É reportado o uso de polinômios de 2ª grau com janelas de regressão de 3 a 55 fatias [39], embora polinômios de 3ª a 5ª grau e "splines" cúbicos também possam ser utilizados [26].

Já foram propostos métodos mais complexos de determinação de tempos de retenção, como os baseados na análise dos momentos cromatográficos, ou no ajuste dos picos por modelos matemáticos mais complexos que os polinômios [38]. Estes métodos tendem a provocar ocupação excessiva de memória e exigir excessivo tempo de processamento. Além disso, eles são demasiadamente sensíveis ao ruído e sujeitos a erros devido à má-alocação de parâmetros dos picos [38].

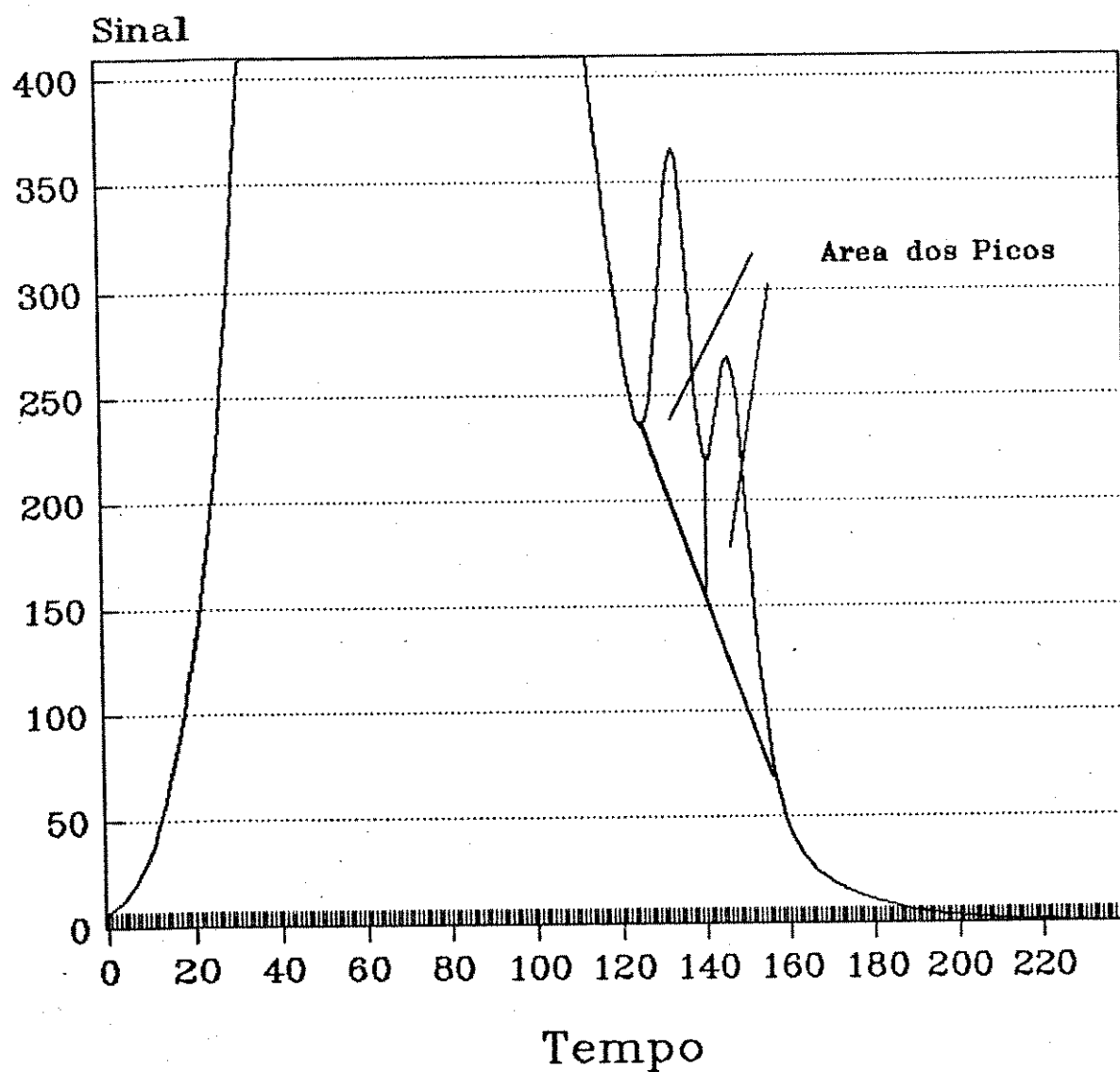
6 - Análise de Dados Cromatográficos : Cálculo de Áreas de Picos

Muitos algoritmos calculam as áreas dos picos como sendo o somatório das fatias entre o início e o fim dos mesmos [22, 37]. Este método tem a vantagem de ser simples e rápido. No entanto, ele tem limitações para o tratamento de picos sobrepostos, podendo resultar em erros bastante significativos, que serão tanto maiores quanto maiores as assimetrias dos picos e as diferenças entre as suas áreas.

Um método adequado para a quantificação de picos sobrepostos é o de "tangent skimming" [38] (vide figura II.2). Outra alternativa é a deconvolução numérica. Para tal, vários modelos matemáticos para formas dos picos têm sido usados [1], assim como diversas técnicas de deconvolução, como a regressão não-linear [1], a análise multivariada [43] e outras.

Figura II.2

"Tangent Skimming"



7 - Otimização da Eficiência Cromatográfica: a Equação de van Deemter

A equação de van Deemter [42] correlaciona a altura equivalente a um prato teórico, h , com a velocidade linear do gás de arraste u :

$$h = A + (B / u) + (C \cdot u) \quad (\text{eq. II.4})$$

onde A , B e C são constantes relacionadas às características físico-químicas da coluna e do soluto estudado. É necessário o conhecimento dos parâmetros desta equação para calcular a velocidade linear do gás de arraste que fornece a máxima eficiência (ou seja, que minimiza a altura equivalente a um prato teórico) do sistema cromatográfico, u_{max} :

$$u_{\text{max}} = (B / C)^{1/2} \quad (\text{eq. II.5})$$

O termo A relaciona-se com o alargamento do pico devido aos múltiplos caminhos que as moléculas dos solutos podem tomar na coluna; ele não tem significado físico para colunas capilares.

A contribuição da difusão longitudinal do soluto na fase gasosa é correlacionada ao termo B . Para colunas capilares [41], este termo é dado por:

$$B = 2 D_g \quad (\text{eq. II.6})$$

onde D_g é o coeficiente de difusibilidade do soluto na fase gasosa.

O termo C representa a resistência à transferência de massa entre as fases móvel e estacionária; ele pode ser desdobrado em dois termos independentes:

$$C = C_1 + C_2 \quad (\text{eq. II.7})$$

sendo C_1 e C_2 , respectivamente, representativos da resistência à transferência de fase das fases estacionária e móvel. Para colunas capilares, eles podem ser calculados por [41]:

$$C_1 = k^2 r^2 [6 K_d^2 D_l (1 + k)^2]^{-1} \quad (\text{eq. II.8})$$

$$C_2 = r^2 (1 + 6k + 11k^2) [24 D_g (1 + k)^2]^{-1} \quad (\text{eq. II.9})$$

onde r é o raio interno da coluna, D_l é o coeficiente de difusibilidade do soluto na fase líquida, k é a razão de

distribuição de massas, e K_d o coeficiente de distribuição. Estes dois últimos podem ser calculados por [41] :

$$k = (t_r - t_m) / t_m \quad (\text{eq. II.10})$$

$$K_d = k (r - d_p)^2 / (2rd_p - d_p^2) \quad (\text{eq. II.11})$$

sendo d_p a espessura do filme de fase estacionária da coluna estudada e t_m o tempo de retenção de um composto não retido ("gas hold-up time").

As equações acima mostram que, conhecidos os coeficientes da equação de van Deemter e algumas características da coluna (raio interno e espessura de filme da fase estacionária), parâmetros como as difusibilidades do soluto nas fases podem ser facilmente estimáveis. Portanto, a determinação da equação de van Deemter por métodos numéricos (a partir de várias h , obtidos com diferentes velocidades de gás de arraste), pode permitir o estudo de parâmetros cromatográficos contidos nela, além de possibilitar estabelecer as condições de eficiência máxima para um soluto numa coluna, sob determinadas condições cromatográficas.

III - MATERIAIS E MÉTODOS

1 - Materiais Empregados

1.1 - Hardware:

- Microcomputador XT-2002 (Microtec Sistemas S.A.; R.Stela, 515 - São Paulo, SP) com 512 Kb de memória RAM, 4,77 MHz, monitor CGA, dois drivers para discos flexíveis de 5 e 1/4 pol., disco rígido de 30 Mb e monitor monocromático. Compatível com a linha IBM-PC.

- Microcomputador XT-2800 (Dicom Eletrônica Ltda.; R.Domingos Casotti, 176 - Campinas, SP), com 640 Kb de memória RAM, 10 MHz, monitor EGA, coprocessador aritmético, um driver para discos flexíveis de 5 e 1/4 pol., disco rígido de 30 Mb e monitor monocromático. Compatível com a linha IBM-PC.

- Conversor Analógico-Digital e Digital-Analógico Data Acquisition and Control Adapter, DACA (IBM Corp., Boca Raton, FL, EUA), 12 bits de resolução, sistema de aproximações sucessivas, 4 canais AD, taxa de conversão de 15 KHz.

1.2 - Software:

- Compilador Turbo Pascal versão 4.0 (Borland Corp.; Scotts Valley, CA, USA).

- Pacote de Rotinas Matemáticas Turbo Pascal Numerical Toolbox (Borland Corp.).

1.3 - Aparelhos e Colunas Cromatográficas:

- Cromatógrafo Gasoso HP-5890A (Hewlett-Packard Co.; Avondale, PA, USA), com detetor por ionização em chama.

- Cromatógrafo Gasoso PU-104 (Pye-Unicam Ltd.; Cambridge, Inglaterra), com detetor por ionização em chama.

- Integrador Digital HP-3392A (Hewlett-Packard Co.).

- Colunas:

- 1) Capilar de Metil Silicone entrecruzada sobre sílica fundida (Hewlett-Packard Co.); filme de 0,33 microns, diâmetro interno de 0,20 mm, 12 m de comprimento.
- 2) Capilar de Metil Silicone entrecruzada sobre sílica fundida (Scientific Glass Engineering; Victoria, Australia); filme de 0,25 microns, diâmetro interno de 0,22 mm, 25 m de comprimento.
- 3) Capilar de Carbowax 20M sobre sílica fundida (Hewlett-Packard Co.); filme de 0,10 microns, diâmetro interno de 0,20 mm, 25 m de comprimento.
- 4) Capilar de OV-101 sobre vidro (Cia. Ind. Souza Cruz; Rio de Janeiro, RJ); espessura de filme não disponível, diâmetro interno de 0,25 mm, 16,1 m de comprimento.
- 5) Empacotada de Metil Silicone a 3 % sobre Diatomite C 60-80 mesh; diâmetro interno de 22 mm, 1,5 m de comprimento, em vidro.
- 6) Empacotada de Carbowax 20M a 3 % sobre Supelcoport 80-100 mesh; diâmetro interno de 3 mm, 1,8 m de comprimento, sobre aço inox.

1.4 - Reagentes

- Clorofórmio p.a. (Quimibrás Ind.Com.; Rio de Janeiro, RJ).
- Bromofórmio p.a. (Quimibrás Ind.Com.; Rio de Janeiro, RJ).
- Tolueno p.a. (Montedison Farmacêutica; Duque de Caxias, RJ).
- Metanol p.a. (Cetus Ind.Com. de Prod.Quím.; São Paulo, SP).
- Etanol Absoluto p.a. (Merck A.G., Darmstadt, RFA).
- Mistura de Hidrocarbonetos (faixa de destilação 90°C a 110°C), isenta de benzeno. Preparada na Planta Piloto do IQ-UNICAMP.

2 - Software Desenvolvido

Foram desenvolvidos três grupos de programas, para: i) Coleta de Dados - programa LECROM, ii) Análise de Dados - programa ANACROM e iii) Simulação de Cromatogramas - programas GAUSSIAN, MLRZ3, EMG2 e RUIDO. Também foi feito um programa que determina a equação de Van Deemter para sistemas cromatográficos (VDEEMTER). O software de aquisição e análise foi depurado usando cromatogramas simulados. Os dados obtidos com os programas de aquisição e análise foram usados nas determinações de curvas de Van Deemter para várias colunas capilares. Todos os programas foram escritos em Pascal, usando-se o compilador Turbo Pascal.

O Compilador Turbo Pascal

O Pascal é uma das linguagens de alto nível de uso geral muito difundido. Desde seu desenvolvimento, no começo da década de 60, apareceram diversos compiladores e versões, como o UCSD Pascal, Quick Pascal e o Turbo Pascal. Uma das características que levou à opção pelo Pascal para IBM-PC é a facilidade de estruturação lógica dos programas, em blocos de sub-rotinas. Ela torna o uso do compilador Turbo Pascal bastante vantajoso, já que este compilador é acompanhado de pacotes de rotinas, denominadas de "Toolboxes", que podem ser facilmente introduzidas em programas. Além disso, existe farta literatura [36, 47] descrevendo rotinas de uso geral para Turbo Pascal.

2.1 - Programas de Simulação de Dados

Foram escritos programas que simulam cromatogramas usando três modelos matemáticos: programa GAUSSIAN (usa a função Gaussiana), programa MLRZ3 (função de Lorenz-Cauchy) e programa EMG2 (Gaussiana Exponencialmente Modificada, EMG). Os programas geram as fatias a 18,2044 fatias por segundo (que é igual à taxa de coleta usada no programa de aquisição de dados) e resolução igual à do ADC utilizado

neste trabalho ($1 / 2^{12}$, ou $1 / 4096$ - correspondente a uma faixa dinamica linear na qual os sinais cromatográficos podem variar entre 0 e 4095). Os cromatogramas simulados são gravados em disco como vetores de números inteiros. Associados a estes programas de simulação, foram feitos os programas MAXEMG, que calcula o tempo de retenção esperado para um pico simulado por EMG, e RUIDO, que impõe níveis conhecidos de ruído aleatório a cromatogramas digitalizados. Os programas MLRZ3 e EMG2 foram usados na depuração do software de análise de dados; o programa GAUSSIAN, na avaliação final.

2.1.1 - Programa GAUSSIAN: gera cromatogramas simulados com duração de até 9 min 9s, ou seja, constituídos de 10.000 fatias, devido à taxa de coleta de 18,2044 fatias por segundo. O programa permite até 10 picos gaussianos. O usuário deve atribuir a certas variáveis do programa os valores de alguns parâmetros. Os parâmetros e variáveis são: a duração do cromatograma em segundos, definido com a variável TEMPOTOTAL, o número de picos desejados, com a variável NPICOS, os parâmetros característicos de cada pico, desvio padrão e tempo de retenção, com as variáveis SIGMA e TEMPO DE RETENÇÃO. Para cada pico, o programa calcula a altura de cada fatia através da equação

$$\text{VALOR} = A * (\exp((T - \text{TEMPO DE RETENÇÃO})^2 / (2 * \text{SIGMA}^2)))$$

onde VALOR é uma variável que assume o valor obtido pela expressão, que é uma das formas da função gaussiana. Na expressão acima, T é o tempo correspondente a cada fatia. A constante A (típica de cada pico) é um fator multiplicativo que, conjuntamente com SIGMA, permite gerar picos de tamanhos diferentes. Como este cálculo é realizado para cada pico, o programa gera "cromatogramas individuais por pico" (na realidade conjuntos de fatias) entre zero e TEMPOTOTAL. Finalmente, os "cromatogramas individuais" são somados para gerar o cromatograma final. A intensidade do sinal para cada uma das fatias do cromatograma final simulado é a soma das

intensidades de sinal previamente calculadas, para esta fatia, em cada um dos picos.

Terminado o cálculo para todas fatias, é adicionada uma linha de base paralela ao eixo dos tempos, isto é, de valor constante do início ao fim do cromatograma. Caso alguma fatia gerada tenha valor maior que 4095, ela é redefinida como sendo igual a 4095; desta forma mantém-se todos os dados simulados dentro da faixa dinâmica correspondente à resolução de $1 / 2^{12}$. Finalmente, o vetor gerado é gravado em disco rígido ou disquete.

A figura III.1 representa o diagrama de blocos deste programa.

2.1.2 - Programa MLRZ3: simula cromatogramas usando a função de Lorenz-Cauchy. A estrutura deste programa é idêntica à do programa GAUSSIAN; o usuário fornece os parâmetros: I_0 (parâmetro de intensidade), A (de largura) e o tempo de retenção, T_R , de cada pico. A variável VALOR, que tem finalidade idêntica à sua homônima do programa GAUSSIAN, é dada por:

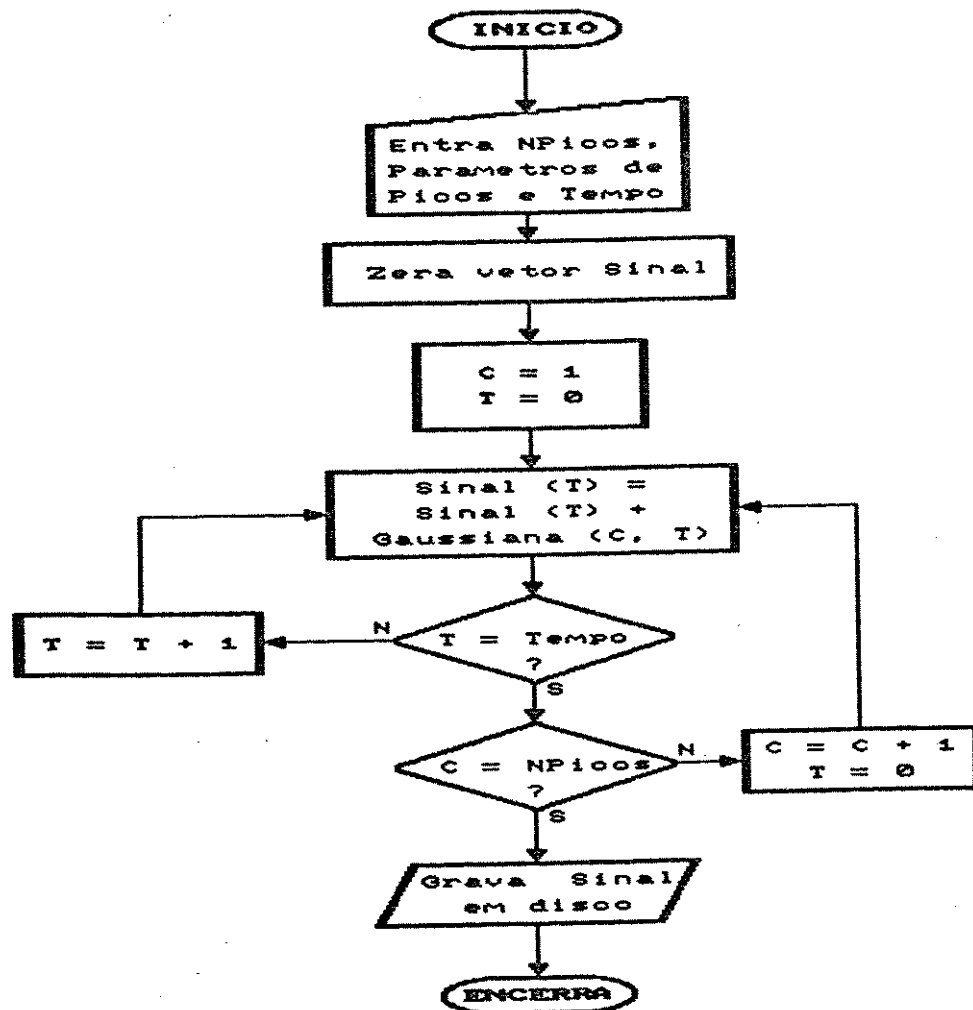
$$VALOR = I_0 * (A^2 + (T - T_R)^2)^{-1}$$

onde T tem o mesmo significado que no programa anterior.

2.1.3 - Programa EMG2: usa a função Gaussiana Exponencialmente Modificada para gerar o cromatograma. Existem algumas características da função que tornam esta simulação mais complicada. Primeiramente, a integral definida que faz parte da função (vide **Fundamentação Teórica**, seção 2.3) não tem solução analítica, sendo necessários métodos numéricos para seu cálculo. Além disso, durante etapas intermediárias da computação, algumas variáveis podem assumir valores altos ou pequenos demais, levando a erros por truncamento ou condições de "overflow".

Para cada pico, devem ser fornecidos um parâmetro de intensidade, A, o máximo da gaussiana associada ao pico, TEMPOG, o desvio padrão da gaussiana associada, SIGMA, e uma

FIG. III.1
Programa GAUSSIAN



constante de decaimento exponencial, TAU. A função EMG é desdobrada em 3 termos:

$$H = PE * E * I ,$$

onde H é a intensidade de sinal.

PE é um fator pré-exponencial computado como:

$$PE = A * (SIGMA / TAU) * (2 * PI)^{1/2} .$$

E é um fator exponencial, calculado por:

$$E = \exp \left((0,5 * (SIGMA / TAU)^2) - ((T - TEMPOG) / TAU) \right) ,$$

sendo T definido como nos programas anteriores.

I é a parte integral da função. Foi utilizada uma aproximação polinomial da literatura [15] para esta integral, dada pelas equações abaixo:

$$I = NF * PQ \quad (\text{para } Z < 0)$$

ou

$$I = 1 - (NF * PQ) \quad (\text{para } Z \geq 0),$$

sendo que:

$$Z = ((T - TEMPOG) / SIGMA) - (SIGMA / TAU) ,$$

$$NF = \exp \left((-Z^2 / 2) / (2 * PI)^{1/2} \right) ,$$

$$PQ = Q * (B1 + Q * (B2 + Q * (B3 + Q * (B4 + (Q * B5))))),$$

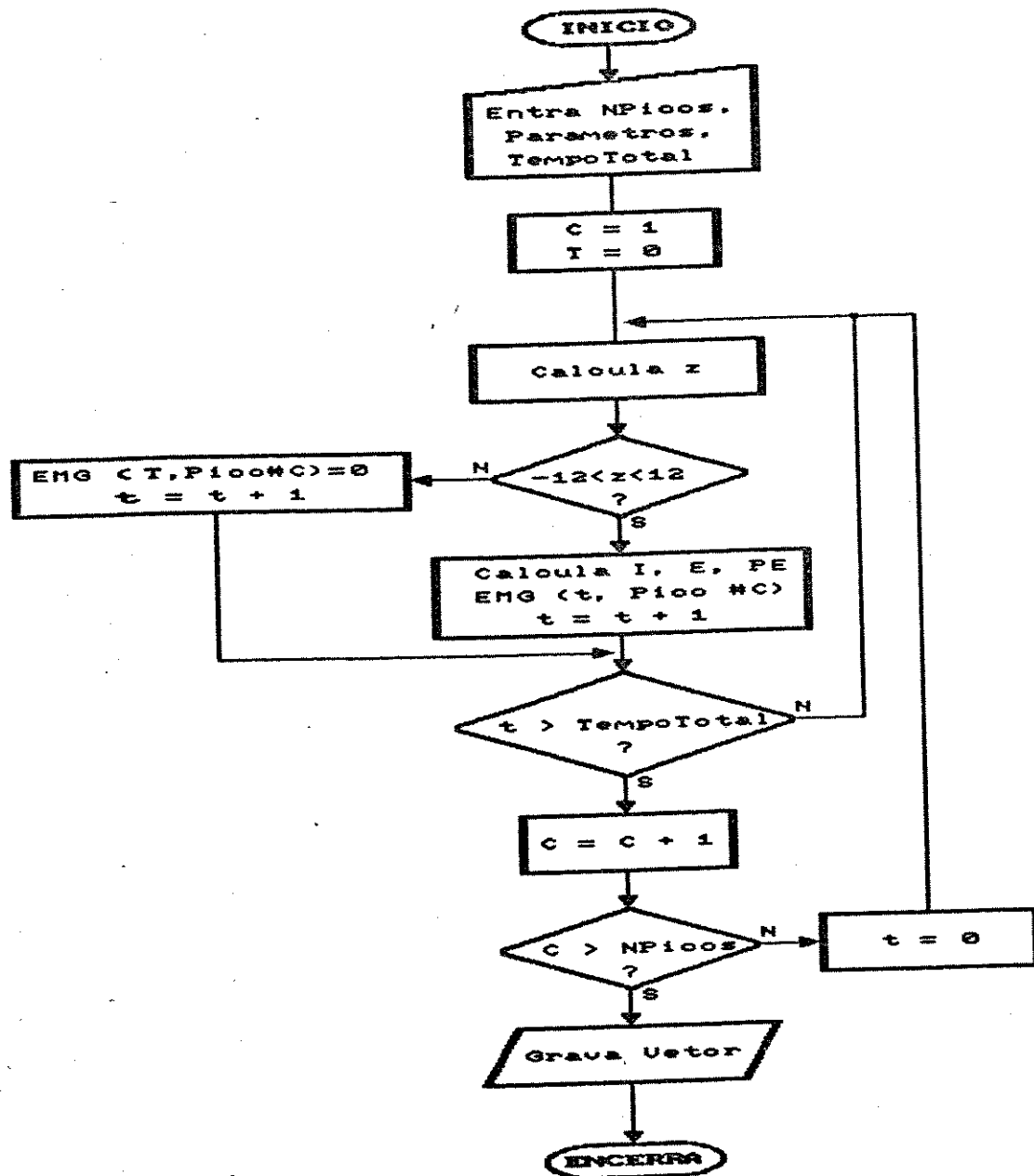
$$Q = (1 + (P * |Z|)) .$$

As constantes P, B1, ..., B5 são fornecidas na referencia citada. Para evitar "overflow" nos passos intermediários, a função é calculada apenas no intervalo tal que $(-13 < Z < 13)$; fora deste intervalo, aproxima-se $H = 0$. São usados os tipos numéricos mais precisos (precisão dupla), para minimizar os erros de truncamento.

Um diagrama de blocos para este programa é apresentado na figura III.2.

2.1.4 - Programa MAXEMG: para que os cromatogramas simulados por EMG pudessem ser usados na avaliação do software de análise de dados, os tempos de retenção dos picos deveriam ser conhecidos. Este programa, dados os parâmetros característicos de um pico gerado por EMG (SIGMA, TAU), calcula a variável DESLOC, que é a diferença entre os tempo de retenção do pico gerado pela função EMG e da gaussiana associada a este pico.

FIG. III.2
Programa EMG2



Pode-se mostrar [39] que a integral entre zero e infinito da função:

$$F = (\text{DESLOC}-X) * \exp(-(\text{DESLOC}-X)^2/(2*\text{SIGMA}^2)) * \exp(-X/\text{TAU})$$

(sendo X uma variável de integração) é nula. Calcula-se a integral da função acima usando a rotina de integração numérica "Adaptive_Gauss_Quadrature" do pacote matemático Turbo Pascal Numerical Methods Toolbox; este subprograma é baseado no método de integração numérico da Quadratura de Gauss, que é referido como um dos melhores e mais rápidos para funções complicadas [28]. O programa computa o valor de DESLOC iterativamente, até que a integral citada seja menor que 10^{-14} ; DESLOC é estimado até a 8ª casa decimal, que é mais do que suficiente para nossos propósitos.

2.1.5 - Programa RUIDO: este programa impõe níveis conhecidos de ruído aleatório a cromatogramas digitalizados. Ele faz uso da função "Random" do compilador Turbo Pascal, um gerador de números aleatórios. Dado um número real X, Random(X) tem por resultado outro número real qualquer entre 0 e X.

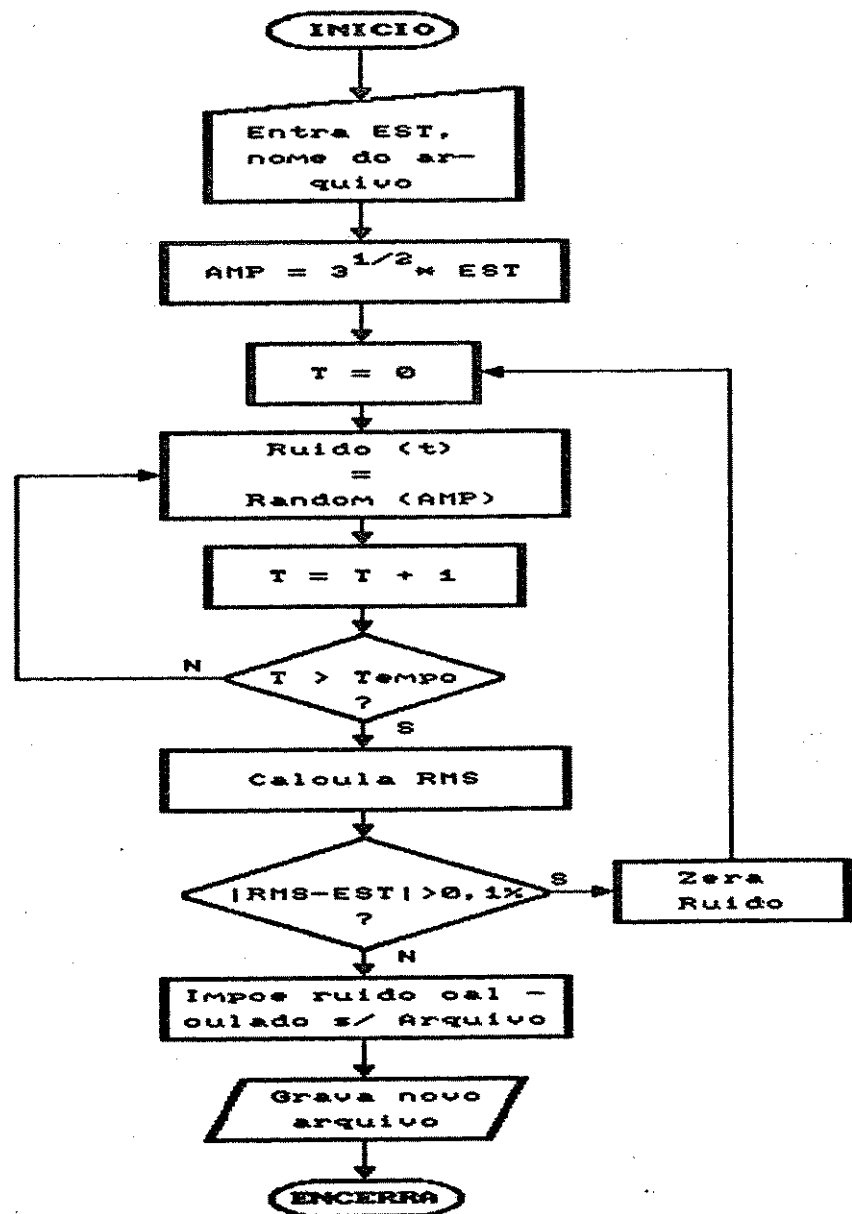
O usuário informa o nível de ruído quadrático médio desejado (EST) em mV. A seguir, o programa calcula o valor de uma variável denominada ANPLITUDE, segundo a seguinte equação:

$$\text{ANPLITUDE} = 3^{1/2} * \text{EST}$$

Observou-se que, se for gerada uma série de números aleatórios usando como argumento da função Random a variável ANPLITUDE calculada da forma acima indicada, a média quadrática dos valores gerados é próxima ao parâmetro EST.

Os números aleatórios são gerados até que resulte um conjunto de valores que, imposto ao cromatograma, forneça o nível de ruído desejado; a tolerância é de $\pm 0,1\%$. Como os dados originais não são destruídos, tanto o cromatograma com ruído como o cromatograma original são disponíveis para comparação. Este programa está esquematizado na figura III.3.

FIG. III.3
Programa RUIDO



2.2 - Coleta de Dados: LECROM

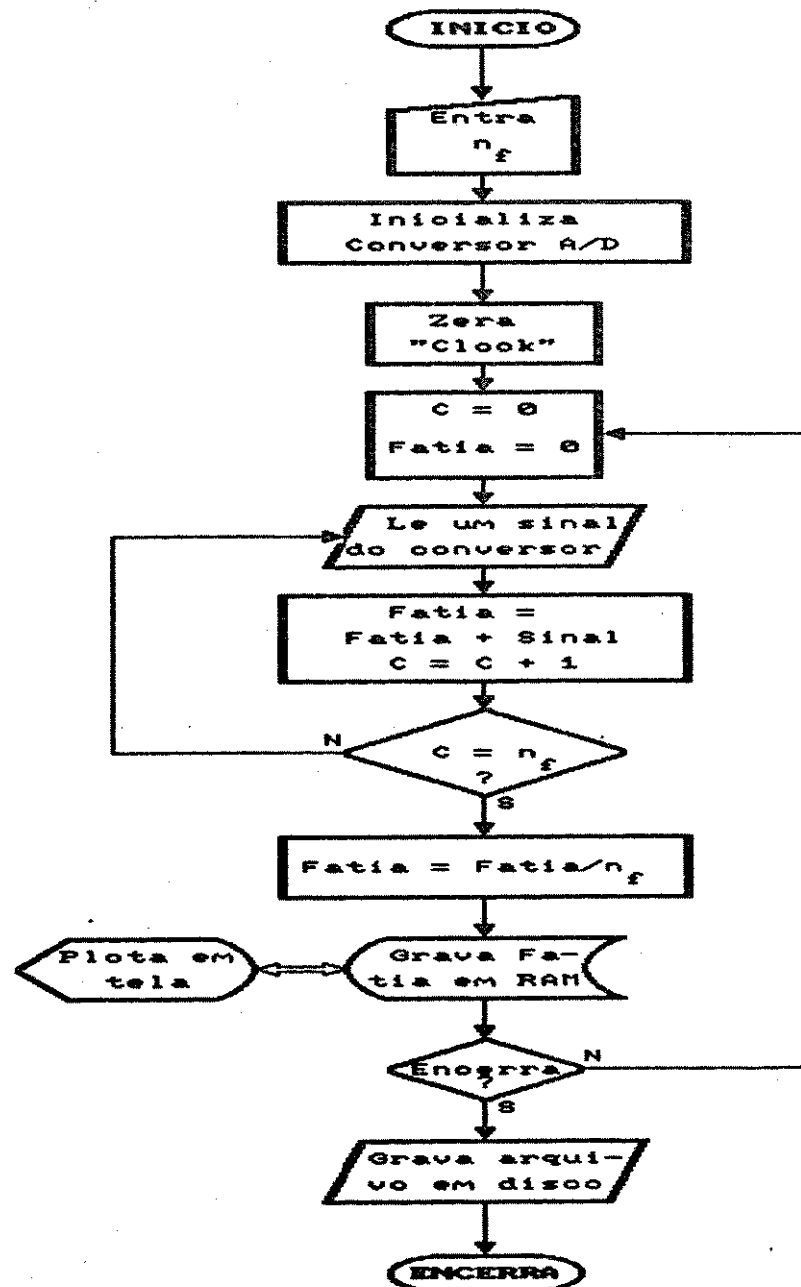
O programa LECROM faz a coleta de dados cromatográficos digitalizados pelo conversor DACA. Este ADC trabalha com uma velocidade fixa de conversão de 15.000 sinais por segundo. O programa também faz, em tempo real, filtragem de ruídos por média simples e plota o cromatograma no monitor de vídeo.

O número de sinais usados para o filtro de média simples é fornecido via teclado. Em seguida, o programa espera o usuário informar quando está pronto para realizar a injeção da amostra. Quando isto ocorre, são emitidos oito sinais sonoros de um segundo, para que a injeção possa ser feita simultaneamente ao início da coleta dos dados. Decorrido este intervalo de tempo, é feita a inicialização do cartão ADC, o "clock" interno do microcomputador é zerado e é iniciada a coleta.

As fatias são coletadas da seguinte maneira: o programa lê, sequencialmente, um número de sinais convertidos pelo ADC, que é determinado pelo número de pontos para a filtragem por média simples. A fatia é a média destes sinais, e é gravada em um arquivo em um disco virtual na RAM do microcomputador. A operação de coleta é sincronizada com a atualização do "clock" do microcomputador, que ocorre a cada 54,9316 milissegundos. Desta forma, resulta uma taxa de coleta de 18,2044 fatias por segundo, que é bastante próxima ao valor sugerido por diversas referências bibliográficas e sistemas comerciais [7, 16, 22, 23, 50, 51] como sendo o ideal, 20 fatias por segundo. O usuário encerra a coleta acionando qualquer tecla do microcomputador. Os dados gravados na RAM são então transferidos para um arquivo em disco.

A figura III.4 é um diagrama de blocos deste programa.

Fig. III.4
Programa LECROM



2.3 - Programa de Análise de Dados ANACROM

O programa ANACROM faz a análise de cromatogramas digitalizados. Ele calcula: área, início, tempo de retenção e fim, para os picos detectados. Os resultados de análise podem ser impressos, ou gravados em arquivos, para utilização em planilhas eletrônicas do tipo Lotus 1-2-3. Opcionalmente, podem ser obtidas cópias impressas do cromatograma.

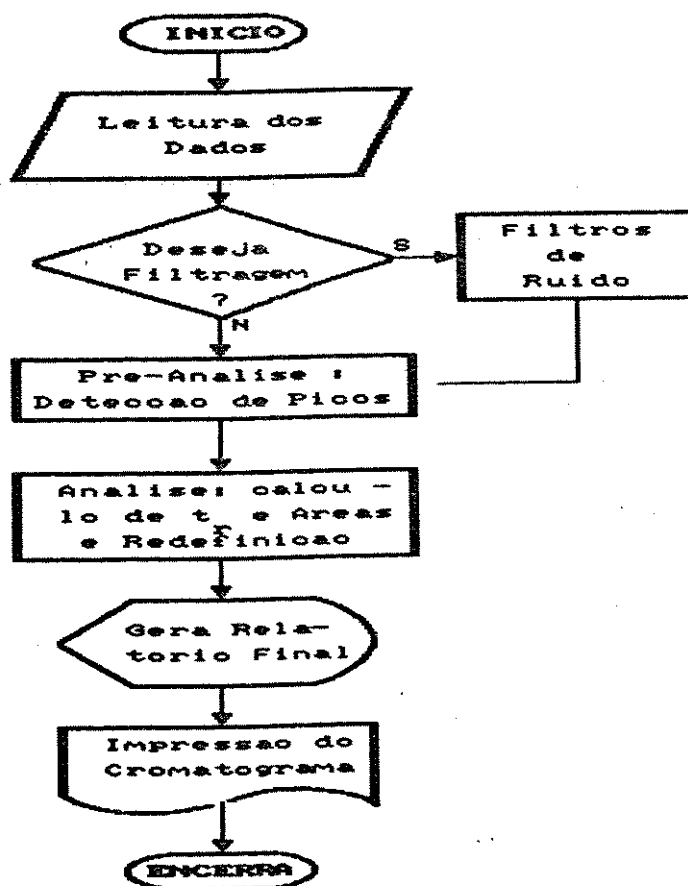
Este programa foi escrito em blocos de rotinas que realizam as seguintes operações :

- 1) Leitura dos dados gravados em disco e transferência para um disco virtual ("RAM Disk");
- 2) Filtragem de ruído dos dados, usando técnicas de média móvel ou de Savitzky-Golay;
- 3) Pré-análise dos dados (detecção de picos);
- 4) Análise final dos dados (determinação de áreas e tempos de retenção);
- 5) Geração de relatório de análise em tela e, opcionalmente, impressão, ou gravação do relatório em arquivo;
- 6) Impressão do cromatograma analisado.

A figura III.5 é um esquema geral deste programa. Os diversos blocos de rotinas são descritos a seguir.

2.3.1 - Leitura dos Dados Cromatográficos: este bloco faz a transferência dos dados armazenados em disco para o disco virtual. Dois motivos levaram a esta forma de transferência: limitação de memória e otimização do tempo de análise. Se os dados fossem passados para a memória do micro como um vetor, haveria a limitação, imposta pelas características do compilador usado, de até 64 Kbytes para os dados (isto representa 30 min de cromatograma, na taxa de coleta empregada). Trabalhando-se com os dados a partir de disco virtual, dispõe-se de parte da memória do computador que não é ocupada pelo programa e pelo DOS. Poder-se-ia analisar os dados diretamente do arquivo em disco, porém,

Fig. III.5
Programa ANACROM
Diagrama de Blocos Geral



como a operação de leitura de disco é uma das mais lentas de um microcomputador o processamento seria muito demorado.

Esta rotina de leitura de dados se encontra esquematizada na figura III.6.

2.3.2 - Filtragem dos Dados Cromatográficos: neste bloco, estão incorporadas as rotinas de filtro digital por Média Móvel e de Savitzky-Golay. O usuário pode optar pelo processamento dos dados com ou sem filtragem.

2.3.2.1 - Filtragem por Médias Móveis: neste bloco o usuário fornece o número de fatias que será utilizado para o cálculo da média móvel (a janela de convolução, denotada por JANELA). Este número deve ser ímpar e pode variar entre 3 e 25. O sinal filtrado para o i -ésimo ponto será calculado como a média aritmética entre ele e $((Janela - 1) / 2)$ pontos à esquerda e $((Janela - 1) / 2)$ pontos à direita.

2.3.2.2 - Filtragem pelo algoritmo de Savitzky-Golay: neste bloco, o usuário escolhe a janela de convolução e o grau do polinômio a ser usado (2º ou 4º grau). O sinal filtrado é estimado de maneira similar à média móvel; porém, cada uma das fatias usadas no cálculo é multiplicada por um coeficiente numérico adequado, cujo valor depende do grau do polinômio e da janela utilizados; a soma destas fatias é dividida por um coeficiente de normalização, resultando o sinal filtrado. Tanto os coeficientes numéricos quanto o fator de normalização são os mesmos da referência [48]; corrigimos alguns valores errôneos encontrados neste artigo. Os coeficientes ficam gravados em disco e são carregados na memória no momento do uso.

As figuras III.8 e III.9 são os diagramas de blocos destas rotinas de filtragem.

Fig. III.6
Bloco de Leitura de Dados
Programa ANACROM

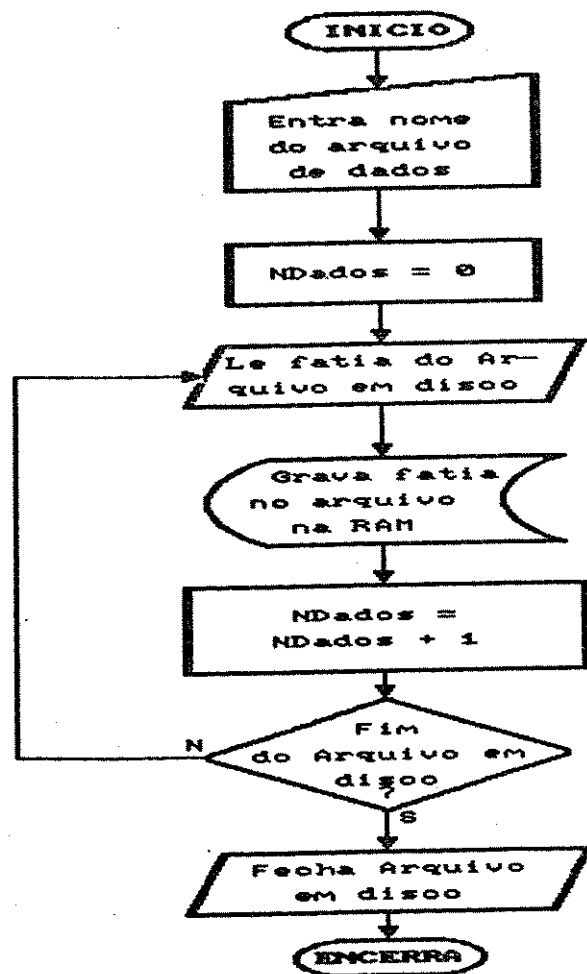
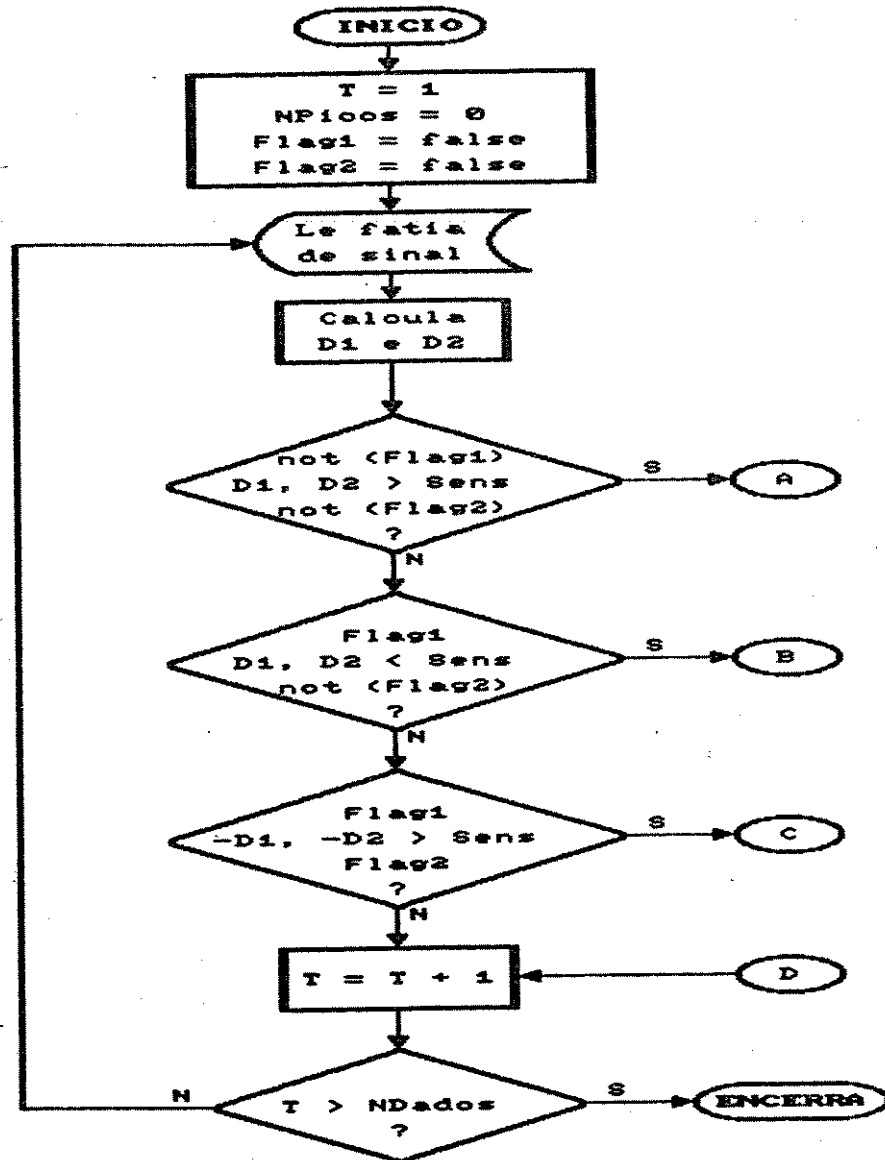


Fig. III.7
Bloco de Pre-Análise de Dados
Programa ANACROM



CONTINUA...

Fig. III.7 (cont.)
Bloco de Pre-Análise de Dados
Programa ANACROM

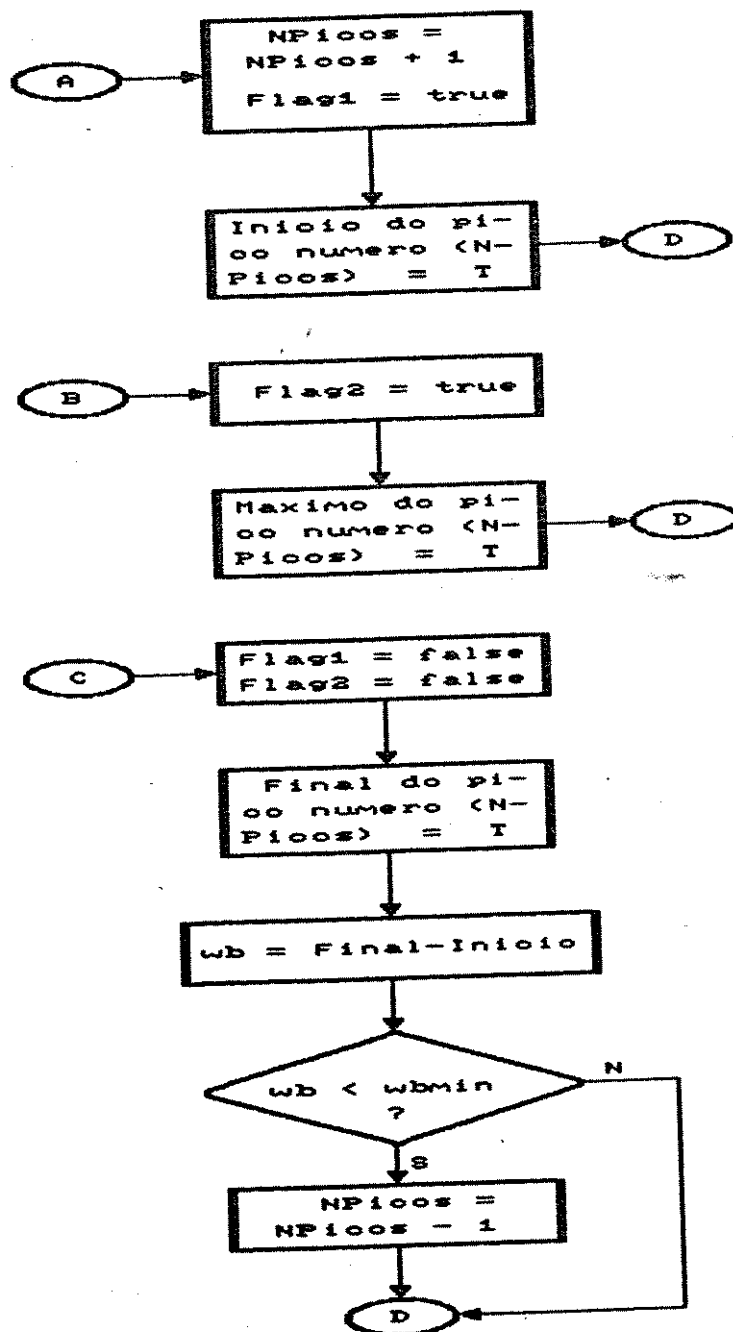
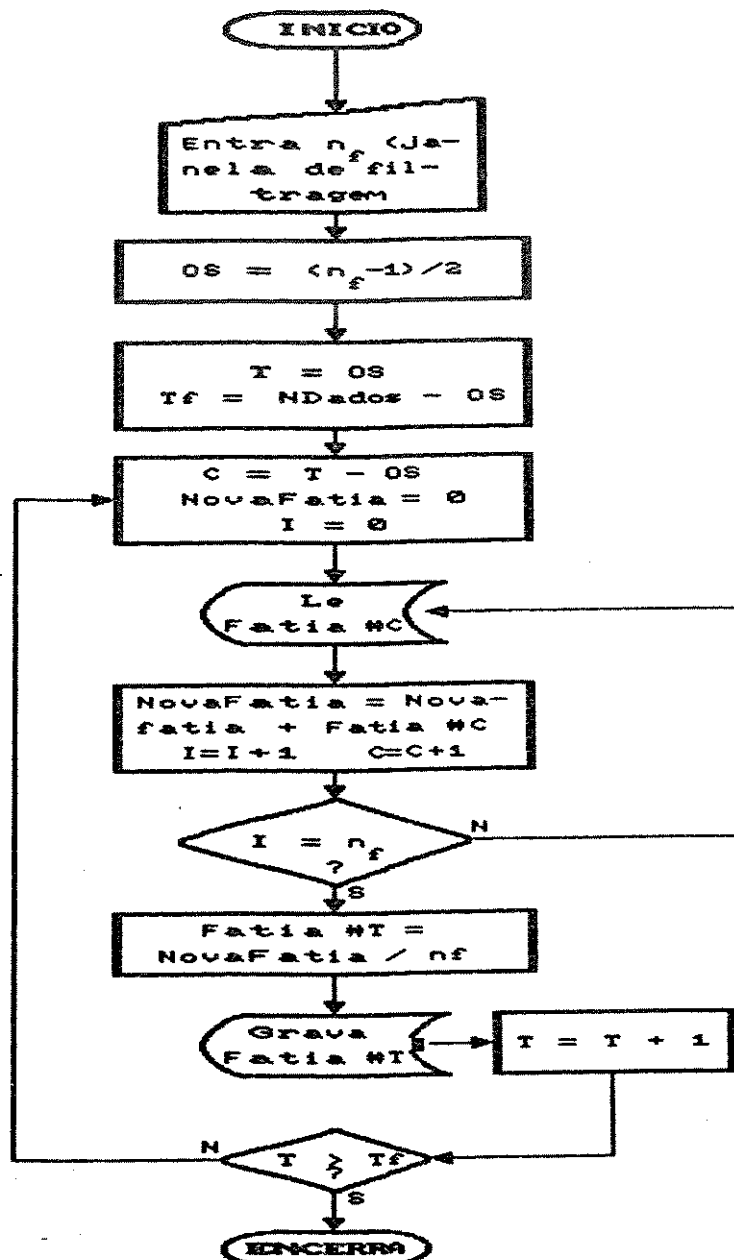


Fig. III.8
Bloco de Filtragem por Médias Móveis
Programa ANACROM



2.3.3 - Pré-Análise dos Dados: denominamos pré-análise a tarefa de detectar os picos presentes e determinar os seus início, máximo local e fim. A detecção dos picos é feita por análise das derivadas primeira (D1) e segunda (D2) do sinal. Para a i-ésima fatia estas derivadas são calculadas como:

$$D1_i = SINAL_{(i+1)} - SINAL_{(i-1)}$$

$$D2_i = D1_{(i+1)} - D1_{(i-1)}$$

A condição para detecção de início de um pico é dada por:

$$D1 \geq \text{SENSIBILIDADE}$$

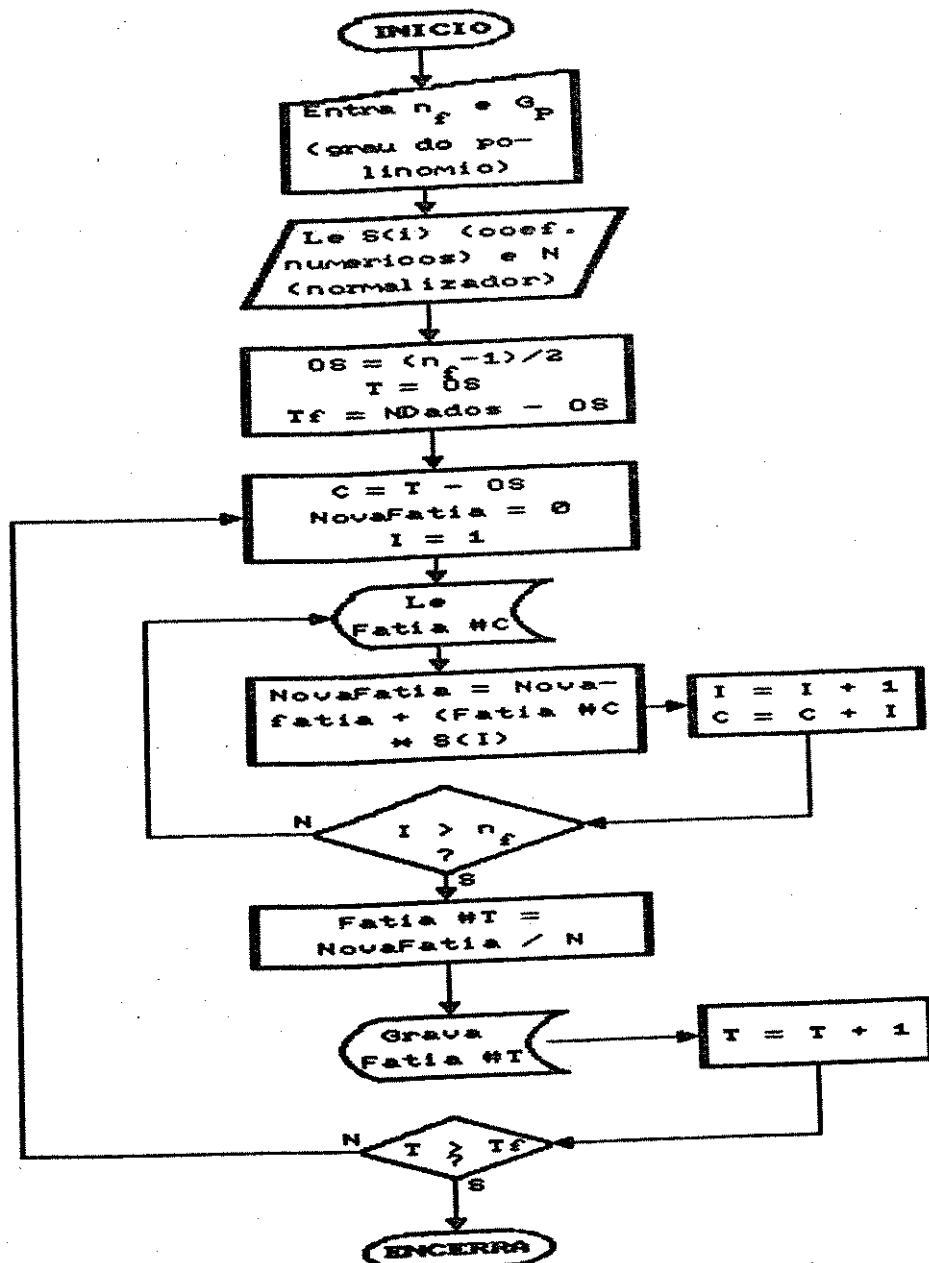
onde SENSIBILIDADE é um limite mínimo de inclinação ("slope sensivity") imposto pelo usuário. Isto evita que pequenas flutuações de sinal devidas a ruído não-retido pelos filtros digitais sejam caracterizadas como picos. O máximo local é a fatia após o início de um pico após D1 e D2 trocarem de sinal. O final é alocado quando:

$$-D1 \geq \text{SENSIBILIDADE}$$

Quando o final de um pico é detectado a sua largura de base é calculada como a diferença entre o início e o fim do pico. Então ela é comparada com outro parâmetro fornecido pelo usuário, WBMIN; se a largura calculada é menor que WBMIN o pico é desprezado. Esta é uma precaução adicional para evitar que ruídos não-filtrados sejam detectados como picos. Esta rotina está diagramada na figura III.7.

2.3.4 - Análise dos Dados: este bloco faz os cálculos das áreas e determina, por método polinomial, os tempos de retenção dos picos. O tempo de retenção de cada pico é calculado como o máximo de um polinômio, determinado por regressão em torno do máximo local. Para cada pico o usuário escolhe o grau do polinômio, que pode ir de 2ª a 5ª grau, e o número de fatias usadas na regressão (7 a 25). Pode-se, também, optar por definir o tempo de retenção como o máximo local. A área de cada pico é determinada pela soma das fatias entre o seu início e o seu fim, descontada a área sob a linha de base.

Fig. III.9
Bloco de Filtream por Savitzky-Golau
Programa ANACROM



Neste bloco, também existe uma rotina que permite redefinir início, fim e tempo de retenção de qualquer pico, caso estes parâmetros não tenham sido satisfatoriamente alocados pelo algoritmo de análise. A redefinição é feita via teclado, por meio de um cursor que se desloca na monitor de vídeo sobre a figura do pico.

O diagrama de blocos desta rotina se encontra na figura III.10.

2.3.5 - Geração do Relatório de Análise: terminadas as operações de leitura de dados, filtragem, pré-análise e análise, um relatório dos dados é mostrado na tela. Este relatório contém:

- nome do arquivo de dados analisado e data da análise dos dados;
- início, máximo local, fim, tempo de retenção e área dos picos detectados;
- área e tempo total de análise;
- as condições de análise de dados usadas: limite mínimo de inclinação, largura mínima de pico, filtro digital aplicado, método de alocação de tempo de retenção.

O relatório pode ser impresso, ou gravado como um arquivo em modo texto, com formato adequado para uso em planilhas eletrônicas (Lotus 1-2-3, Quattro).

2.3.6 - Impressão do Cromatograma. O programa solicita a seleção de um fundo de escala, em mV, e de um "fator de tempo" (quantos centímetros de impresso correspondem à 1 s de cromatograma analisado). Foi criado um "driver" para impressão dos cromatograma em impressoras compatíveis com Epson LX-800; esta rotina está esquematizada na figura III.11.

Fig. III.10
Bloco de Análise e Redefinição de Picos
Programa ANACROM

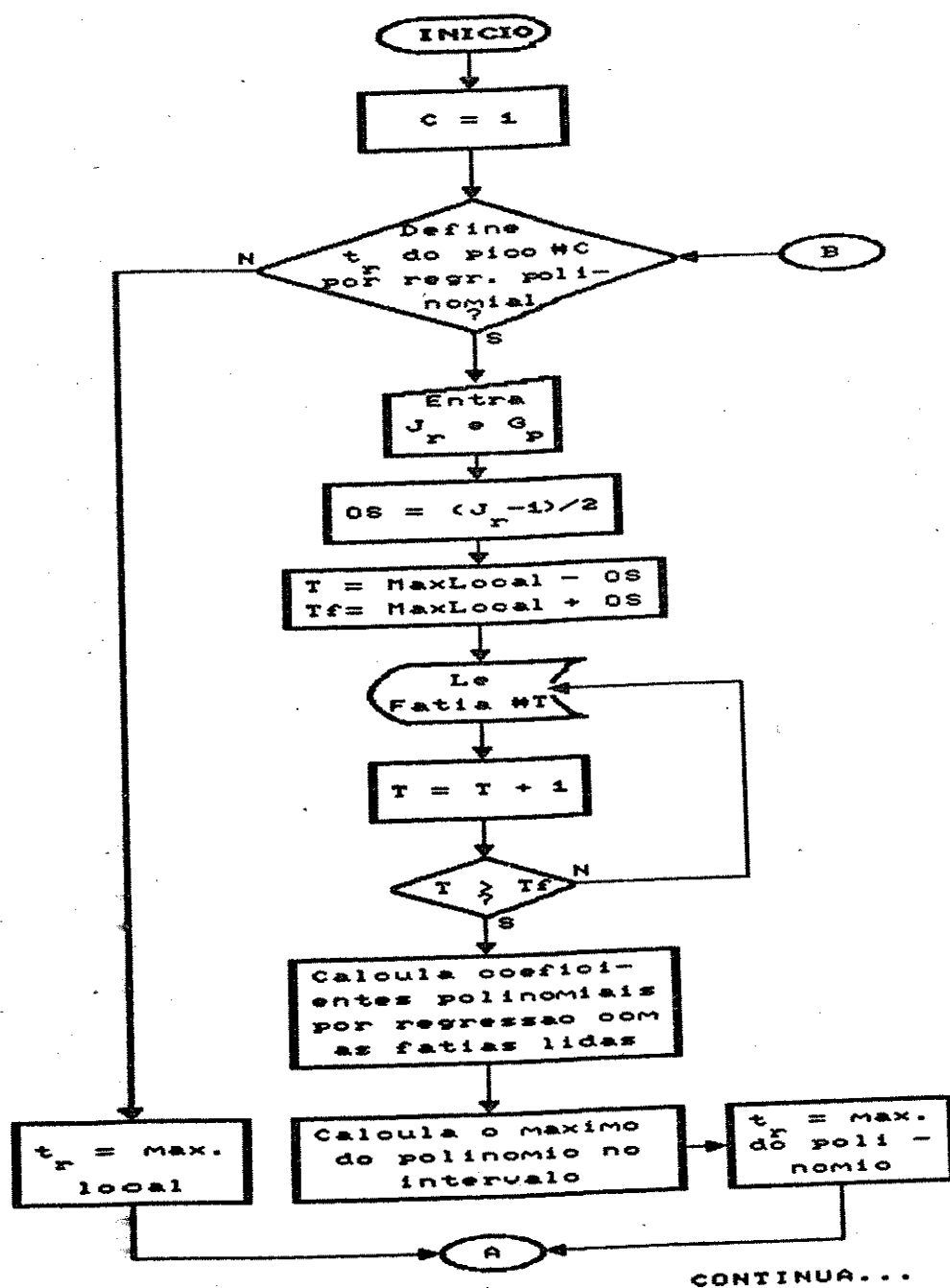


Fig. III.10 (cont.)
 Bloco de Análise e Redefinição de Picos
 Programa ANACROM

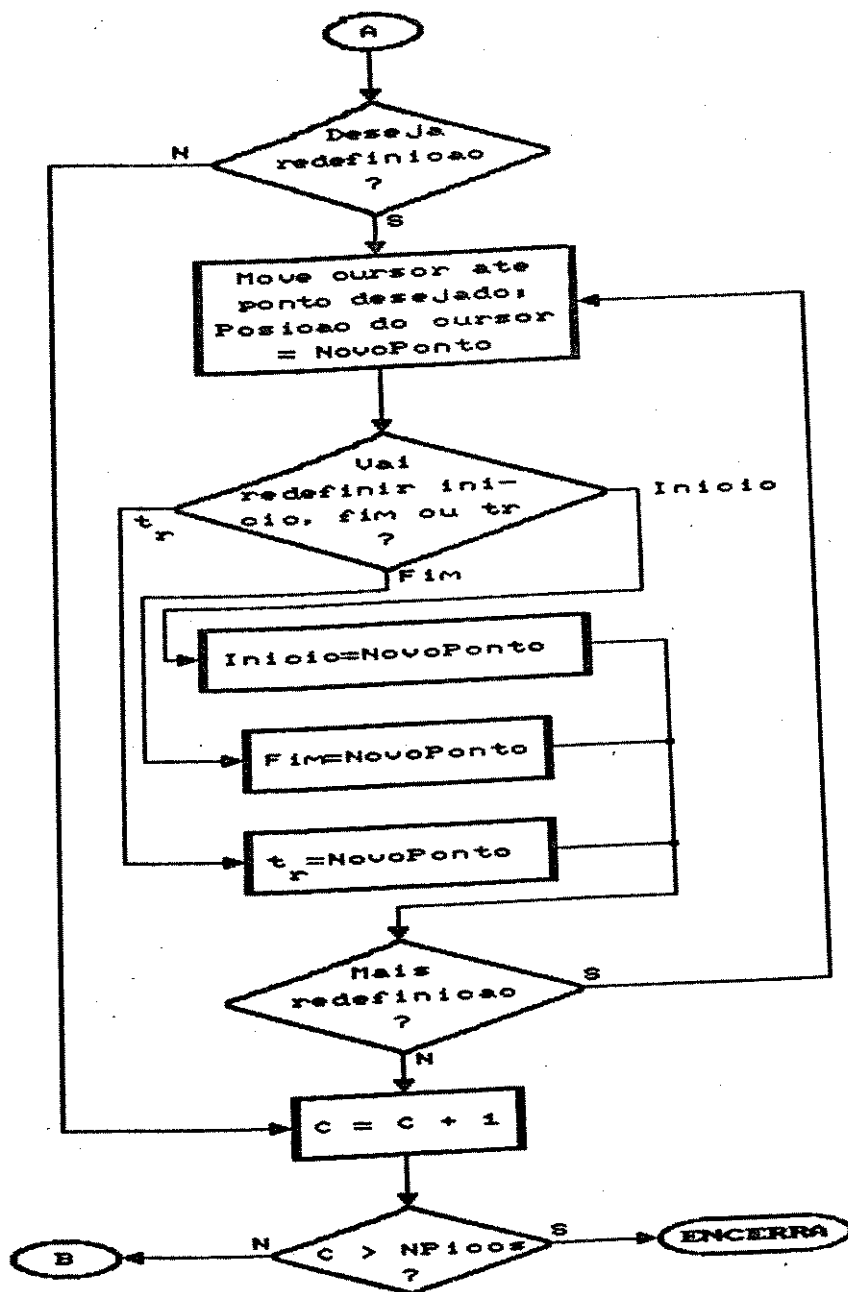
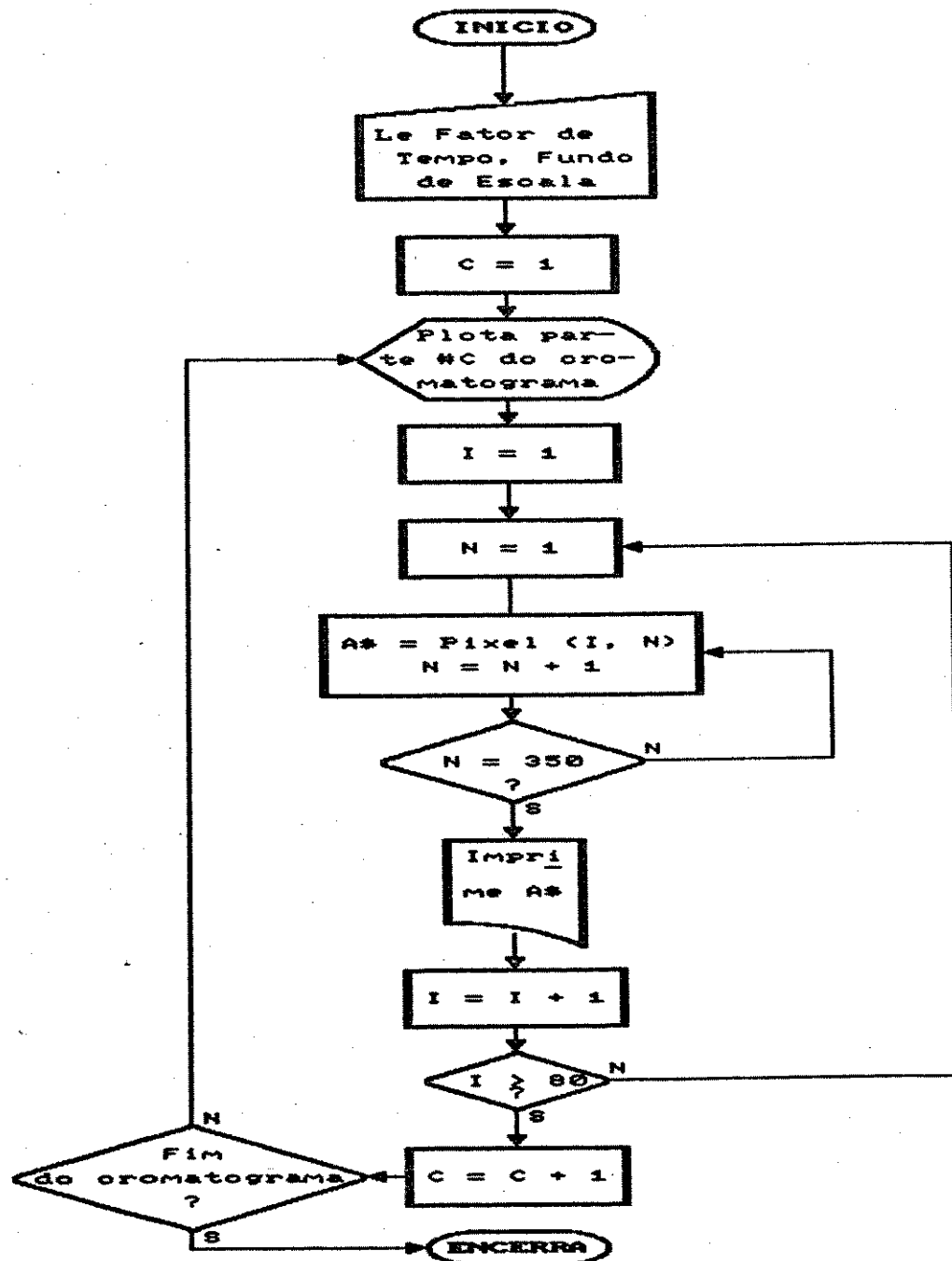


Fig.III.11
 Bloco de Impressão de Cromatogramas
 Programa ANACROM



2.4 - Programa para Cálculo da Curva de Van Deemter VDEEMTER

Foi escrito um programa (VDEEMTER), que dado um conjunto de valores de h e u , calcula os coeficientes A , B e C da equação de Van Deemter.

Para o cálculo dos coeficientes A , B e C foi usada a técnica dos mínimos quadrados. O sistema de equações que deve ser resolvido foi deduzido e o programa faz uso do método de Gauss-Jordan [34] para a resolução deste sistema. Calcula-se também a velocidade linear do gás de arraste de máxima eficiência, u_{max} , dada por:

$$u_{max} = (B / C)^{1/2}$$

São calculados alguns parâmetros estatísticos referentes à equação calculada: a variância total s , os limites de confiabilidade para os coeficientes A , B e C , o coeficiente de correlação r e a faixa de confiabilidade da equação calculada. Todos estes dados são calculados com base na distribuição de Student (teste t), ao nível de confiabilidade de 95 % [4].

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 - Caracterização dos dados coletados pelo programa LECROM

Como foi mencionado anteriormente (**Materiais e Métodos**, seção 2.2), a coleta de uma fatia pelo programa LECROM consiste de: 1) acesso à porta de comunicação correspondente ao ADC e leitura de um certo número de sinais; 2) cálculo da média destes sinais, gerando uma fatia; e 3) envio da fatia para um disco virtual. O tempo necessário para estas três operações define o tempo para coleta de uma fatia. Se for desativada a sub-rotina que faz a sincronização da coleta com o "clock" do microcomputador, a taxa de coleta passa então a ser determinada pelo tempo de coleta de uma fatia. Neste caso, o tempo de coleta de uma fatia depende do número de sinais usados para a filtragem por média simples. Deste modo, o filtro de média simples pode também ter a função de controle da taxa de coleta, além da redução do nível de ruído. Taxas de coleta diferentes do valor "padrão" de 18,2044 fatias por segundo passam a ser acessíveis. Não é fundamental conhecer o tempo necessário para cada uma das três operações que compõem a coleta de uma fatia, mas é essencial saber quais taxas de coleta são permitidas.

As taxas de coleta foram calculadas em função do número de sinais usados na filtragem por médias simples. Também foram determinados os níveis de ruído que podem ser esperados em um cromatógrafo convencional, em função do número de pontos no filtro de média simples, do nível de amplificação do eletrômetro e da temperatura da coluna.

1.1 - Taxas de Coleta Permitidas por LECROM

Os tempos de coleta de uma fatia (t_{co1}) e as respectivas taxas de coleta (Tx_{co1}) foram determinados na faixa de 1 a 50 sinais usados pelo filtro de média simples. O pro-

grama LECROM foi ajustado para coletar 10.000 fatias, sem sincronização com o "clock" do microcomputador, e o tempo necessário para coletá-las foi cronometrado. A tabela IV.1 mostra os tempos usados pelo programa para a aquisição de uma fatia, e as taxas de coleta correspondentes, em função do número de pontos usado na filtragem por média simples.

Tabela IV.1 - Tempos usados pelo programa LECROM para a coleta de 1 fatia (t_{co1}) e correspondentes taxas de coleta (Tx_{co1}), em função do número de pontos usados para filtragem de média simples (n_p).

n_p (pontos)	t_{co1} (ms)	Tx_{co1} (pontos/s)
1	4,48	223
2	4,99	200
3	5,48	182
4	6,06	165
5	6,60	151
6	7,13	140
7	7,63	131
8	8,23	121
9	8,81	114
10	9,32	107
15	12,03	83
20	14,84	67
25	17,60	57
50	31,79	31

Por um procedimento semelhante (cronometragem do tempo de conversão de 10.000 sinais), estimamos que o tempo usado para a conversão de um sinal foi de 0,24 ms. O exame da tabela IV.1 revela que o programa LECROM pode permitir taxas de coleta entre 223 e 31 Hz.

Todas as taxas de coleta relacionadas na tabela IV.1 são superiores tanto à taxa ideal (20 Hz, sugerida por diversas referências [7, 16, 22, 23, 50, 51]), como à taxa

de 18,2044 Hz que usamos. Assim, é possível que a rotina de coleta de dados seja veloz o suficiente para que o microcomputador possa, no intervalo entre duas fatias, realizar outras operações. Por exemplo, a análise de derivadas para detecção provisória de início, máximo local e fim de picos poderia ser feita neste tempo livre entre duas coletas; assim, o tempo de pós-processamento de dados pelo programa ANACROM poderia ser diminuído sensivelmente. Outra implicação da existência deste tempo livre é a possibilidade da monitoração simultânea de dois (ou mais) sinais cromatográficos. Finalmente, o acesso a maiores taxas de coleta pode suprir uma eventual necessidade de um maior número de fatias de sinal por pico.

1.2 - Níveis de Ruído Medidos

O programa LECROM foi usado para coletar linhas de base de cromatogramas de 1 minuto, para os quais calculou-se o ruído quadrático médio (ruído RMS). As condições cromatográficas usadas foram:

- Cromatógrafo: PU 104, com detetor por ionização em chama;

- Coluna: Metil-Silicone a 3 %, sobre Diatomite C 60 - 80 mesh; 1,5 m de comprimento por 22 mm de diâmetro interno, de vidro;

- Temperaturas: vaporizador e detetor: 140°C, coluna: 75 ou 110°C;

- Vazão: $H_2 = 40$ ml/min, ar = 300 ml/min, gás de arraste (N_2) = 30 ml/min;

- Ganho do amplificador: 10^{-7} A ou 10^{-12} A / mV.

Os ruídos RMS foram calculados para o menor e para o maior nível de ganho do eletrômetro, e para duas diferentes temperaturas de coluna, sem filtragem e com filtragem por média simples. Os resultados estão nas tabelas IV.2 e IV.3.

Tabela IV.2 - Dependência do ruído quadrático médio ($R_{r_{m\mu}}$), com o número de pontos (n_p) usados para filtragem por média simples. Temperatura da coluna igual a 75°C e ganho do amplificador de 10^{-9} A / mV e 10^{-12} A / mV. Fundo de escala: 10 V.

n_p	$R_{r_{m\mu}}(10^{-9}A)$, mV	$R_{r_{m\mu}}(10^{-12}A)$, mV
s/ filtro	1,76	2,29
5	1,30	1,75
10	0,76	0,54
20	0,14	0,23

Tabela IV.3 - Dependência do ruído quadrático médio ($R_{r_{m\mu}}$), com o número de pontos (n_p) usados para filtragem por média simples. Temperatura da coluna igual a 110°C e ganho do amplificador de 10^{-9} A / mV e 10^{-12} A / mV. Fundo de escala: 10 V.

n_p	$R_{r_{m\mu}}(10^{-9}A)$, mV	$R_{r_{m\mu}}(10^{-12}A)$, mV
s/ filtro	1,79	2,87
5	1,12	2,49
10	0,51	1,58
20	0,21	0,58

Pelas tabelas IV.2 e IV.3, verifica-se que, no sistema estudado, o nível de ruído é bastante baixo (no máximo 0,03 % do fundo de escala) e que o filtro de média simples aplicado a este ruído é bastante eficaz, pois reduz até cerca de 90 % do ruído original.

As tabelas IV.2 e 3 ilustram a eficiência do filtro de Média Simples, incorporado ao programa de coleta de dados, na redução de ruídos. Esta etapa de filtragem é importante porque, se o nível de ruído for reduzido durante a coleta, evita-se a aplicação posterior de filtros digitais na análise do cromatograma. Além de representar uma economia significativa de tempo de pós-processamento, isto evita que

sejam introduzidas deformações no sinal pelo uso destes filtros.

2 - Programa de Análise de Dados ANACROM

As operações críticas e que definem a qualidade do programa ANACROM, são: 1) cálculos dos tempos de retenção e das áreas (e, conseqüentemente, dos inícios e fim de picos), e 2) a redução de ruídos por filtragem digital. Nestas operações os dados (fatias coletadas por LECROM) são intensivamente submetidos aos tratamentos matemáticos de cálculo de médias móveis e regressões polinomiais. Estas operações provocam, inevitavelmente, alterações nas estruturas dos dados coletados, porque substituem grupos deles por médias ou por resultados de interpolações polinomiais. Estabelecer uma inter-relação clara entre os dados originais (fatias), as operações às quais elas são submetidas e a qualidade dos resultados fornecidos por um programa do tipo de ANACROM é praticamente impossível. De um lado, porque a estrutura dos dados originais é praticamente imprevisível, e de outro, porque os algoritmos exigem a intervenção do operador, para definir certas condições de análise dos dados. A escolha de parâmetros de cálculo inadequados para os dados a serem processados podem gerar áreas, tempos de retenção e larguras de base fictícios, e comprometer os resultados da análise cromatográfica. Com o objetivo de avaliar as complexas inter-relações da estrutura dos dados com os algoritmos aos quais eles são submetidos, foram usados cromatogramas simulados. Estudaram-se: qual a janela de filtragem mais adequada ao nível de ruído dos dados; como as alterações dos dados pelos filtros afetam as áreas, os tempos de retenção e as larguras de base calculados por ANACROM; e como o tempo de retenção calculado pode depender do número de fatias que compõe o pico e dos parâmetros usados para o cálculo do polinômio usado na sua alocação.

2.1 - Avaliação do uso de Polinômios para Alocação dos Tempos de Retenção

O procedimento de alocação polinomial dos tempos de retenção foi avaliado com cromatogramas simulados com picos gaussianos. Foi estudada a dependência da alocação dos tempos de retenção com o grau do polinômio usado (G_p), com o número de pontos (janela de regressão, J_r) usados pela rotina de regressão, e com a largura de base dos picos.

Picos gaussianos com quatro larguras de base (4,109 s, 7,943 s, 11,371 s e 14,842 s) tiveram os seus tempos de retenção alocados com polinômios de 2ª a 5ª graus, usando-se janelas de regressão de 7 a 25 pontos. Para verificar a repetibilidade dos algoritmos, para cada uma das larguras de base foram gerados cromatogramas com 5 picos. Os tempos de retenção destes picos foram calculados e normalizados para que o início de cada pico correspondesse a 0,000 s. Assim, os tempos de retenção dos cinco picos em cada cromatograma eram igualados, nos permitindo estudar a repetibilidade do algoritmo sem possíveis efeitos de dependência do ajuste polinomial com os valores absolutos dos tempos de retenção. A repetibilidade do algoritmo foi estabelecida pelo intervalo de confiança dos tempos de retenção, calculados pelo teste t de Student com 90 % de confiabilidade. Os resultados mais representativos são mostrados na tabela IV.4; os dados completos estão relacionados no Apêndice 1, tabelas VI.1 a VI.4.

Tabela IV.4 - Erros máximos (E_{max}) e maiores intervalos de confiabilidade (I_{max}) obtidos na alocação dos tempos de retenção de picos gaussianos de diversas larguras de base (w_b), para vários graus polinomiais (G_p).

$G_p = 2^a$			$G_p = 3^a$	
w_b (s)	E_{max} (ms)	I_{max} (ppmil)	E_{max} (ms)	I_{max} (ppmil)
4,109	4	1,0	11	2,5
7,943	1	0,3	3	0,5
11,371	1	0,2	1	0,5
14,842	0	0,3	1	0,6

$G_p = 4^a$			$G_p = 5^a$	
w_b (s)	E_{max} (ms)	I_{max} (ppmil)	E_{max} (ms)	I_{max} (ppmil)
4,109	0	0,5	7	8,7
7,943	0	0,3	64	23,6
11,371	1	0,7	0	19,7
14,842	2	0,6	58	15,4

Observação: tempos de retenção esperados: 2,080 s para $w_b = 4,109$ s, 4,032 s para $w_b = 7,943$ s, 5,694 s para $w_b = 11,371$ s e 7,452 s para $w_b = 14,842$ s.

Os dados da tabela IV.4 mostram que os polinômios de graus pares (2^a e 4^a graus) são os que melhor reproduzem os tempos de retenção, apresentando erros entre zero e 4 milissegundos. Estes polinômios também são os de melhores repetibilidades (0,2 a 1,0 ppmil).

Do ponto de vista prático, todos os graus polinomiais e janelas de regressão testados são adequados à alocação de tempos de retenção, porque os erros da ordem de alguns milissegundos nos tempos de retenção são inferiores à variação de tempo de retenção causada por alterações em condições cromatográficas tais como temperatura de coluna ou vazão do gás de arraste (é atribuída uma variação de 1 % no tempo de retenção quando a temperatura da coluna varia de

0,3°C ou a vazão do gás de arraste varia de 1 % [11]). Por esta razão, dispensamos outros testes para a determinação de graus e janelas polinomiais ótimas para a análise de tempos de retenção.

Os maiores erros de alocação são para polinômios do 5º grau, com janelas de regressão estreitas (7 a 11 fatias). Estes erros são tanto maiores quanto mais largo for o pico. Pode-se atribuir este fato ao mau comportamento de rotinas de regressão para a estimativa de coeficientes polinomiais, quando o número de pontos usados é próximo ao número de coeficientes estimados [35]. A atenuação deste problema no caso de picos estreitos pode se dever à variação mais intensa do sinal nas imediações do máximo, que torna mais confiáveis os polinômios estimados. Exceto neste caso, para picos mais estreitos os erros tendem a crescer com janelas de regressão mais largas. Esta tendência geral é inversa para picos largos. Assim, seria mais conveniente usar uma janela de regressão proporcional à largura do pico.

Portanto, para as larguras de base estudadas, a alocação polinomial dos tempos de retenção é mais eficiente com polinômios de 2º e 4º graus, usando as janelas de regressão intermediárias dentro a faixa que foi verificada (11 a 19 pontos).

2.2 - Avaliação da Eficiência dos Filtros Digitais na Redução de Ruídos

As eficiências dos filtros de Média Móvel (MM) e de Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e de 4º grau (SG4) foram estudadas aplicando-os a ruído simulado sobre um sinal constante (equivalente a uma linha de base). A eficiência foi definida como o percentual de redução de ruído.

O nível de ruído usado foi de 100 mV RMS sobre uma linha de base de 549,316 s (equivalente a 10.000 fatias), e as eficiências foram estabelecidas em função do número de fatias usadas para filtragem. Os resultados estão na tabela IV.5 e na figura IV.1.

Fig. IV.1
Eficiencia de Filtros

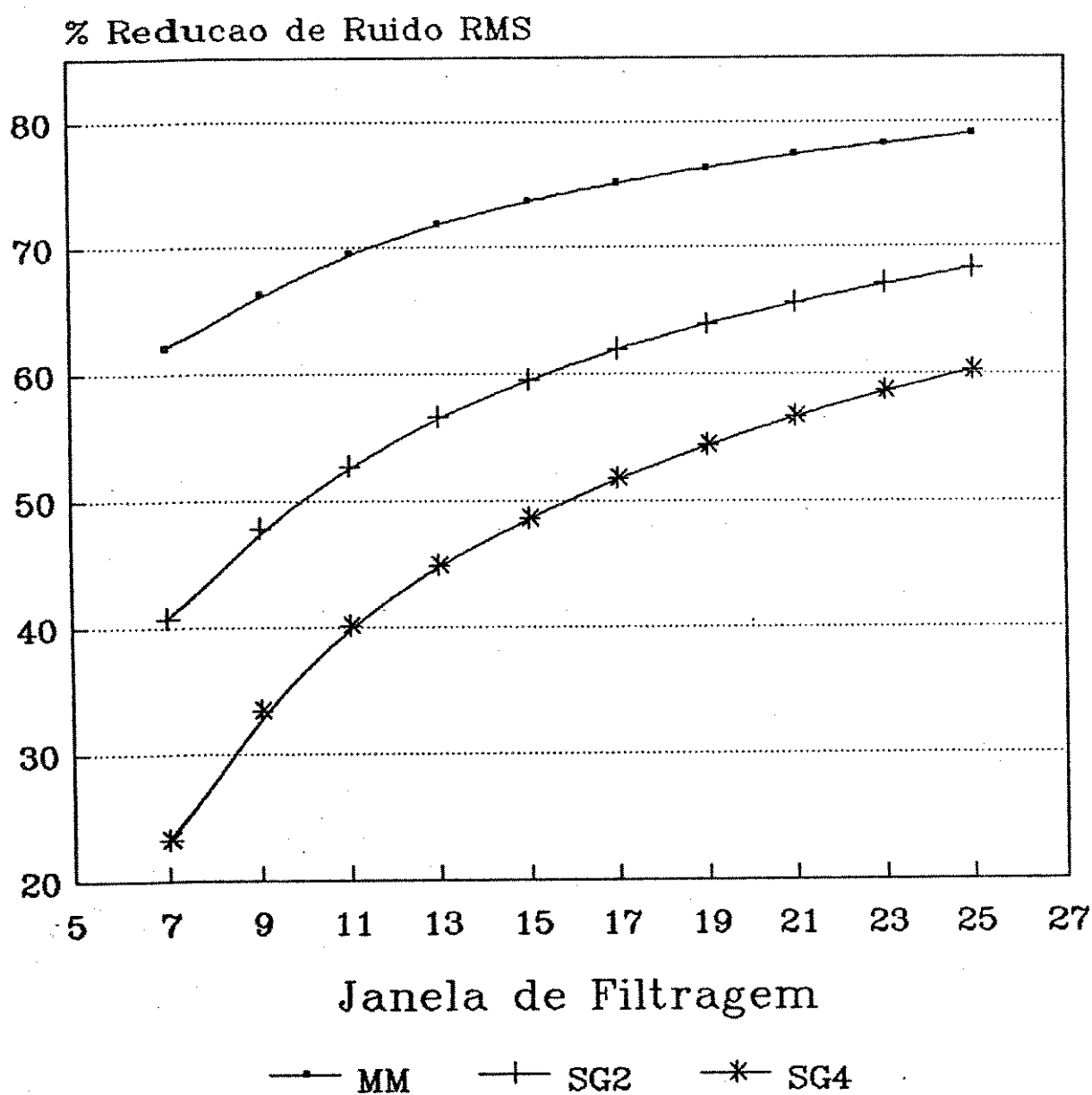


Tabela IV.5 - Dependência da eficiência dos filtros MM, SG2 e SG4, com o número de fatias usadas para filtragem (n_f). Ruído RMS, simulado, de 100 mV.

Filtros:	MM	SG2	SG4
n_f	Eficiência do filtro:		
7	62,0 %	40,7 %	23,2 %
9	66,3 %	47,8 %	33,5 %
11	69,5 %	52,8 %	40,2 %
13	71,8 %	56,6 %	43,4 %
15	73,7 %	59,5 %	48,6 %
17	75,1 %	62,0 %	51,8 %
19	76,3 %	63,9 %	54,4 %
21	77,3 %	65,6 %	56,6 %
23	78,2 %	67,1 %	58,6 %
25	79,0 %	68,3 %	60,3 %

A eficiência, portanto, aumenta com o número de pontos usados na filtragem. Nota-se que o filtro MM é o mais eficiente, principalmente para os menores números de fatias usadas nas filtrações.

Esta avaliação só é útil para comparar os filtros quanto às suas potencialidades como redutores de ruídos. Os resultados acima não são indicativos de qual é o filtro mais adequado para uma análise cromatográfica, porque a operação de filtragem também causa alterações nos sinais. Estas alterações, avaliadas nas seções seguintes, são muito importantes para a escolha de um filtro.

2.3 - Efeito da Aplicação de Filtros Digitais sobre Picos Gaussianos

Foram estudadas as alterações de áreas, tempos de retenção e larguras de base de picos gaussianos, simulados com e sem ruído, provocadas pela aplicação dos filtros digitais. Analisaram-se picos com larguras de base de 4,109 s, 7,943 s, 11,371 s e 14,842 s, com níveis de ruído quadrático médio de 10 mV, 50 mV e 100 mV. Os números de fatias usadas nas filtrações foram os mesmos da tabela IV.5 (7 a 25). Em todos os casos, foi usada uma inclinação mínima para detecção de picos de 20 mV / s. Os tempos de retenção foram determinados por regressão polinomial do 4º grau, com janela de regressão de 19 pontos.

2.3.1 - Efeito dos filtros sobre a área dos picos.

Foram comparadas as áreas dos picos filtrados com as áreas dos mesmos picos sem ruído. As áreas dos picos sem ruído foram calculadas pelo programa de análise de dados sem a aplicação dos filtros. Os erros nas áreas foram calculados como a diferença, em partes por mil, entre a área calculada para o pico filtrado e a do correspondente pico sem ruído. Os resultados são mostrados nas figuras IV.2 a IV.17. Cada ponto foi obtido como a média dos erros nas áreas de 25 picos de idêntica largura. As tabelas VI.5 a VI.20, do Apêndice 1, são correspondentes a estas figuras.

Os resultados para os picos sem ruído (figuras IV.2, IV.6, IV.10 e IV.14) fornecem informações sobre o efeito de cada filtro sobre a área, em função da largura do pico e da janela de filtração. De modo geral, para todas as larguras estudadas, o filtro SG4 é o que menos distorce a área do pico. Para os picos mais estreitos ($w_b = 4,109$ s), o filtro SG2 impõe maiores erros; para picos com largura de base igual a 7,943 s, o filtro MM é o que mais altera a área. Analisando-se as figuras IV.10 e IV.14, dos picos mais largos, observa-se uma tendência dos três filtros estudados

Fig.IV.2
wb = 4,109s Sem Ruído

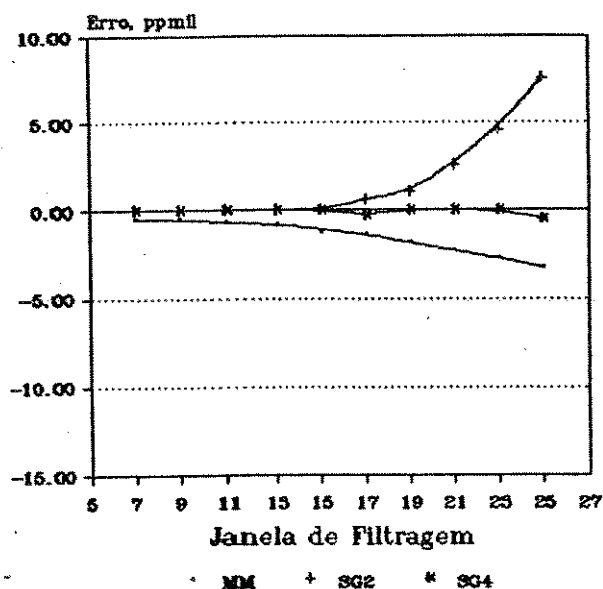


Fig IV.3
wb = 4,109s RMS 10 mV

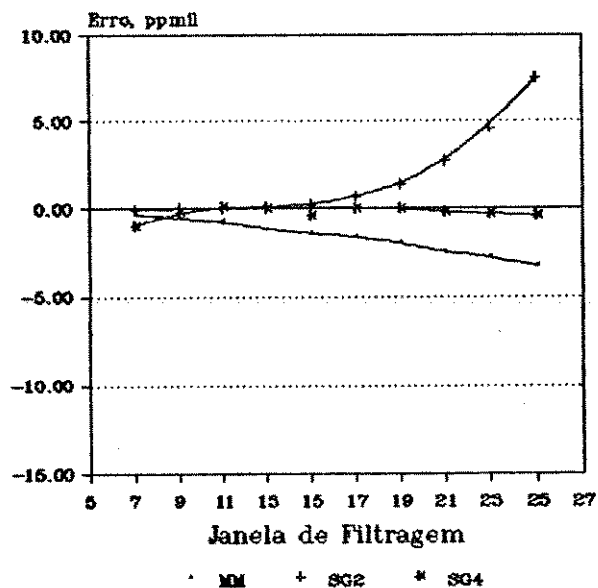


Fig. IV.4
wb = 4,109s RMS 50 mV

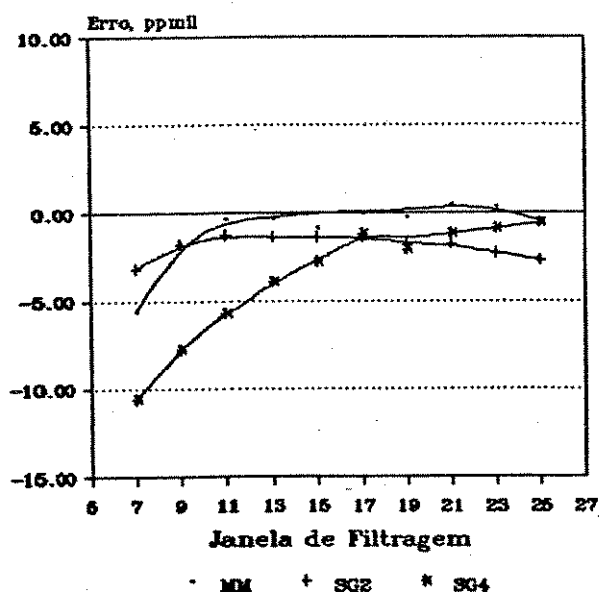


Fig. IV.5
wb = 4,109s RMS 100 mV

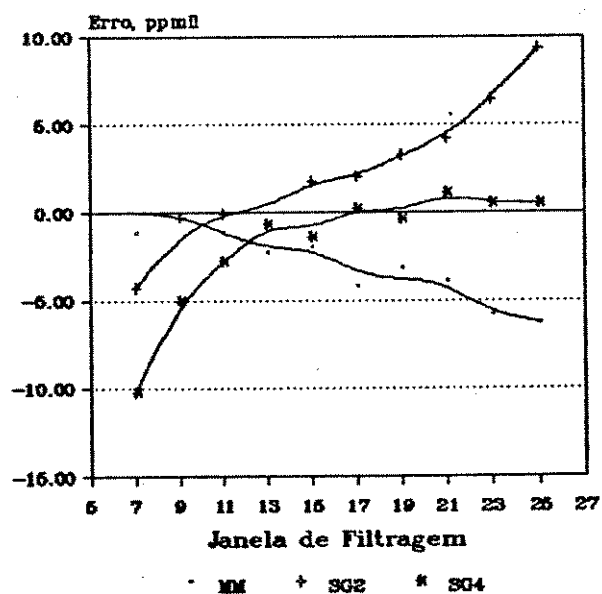


Fig. IV.6
wb = 7,943s Sem Ruído

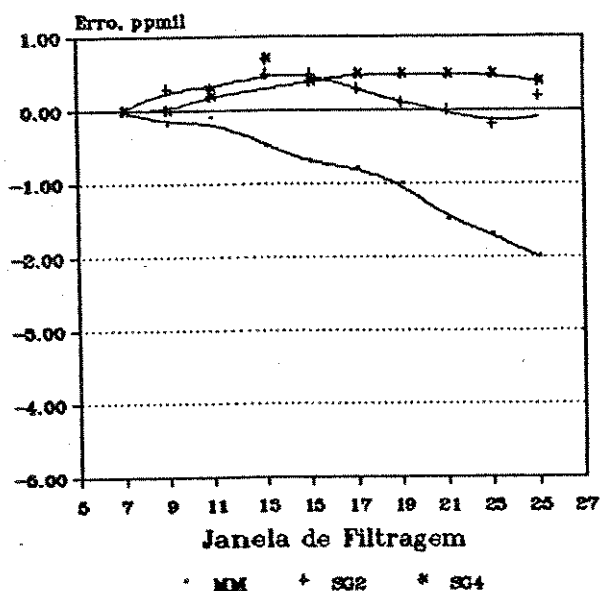


Fig. IV.7
wb = 7,943s RMS 10 mV

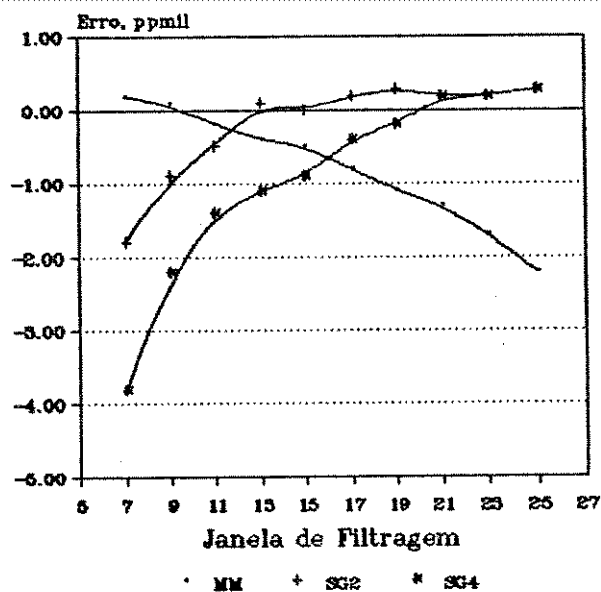


Fig. IV.8
wb = 7,943s RMS 50 mV

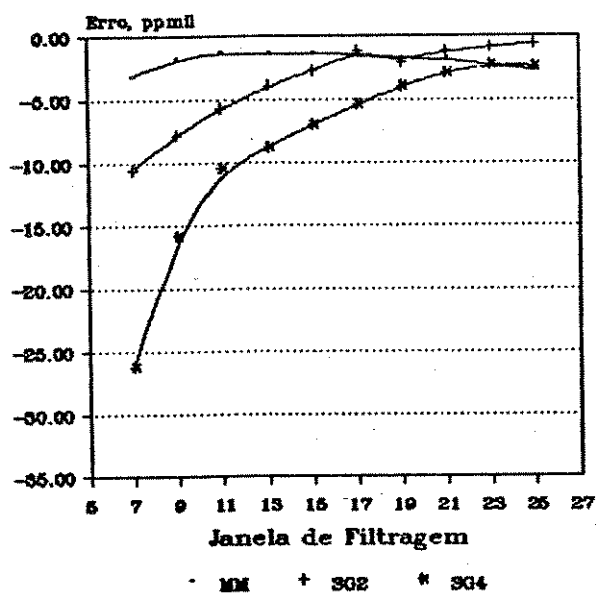


Fig. IV.9
wb = 7,943s RMS 100 mV

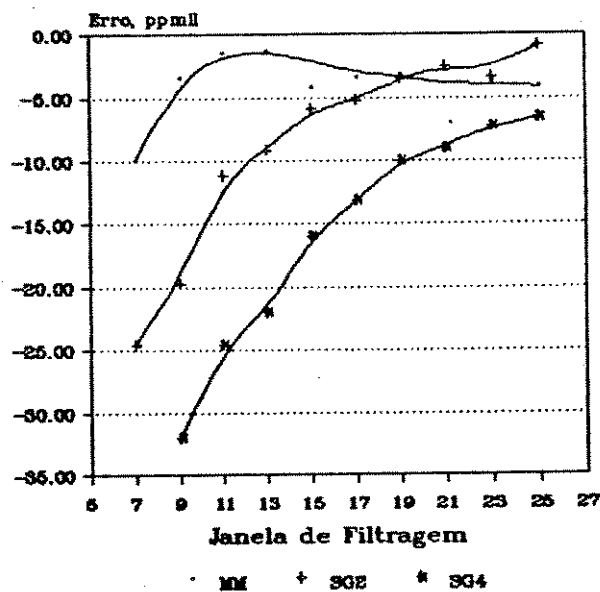


Fig. IV.10

$w_b = 11,371s$ Sem Ruído

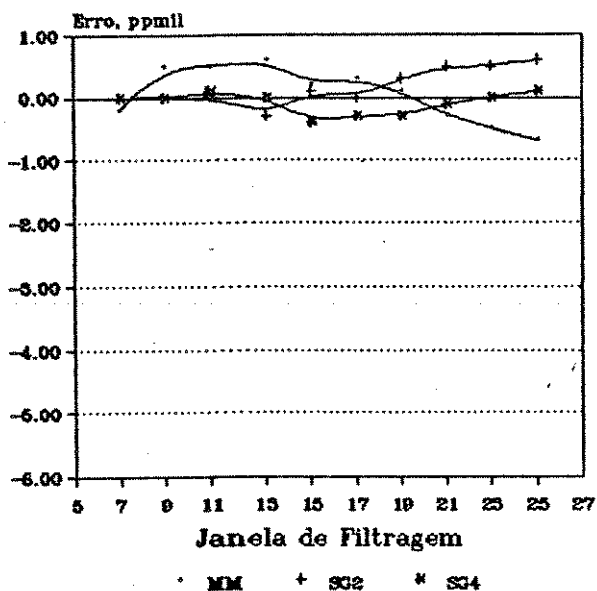


Fig. IV.11

$w_b = 11,371s$ RMS 10 mV

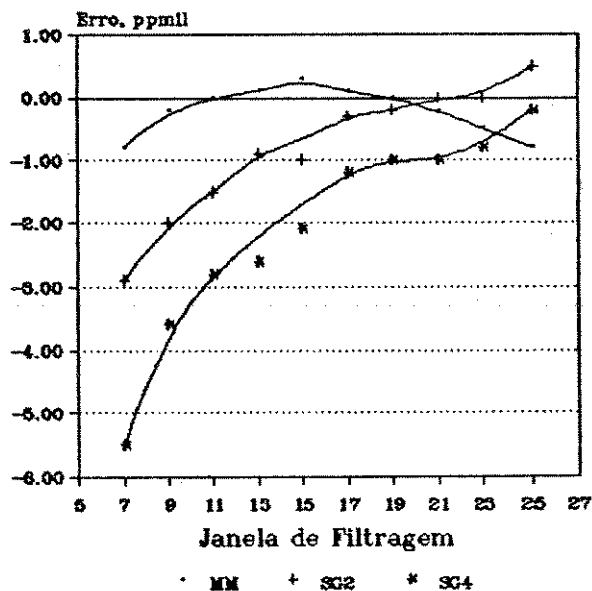


Fig. IV.12

$w_b = 11,371s$ RMS 50 mV

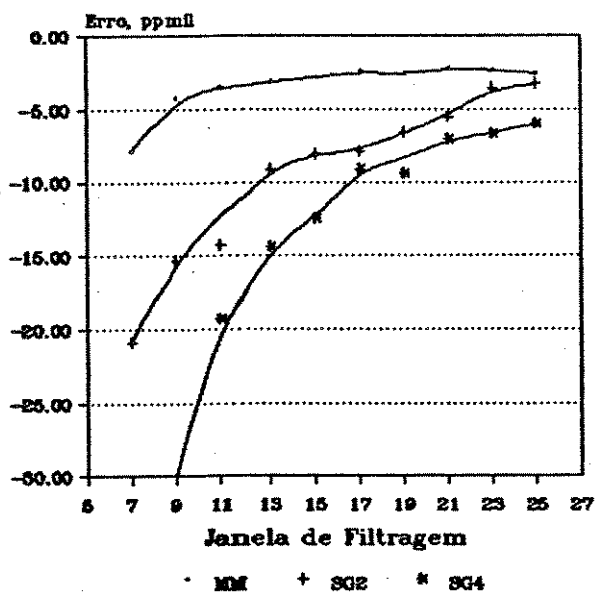
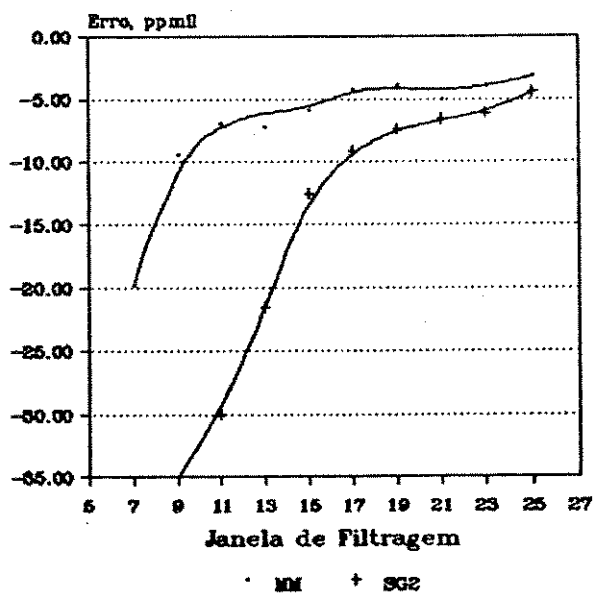


Fig. IV.13

$w_b = 11,371s$ RMS 100 mV



Nota: Para 100 mV RMS com filtro SG4, é necessária redefinição pelo usuário.

Fig. IV.14
wb = 14,842s Sem Ruído

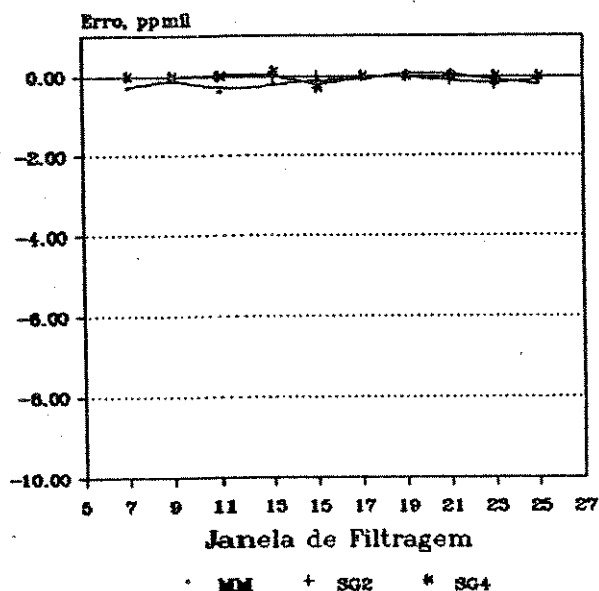


Fig. IV.15
wb = 14,842s RMS 10 mV

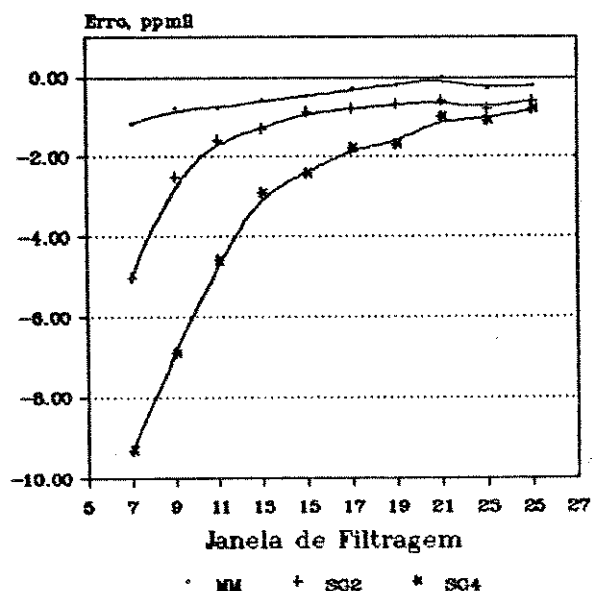


Fig. IV.16
wb = 14,842s RMS 50 mV

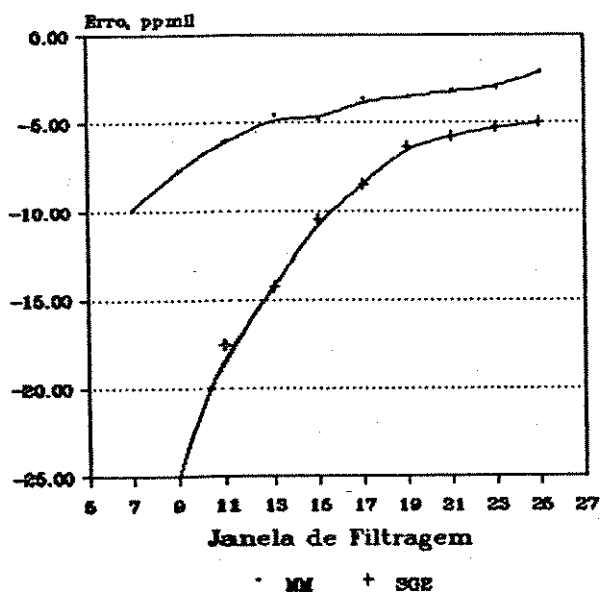
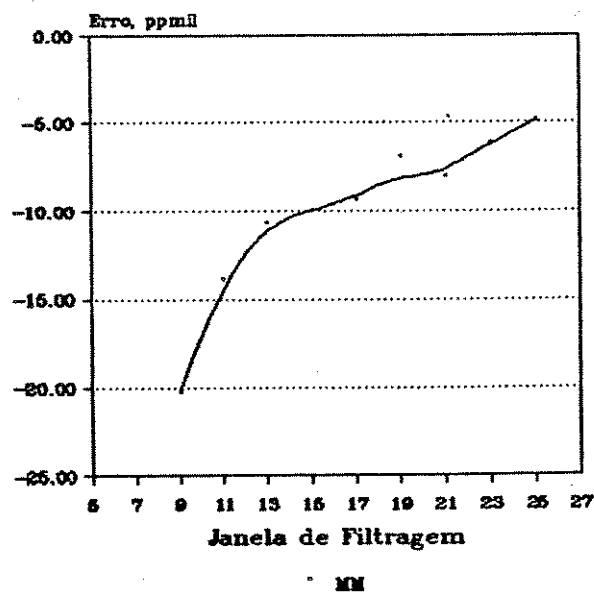


Fig. IV.17
wb = 14,842s RMS 100 mV



Nota: Para 50 mV com filtro SG4, e 100 mV RMS com filtros SG2 e SG4, é necessária redefinição pelo usuário.

equivalerem-se e reproduzirem a área real. Portanto, quanto mais largo o pico, menores são os erros observados em suas áreas. Isto é consequência dos picos mais largos serem definidos por um maior número de fatias.

Comparando-se os erros nas áreas para picos sem ruídos, com os erros obtidos para picos idênticos com diferentes níveis de ruído, pode ser discutido o efeito conjunto do filtro e do ruído residual (após filtragem) sobre a área. Arbitrariamente, foram estabelecidos como aceitáveis erros na área de até 5 partes por mil. A tabela IV.6 relaciona os filtros e faixas de janelas de filtragem para análise de picos com ruído dentro deste limite de erro na área.

Tabela IV.6 - Filtros e faixas de janelas de filtragem adequados para tratamento de picos gaussianos com diversos níveis de ruído.

Larguras de Base:				
Ruído:	4,109 s	7,943 s	11,371 s	14,842 s
10 mV	MM(7-25)	MM(7-25)	MM(7-25)	MM(7-25)
	SG2(7-25)	SG2(7-25)	SG2(7-25)	SG2(7-25)
	SG4(7-25)	SG4(7-25)	SG4(9-25)	SG4(11-25)
50 mV	MM(9-25)	MM(7-25)	MM(9-25)	MM(13-25)
	SG2(7-25)	SG2(15-25)	SG2(23-25)	-
	SG4(13-25)	SG4(19-25)	-	-
100 mV	MM(7-21)	MM(9-25)	MM(17-25)	-
	SG2(7-21)	SG2(17-25)	-	-
	SG4(9-25)	-	-	-

Para os picos sem ruído (figuras IV.2, IV.6, IV.10 e IV.14), verifica-se que a aplicação do filtro MM diminui a área do pico, proporcionalmente à janela de filtragem. Este comportamento se deve ao fato de que o filtro MM diminui a amplitude das fatias tratadas [2, 9], diminuindo conseqüentemente a área. O inverso se observa para o filtro SG2.

Analisando-se as figuras IV.2 a IV.17, algumas tendências podem ser observadas sobre o comportamento das áreas dos picos com ruído após filtragem. De uma maneira geral, a área de um pico com ruído, após filtragem, é menor que a de um pico idêntico sem ruído e filtrado nas mesmas condições. Este erro é tanto maior quanto mais largo for o pico e quanto mais ruído ele contiver. Qualquer filtro, se usado em sua faixa de filtragem menos eficiente (figura IV.1) também aumenta o erro. A tendência do erro na área aumentar com a largura e com o ruído de um pico pode ser interpretado como o resultado de um mascaramento, pelo ruído, da detecção de início e final do pico pelo ruído. No início e no final de um pico, o sinal varia mais suavemente. Quanto mais largo o pico, mais suave é a variação do sinal nos seus extremos. Pelo fato de início e final serem detectados por derivadas primeira e segunda, e pela existência de ruído residual aleatório, que se impõe sobre a variação suave do sinal, início e final só são detectados quando o sinal básico variar de forma suficientemente abrupta. Isto ocorre depois do início real e antes do fim real. Com isto, o programa define o pico como sendo mais estreito do que ele realmente é, e soma menos fatias do que deveria, no cálculo da área. Os erros negativos na área podem ser atribuídos, ao menos em parte, a este efeito.

Na prática, só se aplicam filtros digitais sobre cromatogramas quando o nível de ruído impedir uma análise satisfatória. Em vista dos níveis de ruído medidos no sistema cromatográfico usado serem de no máximo 2,87 mV RMS (tabela IV.3), consideramos que as condições de filtragem discutidas para 10 mV RMS de ruído são suficientemente representativas de condições encontradas em análises reais. Nestas condições pode-se usar os filtros MM e SG2 com grande flexibilidade quanto às janelas de filtragem (tabela IV.6). Para picos com 50 mV RMS de ruído, o filtro MM pode ser usado com janelas maiores que 13 fatias. Níveis de ruído aleatório altos como 100 mV RMS, ou 1 % f.e. (fundo de

escala), podem ser devidos a interferência de rede com ganhos altos do amplificador de sinal, ou mal funcionamento do instrumental. Tais problemas devem ser sanados, porque qualquer tratamento matemático que possa ser feito sobre o sinal certamente não é a solução apropriada do problema.

2.3.2 - Efeito dos filtros sobre os tempos de retenção.

Foram comparados os tempos de retenção de picos após a aplicação dos filtros com os tempos de retenção dos mesmos picos sem ruído e sem a aplicação dos filtros. Em todos os casos, o tempo de retenção foi normalizado para que o início do pico sem filtragem e sem ruído correspondesse a 0,000 s, e o erro calculado como a diferença entre o tempo de retenção do pico filtrado e o do mesmo pico, sem ruído e sem filtragem. São apresentados dados referentes ao efeito dos filtros sobre picos sem ruído e com 100 mV RMS de ruído. Os resultados completos estão nas tabelas VI.21 a VI.36 do Apêndice 1.

As figuras IV.18, IV.20, IV.22 e IV.24 mostram que o filtro MM é o que mais altera o tempo de retenção dos picos. Para todos os filtros, as alterações em relação aos tempos de retenção esperados são maiores nos picos mais estreitos, e aumentam com a janela de filtragem. No caso menos favorável (figuras IV.18), o erro máximo é da ordem de 160 milisegundos.

Uma comparação entre picos filtrados com ruído e sem ruído mostra que a influência do ruído residual sobre o tempo de retenção é nula ou muito pequena - e, na prática, desprezível. Isto mostra que a rotina de regressão polinomial para alocação de tempos de retenção é pouco sensível ao ruído residual. Dois fatores agem no sentido de minimizar a influência do ruído sobre o tempo de retenção. A operação de determinação do polinômio com o qual se aloca o tempo de retenção tem um efeito de diminuição de ruídos,

Fig. IV.18
wb = 4,109s Sem Ruído

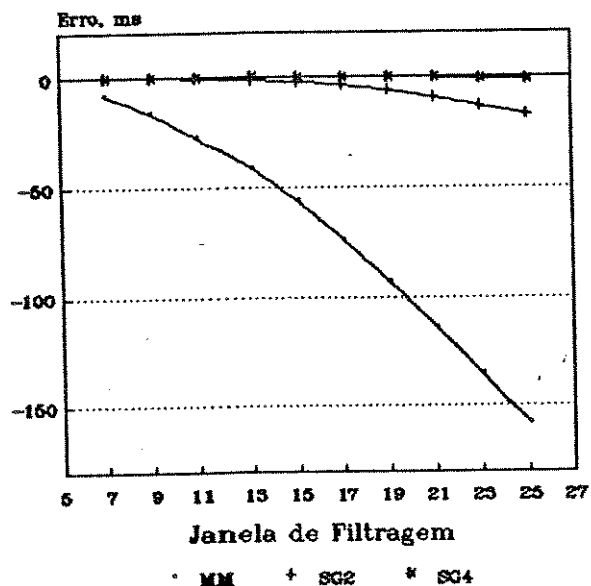


Fig. IV.19
wb = 4,109s RMS 100 mV

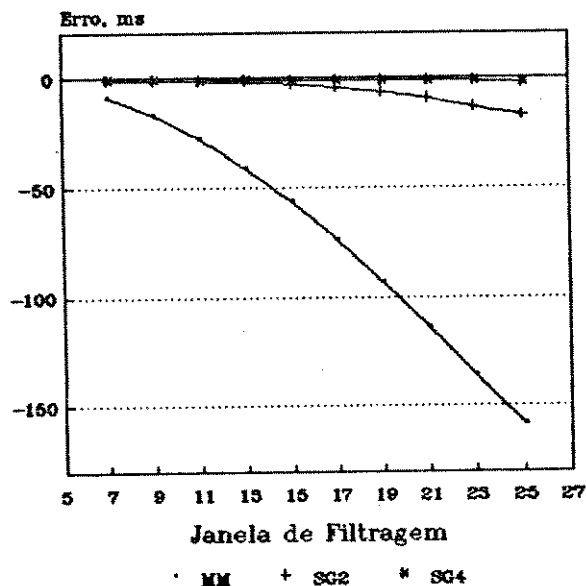


Fig. IV.20
wb = 7,943s Sem Ruído

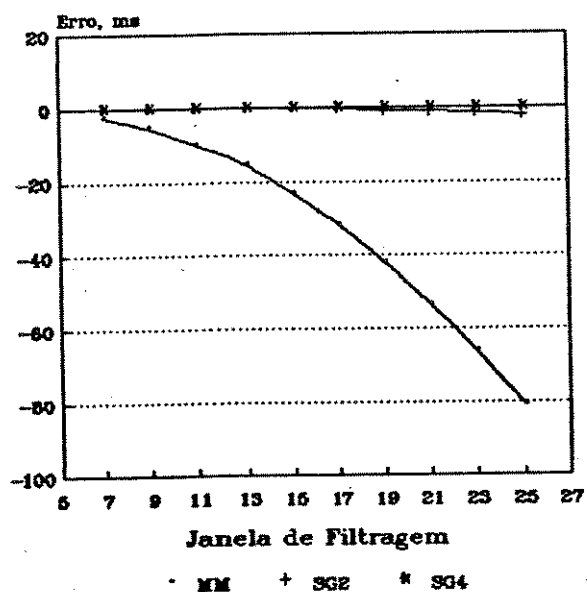


Fig. IV.21
wb = 7,943s RMS 100 mV

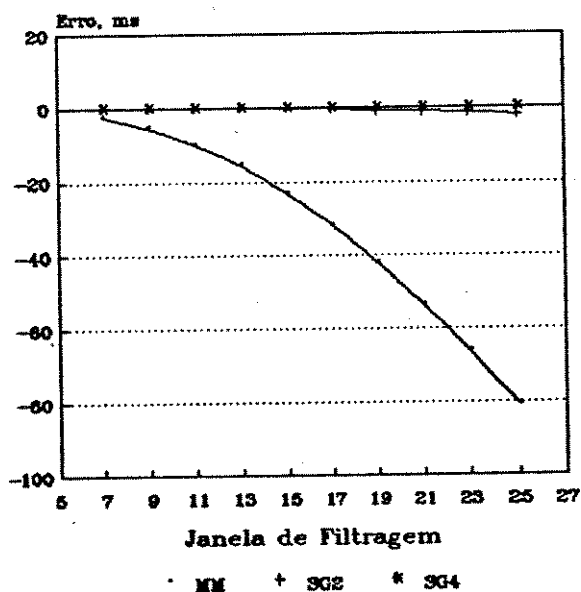
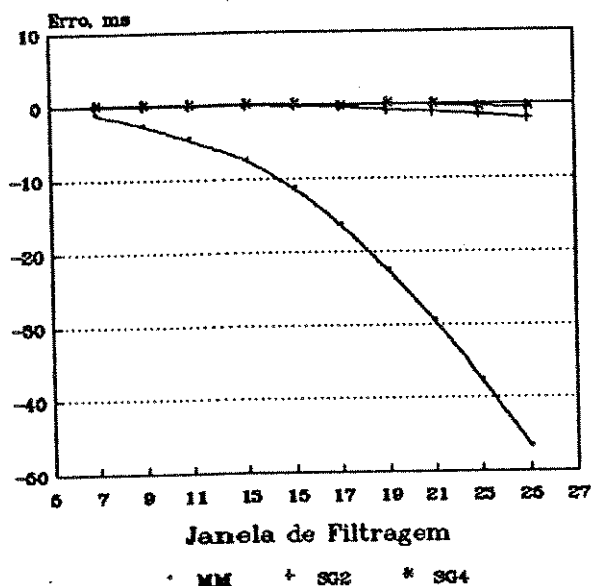


Fig. IV.22
wb = 11,371s Sem Ruído



Nota: Para 100 mV RMS com filtro SG4, é necessária redefinição pelo usuário.

Fig. IV.23
wb = 11,371s RMS 100 mV

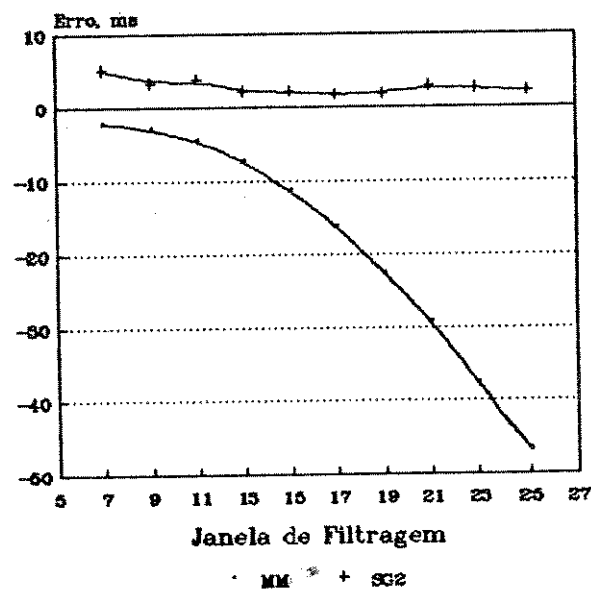


Fig. IV.24
wb = 14,842s Sem Ruído

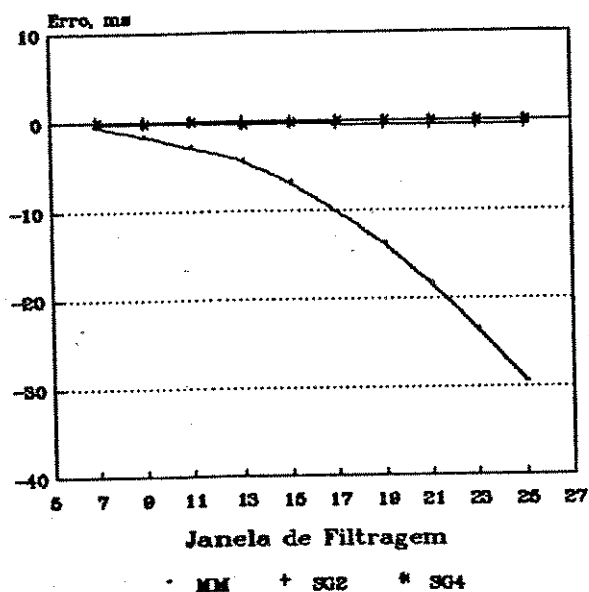
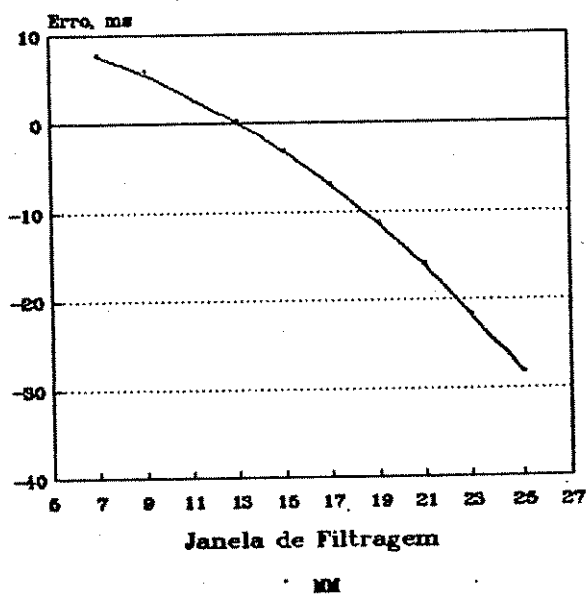


Fig. IV.25
wb = 14,842s RMS 100 mV



Nota: Para 50 mV com filtro SG4, e 100 mV RMS com filtros SG2 e SG4, é necessária redefinição pelo usuário.

pois uma interpolação polinomial age como um filtro digital. O outro fator é que, na região do máximo do pico, a variação do sinal é suficientemente abrupta para que a detecção do máximo local, por análise de derivadas, não seja mascarada pela amplitude dos ruídos. Como os efeitos de filtragem sobre os tempos de retenção são negligenciáveis, os efeitos do filtro e do ruído residual sobre os tempos de retenção não são fatores determinantes para a escolha do tipo de filtro.

2.3.3 - Efeito dos filtros sobre as largura de base.

Foram comparadas as larguras de base dos picos após a aplicação dos filtros com as larguras de base dos mesmos picos, sem ruído e sem aplicação dos filtros digitais. As figuras IV.26 a IV.41 mostram a alteração percentual das larguras de base dos picos filtrados. No Apêndice 1, tabelas VI.37 a VI.52, estão os dados correspondentes.

As figuras IV.26, IV.30, IV.34 e IV.38 são indicativas do comportamento da largura de base dos picos quando submetidos à filtragem. Para todos os filtros, as alterações neste parâmetro diminuem com o alargamento do pico. Com o aumento da janela de filtragem, o filtro MM aumenta quase que linearmente a largura de base, especialmente para as larguras menores. O filtro SG2 provoca uma diminuição da largura de base, e o filtro SG4 tem pouca influência sobre este parâmetro.

As demais figuras (IV.27, IV.28, IV.29, IV.31, IV.32, IV.33, IV.35, IV.36, IV.37, IV.39, IV.40 e IV.41) são indicativas da influência conjunta do ruído residual e do filtro sobre as larguras de base. O efeito do ruído residual é muito grande, e, para picos largos, tende a ser maior que as deformações introduzidas pela filtragem. Mesmo níveis baixos de ruído provocam uma diminuição significativa nas larguras de base; isto é válido para todos os filtros

Fig. IV.26
wb = 4,109s Sem Ruído

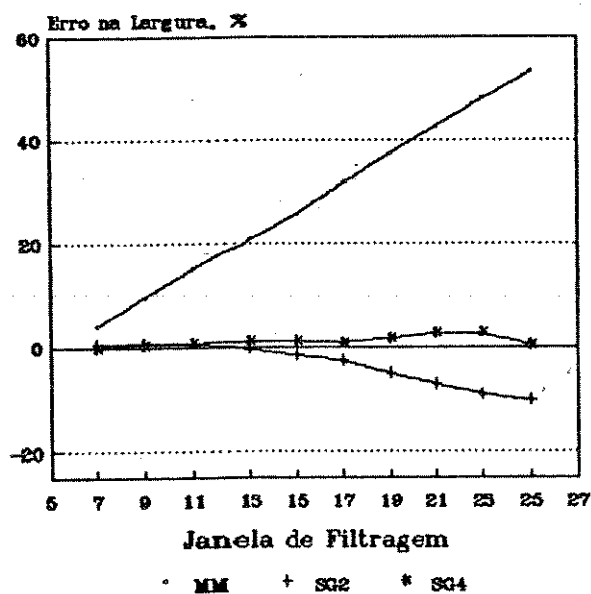


Fig. IV.27
wb = 4,109s RMS 10 mV

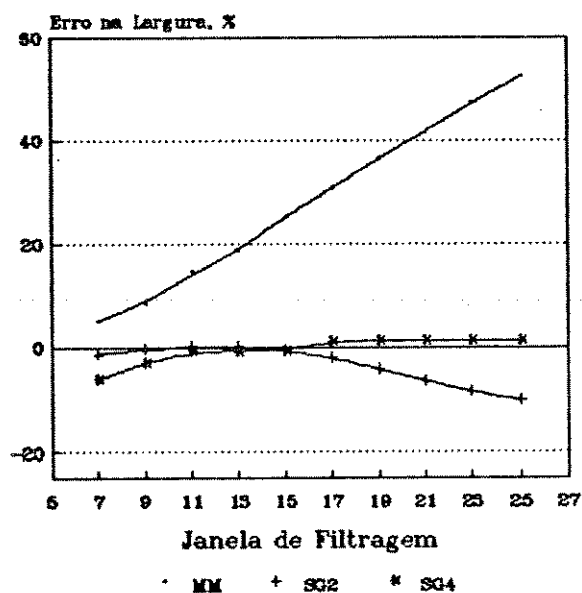


Fig. IV.28
wb = 4,109s RMS 50 mV

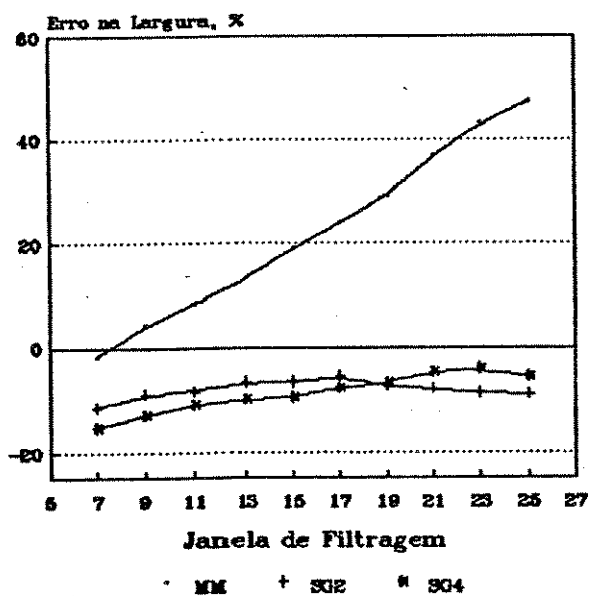


Fig. IV.29
wb = 4,109s RMS 100 mV

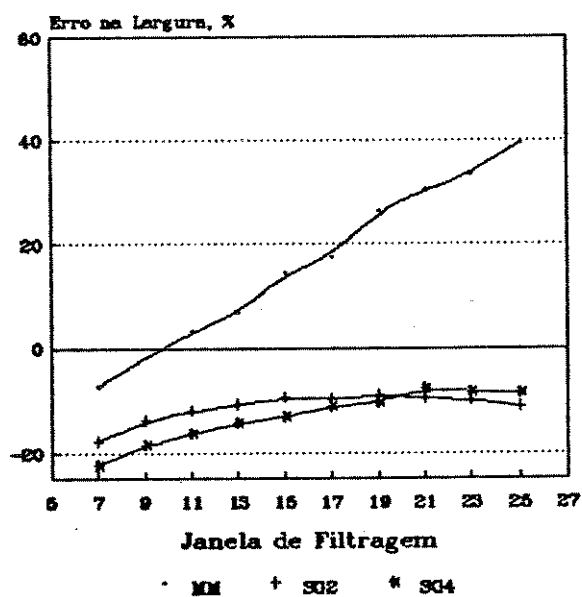


Fig. IV.30
wb = 7,943s Sem Ruído

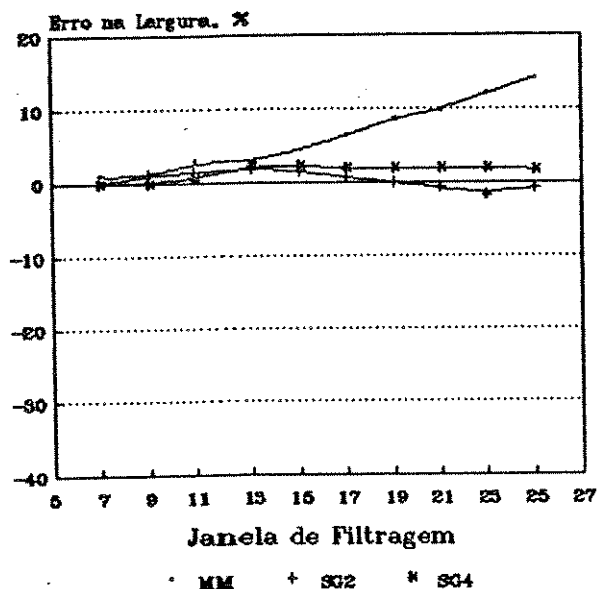


Fig. IV.31
wb = 7,943s RMS 10 mV

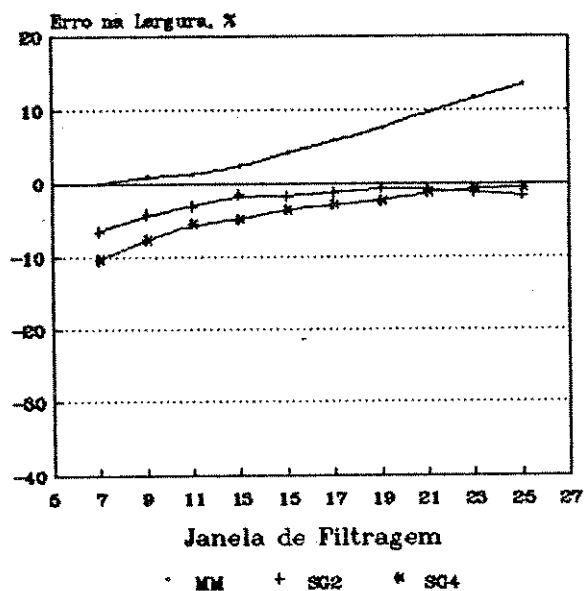


Fig. IV.32
wb = 7,943s RMS 50 mV

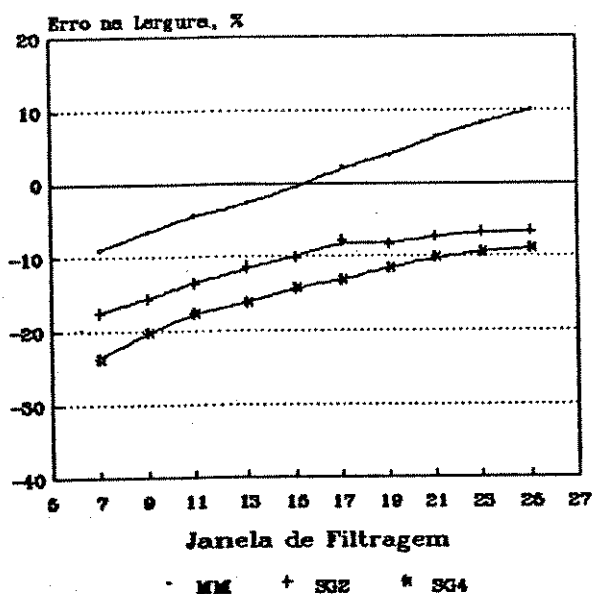


Fig. IV.33
wb = 7,943s RMS 100 mV

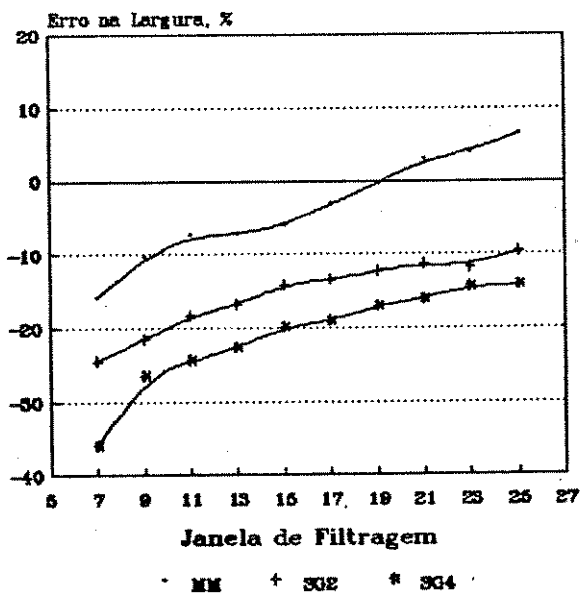


Fig. IV.34
wb = 11,371s Sem Ruído

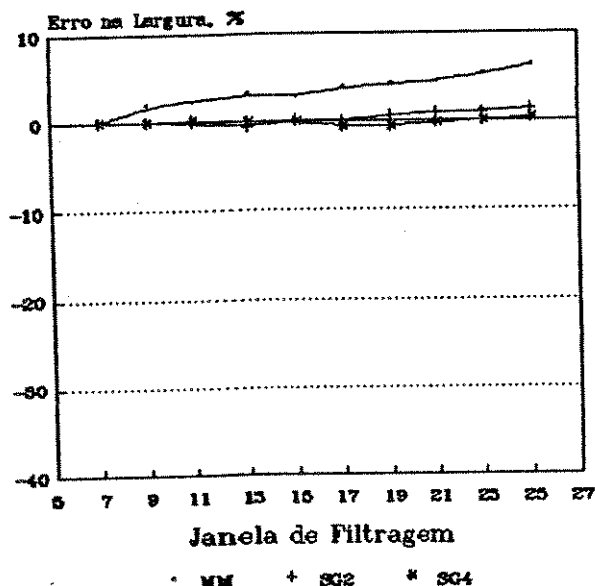


Fig. IV.35
wb = 11,371s RMS 10 mV

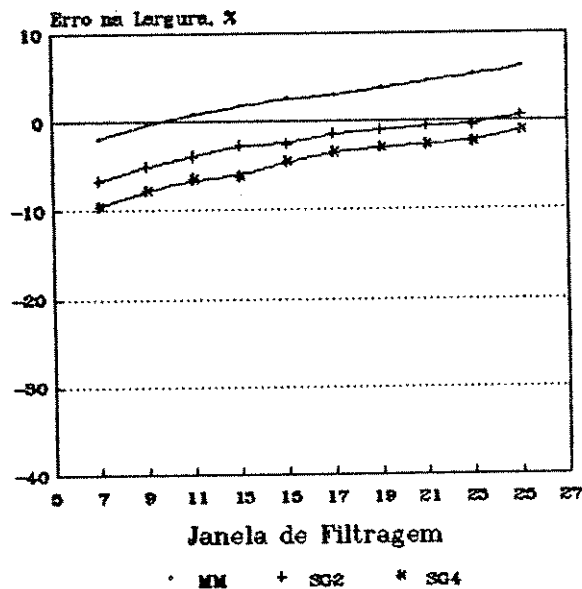


Fig. IV.36
wb = 11,371s RMS 50 mV

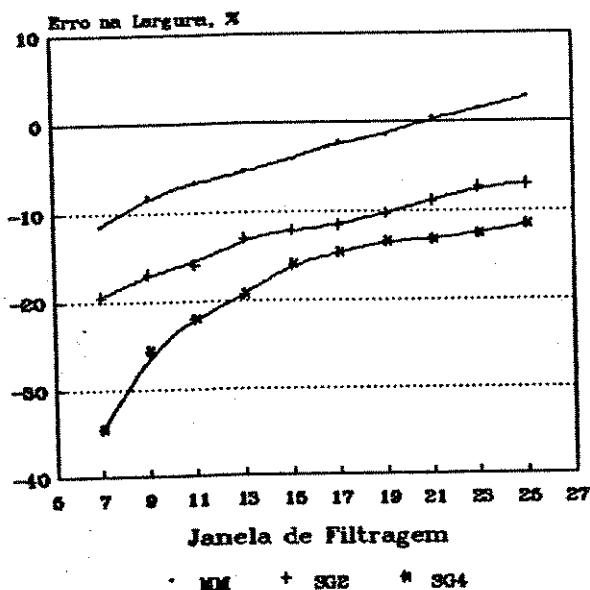
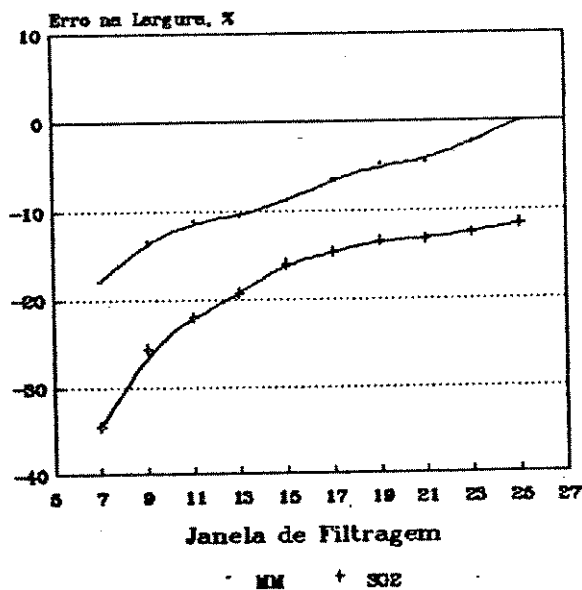


Fig. IV.37
wb = 11,371s RMS 100 mV



Nota: Para 100 mV RMS com filtro SG4, é necessária redefinição pelo usuário.

Fig. IV.38
wb = 14,842s Sem Ruído

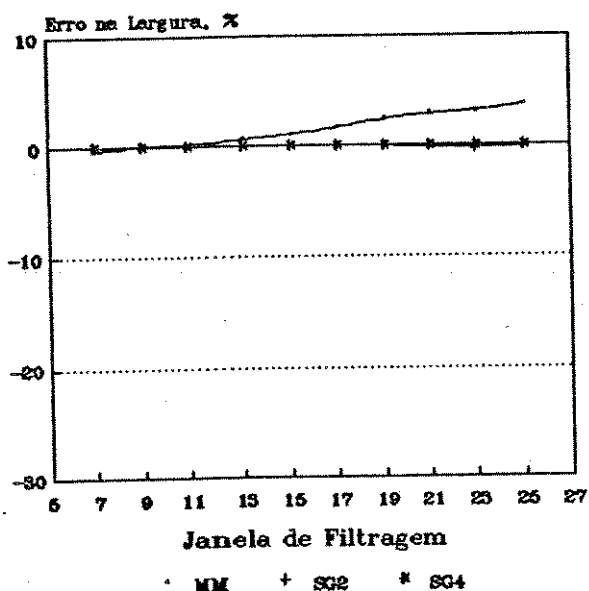


Fig. IV.39
wb = 14,842s RMS 10 mV

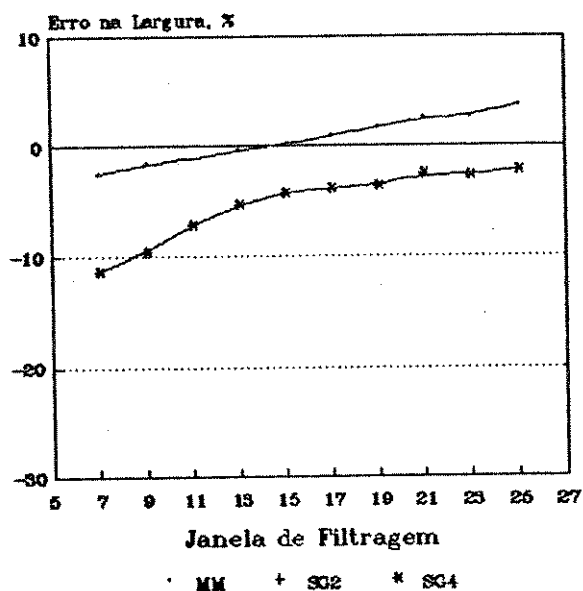


Fig. IV.40
wb = 14,842s RMS 50 mV

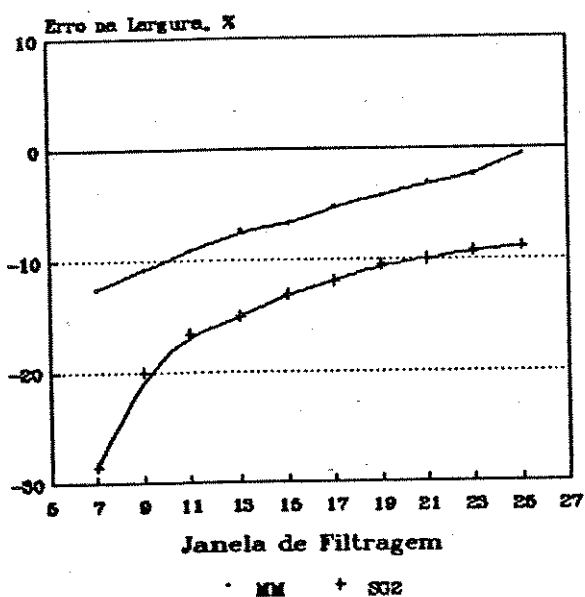
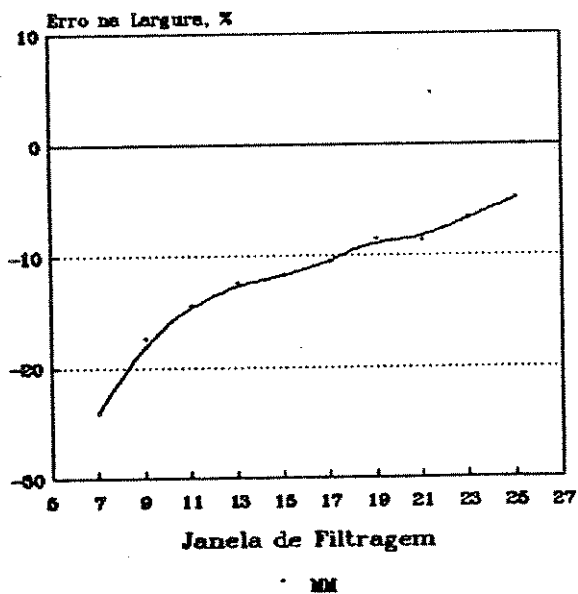


Fig. IV.41
wb = 14,842s RMS 100 mV



Nota: Para 50 mV com filtro SG4, e 100 mV RMS com filtros SG2 e SG4, é necessária redefinição pelo usuário.

estudados. O motivo é o mascaramento da detecção de início e fim de picos por ruídos, como foi discutido na seção 2.3.1.

As figuras IV.26 a IV.41 mostram que a largura de base, estimada pela análise de derivadas, é um parâmetro de confiabilidade duvidosa. Para contornar este problema existem duas alternativas razoáveis. Uma delas é usar valores maiores de sensibilidade mínima de detecção, de forma que só sejam alocados início e fim de picos em regiões nas quais o valor do sinal e das derivadas é suficientemente alto para amenizar a influência do ruído. Outra possibilidade é usar a largura a meia altura do pico [26] tanto para estimar parâmetros de eficiência de colunas (equação de van Deemter, por exemplo), como para calcular áreas.

2.3.4 - Seleção das Condições de Filtragem de Ruídos.

As considerações das três seções anteriores se referem, isoladamente, aos efeitos de filtragem sobre área, tempo de retenção e largura de base de picos. A seleção das condições de filtragem deve procurar um compromisso que otimize o cálculo destes três parâmetros. No entanto, este é um objetivo difícil de ser atingido. Um procedimento geral pode ser sugerido, contudo, ele não pode substituir o bom senso adquirido pela prática.

Deve-se, em primeiro lugar, verificar o nível de ruído. Existem duas situações limite:

a) Ruído muito baixo: em situações nas quais o nível de ruído for suficientemente pequeno, pode ser dispensada a pós-filtragem. Os dados aqui apresentados são de sinais com ruído máximo de 2,87 mV RMS (0,03 % f.e.). Eles somente sofreram pré-filtragem por média simples com janela de 5 sinais, e não detectamos maiores problemas nos resultados.

b) Ruído muito alto: o nível mais alto de ruído estudado (seções 2.3.1 a 2.3.3) foi de 100 mV RMS (1 %

f.e.). Em alguns casos, a aplicação de filtros levou a análises com erros dentro dos limites que adotamos como aceitáveis. Porém, como já discutido, ruído com esta amplitude é sintoma de problemas instrumentais, cuja correção não é aplicação de filtros digitais. Devem-se sanar as causas que levam ao ruído, ao invés de tentar eliminá-lo com tratamentos matemáticos sobre o sinal.

Se o nível de ruído estiver em uma faixa intermediária entre as mencionadas acima (por exemplo, até 50 mV RMS ou 0,5 % f.e.), pode ser recomendável a aplicação de filtros no processamento de dados pelo programa ANACROM. Para a seleção das condições de filtragem (tipo de filtro e janelas de filtragem), deve-se levar em consideração a largura dos picos. Duas situações são possíveis:

a) Picos estreitos: para picos com larguras de base de até cerca de 8 segundos (equivalentes às duas menores larguras analisadas nas seções 2.3.1 a 2.3.3), existem duas estratégias básicas. Estes picos estreitos são os que sofrem maiores alterações em seus parâmetros pela aplicação de filtros. Por outro lado, a análise deste tipo de picos com o programa ANACROM é pouco sensível à presença de ruído, em comparação aos picos mais largos. Desta forma, seria conveniente tentar a análise sem filtragem na fase de pós-processamento.

Se os resultados do procedimento acima não forem bons, deve-se fazer uma filtragem. Numa primeira aproximação, tanto o filtro MM quanto SG2 poderiam ser usados (tabela IV.6); entretanto, deve ser considerado o efeito do filtro sobre a largura de base. O alargamento excessivo dos picos estreitos, causado pelo filtro MM, pode levar à superposição de picos adjacentes, com consequente prejuízo para a resolução do sistema. Nesta situação, o filtro SG2 é a alternativa mais adequada para filtragem.

b) Picos largos: para cromatogramas com picos similares aos mais largos estudados (entre 8 e 15 segundos), existe um efeito bastante pronunciado do ruído sobre os parâmetros calculados por ANACROM. Além disso, os erros introduzidos por aplicação de filtros são de menor magnitude que em picos estreitos. O mais indicado é aplicar um filtro que seja mais eficiente. O filtro MM é o que melhor se aplica nestes casos.

Além dos procedimentos gerais mencionados acima, o programa ANACROM também possibilita realizar duas filtrações sucessivas sobre o sinal. Esta opção foi incluída porque é previsível que uma combinação de dois filtros possibilite remoção adequada de ruído com deformação mínima dos picos.

Em qualquer caso, a possibilidade de analisar várias vezes o mesmo cromatograma, com diferentes parâmetros, é um recurso que pode ser usado para uma avaliação do tratamento a que devem ser submetidos os sinais.

3 - Uso do Programa para Estimativa da Equação de van Deemter (VDEEMTER)

Este programa foi usado para a estimativa da equação de van Deemter de quatro colunas capilares, usando CHCl_3 e CHBr_3 como substratos. Dispondo dos coeficientes B e C desta equação, foram calculadas as difusibilidades dos substratos nas fases estacionárias. CHCl_3 e CHBr_3 foram escolhidos porque são dois dos trihalometanos (THM), e nosso grupo de pesquisa está iniciando estudos para detecção desta classe de compostos em água.

Foram preparadas soluções contendo 1 mg / ml de CHCl_3 e CHBr_3 em tolueno. Estas soluções foram cromatografadas no cromatógrafo HP 5890, nas seguintes condições:

Temperaturas, coluna : 50°C
detetor : 180°C
injetor : 180°C

Vazões no detector, H_2 : 30 ml / min
 N_2 : 30 ml / min
 ar : 300 ml / min

Purga do septo: 0,5 ml / min

Volume injetado: 0,3 microlitros

Razão de divisão no injetor: 1 / 100

Ganho do amplificador: 24

As colunas estão descritas na tabela IV.7.

Tabela IV.7 - Características^(a) das colunas capilares usadas na determinação da equação de van Deemter

FE ^(b)	d_i (mm)	L (m)	d_f (um)	material do tubo
Me-Si I	0,20	12	0,33	sílica fundida
Me-Se II	0,22	25	0,25	sílica fundida
CBX 20M	0,20	25	0,10	sílica fundida
OV-101	0,25	16	nc	vidro

(a) FE = fase estacionária; d_i = diâmetro interno; L = comprimento da coluna; d_f = espessura do filme de fase estacionária.

(b) Me-Si = metil-silicone; CBX 20M = carbowax 20M. Exceto a coluna de OV-101, as FE das demais colunas são, segundo o fabricante, imobilizadas por entrecruzamento.

Para cada coluna, variou-se a vazão do gás de arraste, e para cada vazão foram feitas entre 2 e 5 injeções, dependendo da reprodutibilidade obtida. A altura equivalente a um prato teórico foi calculada como $h = 16 (t_r / w_b)^2$. Os resultados estão nas tabelas IV.8 a IV.11. As figuras IV.42 a IV.46 mostram as curvas obtidas.

Fig. IV.42: MeSi 25m / CHCl₃

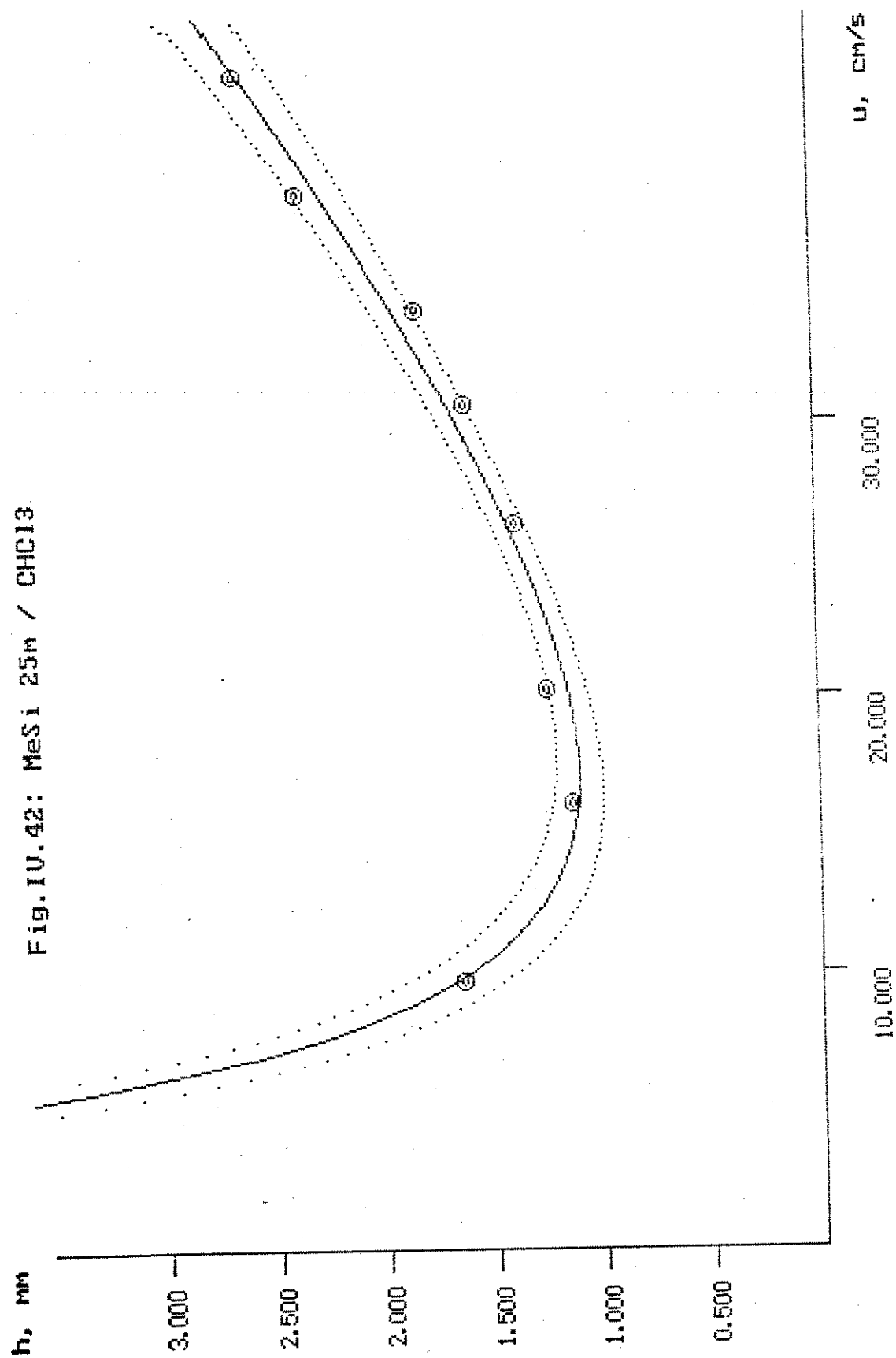
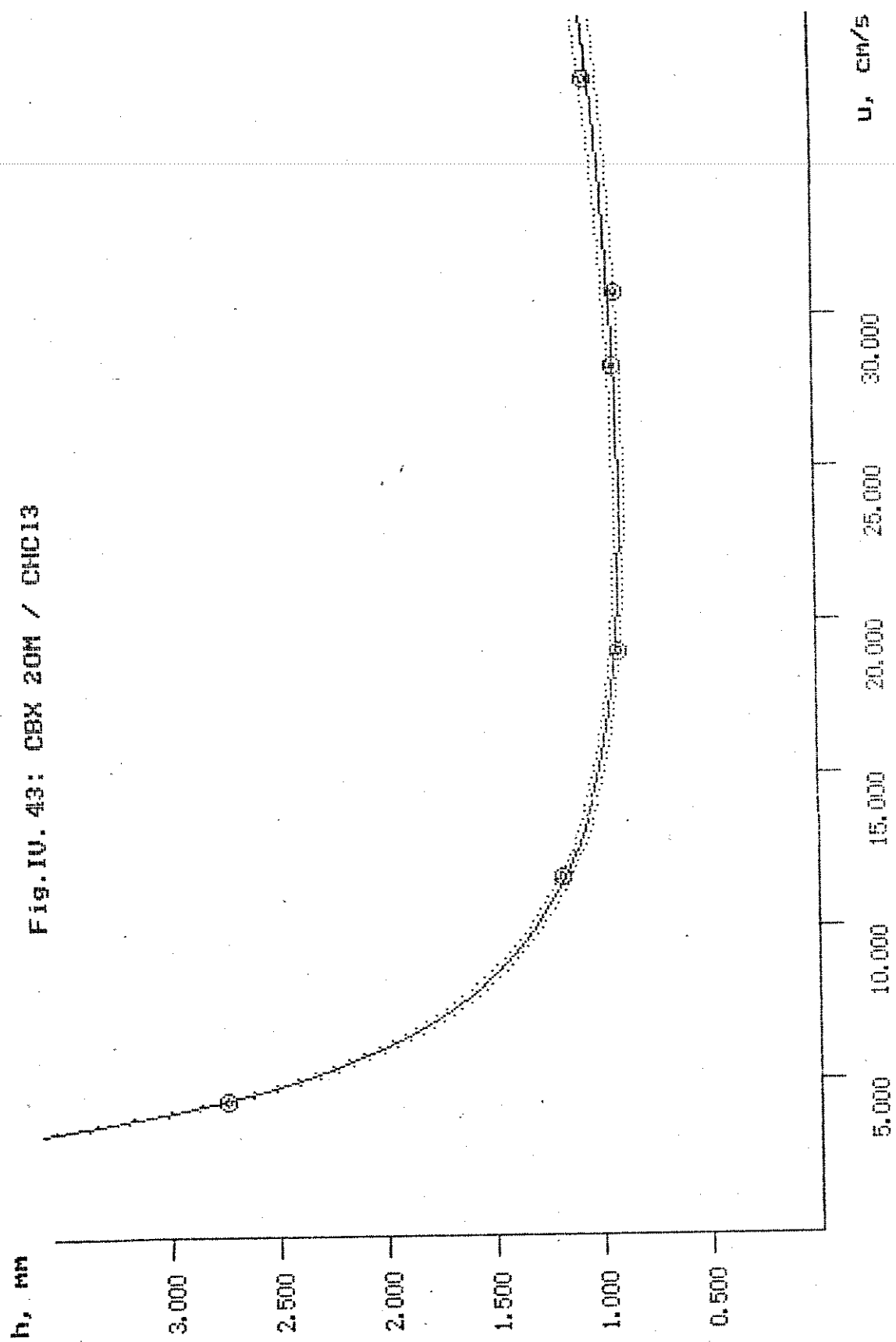
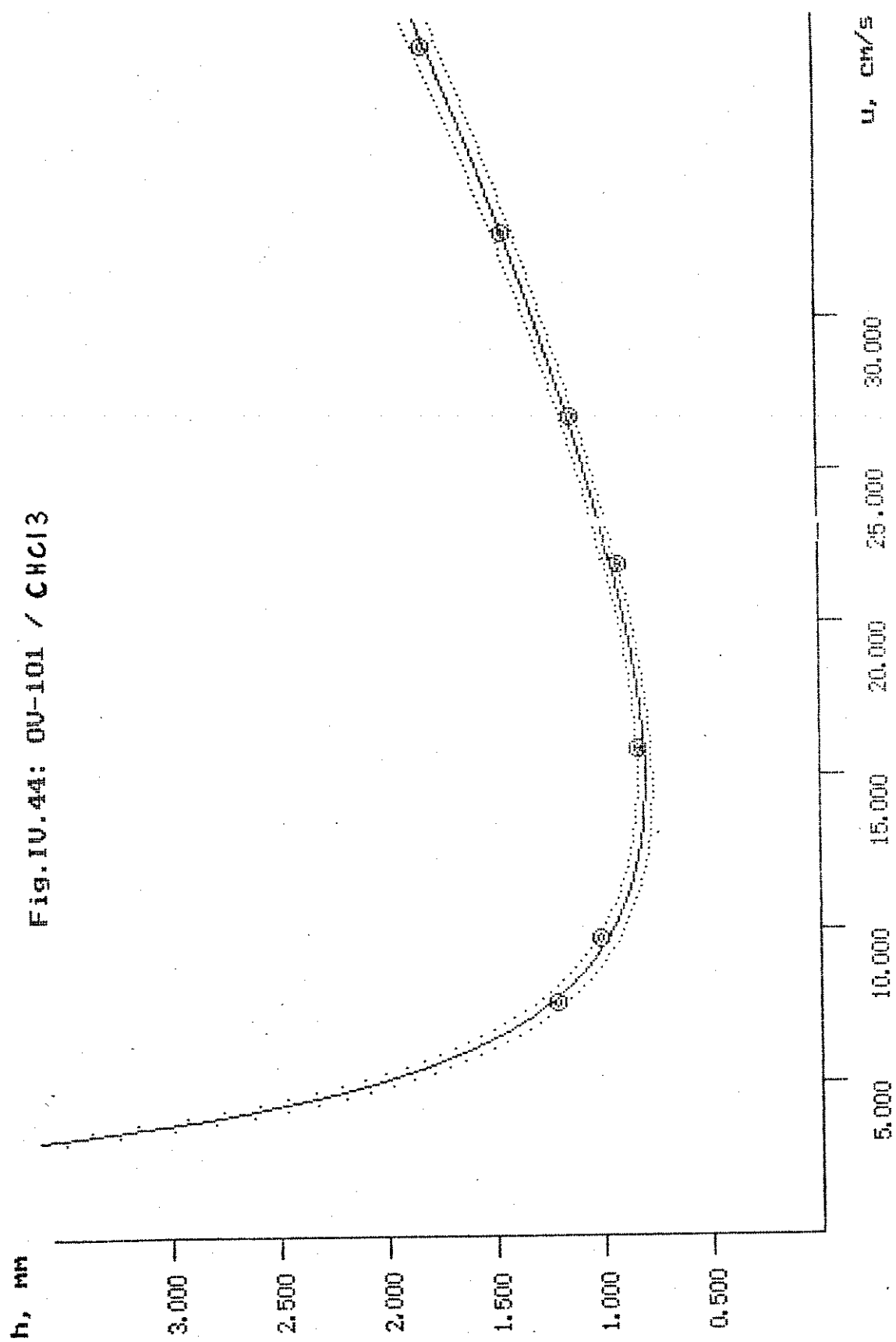


Fig.IV. 43: CBX 20M / CHCl₃





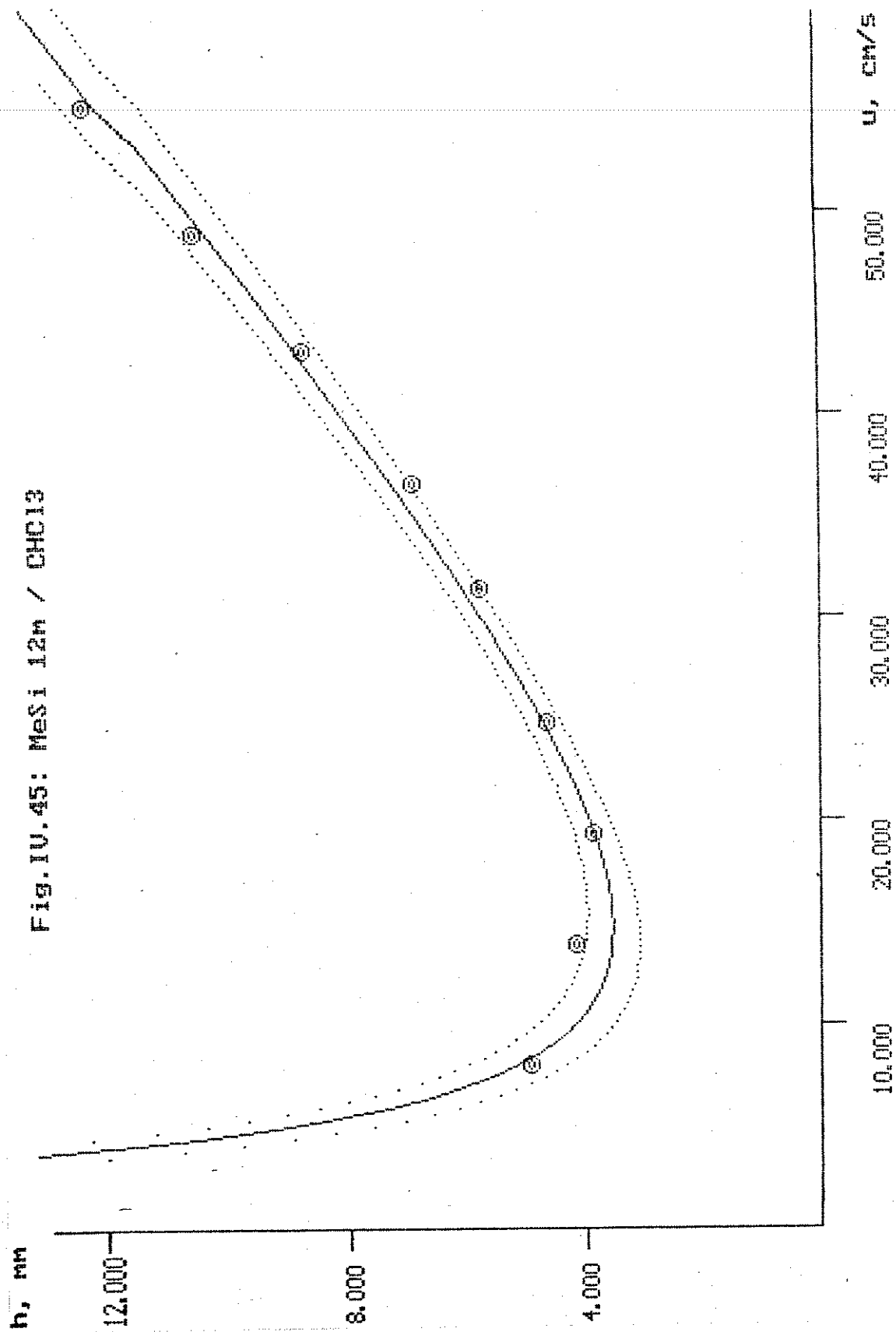


Fig. IV.46: MeSi 12m / CHBr₃

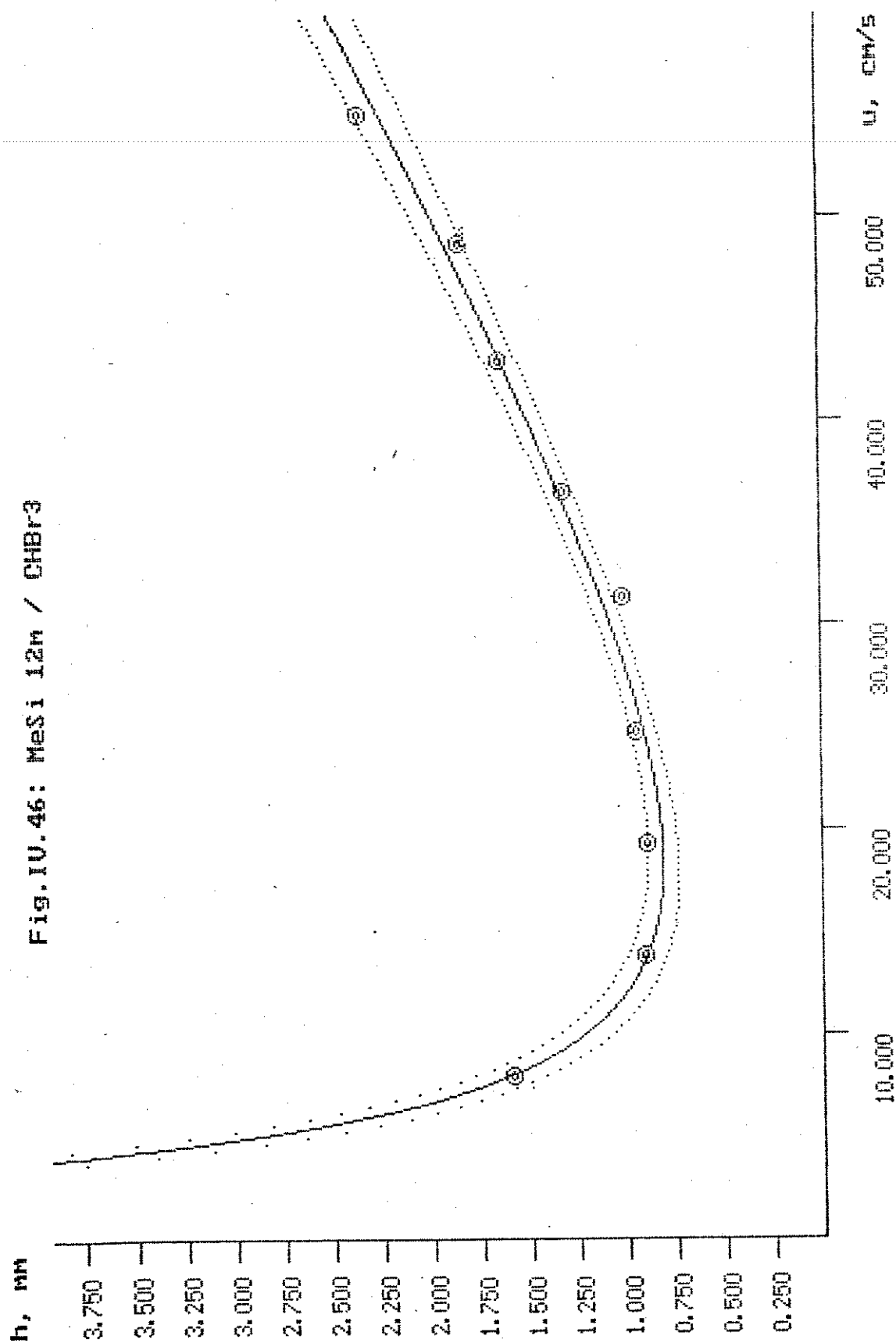


Tabela IV.8 - Alturas equivalentes a um prato teórico (h), em função da velocidade linear do gás de arraste (u), para CHCl_3 , Coluna de Metil Silicone de 25 m.

u, cm.s^{-1}	h, mm
9,69	1,64
16,11	1,13
20,18	1,23
26,28	1,36
30,52	1,59
33,93	1,80
38,16	2,33
42,62	2,60

Coeficientes obtidos:

$$A = (-2,27 \pm 0,26) \text{ mm}$$

$$B = (2,89 \pm 0,24) \text{ mm}^2.\text{s}^{-1}$$

$$C = (0,978 \pm 0,057) \text{ s}$$

$$\text{Vel. de Máxima Eficiência: } u_{\text{max}} = (17,2 \pm 1,2) \text{ cm.s}^{-1}$$

$$\text{Coeficiente de Correlação: } r^2 = 0,9802$$

Tabela IV.9 - Alturas equivalentes a um prato teórico (h), em função da velocidade linear do gás de arraste (u), para CHCl_3 - Coluna de Carbowax 20M de 25 m.

u, cm.s^{-1}	h, mm
4,39	2,72
11,66	1,18
18,90	0,91
28,18	0,92
30,62	0,91
37,72	1,03

Coeficientes obtidos:

$$A = (-0,13 \pm 0,04) \text{ mm}$$

$$B = (1,21 \pm 0,02) \text{ mm}^2.\text{s}^{-1}$$

$$C = (0,219 \pm 0,014) \text{ s}$$

Vel. de Máxima Eficiência: $u_{\text{max}} = (23,5 \pm 1,0) \text{ cm.s}^{-1}$

Coeficiente de Correlação: $r^2 = 0,9994$

Tabela IV.10 - Alturas equivalentes a um prato teórico (h), em função da velocidade linear do gás de arraste (u), para CHCl_3 Coluna de OV 101 de 16 m.

u, cm.s^{-1}	h, mm
7,62	1,21
9,69	1,01
15,78	0,83
21,87	0,92
26,59	1,13
32,70	1,43
38,99	1,79

Coeficientes obtidos:

$$A = (-1,08 \pm 0,08) \text{ mm}$$

$$B = (1,39 \pm 0,06) \text{ mm}^2.\text{s}^{-1}$$

$$C = (0,640 \pm 0,019) \text{ s}$$

$$\text{Vel. de Máxima Eficiência: } u_{\text{max}} = (14,7 \pm 0,5) \text{ cm.s}^{-1}$$

$$\text{Coeficiente de Correlação: } r^2 = 0,9892$$

Tabela IV.11 - Alturas equivalentes a um prato teórico (h), em função da velocidade linear do gás de arraste (u), para CHCl_3 e CHBr_3 . Coluna de Metil Silicone HP de 12 m

u, cm.s^{-1}	h, mm	
	CHCl_3	CHBr_3
7,92	4,97	1,63
13,83	4,21	0,93
19,25	3,91	0,91
24,75	4,68	0,97
31,29	5,80	1,04
36,42	6,96	1,34
42,83	8,79	1,68
48,63	10,63	1,88
54,88	12,28	2,39

Coeficientes obtidos para CHCl_3 :

A = $(- 4,93 \pm 0,60)$ mm

B = $(6,21 \pm 0,54)$ $\text{mm}^2.\text{s}^{-1}$

C = $(2,90 \pm 0,11)$ s

Vel. de Máxima Eficiência: $u_{\text{max}} = (14,6 \pm 0,9)$ cm.s^{-1}

Coeficiente de Correlação: $r^2 = 0,9892$

Coeficientes obtidos para CHBr_3 :

A = $(- 1,36 \pm 0,13)$ mm

B = $(2,01 \pm 0,12)$ $\text{mm}^2.\text{s}^{-1}$

C = $(0,600 \pm 0,026)$ s

Vel. de Máxima Eficiência: $u_{\text{max}} = (18,3 \pm 0,9)$ cm.s^{-1}

Coeficiente de Correlação: $r^2 = 0,9814$

Nos casos estudados, as eficiências ótimas para as quatro colunas foram encontradas com velocidades de gás de arraste correspondentes a vazões entre 0,3 e 0,4 ml.min^{-1} . Estes valores são bem menores que sugestões gerais de vazões ótimas para colunas capilares, que estão na faixa de 1 a 3 ml.min^{-1} [18, 25]. Os resultados obtidos confirmam a necessidade de que a velocidade ótima do gás de arraste seja

obtida para cada análise. O programa torna este cálculo simples e rápido.

É interessante notar que o valor dos coeficientes A da equação de van Deemter estimados pelo programa para todas as colunas são negativos, o que não é previsto na teoria. No entanto, o parâmetro A de van Deemter não tem significado físico para colunas capilares, de forma que estes valores não têm qualquer importância para os sistemas estudados.

3.2 - Cálculo das difusibilidades de THM's nas fases líquida e gasosa em colunas capilares.

As difusibilidades nas fases líquida (D_l) e gasosa (D_g) de um soluto em uma determinada coluna podem ser estimadas a partir dos coeficientes da equação de van Deemter, da razão de partição k , e de outras características da coluna (espessura do filme de fase estacionária, d_f , e diâmetro interno da coluna, d_i) (vide seção 7, Fundamentação Teórica). Foram calculados os D_g e D_l dos THM's estudados usando os coeficientes de van Deemter que constam das tabelas IV.8 a IV.11, as razões de partição calculadas dos cromatogramas correspondentes, e os d_f 's e d_i 's, fornecidos pelos fabricantes das colunas. Os resultados estão na tabela IV.12.

Tabela IV.12 - Difusibilidades ($\text{mm}^2.\text{s}^{-1}$) na fase estacionária (D_s) e na fase gasosa (D_g) de CHCl_3 e CHBr_3 , e razões de partição (k) em colunas capilares

CHCl_3 :

Coluna	d_f (mm)	k	D_1 , $\text{mm}^2.\text{s}^{-1}$	D_g , $\text{mm}^2.\text{s}^{-1}$
MeSi I	0,33	0,463	$7,59 \times 10^{-2}$	1,44
CBX 20M	0,10	0,825	$6,22 \times 10^{-1}$	0,60
OV 101	-	0,276	nd(a)	0,69
MeSi II	0,25	0,036	$4,24 \times 10^{-3}$	3,10

CHBr_3 :

Coluna	d_f (mm)	k	D_1 , mm^2/s	D_g , mm^2/s
MeSi II	0,25	0,975	$2,89 \times 10^{-1}$	1,00

(a) nd: não determinado; d_f desta coluna é desconhecido.

Os coeficientes de difusibilidade obtidos (tabela IV.51) mostraram-se coerentes para os solutos e colunas estudados. Os D_1 medidos para CHCl_3 aumentam com a polaridade da fase estacionária (de metil-silicone para Carbowax 20M) e com d_f . É interessante notar que para a coluna de vidro (que é um material de superfície mais ativa que a sílica fundida) D_1 é maior que os valores medidos para as colunas de sílica fundida, mesmo sendo as fases estacionárias de polaridades similares. Qualitativamente, todos estes resultados eram esperados e revelam que o programa potencialmente pode ser aplicado em um estudo sistemático para avaliação da utilidade de D_1 .

4 - Aplicação do Software de Coleta e Análise de Dados a uma Análise Quantitativa: Teor de Metanol na Fase Vapor da Mistura Metanol - Etanol - Gasolina

Um problema atual que tem sido muito discutido, com controvérsias, é a exposição ocupacional ao metanol,

decorrente do uso da mistura combustível MEG (metanol + etanol + gasolina). O software de coleta e aquisição de dados cromatográficos foi aplicado na determinação da concentração de metanol no vapor de diversas misturas de metanol, etanol e "gasolina" (na verdade, uma mistura de hidrocarbonetos de ponto de ebulição próximo ao da gasolina real). O experimento foi conduzido de tal modo que fossem simuladas as condições de exposição ao vapor do combustível que ocorrem na operação de abastecimento de um automóvel.

Em um balão de três bocas, com capacidade de 5 litros e equipado de agitador mecânico, foram misturados 1260 ml de etanol 96 % e 140 ml de uma mistura de hidrocarbonetos de faixa de ebulição entre 97°C e 115°C (para simular gasolina pura). A esta mistura, fizeram-se cinco adições sucessivas de 200 ml de metanol p.a. Após cada adição, a mistura era agitada vigorosamente por cerca de dois minutos, e uma alíquota de 2 ml do vapor era recolhida com uma seringa tipo "gas tight" e analisada no cromatógrafo PU 140 nas seguintes condições:

Coluna: Carbowax 20M a 3 % sobre Supelcoport 80-100 mesh; diâmetro interno de 3 mm, 1,8 m de comprimento, de aço inox.

Temperaturas: amostragem: 16°C (ambiente)
coluna : 80°C
detetor : 130°C
injeter : 130°C

Gás de Arraste: H₂ a 30 ml / min

Vazões no detetor: H₂ : 30 ml / min

ar : 300 ml / min

Ganho do amplificador: 10⁻¹⁰ A / V

Os cromatogramas foram coletados com o programa LECROM, usando cinco sinais por fatia no filtro de média móvel. Após coletados, os cromatogramas foram analisados pelo programa ANACROM, com os seguintes parâmetros:

- Limite mínimo de inclinação para detecção de picos: 20 mV / s
- Largura Mínima para Confirmação de Pico: 1 s
- Alocação de Tempos de Retenção: polinômio do 2º grau com janela de regressão de 13 pontos.
- Filtro de Ruído: não aplicado.

Os resultados foram exportados para uma planilha de cálculo para processamento. Foi construída uma curva de calibração com soluções de metanol p.a. em tolueno p.a., contendo pequenas quantidades de etanol p.a. e da mistura de hidrocarbonetos (para simular a composição do vapor).

A tabela IV.13 e figura IV.47. mostram os resultados e a curva de calibração obtida. A tabela IV.14 mostra os resultados de análises para diversas misturas. A figura IV.48 mostra a dependência do teor de metanol na fase vapor com a composição da fase líquida, e a figura IV.49 o cromatograma do vapor da misturas de composição similar à da mistura combustível comercial.

Tabela IV.13 - Curva de Calibração: áreas e estimativas do desvio-padrão (s) e do desvio-padrão relativo (s_r), e correspondentes massas de metanol (m_{MeOH}).

m_{MeOH} (mg)	Área (mV.s)	s (mV.s) ⁽¹⁾	s_r
0,0596	3433	142	4,1 %
0,0886	6757	53	0,8 %
0,1285	10655	389	3,6 %
0,5052	49272	1682	3,4 %

Nota: (1) - Injeções em triplicata

Curva Obtida: m_{MeOH} (mg) = $9,7535 \times 10^{-4}$ (Area) + 0,0245
 $r = 0.99998$

Fig. IV.47
Curva de Calibracao

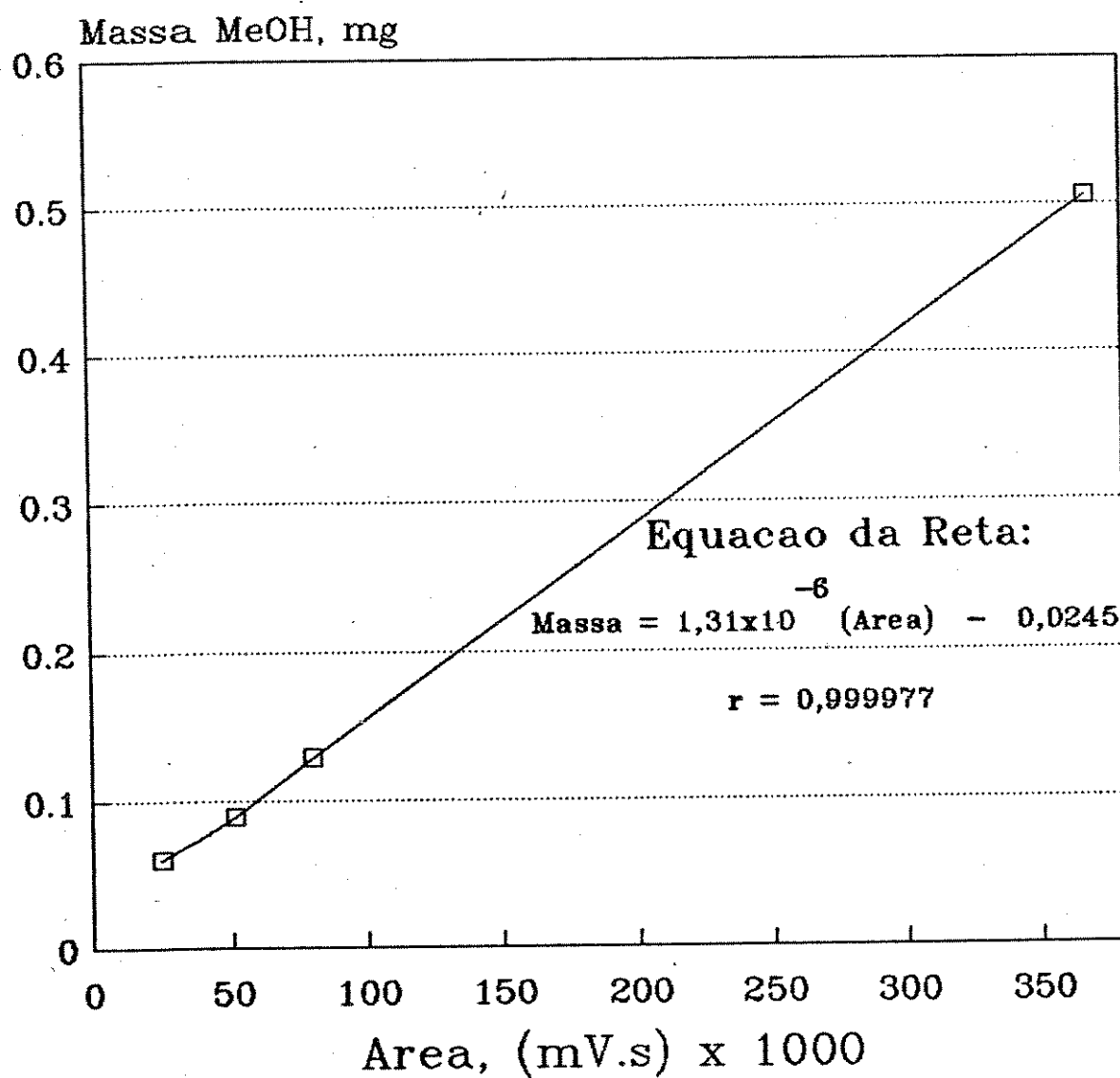
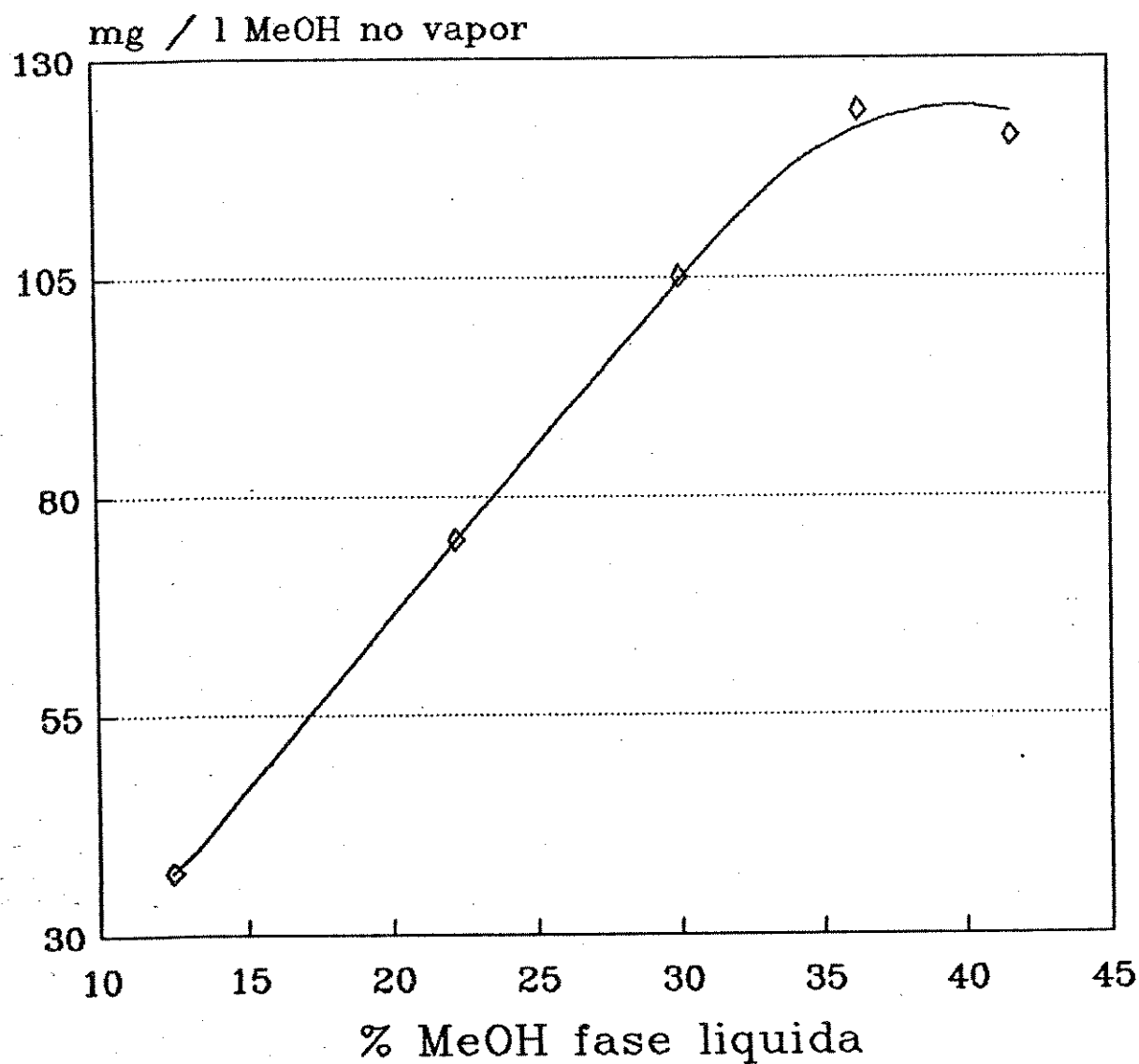


Fig. IV.48
Composicao do Vapor



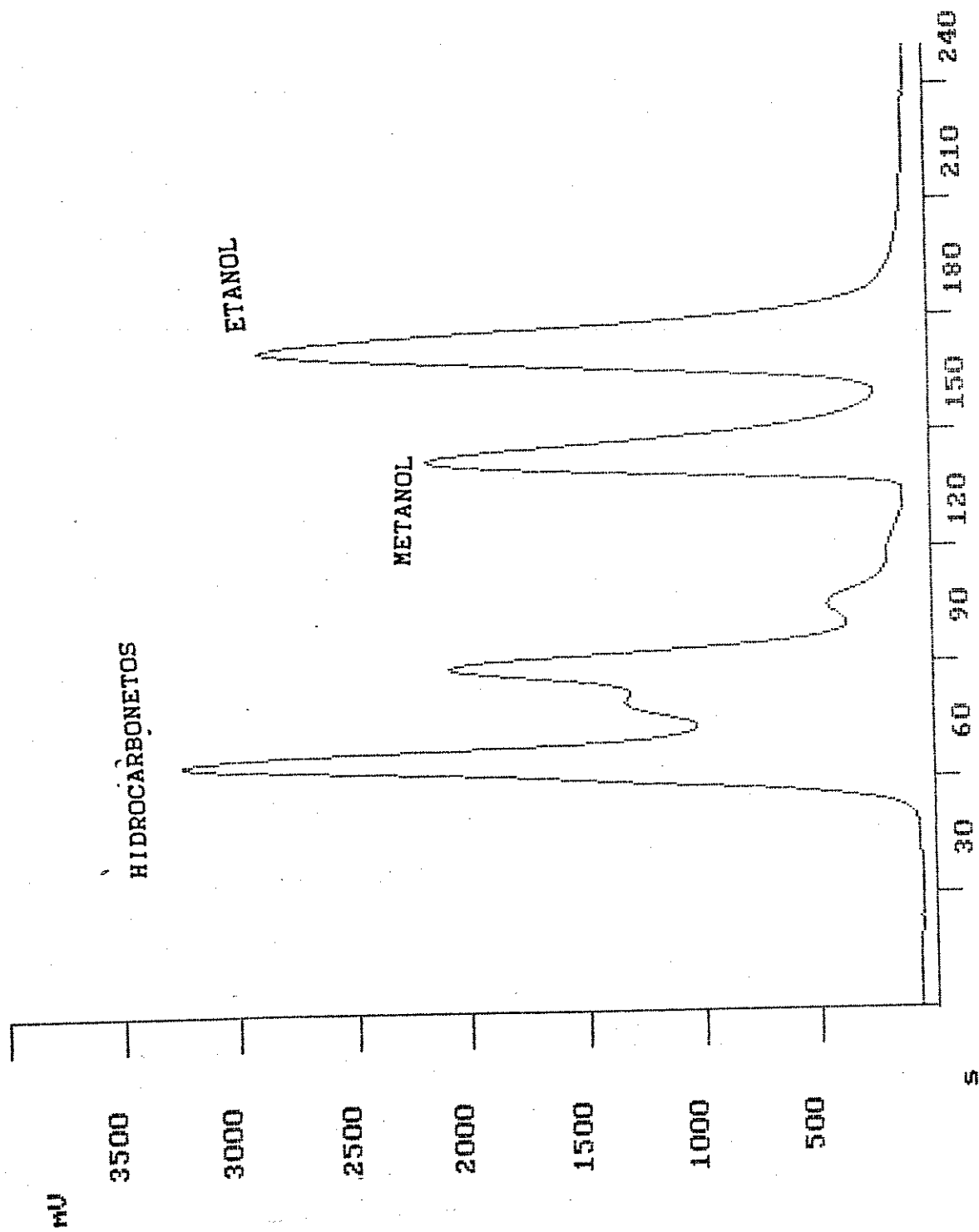


Fig. IV.49 - Cromatograma da Fase Vapor da Mistura MEC com composição idêntica ao do combustível comercial

Tabela IV.14 - Teor em metanol do vapor (T) de diversas misturas metanol-etanol-gasolina, desvio-padrão e desvio-padrão relativo.

=====
 =====

Mistura:

% EtOH	% Gas.	% MeOH	T (mg/l)	s (mg/l)	s _r
78,75	8,75	12,50	37	0,6	1,7 %
70,00	7,78	22,22	75	0,5	0,7 %
63,00(a)	7,00	30,00	105	1,2	1,2 %
57,27	6,36	36,36	124	2,5	2,0 %
52,50	5,83	41,67	121	2,3	1,9 %

Observação: (a) Mistura com composição idêntica à mistura combustível comercial.

A concentração de CH₃OH no vapor da mistura com composição idêntica àquela que tem sido comercializada como combustível em algumas regiões brasileiras (63 % de etanol, 30 % de metanol e 7 % de gasolina) foi de 105 mg / l de vapor. A norma norte-americana para poluentes atmosféricos em ambientes ocupacionais (Code of Federal Regulations 29, seção 1910.1000 [5]) estabelece que a concentração média máxima de metanol à qual um trabalhador pode ser exposto numa "jornada normal de trabalho" é de 260 mg / m³, sendo que o limite de 310 mg / m³ pode ser atingido por até quinze minutos não contínuos diários; uma "jornada normal de trabalho" corresponde a um período de oito horas diárias, cinco dias por semana. Isto significa que o vapor da mistura combustível precisa ser diluído em cerca de 400 vezes para atingir o limite para exposição de oito horas (ou 350 vezes para o limite de quinze minutos). Considerando que esta medida de concentração de metanol em vapor de mistura MEG foi feita a uma temperatura baixa (16°C), para o clima brasileiro, é possível que trabalhadores, como os frentistas de postos de abastecimento estejam submetidos a concentrações inadmissíveis de metanol em seus ambientes de

trabalho. Tal exposição crônica a metanol pode ter como consequência perda de acuidade visual, ou mesmo cegueira permanente [5]. Concluimos que devem ser feitos estudos mais completos sobre este assunto, porque informações veiculadas na imprensa sugeriram que os efeitos toxicológicos do metanol não se manifestariam no uso da MEG porquê ele estaria em mistura e não em estado puro.

5 - Comparação dos Resultados obtidos com o Software de Análise de Dados com os obtidos com o Integrador HP-3392A

Uma versão anterior do programa ANACROM (GCAna) foi usada para recalcular dados obtidos com o integrador HP-3392A. Isto serviu de teste de desempenho do software com um sistema comercial de uso bastante difundido. Nestes estudos foi usado o cromatograma de teste gerado pelo cromatógrafo HP-5890.

O integrador trabalha com uma taxa de coleta de 20 fatias por segundo, correspondente a fatias de 50 milisegundos de largura, que podem ser enviadas para um microcomputador, via porta serial RS-232. As fatias têm resolução de 32 bits. A largura das fatias enviadas é selecionada no teclado do integrador. Foi feito um programa para coleta, que faz a leitura dos dados, reduz as fatias de 32 para 16 bits e grava em disco para análise posterior.

O cromatograma de teste tem três picos. Os valores esperados para análise deste cromatograma [22] estão na tabela IV.15.

Tabela IV.15 - Valores esperados para áreas e tempos de retenção (t_r) para os picos do cromatograma de teste do cromatógrafo HP-5890 (a)

Pico #	Area (contagens) (b)	t_r (s) (c)
1	1.000.000	0,00
2	100.000	30,00
3	10.000	60,00

(a) Largura de base para todos os picos: 16,00 s.

(b) Áreas normalizadas para que a soma das áreas seja igual a 1.110.000 contagens.

(c) Tempos de retenção normalizados para que tempo de retenção do primeiro pico seja igual a 0,00 s.

O procedimento consistiu em coletar cinco vezes o cromatograma de teste do HP-5890, e comparar os resultados calculados pelo integrador e pelo programa GCAna com os valores esperados da tabela IV.15. As tabelas IV.16 a IV.18 mostram as áreas obtidas; as tabelas IV.19 e IV.20 mostram os resultados para os tempos de retenção do segundo e terceiro pico (o tempo de retenção do primeiro pico é redefinido como 0,00 s). As reprodutibilidades do integrador e do programa GCAna foram calculadas em termos das estimativas dos desvios padrão relativos para as replicatas. Os erros em relação aos valores esperados foram calculados como a diferença entre as médias das replicatas e os valores da tabela IV.15.

Tabela IV.16 - Reprodutibilidade e exatidão das áreas, para várias larguras de fatias, obtidas com o integrador HP-3392A e com o programa GCAna para o primeiro pico do cromatograma de teste do cromatógrafo HP-5890(*)

Programa GCAna:

w_p (ms)	A (contagens)	s_r (ppmil)	E (ppmil)
200	1.000.665	0,05	0,66
150	1.001.331	0,13	1,33
100	1.003.773	0,08	3,77

Integrador HP-3392A:

w_p (ms)	A (contagens)	s_r (ppmil)	E (ppmil)
50	1.000.110	0,03	0,11

Tabela IV.17 - Reprodutibilidade e exatidão das áreas, para várias larguras de fatias, obtidas com o integrador HP-3392A e com o programa GCAna para o segundo pico do cromatograma de teste do cromatógrafo HP-5890(*)

Programa GCAna:

w_p (ms)	A (contagens)	s_r (ppmil)	E (ppmil)
200	99.678	0,04	- 3,22
150	99.123	0,04	- 8,77
100	98.235	0,04	- 17,65

Integrador HP-3392A:

w_p (ms)	A (contagens)	s_r (ppmil)	E (ppmil)
50	99.900	0,03	- 1,00

Tabela IV.18 - Reprodutibilidade e exatidão das áreas, para várias larguras de fatias, obtidas com o integrador HP-3392A e com o programa GCAna para o terceiro pico do cromatograma de teste do cromatógrafo HP-5890^(*).

Programa GCAna:

w_f (ms)	A (contagens)	s_r (ppmil)	E (ppmil)
200	9.546	0,05	- 45,40
150	8.880	0,04	- 112,00
100	7.992	0,00	- 200,80

Integrador HP-3392A:

w_f (ms)	A (contagens)	s_r (ppmil)	E (ppmil)
50	9,879	0,02	- 12,10

(a) w_f = largura da fatia; A = área; s_r = estimativa do desvio padrão relativo e E = erro relativo.

Tabela IV.19 - Reprodutibilidade e exatidão dos tempos de retenção ; para várias larguras de fatias, obtidas com o integrador HP-3392A e com o programa GCAna para o segundo pico do cromatograma de teste do cromatógrafo HP-5890^(*).

Programa GCAna:

w_f (ms)	t_r (s)	s (ms)	E (s)
200	29,83	99	- 0,17
150	29,76	73	- 0,24
100	29,68	50	- 0,34

Integrador HP-3392A:

w_f (ms)	t_r (s)	s (ms)	E (s)
50	30,00	0	0,00

Tabela IV.20 - Reprodutibilidade e exatidão dos tempos de retenção, para várias larguras de fatias, obtidas com o integrador HP-3392A e com o programa GCAna para o terceiro pico do cromatograma de teste do cromatógrafo HP-5890(*).

Programa GCAna:

w_p (ms)	t_r (s)	s (ms)	E (s)
200	59,24	123	- 0,76
150	59,09	54	- 0,91
100	58,80	0	- 1,20

Integrador HP-3392A:

w_p (ms)	t_r (s)	s (ms)	E (s)
50	59,99	21	0,01

(a) w_p = largura da fatia; t_r = tempo de retenção; s_r = estimativa do desvio padrão relativo e E = erro relativo.

A exatidão das áreas e tempos de retenção diminui com o aumento da largura da fatia e com o aumento da área do pico. Isto pode ser atribuído aos erros de truncamento induzidos pela redução da amplitude da fatia de 32 para 16 bits. Cada fatia de área enviada pelo integrador ao microcomputador é a soma de todas as fatias convertidas pelo integrador no intervalo de tempo decorrido desde o envio do último dado. Quanto mais estreita for a fatia, menor é o intervalo, o que acarreta uma diminuição na amplitude da fatia enviada. Esta diminuição de amplitude faz com que a parte do sinal que é descartada, na redução de 32 para 16 bits, se torne mais significativa para as fatias mais estreitas. Este problema se origina, exclusivamente, no programa que faz a leitura das fatias do integrador, e não no software de análise. Para o primeiro pico, em que a amplitude do sinal é maior, e o descarte de sinal pelo programa de coleta menos significativo, as áreas obtidas são similares às do integrador.

No caso dos tempos de retenção, outra causa para a diferença entre os valores do integrador e do programa pode ser o fato de que o programa aloca o tempo de retenção com um polinômio de 5^a grau e janela de regressão de 11 pontos, e o integrador usa um polinômio de 2^a grau com janela de regressão de três pontos. Mesmo assim, as diferenças entre os tempos de retenção obtidos e os esperados são pequenas, para os tipos de picos analisados.

No que se refere às reprodutibilidades, tanto para as áreas como para os tempos de retenção, os desempenhos do software de análise e do integrador são similares.

Para efeitos práticos, a qualidade dos dados gerados pelo software GCAna é tão boa quanto a do integrador. Deve ser mencionado que o programa GCAna é uma versão que sofreu aperfeiçoamentos significativos (por exemplo, a forma de alocação do máximo local foi revisada) para se chegar ao programa ANACROM.

V - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O desempenho do sistema de Coleta e Análise de Dados Cromatográficos desenvolvido é compatível com os objetivos propostos.

A adaptação do ADC entre o microcomputador e um cromatógrafo foi feita satisfatoriamente. As análises realizadas não mostram indícios de que haja distorção nos dados durante o processo de coleta. O driver de leitura do conversor analógico-digital, que é incorporado como sub-rotina no programa LECROM pode ser facilmente adaptável para outros modelos de conversores, bastando para tanto alteração no valor das constantes que endereçam as portas de leitura de dados correspondentes. Um outro possível desenvolvimento da rotina de interfaceamento é o controle de placas conversoras com amplificadores de ganho programável por software.

O programa LECROM possibilita coleta de dados com velocidade de aquisição adequada para trabalhos de Cromatografia Gasosa. O envio do cromatograma para a tela, em tempo real, permite monitorar a análise, facilitando a tomada de decisões caso ocorra algum problema. O recurso de filtragem dos dados em tempo real por média simples, é eficiente na redução do nível de ruído, podendo-se dispensar as filtrações durante o pós-processamento e tornando esta etapa mais rápida. Considerando os tempos de coleta de fatias obtidos (tabela IV.1, Resultados e Discussão), um possível aprimoramento deste programa é fazer com que algumas operações do programa ANACROM (por exemplo, pré-deteção de picos) sejam executadas em tempo real por LECROM. Isto resultaria num aumento da velocidade de pós-processamento.

O programa ANACROM tem todas as características inicialmente propostas. A transferência do arquivo de dados em análise para um disco virtual permite que todas as operações que envolvam leitura destes dados sejam feitas

bastante rapidamente. Como o compilador usado não tem limitação para tamanho de arquivos, a duração dos cromatogramas possíveis de serem analisados é muito grande. Considerando a memória ocupada pelo sistema operacional e pelo programa compilado, em um microcomputador com 640 Kb podem ser analisados cromatogramas com até cerca de 4 horas, que é um valor muito grande para uma corrida cromatográfica.

O recurso de filtragem digital incorporado ao programa ANACROM permite uma grande flexibilidade para redução de ruídos. As duas rotinas de filtragem são complementares, de forma que as filtrações podem se adequar ao nível de ruído e formato dos picos cromatográficos, para minimizar as alterações dos parâmetros cromatográficos calculados.

O cálculo de parâmetros cromatográficos fundamentais por ANACROM, como áreas e tempos de retenção, é feito de modo rápido e confiável. Os resultados da aplicação deste programa tanto a cromatogramas simulados como a dados reais mostram que a exatidão e precisão conseguidas são compatíveis com aquelas esperadas para análise cromatográfica.

A opção de redefinição pelo usuário dos parâmetros alocados de formas automática pelo software mostrou-se um recurso bastante poderoso. Como existe uma grande variedade de padrões possíveis de sinal em cromatogramas (por exemplo: picos sobrepostos, "drift" de linha de base, etc.), é quase impossível que um algoritmo trate de forma satisfatória todos os cromatogramas possíveis. Assim, torna-se mandatório que o usuário possa intervir no processo de cálculo. A possibilidade de redefinir parâmetros calculados também é compatível com a filosofia sob a qual este trabalho foi desenvolvido, que é a de permitir uma interação entre o usuário e os programas que resulte um melhor aproveitamento e conhecimento dos dados tratados e dos processos de cálculo envolvidos. Este aspecto é reforçado pela possibilidade de que possam ser feitas vários cálculos diferentes para uma mesma corrida cromatográfica, ao invés do processo usual de

vários cromatogramas analisados uma vez para cada amostra. O resultado final é, além de economia de tempo e equipamento, um melhor aproveitamento dos recursos humanos e materiais disponíveis.

Como os relatórios de análise podem ser gerados como arquivos em disco, os resultados podem ser processados por programas utilitários como planilhas eletrônicas. Os dados usados neste trabalho foram processados por uma destas planilhas. Optou-se por este procedimento ao invés de preparar programas específicos, por permitir aproveitar melhor o tempo e os recursos disponíveis no desenvolvimento e estudo dos programas de coleta e análise de dados.

Os estudos comparativos entre o integrador HP-3392A e uma versão da qual evoluiu o programa ANACROM demonstraram que existe boa compatibilidade entre o software desenvolvido e este sistema comercial de grande aceitação. Será interessante estabelecer a similaridade entre o integrador e ANACROM; isto depende da aquisição de instrumental.

O programa ANACROM pode ser melhorado. Desenvolvimentos possíveis são:

- Aprimorar o cálculo de áreas. Uma possibilidade é verificar a conveniência de usar a soma das fatias entre o início e o tempo de retenção de um pico. A assimetria de picos cromatográficos se manifesta, principalmente, como cauda em picos, e é prejudicial na análise. É possível que usando apenas a primeira metade de um pico, que é mais simétrica, obtenham-se resultados interessantes. O uso de "splines" para redefinir a amplitude de fatias antes do cálculo de áreas também é um procedimento que pode ser tentado.

- Otimizar o cálculo de largura de picos cromatográficos. Além das providências com esta finalidade já discutidas (Resultados e Discussão, seção 2.3.3, p.79), ainda podem ser feitas alterações no método de cálculo de início e fim de picos. O algoritmo de Savitzky-Golay [48], que foi

implementado no programa como filtro de ruídos, também pode ser usado para cálculo de derivadas do sinal. O uso destas rotinas seria especialmente conveniente no caso de ser implementada a pré-deteção de início e fim de picos em tempo real no programa de coleta.

Ainda existem outros desenvolvimentos que poderiam facilitar o uso do software. Elas se referem a estudos para maior automatização das tomadas de decisão e facilidades de adaptação a possíveis configurações de hardware:

- Os parâmetros que definem as condições de análise dos dados: (filtragem, limites de sensibilidade para detecção de picos, alocação polinomial de tempos de retenção) poderiam ser determinados pelo programa em vista das características do cromatograma. O usuário teria a opção de prosseguir a análise usando estas sugestões, ou entrar com seus próprios valores. Algumas das condições para otimização da análise foram determinadas neste trabalho e a implementação de rotinas para otimização automática de parâmetros não é complexa.

- A criação de drivers para uso de equipamentos com configuração diferente da que foi usada (por exemplo, uso de monitores de vídeo CGA ou VGA) pode ser feita a partir dos drivers criados. Um programa de instalação, que configure o software de acordo com as necessidades do usuário e do hardware disponível, também pode ser desenvolvido.

Os estudos do programa ANACROM com cromatogramas com diferentes características (picos com diversas larguras e vários níveis de ruído) permitiram estabelecer critérios gerais para o seu uso, que se baseiam no desempenho do programa. A opção feita do uso de picos gaussianos facilitou a avaliação da qualidade e das características básicas do algoritmo desenvolvido.

As análises do teor em metanol da mistura MEG exemplificam a aplicabilidade do software desenvolvido na rotina de Cromatografia Gasosa. Uma decorrência paralela aos objetivos do trabalho, mas de extrema relevância, é que o

teor de metanol no vapor deste combustível é muito maior que qualquer limite de segurança conhecido. Portanto, é necessário reavaliar o conceito de que os riscos envolvidos no uso e manipulação desta mistura são negligenciáveis. O alto teor de metanol contido no vapor deste combustível indica a necessidade de prosseguir estudos sobre este assunto.

A performance do programa VDEEMTER foi satisfatória. O seu uso é simples e rápido, permitindo definir as condições de máxima eficiência de sistemas cromatográficos com bastante confiabilidade. Considerando a complexidade da equação de van Deemter, e que poucos casos foram estudados, é necessário um uso mais intensivo do programa para se ter clareza da relação existente entre os valores de parâmetros estatísticos que ele calcula (por exemplo, coeficiente de correlação e intervalo de confiabilidade da curva) com a qualidade dos dados.

Outra decorrência interessante do uso do programa VDEEMTER é a possibilidade de cálculo dos coeficientes de difusibilidade de solutos (d_1) nas fases estacionárias. Uma possível utilidade deste parâmetro é na caracterização de colunas capilares. Para este fim, usualmente se empregam as constantes de Rohrschneider e de McReynolds [45, 46], que não são adequadas para colunas capilares porque foram medidas para colunas empacotadas, e refletem não só a interação do soluto com a fase estacionária, mas também com o suporte. A nível especulatório, pode-se supor que valores de d_1 possam ser úteis para este fim. Contudo, isto deveria ser testado com solutos representativos de várias características físico-químicas e em várias fases estacionárias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ANDERSON, A.H; GIBB, T.C.; LITTLEWOOD, A.B.: "Computer Resolution of Unresolved Convolutated Gas-Chromatographic Peaks"; J.Chrom.Sci., 8 (11), 640 - 646 (1970).
- 2 - ANNINO, R.: "Signal and Resolution Enhancement Techniques in Chromatography"; Adv.Chromatogr., 15, 33 - 67 (1977).
- 3 - BAJPAI, A.C.; CALUS, I.M.; FAIRLEY, J.A.: Statistical Methods for Engineers and Scientists; John Wiley & Sons; Chichester, 1978 - p.127.
- 4 - BAJPAI, A.C. et alii: op.cit., pp.176 a 181, 414 a 415 e 437.
- 5 - BUDAVARI, S. (editora): The Merck Index; 11^{ma} edição; Merck & Co., Rahway, 1989 - pp. Misc-58.
- 6 - BUSCH, U: "Multiplexer or Analog to Digital Converters"; Chromatographia, 5, 63 - 69 (1972).
- 7 - CHARRIER, G.; DUPNIS, M.C.; MERLIVAT, J.C.; PONS, J.; SIGELLE, R.: "Automation of Gas Analysis with a Computerized Gas Chromatography System"; Chromatographia, 5, 119 - 129 (1972).
- 8 - CIOLA, R.: Fundamentos da Cromatografia a Gás; 2^{ma} edição; Edgard Blucher; S.Paulo, 1985 - p.186.
- 9 - CRAM, S.T.; CHESLER, S.N.; BROWN, III, A.C.: "Effects of Digital Filters on Chromatographic Signals"; J.Chromatogr., 126, 279 - 300 (1973).

10 - DEBBRECHT, F.J.: "Qualitative and Quantitative Analysis by Gas Chromatography", in GROB, R.L. (editor): Modern practice of Gas Chromatography; 2ª edição; John Willey & Sons; New York, 1985 - pp.380 a 389.

11 - DEBBRECHT, F.J.: op.cit., p.362.

12 - DEBBRECHT, F.J.: op.cit., p.414.

13 - DELANEY, M.: "Systematic Errors in Manual Area Measurement of Skewed Chromatographic Peaks"; Analyst, 107, 606 - 610 (1982).

14 - FOLEY, J.P.: "Equations for Chromatographic Peak Modeling and Calculation of Peak Area"; Anal.Chem., 59, 1984 (1987).

15 - FOLEY, J.P.; DORSEY, J.G.: "A Review of Exponentially Modified Gaussian (EMG) Function: Evaluation and Subsequent Calculation of Universal Data"; J.Chrom.Sci., 22 (1), 40 - 46 (1984).

16 - FOZARD, A.; FRANZES, J.J.; WYATT, A.J.: "Real-time Peak Detection and Area Apportionment of Unknown Chromatograms"; Chromatographia, 5, 130 - 135 (1972).

17 - GOEDERT, M.; WISE, J.A.; JUVET, R.S., JR.: Chromatographia, 7 (9), 539 - 546 (1974).

18 - GROB, K; GROB, G.: "Practical Capillary Gas Chromatography - A Sistematic Approach"; Rec.Adv.Capillary Gas Chromatogr., 1, 97 - 117 (1981).

19 - GROB, R.L.: "Theory of Gas Chromatography", in GROB, R.L. (editor): op.cit.: pp.69 a 87.

20 - GROB, R.L.: op.cit., p.13.

21 - HEATON, M.G.; KUTCHINS, L.A.: "Advances in Human-Computer Interfacing: the Fourth Generation of Chromatographic Software"; Am.Lab., maio 1986.

22 - HEWLETT-PACKARD CO.: 3392A Integrator - Reference Manual; Hewlett-Packard; Avondale, 1984 - seção 3.

23 - INTERACTIVE MICROWARE INC.: 1988 IBM-PC Catalog (catálogo); State College, 1988 - p.27.

24 - JOHNSON, H.W.: "Storage and Complete Automatic Computation of Gas Chromatographic Data"; Anal.Chem., 35, 521 (1963).

25 - KAISER, M.A.: "High-Resolution Gas Chromatography", in GROB, R.L. (editor): op.cit., p.175.

26 - KAISER, R.E.; RACKSTRAU, A.J.: Computer Chromatography; Dr. Alfred Huthig Verlag; Heidelberg, 1983 - vol.1, pp.59 - 65.

27 - KIRKLAND, J.J.; YAU, W.W.; STOKLOSA, H.J.; DILKS, C.J., JR.: "Sampling and Extra-Column Effects in High-Performance Liquid Chromatography; Influence of Peak Skew on Plate Calculations"; J.Chrom.Sci., 15 (8), 303 - 317 (1977).

28 - KOPCHENOVA, N.V.; MARON, I.A.: Computational Mathematics; Mir; Moscou, 1987 - pp.164 a 167.

29 - MALMSTADT, H.V.; ENKE, C.G.; CROUCH, S.R.: Digital and Analog Data Conversions; W.A.Benamins; N.York, 1972 - pp.310 a 322.

30 - MCNAIR, H.M.; BONELLI, E.J.: Basic Gas Chromatography; 5ª edição; Varian Aerograph; Palo Alto, 1969 - pp.137 a 168.

31 - MCWILLIAN, L.G.; BOLTON, H.C.: "Instrumental Peak Distortion: I - Relaxation Time Effects"; Anal.Chem., 41 (13), 1755 - 1762 (1969).

32 - MCWILLIAN, L.G.; BOLTON, H.C.: "Instrumental Peak Distortion: II - Effect of Recorder Response Time"; Anal.Chem., 41 (13), 1762 - 1770 (1969).

33 - MICROQUIMICA IND., COM. E REPR.: Cromatografia e Espectrofotometria por Microcomputador (catálogo); Florianópolis, s/data.

34 - NORRIS, A.C.: Computational Chemistry; John Wiley & Sons; Chichester, 1981 - pp.119 a 121.

35 - NORRIS, A.C.: op.cit., p.295.

36 - O'BRIEN, S.K.: Turbo Pascal: The Complete Reference; Borland e Osborne / McGraw-Hill; Berkeley, 1987.

37 - OLIVO, J.P.; CARDOT, P.; IGNITIADIS, I.; VIDAL-MADJAR, C.: "Microcomputer System for Data Acquisition and Software Handling in Chromatography"; J.Chromatogr., 395, 383 - 393 (1987).

38 - PAPAS, A.N.: "Chromatographic Data Systems: A Critical Review"; CRC Crit.Rev.Anal.Chem., 20 (6), 359 - 404 (1989).

39 - PAULS, R.E.; ROGERS, L.B.: "Comparisons of Methods for Calculating Retention and Separation of Chromatographic Peaks"; Sep.Science, 12, 395 - 413 (1977).

40 - PERRY, J.A.: Introduction to Analytical Gas Chromatography; Marcel Dekker; New York, 1981 - p.384.

41 - PERRY, J.A.: op.cit., pp.100 a 101.

42 - PERRY, J.A.: op.cit., pp.82 a 95.

43 - POPPI, R.J.: Quantificação de Picos Cromatográficos Superpostos usando Métodos de Calibração Multivariada; Dissertação de Mestrado; UNICAMP; Campinas, 1989.

44 - PROSEK, M.; MEDJA, A.; MILIVOJEVIC, D.; ZORZ, M: "In-Line and On-Line Data Handling with a Combination of Computing Integrator and Personal Computer"; Int.Instr. & Computers, maio / junho 1986, 128 - 131.

45 - ROHRSCHEIDER, L.: "Eine Methode zur Charakterisierung von Gaschromatographischen Trennflüssigkeiten"; J.Chrom., 22, 6 - 22 (1966).

46 - ROHRSCHEIDER, L.: "The polarity of Stationary Liquid Phases used in Gas Chromatography"; Adv.Chromatogr., 4, 333 - 363 (1967).

47 - RUGG, T.; FELDMAN, P.: Turbo Pascal Program Library; Que Corp.; Indianapolis, 1986.

48 - SAVITZKY, A.; GOLAY, M.J.E: "Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures"; Anal.Chem., 36, 1627 -1639 (1964).

49 - SCHILL, R.; FREEMAN, R.R.: "Instrumentation", in GROB, R.L.: op.cit. - pp.347 a 356.

50 - SCHLERETH, G.A.; GREINER, K.: "Can Analog Methods Solve the Transmission Problem?"; Chromatographia, 5, 70 - 78 (1972).

51 - SCHOMBURG, G.; ZIEGLER, E.: "Progress and Experiences with the Mulheim Computer System in GC Data Handling"; Chromatographia, 5, 96 - 104 (1972).

52 - STERNBERG, J.C.: "Extracolumn Contributions to Chromatographic Band Broadening"; Adv.Chromatogr., 2, 207 - 270 (1966).

53 - SUTRE, P; MALENCE, S.P.: "Software Parameter Optimization in Computer Gas Chromatography System"; Chromatographia, 5, 141 - 145 (1972).

54 - ZAKS, R.; WOLFE, A.: From Chips to Systems; 2^a edição: Sybex; San Francisco, 1981 - pp.321 a 323.

55 - ZAKS, R.; WOLFE, A.: op.cit., pp.28 a 34.

APENDICE 1

1 - Alocação polinomial de tempos de retenção de picos gaussianos: dependência do grau polinomial e da janela de regressão: os resultados completos dos estudos sobre a dependência do grau do polinômio e da janela de regressão sobre a alocação polinomial de tempos de retenção (vide **Resultados e Discussão**, seção 2.1) estão compilados nas tabelas VI.1 a VI.4.

2 - Efeito de filtros digitais sobre parâmetros de picos: dependência da área com o filtro e a janela de filtragem: nas tabelas VI.5 a VI.20, são mostrados os resultados completos sobre a dependência do erro nas áreas de picos gaussianos com e sem ruído com o tipo de filtro e a janela de filtragem (vide **Resultados e Discussão**, seção 2.3.1).

Nota: a unidade de área é aqui denominada de "contagem". Uma contagem corresponde a área de uma fatia com altura de $(10 / 2^{12})$ V e $(1 / 18,2044)$ s de largura, ou 0,134 mV.s.

3 - Efeito de filtros digitais sobre parâmetros de picos: dependência do tempo de retenção com o filtro e a janela de filtragem: nas tabelas VI.21 a VI.36, estão os resultados completos sobre a dependência do erro nos tempos de retenção de picos gaussianos com e sem ruído com o tipo de filtro e a janela de filtragem (vide **Resultados e Discussão**, seção 2.3.2).

4 - Efeito de filtros digitais sobre parâmetros de picos: dependência da largura de base com o filtro e a janela de filtragem: nas tabelas VI.37 a VI.52, estão os resultados completos sobre a dependência da alteração na largura de base de picos gaussianos com e sem ruído com o tipo de filtro e a janela de filtragem (vide **Resultados e Discussão**, seção 2.3.3).

Tabela VI.2 - Dependência dos erros no tempo de

Tabela VI.1 - Dependência dos erros no tempo de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 4,109 s do grau polinomial (C_p) e janelas de regressão (J_r). Valores corrigidos para início dos picos igual a 0,000 s. Tempo de retenção esperado: 2,080 s.

J_r	$C_{p,1}$				
	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	
	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	0,0	-0,6	0,0	7,8	-72,0
9	0,4	-1,4	0,0	-3,4	-5,0
11	0,8	-2,0	0,0	-1,0	-2,6
13	1,4	-3,0	0,0	0,0	-0,2
15	1,4	-4,0	0,0	-1,2	-0,6
17	2,0	-5,0	0,0	-0,8	-0,2
19	2,4	-6,4	0,0	-1,0	-0,4
21	3,0	-7,6	0,4	-1,0	-0,4
23	3,6	-9,2	0,4	-1,0	0,0
25	4,4	-10,2	0,6	-1,4	0,0

Tabela VI.3 - Dependência dos erros no tempo de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 11,371 s do grau polinomial (C_p) e janelas de regressão (J_r). Valores corrigidos para início dos picos igual a 0,000 s. Tempo de retenção esperado: 5,694 s.

J_r	$C_{p,1}$				
	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	
	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	0,2	0,0	0,8	-81,0	-58,0
9	-0,2	0,2	1,0	-47,2	-67,0
11	0,2	-0,6	-0,4	-11,6	-20,0
13	-0,0	-0,4	-0,0	-5,2	-5,2
15	0,2	-0,4	-0,2	0,4	-1,4
17	0,2	-0,8	-0,2	-1,0	-0,2
19	0,2	-0,8	-0,0	-0,0	-0,4
21	0,4	-1,0	0,2	-0,6	-0,8
23	0,6	-1,0	0,0	-0,2	-0,4
25	0,6	-1,2	0,2	-0,0	-0,4

Tabela VI.4 - Dependência dos erros no tempo de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 14,842 s do grau polinomial (C_p) e janelas de regressão (J_r). Valores corrigidos para início dos picos igual a 0,000 s. Tempo de retenção esperado: 7,452 s.

J_r	$C_{p,1}$				
	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	
	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	-0,0	1,6	1,8	-58,0	-58,0
9	0,4	-0,2	0,0	-67,0	-67,0
11	0,4	-0,2	0,0	-20,0	-20,0
13	0,0	-0,2	0,2	-5,2	-5,2
15	0,2	-0,2	0,2	-1,4	-1,4
17	0,2	-0,6	-0,2	-0,2	-0,2
19	0,0	-0,4	-0,0	-0,4	-0,4
21	0,0	-0,4	0,4	-0,8	-0,8
23	0,0	-0,6	0,2	-0,4	-0,4
25	0,2	-0,6	0,0	-0,4	-0,4

Tabela VI.5 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 4,109 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Golay de 2^a grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4^a grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 79951 contagens.

n_p	Filtros: NM		SG2		SG4	
	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)
7	-0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	-1,0
9	-0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	-0,2
11	-0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
13	-0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
15	-1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	-0,4
17	-1,4	0,6	0,6	-0,3	0,0	0,0
19	-1,8	1,1	1,1	0,0	0,0	0,0
21	-2,3	2,6	2,6	0,0	0,0	-0,2
23	-2,7	4,6	4,6	0,0	0,0	-0,3
25	-3,2	7,6	7,6	-0,5	0,0	-0,4

Tabela VI.6 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 4,109 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Golay de 2^a grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4^a grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 79951 contagens.

n_p	Filtros: NM		SG2		SG4	
	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)
7	-0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	-1,0
9	-0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	-0,2
11	-0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
13	-0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
15	-1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	-0,4
17	-1,4	0,6	0,6	-0,3	0,0	0,0
19	-1,8	1,1	1,1	0,0	0,0	0,0
21	-2,3	2,6	2,6	0,0	0,0	-0,2
23	-2,7	4,6	4,6	0,0	0,0	-0,3
25	-3,2	7,6	7,6	-0,5	0,0	-0,4

Tabela VI.7 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 4,109 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Golay de 2^a grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4^a grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 79951 contagens.

n_p	Filtros: NM		SG2		SG4	
	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)
7	0,1	-0,6	-0,6	-5,6	-5,6	-10,2
9	-0,1	-0,1	-0,1	-1,8	-1,8	-5,0
11	-0,7	0,0	0,0	-0,4	-0,4	-2,8
13	-1,1	0,3	0,3	-0,4	-0,4	-0,7
15	-1,4	0,4	0,4	-0,9	-0,9	-1,4
17	-2,0	1,3	1,3	-0,1	-0,1	0,2
19	-2,6	1,9	1,9	-0,3	-0,3	-0,4
21	-2,6	3,5	3,5	0,4	0,4	1,1
23	-2,6	5,2	5,2	0,3	0,3	0,5
25	-3,7	8,4	8,4	-0,5	-0,5	0,5

Tabela VI.8 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 4,109 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Golay de 2^a grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4^a grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 79951 contagens.

n_p	Filtros: NM		SG2		SG4	
	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)
7	-1,2	-1,2	-4,3	-10,2	-10,2	-10,2
9	-0,1	-0,1	-0,3	-5,0	-5,0	-5,0
11	-1,2	-1,2	0,1	-2,8	-2,8	-2,8
13	-2,3	-2,3	0,7	-0,7	-0,7	-0,7
15	-2,0	-2,0	1,7	-1,4	-1,4	-1,4
17	-4,2	-4,2	2,0	0,2	0,2	0,2
19	-3,2	-3,2	3,2	-0,4	-0,4	-0,4
21	-3,9	-3,9	4,2	1,1	1,1	1,1
23	-5,8	-5,8	6,4	0,5	0,5	0,5
25	-6,3	-6,3	9,3	0,5	0,5	0,5

Tabela VI.9 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 7,943 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MH), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído. Área esperada: 159685 contagens.

Filtros: MH			SG2		SG4	
n_p	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)
7	0,0	0,0	0,0	0,0		
9	-0,2	0,3	0,0	0,0		
11	-0,1	0,3	0,2	0,2		
13	-0,5	0,5	0,7	0,7		
15	-0,7	0,5	0,7	0,7		
17	-0,8	0,3	0,5	0,5		
19	-1,0	0,1	0,5	0,5		
21	-1,5	0,0	0,5	0,5		
23	-1,7	-0,2	0,5	0,5		
25	-2,0	0,2	0,4	0,4		

Tabela VI.10 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 7,943 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MH), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 159685 contagens.

Filtros: MH			SG2		SG4	
n_p	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)
7	0,2	0,2	-1,8	-3,8		
9	0,1	-0,9	-2,2	-2,2		
11	-0,2	-0,5	-1,4	-1,4		
13	-0,4	0,1	-1,1	-1,1		
15	-0,5	0,0	-0,9	-0,9		
17	-0,8	0,2	-0,4	-0,4		
19	-1,1	0,3	-0,2	-0,2		
21	-1,3	0,2	0,2	0,2		
23	-1,7	0,2	0,2	0,2		
25	-2,2	0,3	0,3	0,3		

Tabela VI.11 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 7,943 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MH), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 159685 contagens.

Filtros: MH			SG2		SG4	
n_p	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)
7	-3,2	-10,6	-26,2	-26,2		
9	-1,8	-7,8	-15,8	-15,8		
11	-1,3	-5,7	-10,4	-10,4		
13	-1,4	-3,9	-8,8	-8,8		
15	-1,4	-2,8	-7,0	-7,0		
17	-1,4	-1,2	-5,4	-5,4		
19	-1,8	-2,1	-4,0	-4,0		
21	-1,8	-1,2	-2,9	-2,9		
23	-2,3	-0,9	-2,3	-2,3		
25	-2,7	-0,6	-2,4	-2,4		

Tabela VI.12 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 7,943 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MH), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 159685 contagens.

Filtros: MH			SG2		SG4	
n_p	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)	E(ppmil)
7	-10,0	-24,6	-210,7	-210,7		
9	-3,5	-19,7	-32,0	-32,0		
11	-1,5	-11,1	-24,6	-24,6		
13	-3,9	-9,2	-21,9	-21,9		
15	-4,2	-5,9	-16,0	-16,0		
17	-3,5	-5,2	-13,1	-13,1		
19	-3,3	-3,5	-10,0	-10,0		
21	-2,9	-2,6	-9,0	-9,0		
23	-3,8	-3,4	-7,3	-7,3		
25	-4,1	-0,9	-6,6	-6,6		

Tabela VI.13 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 11,371 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído. Área esperada: 239116 contagens.

n_p	Filtros: NM		SG2		SG4	
	E(ppmil)		E(ppmil)		E(ppmil)	
7	-0,2		0,0		0,0	
9	0,5		0,0		0,0	
11	0,5		0,0		0,1	
13	0,6		-0,3		0,0	
15	0,2		0,1		-0,4	
17	0,3		0,0		-0,3	
19	0,1		0,3		-0,3	
21	-0,3		0,5		-0,1	
23	-0,5		0,5		0,0	
25	-0,7		0,6		0,1	

Tabela VI.14 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 11,371 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 239116 contagens.

n_p	Filtros: NM		SG2		SG4	
	E(ppmil)		E(ppmil)		E(ppmil)	
7	-0,8		-2,9		-5,5	
9	-0,2		-2,0		-3,6	
11	0,0		-1,5		-2,8	
13	0,1		-0,9		-2,6	
15	0,3		-1,0		-2,1	
17	0,1		-0,3		-1,2	
19	0,0		-0,2		-1,0	
21	-0,2		0,0		-1,0	
23	-0,5		0,0		-0,8	
25	-0,8		0,5		-0,2	

Tabela VI.15 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 11,371 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 239116 contagens.

n_p	Filtros: NM		SG2		SG4	
	E(ppmil)		E(ppmil)		E(ppmil)	
7	-7,9		-20,9		-250,7	
9	-4,3		-15,4		-77,2	
11	-3,6		-14,3		-30,0	
13	-3,2		-9,1		-21,5	
15	-2,9		-8,1		-12,5	
17	-2,6		-7,9		-9,2	
19	-2,7		-6,6		-7,4	
21	-2,3		-5,5		-6,6	
23	-2,4		-3,6		-6,1	
25	-2,6		-3,3		-4,5	

Tabela VI.16 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 11,371 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 239116 contagens.

n_p	Filtros: NM		SG2		SG4	
	E(ppmil)		E(ppmil)		E(ppmil)	
7	-19,8		-250,7		nd	
9	-9,5		-76,1		nd	
11	-6,9		-30,0		nd	
13	-7,3		-21,5		nd	
15	-5,9		-12,5		nd	
17	-4,3		-9,2		nd	
19	-4,0		-7,4		nd	
21	-5,1		-6,6		nd	
23	-4,0		-6,1		nd	
25	-3,3		-4,5		nd	

Nota: nd - não determinado. A análise destes picos, com este nível de ruído e com estas condições de filtragem só pode ser feita com redefinição de parâmetros pelo usuário.

Tabela VI.17 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 14,842 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído. Área esperada: 318541 contagens.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)
7	-0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
11	-0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
13	-0,2	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0
15	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
17	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
19	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
21	0,1	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
23	-0,1	-0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
25	-0,2	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela VI.18 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 14,842 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 318541 contagens.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)
7	-1,2	-5,0	-9,3	-9,3	-9,3	-9,3
9	-0,8	-2,5	-6,9	-6,9	-6,9	-6,9
11	-0,8	-1,6	-4,6	-4,6	-4,6	-4,6
13	-0,6	-1,3	-2,9	-2,9	-2,9	-2,9
15	-0,5	-0,9	-2,4	-2,4	-2,4	-2,4
17	-0,3	-0,8	-1,8	-1,8	-1,8	-1,8
19	-0,2	-0,7	-1,7	-1,7	-1,7	-1,7
21	0,0	-0,6	-1,0	-1,0	-1,0	-1,0
23	-0,3	-0,8	-1,1	-1,1	-1,1	-1,1
25	-0,2	-0,6	-0,8	-0,8	-0,8	-0,8

Tabela VI.19 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 14,842 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 318541 contagens.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)
7	-9,9	-202,3	nd	nd	nd	nd
9	-7,8	-64,3	nd	nd	nd	nd
11	-6,1	-17,6	nd	nd	nd	nd
13	-4,6	-14,3	nd	nd	nd	nd
15	-4,9	-10,5	nd	nd	nd	nd
17	-3,7	-8,5	nd	nd	nd	nd
19	-3,6	-6,4	nd	nd	nd	nd
21	-3,2	-5,8	nd	nd	nd	nd
23	-3,1	-5,3	nd	nd	nd	nd
25	-2,2	-5,0	nd	nd	nd	nd

Nota: nd - não determinado. A análise destes picos, com este nível de ruído e com estas condições de filtragem só pode ser feita com redefinição de parâmetros pelo usuário.

Tabela VI.20 - Dependência dos erros nas áreas (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 14,842 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído simulado. Área esperada: 318541 contagens.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)	E(ppm)
7	-154,0	nd	nd	nd	nd	nd
9	-20,2	nd	nd	nd	nd	nd
11	-13,9	nd	nd	nd	nd	nd
13	-10,7	nd	nd	nd	nd	nd
15	-10,0	nd	nd	nd	nd	nd
17	-9,4	nd	nd	nd	nd	nd
19	-7,0	nd	nd	nd	nd	nd
21	-8,1	nd	nd	nd	nd	nd
23	-6,2	nd	nd	nd	nd	nd
25	-4,9	nd	nd	nd	nd	nd

Nota: nd - não determinado. A análise destes picos, com este nível de ruído e com estas condições de filtragem só pode ser feita com redefinição de parâmetros pelo usuário.

Tabela VI.21 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 4,109 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Colay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Colay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído. Tempo de retenção esperado: 2,080 s.

Filtros: NM			SG2		SG4		
n_p	E(ms)		E(ms)		E(ms)		
7	-8,4		-0,2	-0,4			
9	-16,4		-0,4	-0,4			
11	-27,4		-0,4	-0,4			
13	-41,2		-1,4	-0,0			
15	-56,4		-2,4	-0,4			
17	-74,4		-3,6	-0,2			
19	-93,4		-6,4	-0,4			
21	-114,4		-9,4	-0,4			
23	-135,4		-13,4	-1,0			
25	-158,4		-17,4	-1,4			
			SG2		SG4		
n_p	E(ms)		E(ms)		E(ms)		
7	-8,3	-0,3					
9	-16,4	-0,4					
11	-27,4	-0,6					
13	-41,0	-1,2					
15	-56,5	-2,3					
17	-74,4	-3,9					
19	-93,4	-6,3					
21	-114,2	-9,3					
23	-135,6	-13,2					
25	-158,3	-17,4					

Tabela VI.22 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 4,109 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Colay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Colay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído simulado. Tempo de retenção esperado: 2,080 s.

Filtros: NM			SG2		SG4		
n_p	E(ms)		E(ms)		E(ms)		
7	-8,3	-0,3					
9	-16,4	-0,4					
11	-27,4	-0,6					
13	-41,0	-1,2					
15	-56,5	-2,3					
17	-74,4	-3,9					
19	-93,4	-6,3					
21	-114,2	-9,3					
23	-135,6	-13,2					
25	-158,3	-17,4					

Tabela VI.23 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 4,109 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Colay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Colay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído simulado. Tempo de retenção esperado: 2,080 s.

Filtros: NM			SG2		SG4		
n_p	E(ms)		E(ms)		E(ms)		
7	-8,6	-0,5	-0,3				
9	-16,6	-0,4	-0,4				
11	-27,6	-0,8	-0,4				
13	-41,3	-1,5	-0,3				
15	-56,8	-2,6	-0,5				
17	-74,6	-4,2	-0,5				
19	-93,6	-6,4	-0,6				
21	-114,4	-9,5	-0,9				
23	-135,8	-13,3	-1,4				
25	-158,5	-17,5	-1,8				
			SG2		SG4		
n_p	E(ms)		E(ms)		E(ms)		
7	-9,0	-1,3					
9	-17,0	-1,4					
11	-27,8	-1,6					
13	-41,3	-2,1					
15	-56,9	-3,0					
17	-74,6	-4,5					
19	-93,8	-6,6					
21	-114,4	-9,6					
23	-136,0	-13,5					
25	-158,6	-17,7					

Tabela VI.24 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 4,109 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (NM), Savitzky-Colay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Colay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído simulado. Tempo de retenção esperado: 2,080 s.

Filtros: NM			SG2		SG4		
n_p	E(ms)		E(ms)		E(ms)		
7	-9,0	-1,3					
9	-17,0	-1,4					
11	-27,8	-1,6					
13	-41,3	-2,1					
15	-56,9	-3,0					
17	-74,6	-4,5					
19	-93,8	-6,6					
21	-114,4	-9,6					
23	-136,0	-13,5					
25	-158,6	-17,7					

Tabela VI.25 - Dependência dos erros nos tempos de

retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 7,943 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído. Tempo de retenção esperado: 4,002 s.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	-2,4		0,0		0,0	
9	-5,0		0,0		0,0	
11	-9,8		0,0		0,0	
13	-15,2		0,0		0,2	
15	-23,0		0,0		0,0	
17	-31,6		-0,2		0,0	
19	-42,0		-0,8		0,0	
21	-53,2		-1,0		0,0	
23	-66,0		-1,4		0,0	
25	-80,6		-2,0		0,0	

Tabela VI.27 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 7,943 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído. Tempo de retenção esperado: 4,002 s.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	-2,3	-0,1			0,3	
9	-5,1	0,0			0,1	
11	-9,5	-0,1			0,0	
13	-15,3	0,0			0,0	
15	-22,6	0,0			-0,2	
17	-31,5	0,0			0,1	
19	-41,8	-0,4			0,0	
21	-53,5	-0,8			0,2	
23	-66,6	-1,3			0,1	
25	-77,8	-1,9			0,1	

retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 7,943 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído. Tempo de retenção esperado: 4,002 s.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	-2,4		-0,2		-0,1	
9	-5,0		-0,2		0,0	
11	-9,8		-0,1		-0,1	
13	-15,2		-0,1		0,0	
15	-23,0		-0,2		-0,2	
17	-31,6		-0,4		-0,1	
19	-42,0		-0,7		-0,1	
21	-53,2		-0,9		-0,2	
23	-66,0		-1,4		-0,1	
25	-80,6		-2,0		-0,2	

Tabela VI.28 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 7,943 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído. Tempo de retenção esperado: 4,002 s.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	E(ms)		E(ms)		E(ms)	
7	-3,6		-1,1		-2,3	
9	-6,0		-0,9		-1,5	
11	-10,6		-0,8		-1,1	
13	-16,6		-0,5		-1,0	
15	-23,9		-0,7		-0,6	
17	-32,7		-0,9		-0,6	
19	-43,0		-1,4		-0,3	
21	-54,6		-1,8		-0,4	
23	-67,5		-2,4		-0,4	
25	-81,5		-3,0		-0,3	

Tabela VI.29 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 11,371 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MH), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído. Tempo de retenção esperado: 5,694 s.

n_p	Filtros: MH		SG2		SG4	
	E(ms)		E(ms)		E(ms)	
7	-0,8		0,4		0,2	
9	-2,4		0,4		0,2	
11	-4,2		0,4		0,4	
13	-7,2		0,4		0,8	
15	-11,0		0,4		0,4	
17	-16,2		0,0		0,6	
19	-22,2		0,4		0,4	
21	-29,2		0,2		0,6	
23	-37,2		-0,2		0,4	
25	-46,4		-0,2		0,4	

Tabela VI.30 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 11,371 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MH), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído. Tempo de retenção esperado: 5,694 s.

n_p	Filtros: MH		SG2		SG4	
	E(ms)		E(ms)		E(ms)	
7	-0,6		0,6		0,9	
9	-2,0		0,8		0,8	
11	-4,1		0,6		0,7	
13	-7,1		0,5		0,6	
15	-11,0		0,7		0,6	
17	-16,1		0,7		0,5	
19	-22,0		0,5		0,5	
21	-29,1		0,5		0,7	
23	-37,1		0,3		0,7	
25	-46,2		0,2		0,5	

Tabela VI.31 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 11,371 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MH), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído. Tempo de retenção esperado: 5,694 s.

n_p	Filtros: MH		SG2		SG4	
	E(ms)		E(ms)		E(ms)	
7	-1,1		-4,0		-2,1	
9	-2,7		-3,2		-0,3	
11	-4,6		-3,4		-0,7	
13	-7,8		-3,3		-0,5	
15	-11,7		-3,0		0,1	
17	-16,6		-2,7		-0,3	
19	-22,4		-2,4		-0,4	
21	-29,2		-2,4		-0,5	
23	-37,1		-2,0		-0,5	
25	-46,2		-1,7		-0,4	

Tabela VI.32 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 11,371 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MH), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído. Tempo de retenção esperado: 5,694 s.

n_p	Filtros: MH		SG2		SG4	
	E(ms)		E(ms)		E(ms)	
7	-2,0		5,4		nd	
9	-2,6		3,6		nd	
11	-4,3		4,1		nd	
13	-7,1		2,4		nd	
15	-11,1		2,4		nd	
17	-16,1		1,9		nd	
19	-22,2		2,1		nd	
21	-29,0		3,1		nd	
23	-37,3		2,8		nd	
25	-46,5		2,4		nd	

Nota: nd - não determinado. A análise destes picos, com este nível de ruído e com estas condições de filtragem só pode ser feita com redefinição de parâmetros pelo usuário.

Tabela VI.33 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 14,371 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído. Tempo de retenção esperado: 7,452 s.

Filtros: MM			SG2		SG4	
n_p	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	-0,6	-0,2	-0,2	-0,2	-0,2	-0,2
9	-1,8	-0,2	-0,2	-0,4	-0,4	-0,4
11	-3,0	-0,2	-0,2	-0,2	-0,2	-0,2
13	-4,6	-0,2	-0,2	-0,6	-0,6	-0,6
15	-7,0	-0,2	-0,2	-0,4	-0,4	-0,4
17	-10,4	-0,6	-0,6	-0,2	-0,2	-0,2
19	-14,0	-0,6	-0,6	-0,2	-0,2	-0,2
21	-18,6	-0,6	-0,6	-0,2	-0,2	-0,2
23	-23,8	-0,6	-0,6	-0,2	-0,2	-0,2
25	-29,6	-0,6	-0,6	-0,2	-0,2	-0,2

Tabela VI.35 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 14,371 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído. Tempo de retenção esperado: 7,452 s.

Filtros: MM			SG2		SG4	
n_p	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	-0,8	0,2	0,2	nd	nd	nd
9	-2,4	1,8	1,8	nd	nd	nd
11	-3,8	1,4	1,4	nd	nd	nd
13	-5,6	0,4	0,4	nd	nd	nd
15	-8,7	0,2	0,2	nd	nd	nd
17	-11,4	-0,9	-0,9	nd	nd	nd
19	-15,2	-1,3	-1,3	nd	nd	nd
21	-19,2	-1,6	-1,6	nd	nd	nd
23	-24,5	-1,9	-1,9	nd	nd	nd
25	-30,2	-2,2	-2,2	nd	nd	nd

Nota: nd - não determinado. A análise destes picos, com este nível de ruído e com estas condições de filtragem só pode ser feita com redefinição de parâmetros pelo usuário.

Tabela VI.34 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 14,371 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído. Tempo de retenção esperado: 7,452 s.

Filtros: MM			SG2		SG4	
n_p	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	-1,7	-1,4	-1,4	-1,4	-1,4	-1,4
9	-2,5	-1,9	-1,9	-2,0	-2,0	-2,0
11	-3,5	-1,4	-1,4	-2,0	-2,0	-2,0
13	-5,3	-1,2	-1,2	-2,0	-2,0	-2,0
15	-7,5	-1,0	-1,0	-1,8	-1,8	-1,8
17	-10,5	-1,0	-1,0	-1,8	-1,8	-1,8
19	-13,9	-1,1	-1,1	-1,8	-1,8	-1,8
21	-18,6	-1,2	-1,2	-1,7	-1,7	-1,7
23	-23,8	-1,8	-1,8	-1,8	-1,8	-1,8
25	-29,9	-1,0	-1,0	-1,5	-1,5	-1,5

Tabela VI.36 - Dependência dos erros nos tempos de retenção (E) de picos gaussianos com largura de base igual a 14,371 s das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído. Tempo de retenção esperado: 7,452 s.

Filtros: MM			SG2		SG4	
n_p	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)	E(ms)
7	7,5	nd	nd	nd	nd	nd
9	5,7	nd	nd	nd	nd	nd
11	2,5	nd	nd	nd	nd	nd
13	0,1	nd	nd	nd	nd	nd
15	-3,3	nd	nd	nd	nd	nd
17	-7,1	nd	nd	nd	nd	nd
19	-11,5	nd	nd	nd	nd	nd
21	-16,2	nd	nd	nd	nd	nd
23	-22,0	nd	nd	nd	nd	nd
25	-28,4	nd	nd	nd	nd	nd

Nota: nd - não determinado. A análise destes picos, com este nível de ruído e com estas condições de filtragem só pode ser feita com redefinição de parâmetros pelo usuário.

Tabela VI.37 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 4,109 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(X)		A(X)		A(X)	
7	4,0		0,5		0,0	
9	9,4		0,8		0,5	
11	15,2		0,8		0,8	
13	20,8		-0,3		1,1	
15	25,4		-1,6		1,1	
17	31,8		-2,4		0,8	
19	37,4		-5,1		1,6	
21	42,5		-7,0		2,7	
23	48,1		-9,1		2,9	
25	53,2		-10,2		0,5	

Tabela VI.39 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 4,109 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(X)		A(X)		A(X)	
7	-1,7		-11,4		-15,3	
9	4,1		-8,8		-12,8	
11	8,2		-8,2		-10,8	
13	13,4		-6,5		-9,8	
15	19,0		-6,6		-9,4	
17	23,9		-5,6		-7,5	
19	29,0		-7,2		-6,8	
21	36,7		-7,8		-4,6	
23	43,2		-8,6		-4,0	
25	47,9		-8,8		-5,5	

Tabela VI.38 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 4,109 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(X)		A(X)		A(X)	
7	5,1		-1,2		-6,1	
9	8,4		-0,3		-2,9	
11	14,5		0,2		-0,6	
13	18,6		0,2		-0,7	
15	25,1		-0,5		0,5	
17	30,8		-2,0		1,1	
19	36,5		-4,1		1,3	
21	41,4		-6,4		1,3	
23	47,5		-8,4		1,3	
25	52,5		-10,2		1,2	

Tabela VI.40 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 4,109 e das janelas de filtragem (n_p), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído.

n_p	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(X)		A(X)		A(X)	
7	-7,2		-17,8		-22,4	
9	-1,9		-13,7		-18,5	
11	3,2		-11,9		-16,3	
13	6,7		-10,6		-14,2	
15	14,3		-9,3		-13,1	
17	17,3		-9,7		-11,0	
19	26,4		-8,8		-10,3	
21	30,4		-9,5		-7,6	
23	33,3		-9,8		-8,2	
25	39,4		-10,9		-8,5	

Tabela VI.41 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 7,943 e das janelas de filtragem (n), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(x)		A(x)		A(x)	
7	1,0		0,0		0,0	
9	0,8		1,1		0,0	
11	2,9		1,4		0,6	
13	2,8		1,9		2,2	
15	4,3		1,5		2,2	
17	6,2		0,7		1,9	
19	8,6		0,0		1,9	
21	9,7		-0,7		1,9	
23	12,2		-1,7		1,9	
25	14,2		-0,8		1,7	

Tabela VI.42 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 7,943 e das janelas de filtragem (n), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(x)		A(x)		A(x)	
7	0,0		-6,6		-10,4	
9	1,0		-4,3		-7,7	
11	1,2		-3,2		-5,6	
13	2,2		-1,5		-5,0	
15	4,1		-1,7		-3,6	
17	5,7		-1,2		-2,9	
19	7,4		-0,6		-2,4	
21	9,7		-0,8		-1,2	
23	11,7		-1,2		-0,7	
25	13,5		-1,6		-0,5	

Tabela VI.43 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 7,943 e das janelas de filtragem (n), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(x)		A(x)		A(x)	
7	-9,1		-17,5		-23,8	
9	-6,5		-15,5		-20,2	
11	-4,3		-13,5		-17,6	
13	-2,6		-11,5		-16,1	
15	-0,6		-10,1		-14,2	
17	2,1		-7,9		-13,1	
19	3,6		-8,4		-11,6	
21	6,2		-7,3		-10,2	
23	8,3		-6,7		-9,4	
25	9,9		-6,5		-8,9	

Tabela VI.44 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 7,943 e das janelas de filtragem (n), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(x)		A(x)		A(x)	
7	-15,8		-24,6		-36,0	
9	-10,4		-21,6		-26,5	
11	-7,4		-18,3		-24,5	
13	-7,3		-16,7		-22,8	
15	-5,9		-14,1		-19,9	
17	-3,1		-13,4		-19,1	
19	-0,4		-12,3		-17,0	
21	2,8		-11,3		-16,0	
23	3,8		-11,8		-14,3	
25	6,3		-9,7		-14,1	

Tabela VI.45 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (A) de picos gaussianos com largura de base original igual a 11,371 e das janelas de filtragem (n.), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(x)		A(x)		A(x)	
7	-0,1		0,0		0,0	
9	2,0		0,0		0,0	
11	2,3		0,0		0,2	
13	3,2		-0,6		0,0	
15	2,8		0,2		0,0	
17	3,9		0,0		-0,6	
19	4,3		0,6		-0,6	
21	4,5		1,0		-0,2	
23	5,4		1,0		0,0	
25	6,3		1,4		0,3	

Tabela VI.46 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (A) de picos gaussianos com largura de base original igual a 11,371 e das janelas de filtragem (n.), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(x)		A(x)		A(x)	
7	-2,0		-6,6		-9,6	
9	-0,3		-5,0		-7,7	
11	0,8		-3,9		-6,4	
13	1,8		-2,7		-6,1	
15	2,7		-2,6		-4,5	
17	3,0		-1,4		-3,5	
19	3,9		-1,0		-3,0	
21	4,6		-0,5		-2,7	
23	5,4		-0,5		-2,4	
25	6,2		0,6		-1,1	

Tabela VI.47 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (A) de picos gaussianos com largura de base original igual a 11,371 e das janelas de filtragem (n.), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(x)		A(x)		A(x)	
7	-11,5		-19,5		-30,1	
9	-8,2		-17,0		-22,7	
11	-6,8		-16,0		-19,0	
13	-5,5		-13,1		-16,8	
15	-4,3		-12,2		-15,6	
17	-2,3		-11,6		-13,8	
19	-1,6		-10,3		-13,9	
21	0,4		-8,9		-12,2	
23	1,4		-7,4		-11,7	
25	2,7		-7,1		-10,9	

Tabela VI.48 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (A) de picos gaussianos com largura de base original igual a 11,371 e das janelas de filtragem (n.), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(x)		A(x)		A(x)	
7	-18,0		-34,6		nd	
9	-13,6		-25,7		nd	
11	-11,2		-22,1		nd	
13	-10,6		-19,3		nd	
15	-8,9		-16,1		nd	
17	-6,7		-14,8		nd	
19	-5,0		-13,6		nd	
21	-4,8		-13,4		nd	
23	-2,5		-12,7		nd	
25	-0,1		-11,6		nd	

Nota: nd - não determinado. A análise destes picos, com este nível de ruído e com estas condições de filtragem só pode ser feita com redefinição de parâmetros pelo usuário.

Tabela VI.49 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 14,842 e das janelas de filtragem (n), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos sem ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(X)		A(X)		A(X)	
7	-0,4		0,0		0,0	
9	0,2		0,0		0,0	
11	0,0		0,0		0,0	
13	0,7		0,0		0,0	
15	1,0		0,0		0,0	
17	1,6		0,0		0,0	
19	2,4		0,0		0,0	
21	2,9		-0,1		0,0	
23	3,0		-0,3		0,0	
25	3,6		-0,1		0,0	

Tabela VI.51 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 14,842 e das janelas de filtragem (n), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 50 mV RMS de ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(X)		A(X)		A(X)	
7	-12,6		-28,5		nd	
9	-10,8		-20,0		nd	
11	-9,2		-16,6		nd	
13	-7,4		-15,1		nd	
15	-6,9		-13,1		nd	
17	-5,3		-11,9		nd	
19	-4,3		-10,5		nd	
21	-3,2		-10,0		nd	
23	-2,6		-9,3		nd	
25	-0,6		-8,9		nd	

Nota: nd - não determinado. A análise destes picos, com este nível de ruído e com estas condições de filtragem só pode ser feita com redefinição de parâmetros pelo usuário.

Tabela VI.50 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 14,842 e das janelas de filtragem (n), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 10 mV RMS de ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(X)		A(X)		A(X)	
7	-2,6		-7,4		-11,4	
9	-1,6		-4,8		-9,6	
11	-1,2		-3,5		-7,2	
13	-0,4		-3,1		-5,4	
15	0,1		-2,3		-4,3	
17	0,9		-2,0		-3,9	
19	1,6		-1,8		-3,7	
21	2,5		-1,6		-2,6	
23	2,6		-2,0		-2,7	
25	3,6		-1,5		-2,2	

Tabela VI.52 - Dependência das alterações percentuais nas larguras de base (λ) de picos gaussianos com largura de base original igual a 14,842 e das janelas de filtragem (n), para os filtros de Média Móvel (MM), Savitzky-Golay de 2º grau (SG2) e Savitzky-Golay de 4º grau (SG4). Picos com 100 mV RMS de ruído.

n.	Filtros: MM		SG2		SG4	
	A(X)		A(X)		A(X)	
7	-24,1		nd		nd	
9	-17,6		nd		nd	
11	-14,5		nd		nd	
13	-12,5		nd		nd	
15	-11,8		nd		nd	
17	-10,6		nd		nd	
19	-8,6		nd		nd	
21	-8,7		nd		nd	
23	-6,7		nd		nd	
25	-5,0		nd		nd	

Nota: nd - não determinado. A análise destes picos, com este nível de ruído e com estas condições de filtragem só pode ser feita com redefinição de parâmetros pelo usuário.

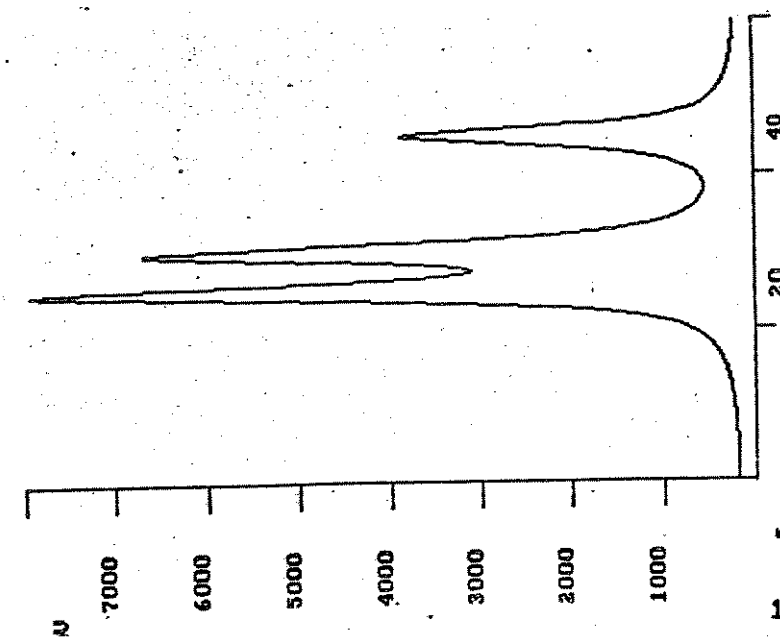
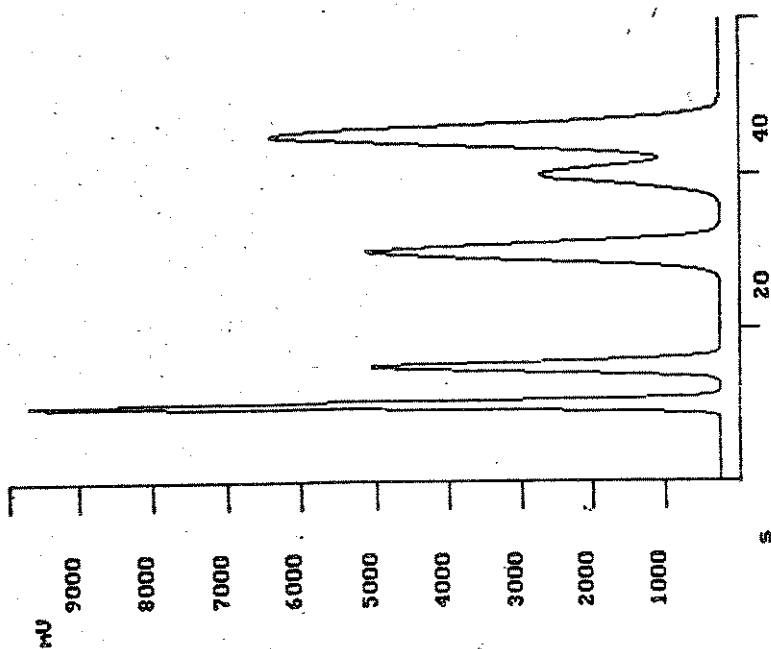
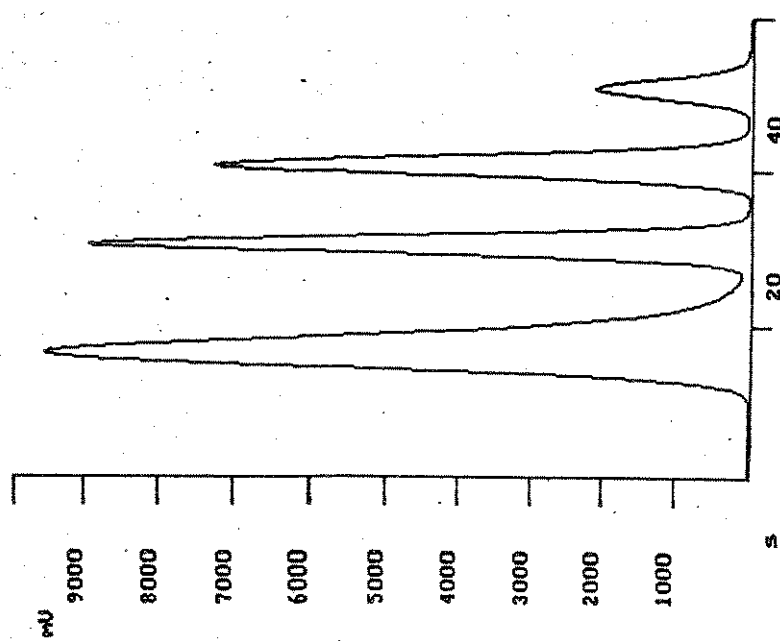


Fig.VII.1 - Cromatograma Simulado pela função de Lorentz-Cauchy

Fig.VII.2 - Cromatograma Simulado pela função Gaussiana

Fig.VII.3 - Cromatograma Simulado pela função Gaussiana Exponencialmente Modificada

APÊNDICE 3

A seguir, são apresentadas as listagens completas dos programas LECROM (coleta de dados cromatográficos) e ANACROM (análise de dados cromatográficos).

1 - Programa LECROM

```
program LeCrom;
```

```
Uses DOS, CRT, Graph, Drivers, Fonts, DACA;
```

```
const  
  Rate = 5.49316E-2; (INTERVALO ENTRE FATIAS)
```

```
var  
  ProvFile, DataFile      : file of word;  
  Regs                    : Registers;  
  Filter, Fundo           : Real;  
  Ch                      : char;  
  Data, C, TimeFlag, X, Y : word;  
  nf                     : word;  
  GraphDriver, GraphMode  : integer;  
  Screen                 : array [0..639] of word;  
  FileName                : string [30];
```

```
procedure Wait;      (SINCRONIZA COLETA COM CLOCK)
```

```
begin  
  Regs.AH := $1;  
  repeat Intr ($1A, Regs) until TimeFlag <> Regs.DL;  
  TimeFlag := Regs.DL;  
end;
```

```
BEGIN  
  ClrScr;  
  writeln (AQUISICAO DE DADOS CROMATOGRAFICOS - VERSAO  
1.0');  
  write (#13, #10, 'Qual o nome do arquivo para os dados ?  
' );  
  readln (FileName);  
  FileName := 'C:\TP4\DADOS\' + FileName + '.CRM';  
  for C := 0 to 639 do Screen [C] := 1;
```

```

Assign (ProvFile, 'd:daca.dat');
ReWrite (ProvFile);
write ('Qual o fundo de escala, mV ? ');
readln (Fundo);
Fundo := 4096.0 * (Fundo / 10000.0);
write ('Quantos pontos para Media Simples ?');
readln (nf);
InitDevice; (INICIALIZA ADC)
Ch := ' ';
writeln ('Acerte o zero do amplificador - encerre apertando
qualquer tecla');
repeat
  Data := ReadData;
  Delay (50);
  write (#13, 'Sinal = ', Data, ' mV');
  Ch := ReadKey;
until Ch <> ' ';
writeln (#13, #10, 'Aperte qualquer tecla para iniciar');
Ch := ' ';
repeat Ch := ReadKey until Ch <> ' ';
for C := 1 to 7 do
  begin
    write (#13, ' ', #13);
    write (#7, (8 - C), ' SEGUNDOS PARA INJECAO');
    Delay (1000);
  end;
C := 0;
X := 0;
if RegisterBGIDriver(@CGADriverProc) < 0 then Halt (1);
if RegisterBGIFont(@SmallFontProc) < 0 then Halt (1);
GraphDriver := Detect;
InitGraph(GraphDriver, GraphMode, '');
TimeFlag := 0;
FillChar (Regs, SizeOf (Regs), 0);
repeat
  Filter := 0;
  For Y := 1 to nf do Filter := Filter+ReadData; (LE ADC)
  Data := Round (Filter / nf);
  write (ProvFile, Data); (GRAVA FATIA EM RAM DISK)
  C := C + 1;
  PutPixel (X, 199, Black); (PLOTA FATIA)
  X := Round ((Frac (C / 1280)) * 640);
  PutPixel (X, Screen [X], Black);
  Screen [X] := Round (198 * (1 - (Data / Fundo)));
  if Screen [X] < 0 then Screen [X] := 0;
  PutPixel (X, Screen [X], White);
  PutPixel (X, 199, White);
  Wait;
until KeyPressed;
CloseGraph;
ReSet (ProvFile);
Assign (DataFile, FileName);
ReWrite (DataFile);
while not EOF (ProvFile) do (COPIA CROMATOGRAMA NO DISCO)

```

```

begin
  read (ProvFile, Data);
  write (DataFile, Data);
end;
Close (DataFile);
Erase (ProvFile);
END.

```

2 - Programa ANACROM

```
PROGRAM ANACROM;
```

```
Uses DOS, CRT, Graph, Drivers, Fonts, Printer, LeastSqr;
```

```

const
  CR      : char      = #13;
  LF      : char      = #10;
  Taxa    : double    = 18.2044444444;
  Conv    : double    = 2.44140625;

```

```

type
  PicosType = record
    Ini, Max, Fim      : longint;
    SIni, SMax, SFim   : word;
    tr, htr, Ass10, Area : real;
    Discr              : integer;
    Metodo             : string

```

```

[10];
end;

```

```

var
  Arquivo, ArqRAM      : file of word;
  Nome, Str1           : string [50];
  Str2, Str3, Str4, F1, F2 : string [10];
  Dado, NPicos         : word;
  NDados              : longint;
  D1, D2, Incl, wb     : integer;
  Sobe, Desce, Filtro1, Filtro2 : boolean;
  VerGraf              : boolean;
  Pico                 : array [1..50] of
  PicosType;
  C1, C2, C3           : longint;
  GraphMode, GraphDriver : integer;
  Car                  : char;
  X1, X2, Y1, Y2       : word;
  FatX, FatY, InclMin, wbMax, DvPd : real;
  Varianca             : real;

```

```

CI, JanelaPoli, GrauPoli           : integer;
tPoli, SPoli, Sinter, Residuos      : TNColumnVector;
Erro                                : byte;
CoefPoli                            : TNRowVector;
Fit                                  : FitType;

```

```

( * * * * * )

```

```

procedure LeDados; ( COMECO DA ROTINA DE LEITURA DE DADOS )

```

```

begin
  write (CR, LF, 'Qual o arquivo a ser analisado ? ');
  readln (Nome);
  Nome := 'C:\TP4\DADOS\' + Nome;
  Assign (Arquivo, Nome);
  Assign (ArqRAM, 'd:crom.dat');
  ReSet (Arquivo);
  ReWrite (ArqRAM);
  NDados := 0;
  while not EOF (Arquivo) do
    begin
      Read (Arquivo, Dado);
      Write (ArqRAM, Dado);
      NDados := NDados + 1;
    end;
  ReSet (ArqRAM);
  writeln (CR, LF, 'Lidos ', (NDados / Taxa) : 8 : 3,
    ' s - ',
    NDados, ' fatias');
end;

```

```

( * * * * * )

```

```

procedure Filtros; ( ROTINA DE FILTRAGEM DOS DADOS )

```

```

var
  ArqSGL           : file of real;
  NomeSGL          : string [30];
  Str1, Str2       : string [5];
  NovoDado, Grau, Janela, Offset : word;
  Norm, Soma, FatX, FatY      : real;
  Coef               : array [1..25] of real;
  X1, X2, Y1, Y2, Yf1, Yf2   : word;

```

```

procedure SavGol;

```

```

begin
  Str (Grau, Str1);      Str (Janela, Str2);
  NomeSGL := 'C:\TP4\ANALISE\' + Str1 + 'J' + Str2 +
    '.SGL';
  Assign (ArqSGL, NomeSGL);
  ReSet (ArqSGL);
  Read (ArqSGL, Norm);
  for C1 := 1 to Janela do Read (ArqSGL, Coef [C1]);
  Close (ArqSGL);
  Offset := (Janela - 1) div 2;

```

```

for C1 := Offset to (NDados - Offset - 1) do
begin
  Soma := 0;
  for C2 := 1 to Janela do
  begin
    Seek (ArqRAM, (C1 - Offset + C2 - 1));
    Read (ArqRAM, Dado);
    Soma := Soma + (Dado * Coef [C2]);
  end;
  if Soma > 0 then NovoDado := Round (Soma / Norm)
else NovoDado := 0;
  if NovoDado > 4095 then NovoDado := 4095;
  Seek (ArqRAM, C1);
  Write (ArqRAM, NovoDado);
end;
ReSet (ArqRam); ReSet (Arquivo);
end;

```

```

procedure Movel;
begin
  Offset := (Janela - 1) div 2;
  for C1 := Offset to (NDados - Offset - 1) do
  begin
    Soma := 0;
    for C2 := 1 to Janela do
    begin
      Seek (ArqRAM, (C1 - Offset + C2 - 1));
      Read (ArqRAM, Dado);
      Soma := Soma + Dado;
    end;
    NovoDado := Round (Soma / Janela);
    if NovoDado > 4095 then NovoDado := 4095;
    Seek (ArqRAM, C1);
    Write (ArqRAM, NovoDado);
  end;
  ReSet (ArqRam); ReSet (Arquivo);
end;

```

```

procedure Compara;
begin
  GraphDriver := EGA;
  GraphMode := EGAHi;
  ClrScr;
  InitGraph (GraphDriver, GraphMode, 'C:\TP4\GRAPH\');
  FatX := 640 / NDados; FatY := 170 / 4096;
  Read (Arquivo, Dado); Read (ArqRAM, NovoDado);
  X1 := Round (FatX);
  Y1 := Round (170 - (Dado * FatY));
  Yf1 := Round (345 - (NovoDado * FatY));
  for C1 := 1 to (NDados - 1) do
  begin
    Read (Arquivo, Dado); Read (ArqRAM, NovoDado);
    X2 := Round (C1 * FatX);
    Y2 := Round (170 - (Dado * FatY));

```

```

        Yf2 := Round (345 - (NovoDado * FatY));
        Line (X1, Y1, X2, Y2);
        Line (X1, Yf1, X2, Yf2);
        X1 := X2;   Y1 := Y2;   Yf1 := Yf2;
    end;
end;

procedure Selecciona;
begin
    writeln (CR, LF, 'Qual o filtro ?');
    writeln ('      S --> Savitzky-Golay');
    writeln ('      M --> Media Movel');
    repeat Car := ReadKey until Car <> ' ';
    Car := UpCase (Car);
    Str3 := Car;
    write (CR, LF, 'Qual a janela ? (no. impar) ');
    readln (Janela);
    Str (Janela, Str4);
    Car := UpCase (Car);
    case Car of
        'S' : begin
            write (CR, LF, 'Qual o grau do polinomio ?
(2 ou 4) ');
            repeat readln (Grau) until (Grau = 2) or
(Grau = 4);
            Str (Grau, Str2);
            Str3 := Str3 + Str2 + ' ' + Str4;
            SavGol;
            end;
        'M' : begin
            Movel;
            Str3 := Str3 + Str4;
            end;
    end;
end;
end;

Begin
    Car := ' ';
    Filtro1 := false;   Filtro2 := false;
    F1 := ' ';   F2 := ' ';
    writeln (CR, LF, 'Deseja filtrar ruidos ? ');
    repeat Car := ReadKey until Car <> ' ';
    Car := UpCase (Car);
    if Car = 'S' then
        begin
            Filtro1 := true;
            Selecciona;
            Compara;
            F1 := Str3;
            Car := ' ';
            repeat Car := ReadKey until Car <> ' ';
            CloseGraph;
            ClrScr;
            Car := ' ';
        end;
    else
        begin
            Filtro2 := true;
            Compara;
            F2 := Str3;
            Car := ' ';
            repeat Car := ReadKey until Car <> ' ';
            CloseGraph;
            ClrScr;
            Car := ' ';
        end;
    end;
end;

```

```

        writeln ('Deseja mais uma filtragem ? S / N ');
        repeat Car := ReadKey until Car <> ' ';
        Car := UpCase (Car);
        if Car = 'S' then
            begin
                Selecciona;
                Compara;
                Filtro2 := true;
                F2 := Str3;
            end;
        ReSet (Arquivo);   ReSet (ArqRAM);
    end;
    CloseGraph;
End;

( * * * * * )

function Der1 (Local : longint) : integer;
var
    P1, P2      : word;
Begin
    Seek (ArqRAM, (Local - 1));
    if (Local - 1) <= (NDados - 4) then Read (ArqRAM, P1);
    Seek (ArqRAM, (Local + 1));
    if (Local + 1) <= (NDados - 4) then Read (ArqRAM, P2);
    Der1 := P2 - P1;
End;

( * * * * * )

function Der2 (Local : longint) : integer;
var
    L1, L2      : longint;
Begin
    L1 := Local - 1;
    L2 := Local + 1;
    Der2 := Der1 (L2) - Der1 (L1);
End;

( * * * * * )

procedure PreAnalise; (PRE-ANALISE DOS DADOS)
Begin
    ClrScr;
    write ('Qual a sensibilidade de deteccao, mV / s ?
');
    readln (InclMin);
    write ('Qual a largura de base maxima para rejeicao, s
');
    readln (wbMax);
    Incl := Round (InclMin / (Taxa * Conv));
    wb := Round (wbMax * Taxa);
    Sobe := False;   Desce := False;
    FillChar (Pico, SizeOf (Pico), 0);

```

```

    writeln (CR, LF, 'PICO #', 'inicio' : 10, 'Maximo' : 10,
'Fim' : 10);
    NPicos := 0;
    C1 := 2;
    Seek (ArqRAM, 2);
    repeat
        D1 := Der1 (C1);
        D2 := Der2 (C1);
        if (D1 >= Incl) and (D2 >= Incl) and (not Sobe) and
(not Desce) then
            begin
                NPicos := NPicos + 1;
                Sobe := True;
                with Pico [NPicos] do
                    begin
                        Ini := C1 - 1;
                        Seek (ArqRAM, Ini);
                        Read (ArqRAM, SIni);
                    end;
                end;
            if (D1 <= 0) and (Sobe) and (not Desce) then
                begin
                    Desce := True;
                    with Pico [NPicos] do
                        begin
                            Max := C1;
                            Seek (ArqRAM, Max);
                            Read (ArqRAM, SMax);
                        end;
                    end;
                if (D1 >= -Incl) and (D2 >= -Incl) and (Sobe) and
(Desce) then
                    begin
                        Sobe := False; Desce := False;
                        with Pico [NPicos] do if (C1 - Ini) >= wb then
                            begin
                                Fim := C1 - 1;
                                Seek (ArqRAM, Fim);
                                Read (ArqRAM, SFim);
                                writeln (NPicos : 6, (Ini / Taxa) : 10 : 3,
(Max / Taxa) : 10 : 3, (Fim / Taxa) :
10 : 3);
                            end
                        else NPicos := NPicos - 1;
                        end;
                    C1 := C1 + 1;
                    until (C1 >= (NDados - 3)) or (EOF (ArqRAM));
                    ReSet (ArqRAM);
                    VerGraf := False;
                    for C1 := 1 to NPicos do with Pico [C1] do
                        if (Ini <= 0) or (Max <= 0) or (Fim <= 0) then NPicos
:= NPicos - 1;
                    End;

```

```
( * * * * * )
```

```
procedure PlotaCromatograma (PLOTA CROMATOGRAMA EM TELA)
(Janela : byte);
var
  LargY : word;
  Ponto : longint;
Begin
  if (not VerGraf) then
    begin
      GraphDriver := EGA;
      GraphMode := EGAHi;
      InitGraph (GraphDriver, GraphMode, 'C:\TP4\GRAPH\');
      VerGraf := True;
    end;
  FatX := 640 / NDados;
  case Janela of
    1 : LargY := 349;
    2 : LargY := 199;
  end;
  FatY := LargY / 4096;
  ReSet (ArqRam);
  Read (ArqRAM, Dado);
  X1 := Round (FatX);
  Y1 := Round (LargY - (Dado * FatY));
  for Ponto := 1 to (NDados - 1) do
    begin
      Read (ArqRAM, Dado);
      X2 := Round (Ponto * FatX);
      Y2 := Round (LargY - (Dado * FatY));
      Line (X1, Y1, X2, Y2);
      X1 := X2; Y1 := Y2;
    end;
  for Ponto := 1 to NPicos do with Pico [Ponto] do
    begin
      X1 := Round (Ini * FatX);
      X2 := Round (Fim * FatX);
      Y1 := Round (LargY - (SIni * FatY));
      Y2 := Round (LargY - (SFim * FatY));
      Line (X1, Y1, X2, Y2);
    end;
  for Ponto := 1 to NPicos do with Pico [Ponto] do
    begin
      if tr = 0 then X1 := Round (Max * FatX) else X1 :=
Round (tr * FatX);
      if tr = 0 then Y1 := Round (LargY - (SMax * FatY))
      else Y1 := Round (LargY - (htr * FatY));
      Y2 := LargY;
      Line (X1, Y1, X1, Y2);
    end;
  End;
```

```
( * * * * * )
```

procedure Analise; (BLOCO DE ANALISE)

var

P : longint;

function Poli (t : real) : real;

var

C : word;

tPot, Parcial : real;

begin

Parcial := 0;

tPot := 1;

for C := 1 to GrauPoli do

begin

Parcial := Parcial + (CoefPoli [C] * tPot);

tPot := tPot * t;

end;

Poli := Parcial;

end;

function DerivPoli (t : real) : real;

var

C : word;

tPot, Parcial : real;

begin

Parcial := 0;

tPot := 1;

for C := 2 to GrauPoli do

begin

Parcial := Parcial + (CoefPoli [C] * tPot * (C - 1));

tPot := tPot * t;

end;

DerivPoli := Parcial;

end;

procedure MaxPoli (Max : word; var tMax, SinalMax : real);

var

Intervalo, Delta, DerPol : real;

t, Varrido : real;

Achou : boolean;

begin

t := (Max - D1) * 1.000;

Delta := 1;

Intervalo := JanelaPoli;

Varrido := 0;

Achou := false;

repeat

DerPol := DerivPoli (t);

if (DerPol < 1E-5) and (not Achou) then

begin

tMax := t;

SinalMax := Poli (t);

Achou := true;

end;

```

t := t + Delta;
Varrido := Varrido + Delta;
if Achou then
begin
    Varrido := 0;
    Delta := Delta / 10;
    t := tMax - (50 * Delta);
    Intervalo := 100 * Delta;
    Achou := false;
end;
until Delta < 1E-5;
end;

procedure DefinePolinomio (P : longint);
begin
    with Pico [P] do
    begin
        Rectangle (0, 205, 639, 349);
        SetViewport (5, 210, 634, 344, ClipOn);
        ClearViewport;
        Str (P, Str2);
        Str1 := 'ANALISE FINAL DO CROMATOGRAMA - PICO #' +
Str2;
        SetTextStyle (DefaultFont, HorizDir, 1);
        OutTextXY (50, 5, Str1);
        Str ((Max / Taxa) : 9 : 3, Str3);
        Str1 := 'Maximo do Pico #' + Str2 + ' = ' + Str3;
        OutTextXY (10, 20, Str1);
        Str1 := 'Qual o modelo de analise?';
        OutTextXY (10, 30, Str1);
        Str1 := '1 - Regressao Polinomial';
        OutTextXY (250, 30, Str1);
        Str1 := '2 - Maximo Local';
        OutTextXY (250, 40, Str1);
        Car := '';
        repeat Car := ReadKey until Car <> '';
        if Car = '2' then Metodo := 'MaxLoc';
        if Car = '1' then
            begin
                Fit := Poly;
                Metodo := 'Poli';
                Str1 := 'Qual o grau do polinomio ? (max. 50.
grau)';
                OutTextXY (100, 60, Str1);
                Str2 := '';
                repeat
                    Car := ReadKey;
                    if Car <> #13 then Str2 := Str2 + Car;
                until Car = #13;
                OutTextXY (450, 60, Str2);
                Val (Str2, GrauPoli, D1);
                Metodo := Metodo + Copy (Str2, 1, 2);
                GrauPoli := GrauPoli + 1;
                Str1 := 'Qual a janela?';
            end;
        end;
    end;
end;

```

```

OutTextXY (100, 80, Str1);
Str2 := ' ';
repeat
  Car := ReadKey;
  if Car <> #13 then Str2 := Str2 + Car;
until Car = #13;
OutTextXY (450, 80, Str2);
Metodo := Metodo + Copy (Str2, 1, 3);
Val (Str2, JanelaPoli, D1);
Discr := Discr + (10 * JanelaPoli);
D1 := (JanelaPoli - 1) div 2;
C2 := Max - D1;
Seek (ArqRAM, C2);
CI := 1;
repeat
  Read (ArqRAM, Dado);
  SPoli [CI] := Dado * 1.000;
  tPoli [CI] := C2 * 1.000;
  C2 := C2 + 1;
  CI := CI + 1;
until CI > JanelaPoli;
LeastSquares (JanelaPoli, tPoli, SPoli,
GrauPoli, CoefPoli,
SInter, Residuos, Varianca,
DvPd, Erro, Fit);
  MaxPoli (Max, tr, htr);
end
else
begin
  tr := 1.000 * Max;
  htr := 1.000 * SMax;
end;
end;
end;

procedure Redefine (P : longint); (REDEFINICAO)
var
  Contador, Shift, Pinicial, Pfinal      : longint;
  EscX, EscY                             : real;
  FEscY                                  : word;
  Pos, Antes                             : integer;
  Tela                                   : array [0..199]
of word;
  procedure DesenhaParcial (Pinicial, Pfinal : longint;
EscX, EscY : real);
  begin
    with Pico [P] do
      begin
        SetViewPort (0, 0, 639, 200, ClipOn);
        ClearViewPort;
        Seek (ArqRam, Pinicial);
        Read (ArqRAM, Dado);
        X1 := Round (EscX);
        Y1 := Round (FEscY - (Dado * EscY));

```

```

    for C2 := 1 to Contador do
    begin
        Read (ArqRAM, Dado);
        X2 := Round (C2 * EscX);
        Y2 := Round (Dado * EscY);
        if Y2 <= 199 then Y2 := FEscY - Y2
        else Y2 := 0;
        Line (X1, Y1, X2, Y2);
        X1 := X2;    Y1 := Y2;
    end;
    X1 := Round ((Ini - Pinicial) * EscX);
    X2 := Round ((Fim - Pinicial) * EscX);
    Y1 := Round (FEscY - (SIni * EscY));
    Y2 := Round (FEscY - (SFim * EscY));
    Line (X1, Y1, X2, Y2);
    X1 := Round ((tr - Pinicial) * EscX);
    Y1 := Round (FEscY - (htr * EscY));
    Y2 := FEscY;
    Line (X1, Y1, X1, Y2);
end;
end;
procedure SalvaLinha (Linha : word);
var
    Y : word;
begin
    for Y := 0 to 199 do Tela [Y] := GetPixel (Linha,
Y);
    end;
end;
procedure RestauraLinha (Linha : word);
var
    Y : word;
begin
    for Y := 0 to 199 do PutPixel (Linha, Y, Tela [Y]);
    end;
end;
procedure Cursor (Antes, Depois : word);
begin
    RestauraLinha (Antes);
    SalvaLinha (Depois);
    Line (Depois, 0, Depois, 199);
end;
end;
procedure AtualizaVisor (Postela : word);
var
    StrT, StrS : string [30];
    t, S : real;
    Sinal : word;
    PosCursor : longint;
begin
    SetViewport (450, 215, 630, 240, ClipOn);
    ClearViewport;
    PosCursor := Round ((Postela / EscX) + Pinicial);
    Seek (ArqRAM, PosCursor);
    Read (ArqRAM, Sinal);
    t := PosCursor / Taxa;
    S := Sinal * Conv;

```

```

Str (t : 9 : 3, StrT);
Str (S : 7 : 1, StrS);
StrT := 't' = '+' StrT + ' s';
StrS := 'Sinal = ' + StrS + ' mV';
OutTextXY (10, 8, StrT);
OutTextXY (10, 18, StrS);
SetViewPort (0, 0, 639, 200, ClipOn);
end;
procedure Zoom;
var
  Z      : char;
  AltX, AltY : double;
  Fx, Fy, Yini : double;
  Xini      : word;
begin
  SetViewPort (450, 255, 630, 340, ClipOn);
  ClearViewPort;
  Rectangle (0, 0, 179, 84);
  Str1 := 'ZOOM DA TELA';
  OutTextXY (5, 5, Str1);
  Str1 := 'Eixo de Tempo: <- ->';
  OutTextXY (10, 15, Str1);
  Str1 := 'Eixo de Sinal: /\  \/';
  OutTextXY (10, 25, Str1);
  Str1 := 'Encerra: <END>';
  OutTextXY (10, 35, Str1);
  Str1 := 'Cada toque altera';
  OutTextXY (5, 50, Str1);
  Str1 := 'o eixo em 10 %';
  OutTextXY (5, 60, Str1);
  Z := ' ';
  SetViewPort (450, 215, 630, 240, ClipOn);
  ClearViewPort;
  AltX := Shift / 20;
  AltY := EscY / 10;
  Xini := Shift;
  Yini := EscY;
  Str1 := '% Expansao dos Eixos';
  OutTextXY (5, 8, Str1);
  Fx := 200 * (Xini - Shift) / Xini;
  Str (Fx : 4 : 0, Str1);
  Str1 := Str1 + '% X';
  OutTextXY (5, 18, Str1);
  Fy := 100 * (EscY - Yini) / Yini;
  Str (Fy : 4 : 0, Str1);
  Str1 := Str1 + '% Y';
  OutTextXY (70, 18, Str1);
  repeat
    Z := ReadKey;
    if Z = #0 then
      begin
        Z := ReadKey;
        case Z of
          #75 : Shift := Round (Shift + AltX);

```

```

        #77 : Shift := Round (Shift - AltX);
        #72 : EscY := EscY + AltY;
        #80 : EscY := EscY - AltY;
    end;
end;
ClearViewPort;
Str1 := '% Expansao dos Eixos';
OutTextXY (5, 8, Str1);
Fx := 200 * (Xini - Shift) / Xini;
Str (Fx : 4 : 0, Str1);
Str1 := Str1 + '% X';
OutTextXY (5, 18, Str1);
Fy := 100 * (EscY - Yini) / Yini;
Str (Fy : 4 : 0, Str1);
Str1 := Str1 + '% Y';
OutTextXY (70, 18, Str1);
until Z = #79;
SetViewPort (450, 255, 630, 340, ClipOn);
ClearViewPort;
with Pico [P] do
begin
    if Shift <= Max then Pinicial := Max - Shift
    else Pinicial := 0;
    Contador := Max + Shift;
    if Contador < (NDados - 1) then Pfinal :=
Contador
        else Pfinal := (NDados - 1);
    Contador := Pfinal - Pinicial;
    EscX := 640 / (Pfinal - Pinicial);
    DesenhaParcial (Pinicial, Pfinal, EscX, EscY);
    Pos := 0;
    SalvaLinha (Pos);
    Line (0, 0, 0, 199);
    AtualizaVisor (Pos);
end;
end;
procedure NovoParametro (Ident : byte);
var
    C : char;
    PosNova : longint;
    SinAnt, SinNovo : word;
    PAnt, PNova, SAnt, SNovo : string [30];
begin
    SetViewPort (450, 255, 630, 340, ClipOn);
    ClearViewPort;
    Rectangle (0, 0, 179, 84);
    Str1 := 'REDEFINICAO';
    OutTextXY (5, 5, Str1);
    PosNova := Round ((Pos / EscX) + Pinicial);
    Seek (ArqRAM, PosNova);
    Read (ArqRAM, SinNovo);
    Str ((PosNova / Taxa) : 9 : 3, PNova);
    Str ((SinNovo * Conv) : 7 : 1, SNovo);
    with Pico [P] do

```

```

begin
  Case Ident of
    1 : begin
      Str ((Ini / Taxa) : 9 : 3, PAnt);
      Str ((Sini * Conv) : 7 : 1, SAnt);
      PNova := 'Novo inicio: ' + PNova + ' s';
      SNovo := 'Sinal = ' + SNovo + ' mV';
      PAnt := 'inicio: ' + PAnt + ' s';
      SAnt := 'Sinal = ' + SAnt + ' mV';
    end;
    2 : begin
      Str ((Fim / Taxa) : 9 : 3, PAnt);
      Str ((SFim * Conv) : 7 : 1, SAnt);
      PNova := 'Novo fim: ' + PNova + ' s';
      SNovo := 'Sinal = ' + SNovo + ' mV';
      PAnt := 'Fim: ' + PAnt + ' s';
      SAnt := 'Sinal = ' + SAnt + ' mV';
    end;
    3 : begin
      Str ((tr / Taxa) : 9 : 3, PAnt);
      Str ((htr * Conv) : 7 : 1, SAnt);
      PNova := 'Novo tr: ' + PNova + ' s';
      SNovo := 'Sinal = ' + SNovo + ' mV';
      PAnt := 'tr: ' + PAnt + ' s';
      SAnt := 'Sinal = ' + SAnt + ' mV';
    end;
  end;
  OutTextXY (5, 15, PAnt);
  OutTextXY (10, 25, SAnt);
  OutTextXY (5, 35, PNova);
  OutTextXY (10, 45, SNovo);
  Str1 := 'Redefine ? s/n';
  OutTextXY (5, 55, Str1);
  C := '';
  repeat C := ReadKey until C <> '';
  if (C = 's') or (C = 'S') then
    begin
      Case Ident of
        1 : begin
          Ini := PosNova;
          Sini := SinNovo;
        end;
        2 : begin
          Fim := PosNova;
          SFim := SinNovo;
        end;
        3 : begin
          tr := PosNova;
          htr := SinNovo;
        end;
      end;
    end;
  end;
  ClearViewPort;

```

```

SetViewport (0, 0, 639, 200, ClipOn);
DesenhaParcial (Pinicial, Pfinal, EscX, EscY);
Pos := 0;
SalvaLinha (Pos);
Line (0, 0, 0, 199);
AtualizaVisor (Pos);
end;
begin
  with Pico [P] do
    begin
      ClearViewport;
      Shift := Round (NDados / 10);
      if Shift <= Max then Pinicial := Max - Shift
      else Pinicial := 0;
      Contador := Max + Shift;
      if Contador < (NDados - 1) then Pfinal := Contador
      else Pfinal := (NDados - 1);
      Contador := Pfinal - Pinicial;
      FEscY := 199;
      EscX := 640 / (Pfinal - Pinicial);
      EscY := FEscY / SMax;
      DesenhaParcial (Pinicial, Pfinal, EscX, EscY);
      SetViewport (0, 210, 639, 344, ClipOn);
      Str1 := 'REDEFINICAO DE PARAMETROS DE PICOS';
      OutTextXY (50, 5, Str1);
      Str1 := 'Movimento do Cursor: ';
      OutTextXY (70, 15, Str1);
      Str1 := '<-- ... Esquerda';
      OutTextXY (75, 25, Str1);
      Str1 := '<ctrl> <-- ... Esquerda, rapido';
      OutTextXY (75, 35, Str1);
      Str1 := '<-- ... Direita';
      OutTextXY (75, 45, Str1);
      Str1 := '<ctrl> <-- ... Direita, rapido';
      OutTextXY (75, 55, Str1);
      Str1 := '<I> ... Novo Inicio      <F> ... Novo
Fim';
      OutTextXY (75, 65, Str1);
      Str1 := '<T> ... Novo tr      <END> ...
Encerra';
      OutTextXY (75, 75, Str1);
      Str1 := '<Z> ... Zoom da Tela';
      OutTextXY (75, 85, Str1);
      Rectangle (449, 0, 631, 41);
      SetViewport (0, 0, 639, 200, ClipOn);
      Pos := 0;
      SalvaLinha (Pos);
      Line (0, 0, 0, 199);
      Car := ' ';
      repeat
        Car := ReadKey;
        case Car of
          #0 : begin
            Antes := Pos;

```

```

Car := ReadKey;
case Car of
  #75 : Pos := Pos - 1;
  #77 : Pos := Pos + 1;
  #115 : Pos := Pos - 50;
  #116 : Pos := Pos + 50;
end;
if Pos < 0 then Pos := 0;
if Pos > 639 then Pos := 639;
Cursor (Antes, Pos);
AtualizaVisor (Pos);
end;
#122 : Zoom;
#90 : Zoom;
#105 : NovoParametro (1);
#73 : NovoParametro (1);
#102 : NovoParametro (2);
#70 : NovoParametro (2);
#116 : NovoParametro (3);
#84 : NovoParametro (3);
end;
until Car = #79;
end;
SetViewport (0, 0, 639, 349, ClipOn);
ClearViewport;
PlotaCromatograma (2);
end;

Begin
PlotaCromatograma (2);
for C1 := 1 to NPicos do with Pico [C1] do
begin
DefinePolinomio (C1);
Str1 := 'Deseja redefinir parametros deste pico?';
OutTextXY (10, 120, Str1);
Car := '';
repeat Car := ReadKey until Car <> '';
if (Car = 's') or (Car = 'S') then Redefine (C1);
Area := 0;
C2 := Ini;
Seek (ArqRAM, C2);
repeat
Read (ArqRAM, Dado);
Area := Area + Dado;
C2 := C2 + 1;
until C2 > Fim;
Area := Area - ((SFim + SIni) * (Fim - Ini) / 2);
end;
CloseGraph;
End;

( * * * * * )

procedure Relatorio; (GERACAO DE RELATORIOS)

```

```

procedure IdentificaFiltragem (Filtro : string);
begin
  Str1 := '';
  case Filtro [1] of
    'M' : Str1 := 'Media Movei, janela ' + Copy (Filtro,
2, 2) + ' pontos';
    'S' : Str1 := 'Savitzky-Golay, ' + Copy (Filtro, 2,
1) +
        6.grau, janela' + Copy (Filtro, 3, 3)
+ ' pontos';
  end;
end;

procedure GravaResultados; (GERA ARQUIVO PARA LOTUS 1-2-3)
var
  Arq123      : Text;
  Nome123     : string [50];
  Parcial     : string [30];
  Linha       : string [80];
procedure Escreve;
begin
  WriteLn (Arq123, Linha);
end;
procedure PulaLinha;
begin
  Linha := '';
  Escreve;
end;
begin
  ClrScr;
  write ('Qual o nome do arquivo ? ');
  readln (Nome123);
  Nome123 := 'C:\QUATTRO\FABIO\' + Nome123 + '.PRN';
  Assign (Arq123, Nome123);
  write ('Vai ser usado um arquivo ja existente ? ');
  readln (Car);
  if (Car = 's') or (Car = 'S') then Append (Arq123)
else Rewrite (Arq123);
  Linha := "RELATORIO DE ANALISE DO ARQUIVO " + Nome +
  "";
  Escreve;
  write ('Qual a data de hoje (DD/MM/AA) ? ');
  readln (Parcial);
  Linha := "Cromatograma analisado em " + Parcial +
  "";
  Escreve;
  PulaLinha;
  Linha := "PICO #" + "Ini." + "Max." + "Fim"
+
  "tr" + "Area";
  Escreve;
  for C1 := 1 to NPicos do with Pico [C1] do
    begin

```

```

Str (C1 : 6, Parcial);
Linha := Parcial;
Str ((Ini / Taxa) : 10 : 3, Parcial);
Linha := Linha + Parcial;
Str ((Max / Taxa) : 10 : 3, Parcial);
Linha := Linha + Parcial;
Str ((Fim / Taxa) : 10 : 3, Parcial);
Linha := Linha + Parcial;
Str ((tR / Taxa) : 10 : 3, Parcial);
Linha := Linha + Parcial;
Str (Area : 10 : 0, Parcial);
Linha := Linha + Parcial;
Escreve;
end;
Str (NPicos : 3, Parcial);
PulaLinha;
Linha := "Detetados" + Parcial + "picos";
Escreve;
Str ((NDados / Taxa) : 8 : 3, Parcial);
Linha := "Tempo Total = " + Parcial + "s";
Escreve;
PulaLinha;
Linha := "METODOLOGIA DE ANALISE :";
Escreve;
Str (InclMin : 5 : 2, Parcial);
Linha := "Inclinacao min. de deteccao:" + Parcial +
"mV / s";
Escreve;
Str (wbMax : 5 : 2, Parcial);
Linha := "Largura min. de pico:" + Parcial + "s";
Escreve;
if Filtro1 then
begin
Linha := "Filtros digitais aplicados:";
Escreve;
Linha := "  1a.Filtragem:";
IdentificaFiltragem (F1);
Linha := Linha + " " + Str1 + " ";
Escreve;
if Filtro2 then
begin
Linha := "  2a.Filtragem:";
IdentificaFiltragem (F2);
Linha := Linha + " " + Str1 + " ";
Escreve;
end;
end
else
begin
Linha := "Dados analisados sem filtragem
digital";
Escreve;
end;
PulaLinha;

```

```

Linha := "Alocacao dos tempos de retencao: ";
Escreve;
Parcial := "    Metodo";
Linha := "PICO #" + Parcial;
Escreve;
for C1 := 1 to NPicos do with Pico [C1] do
begin
  Str (C1 : 6, Parcial);
  Str1 := Copy (Metodo, 1, 4);
  if Str1 = 'Poli' then
    Linha := "" + Parcial + '    Polinomio,' + (Copy
(Metodo, 5, 2)) +
        ' 6. grau, janela' + (Copy (Metodo, 7, 3))
+
        ' pontos' + ""
  else
    Linha := "" + Parcial + '    Maximo Local';
  Escreve;
end;
Close (Arq123);
end;

```

```

procedure ImprimeCromatograma; (IMPRESSAO DO CROMATOGRAMA)
procedure PrtScr;

```

```

var
  Car           : char;
  ByteLido      : byte;
  Ctrl          : string [10];
  Linha1        : string [200];
  Linha2        : string [150];
  X, Y, C, F, N, Xi, Xf : word;
  Cont          : integer;
begin
  Xi := 639;  Xf := 632;  Cont := 632;
  repeat
    FillChar (Linha1, SizeOf (Linha1), 0);
    for Y := 0 to 199 do
      begin
        ByteLido := 0;
        N := 0;
        for X := Xi downto Xf do
          begin
            C := GetPixel (X, Y);
            if C = 15 then C := 1 else C := 0;
            Case N of
              0 : F := 128;
              1 : F := 64;
              2 : F := 32;
              3 : F := 16;
              4 : F := 8;
              5 : F := 4;
              6 : F := 2;
              7 : F := 1;
            end;

```

```

        ByteLido := ByteLido + (C * F);
        N := N + 1;
    end;
    Car := Chr (ByteLido);
    Linha1 := Linha1 + Car;
end;
Ctrl := Chr (27) + 'K' + #8;
write (LST, Ctrl);
Ctrl := Chr (27) + 'K' + #200 + #0;
write (LST, Ctrl);
write (LST, Linha1);
FillChar (Linha2, SizeOf (Linha2), 0);
for Y := 200 to 349 do
    begin
        ByteLido := 0;
        N := 0;
        for X := Xi downto Xf do
            begin
                C := GetPixel (X, Y);
                if C = 15 then C := 1 else C := 0;
                Case N of
                    0 : F := 128;
                    1 : F := 64;
                    2 : F := 32;
                    3 : F := 16;
                    4 : F := 8;
                    5 : F := 4;
                    6 : F := 2;
                    7 : F := 1;
                end;
                ByteLido := ByteLido + (C * F);
                N := N + 1;
            end;
        Car := Chr (ByteLido);
        Linha2 := Linha2 + Car;
    end;
    Ctrl := Chr (27) + 'K' + #150 + #0;
    write (LST, Ctrl);
    writeln (LST, Linha2);
    Xi := Xi - 8;    Xf := Xf - 8;    Cont := Cont - 8;
until Cont < 0;
end;
procedure Legenda_invertida (Str : string; X, Y : word);
var
    ImagemNormal, ImagemInvertida : array [1..132] of
byte;
    C, F : word;
function Inverte_byte (X : byte) : byte;
var
    Inv : byte;
    N, K, M : word;
begin
    N := 128;
    K := 1;

```

```

M := 1;
Inv := 0;
repeat
  if (X / N) >= 1 then
    begin
      Inv := Inv + M;
      X := X - N;
    end;
  N := N div 2;
  K := K + 1;
  M := M * 2;
until K > 8;
Inverte_byte := Inv;
end;
begin
  FillChar (ImagemNormal, SizeOf (ImagemNormal), 0);
  FillChar (ImagemInvertida, SizeOf (ImagemInvertida),
0);
  OutTextXY (X, Y, Str);
  GetImage (X, Y, (X + 31), (Y + 7), ImagemNormal);
  for C := 1 to 4 do ImagemInvertida [C] :=
ImagemNormal [C];
  F := 132;
  for C := 5 to 132 do
    begin
      ImagemInvertida [F] := Inverte_byte
(ImagemNormal [C]);
      F := F - 1;
    end;
  PutImage (X, Y, ImagemInvertida, NormalPut);
end;
var
  Posicao
  X1, Y1, X2, Y2, Xt, Yt, C, NTelas, Tic : longint;
  PxlExtra, DivTempo, DivSinal : word;
  fT, fS, NPixel, Resto, PosReal : real;
  dT, dS, PosTic, TicS, TicT : real;
  Texto : string;
[30];
begin
  ClrScr;
  write ('Qual a escala de tempo, em cm / s ? ');
  readln (fT);
  write ('Qual o tamanho das divisoes na escala de tempo
? ');
  readln (DivTempo);
  dT := (640 / 22) * fT * DivTempo;
  write ('Qual o fundo de escala, em mV ? ');
  readln (fS);
  write ('Qual o tamanho das divisoes na escala de
sinal, em mV ? ');
  readln (DivSinal);
  NPixel := (NDados / Taxa) * (640 / 22) * fT;
  Resto := Int ((NPixel + 101) / 640);

```

```

NTelas := Round (Resto);
Resto := Frac ((NPixel + 101) / 640);
Px1Extra := Round (Resto * 640) - 1;
fT := NDados / NPixel;
dS := 335.0 * DivSinal / fS;
GraphDriver := EGA;
GraphMode := EGAHi;
ClrScr;
InitGraph (GraphDriver, GraphMode, 'C:\TP4\GRAPH\');
Line (539, 14, 539, 349);
PostTic := dS;
Tic := Round (PostTic);
TicS := 0;
repeat
  Line (540, (14 + Tic), 555, (14 + Tic));
  PostTic := PostTic + dS;
  TicS := TicS + (1.00 * DivSinal);
  Str (TicS : 4 : 0, Texto);
  Xt := 580; Yt := (14 + Tic);
  Legenda_Invertida (Texto, Xt, Yt);
  Tic := Round (PostTic);
until Tic > 350;
SetTextStyle (DefaultFont, HorizDir, 1);
Texto := 'mV';
Xt := 600; Yt := 330;
Legenda_Invertida (Texto, Xt, Yt);
Texto := 's';
Xt := 545; Yt := 0;
Legenda_Invertida (Texto, Xt, Yt);
PosReal := fT;
Posicao := Round (fT);
X1 := 538;
X2 := 537;
PostTic := 539 - dT;
C := NTelas;
TicT := 0;
if NTelas > 0 then repeat
  if C = NTelas then Line (539, 14, 0, 14) else Line
(639, 14, 0, 14);
  repeat
    Tic := Round (PostTic);
    Line (Tic, 5, Tic, 14);
    TicT := TicT + (1.00 * DivTempo);
    Str (TicT : 4 : 0, Texto);
    Xt := Tic - 32; Yt := 0;
    if (Xt > 32) and (Xt < 607) then Legenda_Invertida
(Texto, Xt, Yt);
    PostTic := PostTic - dT;
  until PostTic < 0;
  PostTic := 639 + PostTic;
  Seek (ArqRAM, Posicao);
  Read (ArqRAM, Y1);
  Y1 := Round (15 + (335.0 * Y1 * Conv / fS));
  if Y1 > 349 then Y1 := 349;

```

```

repeat
  PosReal := PosReal + fT;
  Posicao := Round (PosReal);
  Seek (ArqRAM, Posicao);
  Read (ArqRAM, Y2);
  Y2 := Round (15 + (335.0 * Y2 * Conv / fS));
  if Y2 > 349 then Y2 := 349;
  Line (X1, Y1, X2, Y2);
  X1 := X2;   Y1 := Y2;
  X2 := X2 - 1;
until X2 = 65535;
C := C - 1;
PrtScr;
ClearViewPort;
X1 := 640;
X2 := 639;
until C = 0;
C := PxlExtra;
Seek (ArqRAM, Posicao);
Read (ArqRAM, Y1);
Y1 := Round (15 + (335.0 * Y1 * Conv / fS));
if Y1 > 349 then Y1 := 349;
if NTelas = 0 then
  begin
    X1 := 538;
    X2 := 537;
    Line (540, 14, (639 - PxlExtra), 14);
    Postic := 539 - dT;
    repeat
      Tic := Round (Postic);
      Line (Tic, 5, Tic, 14);
      TicT := TicT + (1.00 * DivTempo);
      Str (TicT : 4 : 0, Texto);
      Xt := Tic - 32;   Yt := 0;
      if (Xt > 32) and (Xt < 607) then
        Legenda_Invertida (Texto, Xt, Yt);
      Postic := Postic - dT;
    until Postic < (639 - PxlExtra);
  end
else
  begin
    X1 := 639;
    X2 := 638;
    Line (639, 14, (639 - PxlExtra), 14);
    repeat
      Tic := Round (Postic);
      Line (Tic, 5, Tic, 14);
      TicT := TicT + (1.00 * DivTempo);
      Str (TicT : 4 : 0, Texto);
      Xt := Tic - 32;   Yt := 0;
      if (Xt > 32) and (Xt < 607) then
        Legenda_Invertida (Texto, Xt, Yt);
      Postic := Postic - dT;
    until Postic < (639 - PxlExtra)
  end

```

```

    end;
  repeat
    PosReal := PosReal + fT;
    Posicao := Round (PosReal);
    Seek (ArqRAM, Posicao);
    if Posicao <= (NDados - 1) then
      begin
        Read (ArqRAM, Y2);
        Y2 := Round (15 + (335.0 * Y2 * Conv / fS));
        if Y2 > 349 then Y2 := 349;
        Line (X1, Y1, X2, Y2);
        X1 := X2;    Y1 := Y2;
        X2 := X2 - 1;
      end;
    C := C - 1;
  until C = 0;
  PrtScr;
  Car := ' ';
  repeat Car := ReadKey until Car <> ' ';
  CloseGraph;
end;

Begin;
  ClrScr;
  writeln (CR, LF, 'PICO #', ini.' : 10, 'Max.' : 10,
'Fim' : 10,
      'tr' : 10, Area' : 10);
  for C1 := 1 to NPicos do with Pico [C1] do
    begin
      write (C1 : 6);
      writeln ((Ini / Taxa) : 10 : 3, (Max / Taxa) : 10 :
3,
      (Fim / Taxa) : 10 : 3, (tr / Taxa) : 10 : 3,
      Area : 10 : 0);
    end;
  writeln ('Detetados ', NPicos, ' picos no arquivo ',
Nome);
  write ('Tempo Total = ', (NDados / Taxa) : 8 : 3, ' s');
  writeln (' (lidos ', NDados, ' pontos) ');
  writeln (CR, LF, 'METODOLOGIA DE ANALISE' : 44);
  writeln (fclinacao min. de deteccao: ', InclMin : 5 :
2,
      ' mV / s');
  writeln ('Largura min. de pico: ', wbMax : 5 : 2, ' s');
  if Filtro1 then
    begin
      writeln ('Filtros digitais aplicados:');
      write (' 1a.Filtragem: ');
      IdentificaFiltragem (F1);
      writeln (Str1);
      if Filtro2 then
        begin
          write (' 2a.Filtragem: ');
          IdentificaFiltragem (F2);

```

```

        writeln (Str1);
    end;
end
else writeln ('Dados analisados sem filtragem digital');
writeln (CR, LF, 'Alocacao dos tempos de retencao:');
writeln ('PICO #', 'Metodo' : 10);
for C1 := 1 to NPicos do with Pico [C1] do
    begin
        write (C1 : 6, ' ' : 4);
        Str2 := Copy (Metodo, 1, 4);
        if Str2 = 'Poli' then
            Str1 := 'Polinomio,' + (Copy (Metodo, 5, 2)) +
                'o. grau, janela' + (Copy (Metodo, 7, 3)) +
                ' pontos'
        else
            Str1 := 'Maximo Local';
        writeln (Str1);
    end;
    write (CR, LF, 'Deseja resultados gravados em arquivo p/
Lotus 1-2-3 ? ');
    readln (Car);
    if (Car = 's') or (Car = 'S') then GravaResultados;
    ClrScr;
    write (CR, LF, 'Deseja copia impressa do cromatograma ?
');
    readln (Car);
    if (Car = 's') or (Car = 'S') then ImprimeCromatograma;
End;

```

```

( * * * * * )
( * * * * * )

```

BEGIN

(BLOCO PRINCIPAL)

```

ClrScr;
writeln ('*** ANALISE DE DADOS CROMATOGRAFICOS V.4 ***');
LeDados;
Filtros;
PreAnalise;
Analise;
Relatorio;

```

END.