

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**VOLTAMETRIA MULTIELEMENTAR EM FLUXO
APLICAÇÃO DE TÉCNICAS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA**

**TESE DE DOUTORADO 012
EFRAIM LÁZARO REIS 01-**

Orientador: Prof. Dr. CÉLIO PASQUINI
Agosto - 1997

802028

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
	R277v
V.	Ex.
TOMBO BC/	32.124
PROC	281/97
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	18/11/97
N.º CPD	

CM-00102671-0

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA UNICAMP

Reis, Efraim Lázaro
R277v Voltametria Multielementar em Fluxo. Aplicação de
Técnicas de Calibração Multivariada / Efraim Lázaro Reis.
-- Campinas, [SP : s.n.], 1997.

Orientador: Célio Pasquini.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Química.

1. Voltametria. 2. Análise em Fluxo. 3. Quimiometria.
I. Pasquini, Célio. II. Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Química. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Qualquer tarefa está condicionada ao ideal que a acompanha e direciona. O grau de idealismo de quem a realiza determina a sua eternidade. O trabalho pode ser simples e ingênuo, mas feito com amor persiste e torna-se grandioso através dos tempos. Dedico este trabalho à glória de Deus e deixo esta mensagem como expressão de profunda gratidão a todos aqueles que me ensinaram a ter e a cultivar um ideal, a me esforçar para que ele se manifestasse em escala ainda que pequena no plano material. Este agradecimento estende-se, de forma especial e sincera, a todos os que, com sua maneira simples, dedicada e humilde, souberam transmitir-me o amor e a força, tão necessários à concretização de qualquer obra, e em especial:

- A toda minha família;
- Ao Professor Célio Pasquini, pela orientação, pelo incentivo e pelo apoio;
- Ao Professor Jarbas José Rodrigues Rohweeder, pela constante dedicação, pela orientação e pelo empenho;
- Aos professores do setor de Química Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa;
- E a todos aqueles que manifestando ou não, desejaram-me sucesso neste empreendimento.

BIBLIOGRAFIA

Efraim Lázaro Reis, filho de Ananias Reis e Olinda Gonçalves Reis, nasceu em Campo Belo, Minas Gerais, no dia 11 de dezembro de 1953.

Concluiu seus estudos de graduação, Licenciatura em Química, em julho de 1976 e Bacharelado em Química, em julho de 1977, na Universidade Federal de Viçosa, onde desde então exerce a função de professor no Departamento de Química.

Em agosto de 1980 ingressou no Curso de Mestrado em Química, no Instituto de Química da UNICAMP. Defendeu a tese intitulada: “Comportamento de La(III), Gd(III), Pr(III), Eu(III) e Y(III) no sistema ternário homogêneo composto de Água/Etanol/Metilisobutilcetona e tenoiltrifluoroacetona”, em novembro de 1983, sob a orientação do professor José Walter Martins.

Em março de 1987 iniciou o Curso de Doutorado em Química no Instituto de Química da UNICAMP, sob a orientação do professor José Walter Martins, interrompendo os estudos em 1990. Retornou à UNICAMP em agosto de 1993 sob a orientação do professor Célio Pasquini, defendendo sua tese intitulada “Voltametria Multielementar em Fluxo. Aplicação de Técnicas de Calibração Multivariada.”, obtendo o título de Doutor em Ciências, em agosto de 1997.

VOLTAMETRIA MULTIELEMENTAR EM FLUXO

APLICAÇÃO DE TÉCNICAS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO	3
CAPÍTULO 1. VOLTAMETRIA MULTIELEMENTAR EM FLUXO	6
1.1. Voltametria	6
1.2. Análise em Fluxo	11
1.3. Arranjo de Ultramicroeletrodos	16
1.3.1. Introdução	16
1.3.2. Construção do arranjo de ultramicroeletrodos (UMEs)	18
1.3.3. Obtenção do filme de mercúrio nos ultramicroeletrodos	23
1.4. Voltametria Multielementar em Fluxo	27
1.4.1. Introdução	27
1.4.2. Desoxigenação em fluxo	35
1.4.3. Sistema de análise em fluxo	37
1.4.4. Técnicas de varreduras	40
CAPÍTULO 2. AQUISIÇÃO E PROCESSAMENTO DE DADOS	
E CONTROLE DO INSTRUMENTO	46
2.1. Introdução	46
2.2. Linguagem Utilizada	46
2.3. Preparo dos Dados	48
2.4. Processamento Quimiométrico	53

CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA	55
3.1. Introdução	55
3.2. Análise das Componentes Principais (“PCA”)	60
3.3. Análise de Fatores Evoluintes (“EFA”)	63
3.4. Regressão dos Quadrados Mínimos Parciais (“PLS”)	66
3.5. Regressão dos Quadrados Mínimos Parciais Múltiplos (“N-PLS”)	69
CAPÍTULO 4. SISTEMA EM ESTUDO (Pb(II) / Tl(I) / Cd(II))	73
4.1. Introdução	73
4.2. Formação do Gradiente para Pb(II) / Tl(I) / Cd(II)	76
4.3. Estabilidade para Pb(II) / Tl(I) / Cd(II)	80
4.4. Linearidade para Pb(II) / Tl(I) / Cd(II)	87
4.5. Planejamento Experimental para Pb(II) / Tl(I) / Cd(II)	87
4.6. Visualização do Número de Espécies por Análise de Fatores Evoluintes	104
4.7. Aplicação de “PLS” Bidimensional	111
4.8. Aplicação de “PLS” Multidimensional	118
CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	129
CAPÍTULO 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	131
CAPÍTULO 7. ANEXOS	135
7.1. Preparo das Soluções	135
7.2. Programas Utilizados	138
7.2.1. MULTDFA - Programa Gerenciador em QuickBasic	138
7.2.2. EFA - Análise de Fatores Evoluintes Direta	178
7.2.3. EVOLVFA - Análise de Fatores Evoluintes Direta e Inversa	179
7.2.4. PLS - Modelagem com o PLS Bi-dimensional	181
7.2.5. PLSREV - Cálculo dos Autovalores Reduzidos	182

7.2.6. PLSPRED - Previsão com o PLS Bi-dimensional	183
7.2.7. n-PLS - Modelagem com o PLS Multi-dimensional	185
7.2.8. n-PLSPRED - Previsão com o PLS Multi-dimensional	189
7.2.9. PLSCV1 - “Cross-Validation”	191

RESUMO

Foi desenvolvido um sistema de análise em fluxo com detecção voltamétrica, utilizando um polarógrafo multicanal, capaz de operar com um conjunto de 31 ultramicroeletrodos (UMEs) de trabalho.

O arranjo de 31 x 5 ultramicroeletrodos foi montado com fios de cobre de diâmetro 55 μm , numa disposição simétrica, ocupando uma área de 15 x 3 mm; o suporte que promove a rigidez mecânica e isolamento elétrico ao conjunto é composto de uma resina de poliéster. Sobre cada eletrodo foi depositada uma camada de mercúrio e posteriormente executadas três séries de varreduras cíclicas para homogeneizá-la sobre os eletrodos.

O controle das funções do instrumento, aquisição de dados e o controle do injetor do sistema em fluxo foi feito por um microcomputador PC/AT-286 utilizando um programa desenvolvido em linguagem QuickBasic 4.5.

O sistema de análise em fluxo se fundamenta na criação de um gradiente de EDTA em linha contendo o eletrólito de suporte e os íons Pb(II), Cd(II) e Tl(I). Com a complexação diferenciada de cada íon são observadas diferenciações nos voltamogramas, o que torna possível a utilização de calibração multivariada, uma vez que os íons estudados apresentam ondas voltamétricas sobrepostas. A metodologia multivariada foi aplicada de acordo com os programas quimiométricos contidos no pacote "ToolBox", executados no ambiente MatLab.

ABSTRACT

A system for continuous flow analysis with a voltammetric detector was developed, employing a multicanal polarograph, capable of operating with an assembly of 31 working ultramicroelectrodes (UMEs).

The 31 x 5 sets of ultramicroelectrodes were assembled with copper wires, 55 μm in diameter, in a symmetric disposition occupying an area of 15 x 3 mm; the support that promotes mechanical rigidity and electrical isolation to the assembly is made of a polyester resin. On each electrode a thin film of mercury was deposited and subsequently submitted to three series of cyclic scans to homogenize the layers on the electrodes.

The control of the instrument functions, acquisition of data and control of the injector of the flow system was done by means of a PC/AT-286 microcomputer using a program developed in QuickBasic 4.5 language.

The flow analysis system was based on the development of an EDTA gradient on a line containing the support electrolyte and Pb(II), Cd(II) and Tl(I) ions. With the differential complexation of each ion, promoted by the EDTA gradient, differentiations in the voltamograms were observed, which makes possible the use of a multivariate calibration, since the investigated ions present overlapping voltammetric waves. The multivariate methodology was applied in accordance with the chemometric programs contained in the "ToolBox" package, which runs in the MatLab environment.

INTRODUÇÃO

Este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de uma cela multieletrodo para ser utilizada como detetor em análise por injeção em fluxo e tratamento dos dados adquiridos através de técnicas quimiométricas. Três partes fundamentais compõem o mesmo. A primeira relaciona-se à construção da cela voltamétrica de fluxo laminar com um arranjo de ultramicroeletrodos (UMEs), para ser utilizada como sensor múltiplo quando ligada a um polarógrafo multicanal. A segunda, refere-se à aplicação analítica desta cela num sistema em fluxo com injetor controlado via microcomputador, onde se cria um gradiente de EDTA em uma linha contendo o eletrólito de suporte e íons metálicos que apresentam ondas voltamétricas sobrepostas. Com a complexação diferenciada de cada íon são observadas diferenciações nos voltamogramas. Finalmente a terceira parte, relaciona-se à aplicação de métodos quimiométricos no tratamento dos dados voltamétricos, para redução de variáveis e quantificação das espécies individuais presentes em misturas.

A cela voltamétrica multieletrodo foi construída com fio de cobre com diâmetro da ordem de 55 μm . O conjunto de multieletrodos foi montado em duplicata o que facilita sobremaneira a fabricação dos mesmos, uma vez que os fios devem ficar perfeitamente esticados para não se tocarem, pois o conjunto de 31x5 eletrodos ocupa uma área de apenas 15mm x 3mm.

O arranjo de 31 eletrodos de cobre foi construído esticando-se cada fio na montagem feita com dois conectores de 36 pinos, o espaço entre os eletrodos foi preenchido com resina de poliéster. Esta, após a polimerização, forma o suporte que dá a rigidez mecânica e isolamento elétrico ao conjunto de eletrodos. Sobre cada eletrodo foi depositado um filme de mercúrio, homogeneizado após várias séries de voltametria cíclica.

O arranjo de ultramicroeletrodos (UMEs), se liga ao polarógrafo multicanal por meio de um cabo multiveios blindado. O cabo possui dois conectores em suas extremidades, facilitando o polimento da superfície dos eletrodos, uma vez que pode ser desconectado dos mesmos.

A Análise por Injeção em Fluxo, além do seu uso em automação pura e simples de procedimentos anteriormente executados manualmente, tem demonstrado que seu princípio básico de dispersão controlada permite o desenvolvimento de novas metodologias analíticas que dificilmente poderiam ser implementadas através de outros procedimentos. O sistema em fluxo utilizado para a análise de misturas de íons metálicos consiste em uma linha por onde se bombeia um eletrólito, no caso uma solução tampão, e em linha separada, de uma solução dos íons a serem analisados, bombeadas continuamente, para a câmara de mistura. Na seqüência é injetado um volume de EDTA, na linha do primeiro eletrólito, criando um gradiente de EDTA disponível para complexação dos íons presentes na mistura, ficando evidenciado no padrão superficial apresentado pelos sinais voltamétricos, o efeito desta modificação.

A detecção voltamétrica com varredura de potencial é objeto de muitos estudos que tentam obter melhorias na informação eletroquímica dos

componentes de uma mistura numa linha de fluxo.

A presença de um gradiente de concentração das espécies da amostra ou de uma espécie que por reação modifique as concentrações das espécies presentes na amostra, possibilita a obtenção de curvas de respostas complexas, cujas formas apresentam informações mais ricas sobre as espécies presentes. Ao invés de um único pico, como normalmente encontrado, vários máximos e mínimos podem ser obtidos.

A Quimiometria é uma área que se refere à aplicação de métodos estatísticos e matemáticos, assim como aqueles baseados em lógica matemática, a problemas de origem química. Frequentemente um experimento químico pode conter muita informação que normalmente não é utilizada. Com as possibilidades desse sistema pode-se observar variações significativas nos voltamogramas durante as varreduras dentro do gradiente criado, aumentando as informações sobre o sistema estudado permitindo a aplicação de técnicas quimiométricas de calibração multivariada.

Capítulo 1

VOLTAMETRIA MULTIELEMENTAR EM FLUXO

1.1. VOLTAMETRIA

Desde sua descoberta por Heyrovsky, em 1922 a assim denominada inicialmente polarografia, tornou-se uma das mais importantes técnicas na Química Analítica. No entanto o desenvolvimento dessa técnica é bastante irregular; durante o primeiro período (1920-1950), cerca de 3.000 artigos foram publicados comprovando sua aceitação como método instrumental para análise de traços, principalmente. No fim da década de 50 e nos anos 60, a técnica praticamente desapareceu dos laboratórios de análise. Mas, é importante ressaltar que foi neste período que Barker e colaboradores desenvolveram os métodos eletroanalíticos de pulso. Estes são a base da polarografia analítica moderna.

Os anos 70 foram considerados o período do renascimento da análise polarográfica. A principal razão para este fato foi o avanço na eletrônica instrumental, permitindo que instrumentos relativamente simples, bastante confiáveis e não muito caros se tornassem comercialmente disponíveis.

A década de 80, de acordo com **BOND** (1981), seria a “década da maturidade para a análise polarográfica em sua forma moderna”. A possibilidade de trocar o eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) por um eletrodo de mercúrio de gota estática, a introdução da tecnologia dos microprocessadores em muitas áreas para o controle instrumental e aquisição de dados são responsáveis pelo impacto substancial no futuro da técnica.

A voltametria é essencialmente uma eletrólise em micro-escala, na qual um microeletrodo é utilizado como eletrodo de trabalho. O nome voltametria surge a partir da relação entre corrente e voltagem. A diferença de potencial do microeletrodo é variado e a corrente que aparece é registrada em função desta diferença de potencial aplicado. Se na solução existirem espécies eletroativas (espécies redutíveis ou oxidáveis) a corrente surgirá quando a diferença de potencial aplicado for suficiente para reduzir ou oxidar as espécies. Por convenção a corrente de redução (corrente catódica) é assinalada com o sinal positivo (+) e a corrente de oxidação (corrente anódica) é assinalada com o sinal negativo (-).

A diferença de potencial aplicada inicia o processo eletrolítico: os íons eletroativos na vizinhança do eletrodo são reduzidos, provocando a diminuição destas espécies ao redor do eletrodo, gerando um gradiente de concentração entre a região vizinha do eletrodo e o resto da solução. Este gradiente de concentração provoca a difusão dos íons até o eletrodo, onde são reduzidos. Este processo contínuo mantém a corrente eletrolítica, também chamada corrente faradáica, porque surge devido a um fenômeno de oxi-redução. Aumentando-se a diferença de potencial aplicada à cela eletrolítica, a corrente aumenta, diminuindo a concentração das espécies em análise nas vizinhanças do eletrodo, causando aumento no gradiente de concentração, e um aumento na velocidade de difusão dos íons; mantendo a corrente fluindo através do sistema, até um valor que maiores aumentos na diferença de potencial não provocam aumento na velocidade de difusão dos íons. Quando isto acontece diz-se que a taxa de difusão alcançou o valor máximo e então todos os íons que chegam ao eletrodo são imediatamente reduzidos. Neste ponto a corrente é máxima (corrente limite) e maiores valores na diferença de potencial não causam aumentos na corrente. O valor da corrente limite é portanto determinado pela concentração e

velocidade com que o analito chega ao eletrodo. A corrente que circula é muito baixa, da ordem de microamperes, devido ao tamanho do eletrodo. Deste modo, as quantidades de analitos eletrolisados são muito pequenas e a concentração da solução em relação a estes analitos após a análise pode ser considerada praticamente igual à inicial.

Técnicas voltamétricas, incluindo a polarografia, são técnicas nas quais a corrente que flui no eletrodo de trabalho é medida como função do potencial aplicado. Na polarografia o eletrodo de trabalho consiste de gotas renovadas de mercúrio denominando-se Eletrodo Gotejante de Mercúrio (EGM). O uso de um eletrodo gotejante de mercúrio oferece as seguintes vantagens:

- 1) Renovabilidade - por causa da renovação periódica da superfície, assim o distúrbio provocado por impurezas na superfície do eletrodo é minimizado.
- 2) Reprodutibilidade - Cada gota tem a mesma área, assim a reprodutibilidade é excelente. Consequentemente, o tempo consumido no polimento de eletrodos freqüentemente requerido para eletrodos sólidos não é necessário.
- 3) Disponibilidade - O mercúrio é relativamente barato na forma pura e após purificação a custo relativamente baixo pode ser reutilizado.
- 4) Alta Sobre-Voltagem do Hidrogênio - A redução do íon hidrogênio no mercúrio ocorre a um potencial mais negativo que em qualquer outro metal. Consequentemente, uma grande variedade de compostos pode ser investigada polarograficamente, via redução. Por outro lado, a oxidação do mercúrio ocorre a potenciais relativamente baixos. Como resultado, somente um número muito pequeno de compostos podem ser oxidados por via eletroquímica usando-se o Eletrodo Gotejante de Mercúrio.

Nos instrumentos voltamétricos modernos, dotados de um potenciostato, a diferença de potencial aplicada é medida contra um eletrodo de referência padrão, tal como o eletrodo de calomelano saturado ou o eletrodo de

prata-cloreto de prata. O potencial do eletrodo de referência permanece estável sob as condições de medida. A corrente é medida entre o eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar. O eletrodo auxiliar é fabricado com uma substância inerte tal como platina ou grafite e tem grande superfície. Todos os três eletrodos são imersos numa solução condutora contida na cela polarográfica. Esta solução contém além dos analitos, excesso de uma substância inerte polarograficamente na faixa de potencial trabalhada, numa concentração de pelo menos 100 vezes a dos analitos.

A corrente medida é formada por tres componentes bastante distintos: a corrente residual, formada pela redução de impurezas presentes na amostra e por processos capacitivos, já que o mercúrio, funcionando como um capacitor, tem a propriedade de adquirir carga quando presente em soluções de eletrólitos; a corrente de migração, que surge em função da redução de quaisquer espécies eletroativas que migram em direção ao eletrodo de mercúrio e a corrente de difusão associada à redução de íons no eletrodo por força única e exclusiva do efeito de difusão.

O componente mais desejado, sob o ponto de vista analítico, destes tres é a corrente de difusão. O ideal é tornar a corrente residual e a corrente de migração as menores possíveis. O uso de soluções bastante puras e isentas de contaminação reduz a corrente residual por diminuir espécies eletroativas no meio, mas ainda assim os processos capacitivos continuarão a acontecer. A adição de uma grande quantidade de eletrólito de suporte diminui bastante a fração de carga transportada pela migração do analito, porque o número de íons do analito será pequeno em relação ao número total de íons. Como a corrente de migração depende do número de espécies iônicas do meio, a corrente conduzida pelo analito será muito pequena em relação à corrente de migração total. Deve-

se ressaltar que este eletrólito de suporte deve ser inerte, ou seja, nas condições de análise não pode haver íons do eletrólito de suporte sendo reduzidos.

Dentre as várias técnicas voltamétricas disponíveis, aquelas que apresentam melhor sensibilidade, por força principalmente da eliminação da corrente capacitiva, são as técnicas de pulso. Na voltametria por pulsos (OSTERYOUNG, 1983; WANG, 1988), o potencial é mantido inicialmente num valor inicial E_0 , um pulso é então aplicado e o potencial é elevado a E_1 . Num tempo t_m após a aplicação do pulso a corrente é medida. Quando o pulso é aplicado, surge uma grande corrente capacitiva, que decai rapidamente com o tempo enquanto a corrente faradáica decai mais lentamente. Com a amostragem de corrente próximo ao fim do pulso a corrente passa a ser quase que totalmente faradáica. Assim importância fundamental na eliminação da corrente capacitiva passa pela otimização da largura do pulso utilizado.

As principais técnicas voltamétricas de modulação de pulso são a de pulso normal, pulso diferencial e onda quadrada. Todas são baseadas na cronoamperometria, que é a medida da corrente como função do tempo depois da aplicação de um pulso de potencial. Destas técnicas as mais poderosas e sensíveis são a de pulso diferencial e de onda quadrada. Na polarografia de pulso diferencial, pulsos de tamanho fixo, impostos sobre uma rampa linear de potencial são aplicados poucos milissegundos antes do final do tempo de vida da gota de mercúrio. A corrente é amostrada duas vezes, uma antes da aplicação do pulso e a outra imediatamente após a aplicação do pulso. A diferença entre estas correntes é registrada contra o potencial aplicado e o polarograma resultante tem a forma de picos, cuja altura é proporcional à concentração do analito.

Para aumentar o limite de detecção e alcançar níveis cada vez menores, novas técnicas foram desenvolvidas e aliadas às técnicas de pulso, tais

como as técnicas que concentram o material em análise por redução ou por adsorção com reagentes específicos.

1.2. ANÁLISE EM FLUXO

A técnica de Análise em Fluxo Contínuo começou a ser desenvolvida há alguns anos atrás, para atender a grande demanda das análises clínicas. Com esta finalidade, equipamentos tais como o “Technicon Auto-Analyser” de funcionamento relativamente complexo, começaram a ser utilizados nos centros clínicos mais atualizados. Posteriormente, **RUZICKA e HANSEN** (1975) introduziram modificações nessa técnica que, dentre outras vantagens, reduziram o custo operacional, expandindo ainda mais a sua aplicação, principalmente em áreas tais como agricultura e ambiental.

A técnica de análise em fluxo contínuo denominada de Análise por Injeção em Fluxo (FIA, de “Flow Injection Analysis”) foi originalmente introduzida por **RUZICKA e HANSEN** (1975). Este processo analítico consiste na introdução de um volume discreto e reprodutível de uma amostra em um fluido carregador não-segmentado que segue continuamente em direção a um detetor.

Devido as suas vantagens, como simplicidade na instrumentação, economia no consumo de amostra/reagentes, e velocidade de processamento, a Análise por Injeção em Fluxo teve rápida evolução. Diversos tipos de tratamento da amostra, feitos em linha, como difusão gasosa (**PASQUINI e FARIA**, 1987), destilação isotérmica (**ZAGGATO**, et al., 1979) e extração líquido-líquido (**KUBÁN**, 1991) foram desenvolvidos, propiciando a adaptação da técnica a uma grande variedade de determinações rotineiras feitas de forma manual.

Os componentes básicos de um sistema para Análise por Injeção em Fluxo podem ser visualizados na Figura 1, onde é mostrado um sistema de linha única, no qual o fluido carregador também contém os reagentes. O sistema é

constituído de uma unidade para propulsão dos fluidos; um sistema para injeção da amostra; um micro-reator formado a partir dos condutos por onde passam os fluidos a serem transportados e uma unidade para detecção.

A Análise por Injeção em Fluxo é uma combinação de três princípios básicos: injeção de uma amostra, dispersão controlada da amostra injetada e reprodutibilidade no tempo dos eventos que ocorrem desde a injeção até a chegada ao detetor. Diferente de outros métodos, uma reação química ocorre enquanto a amostra injetada está dispersando no fluido carregador, isto é, enquanto um gradiente de concentração está sendo formado.

Uma zona de amostra homogênea com concentração C_0 , passando continuamente através de um detetor apropriado num sistema de Análise por Injeção em Fluxo deve fornecer um sinal cuja altura é proporcional à sua concentração, como mostrado na Figura 2, à esquerda. Injetando esta amostra num fluido carregador que está em movimento, ocorre a formação de uma zona dispersa cuja forma depende da geometria do canal e da vazão. A curva de resposta tem agora um perfil que deve refletir a concentração da zona da amostra com o tempo, formando um gradiente de concentração contínuo, onde cada ponto corresponde a uma determinada concentração, como mostrado nas figura 2, à direita.

É possível visualizar esse contínuo como sendo formado por muitos elementos individuais do fluido, cada um apresentando uma determinada concentração C_i da amostra.

Uma descrição quantitativa da dispersão pode ser feita simplesmente pela relação entre a concentração original da amostra injetada, C_0 , com sua concentração C_i , após certo tempo da injeção, produzindo a relação: $D = C_i / C_0$. Quando C_i corresponde à altura máxima obtida no sinal, D é denominado de Coeficiente de Dispersão (HANSEN, 1988).

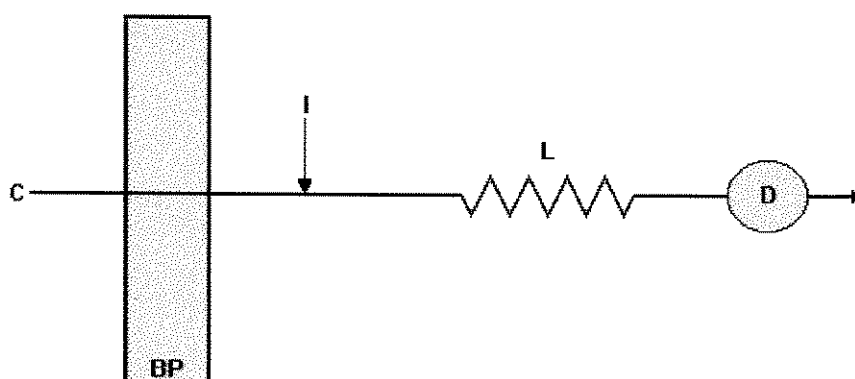


Figura 1 - Componentes básicos de um sistema para análise por injeção em fluxo. C - Carregador; BP - Bomba peristáltica; I - Injetor de amostra; L - Bobina de reação; D - Detetor.

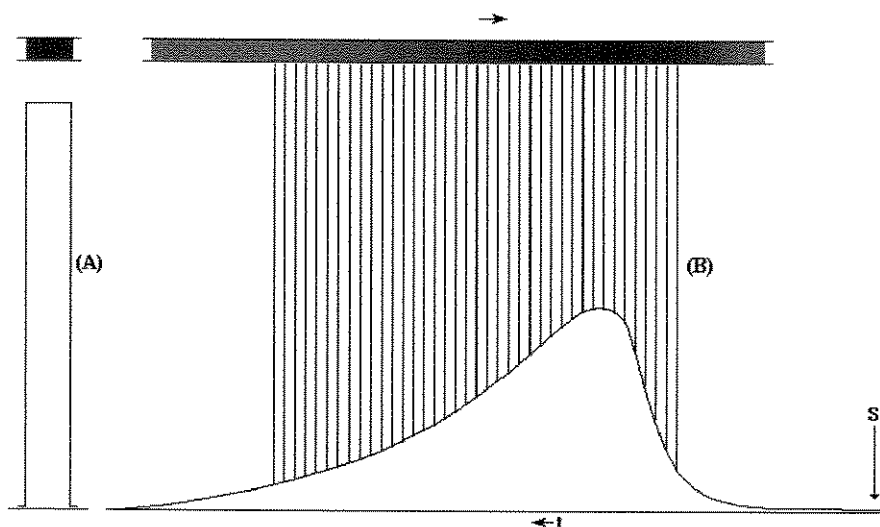


Figura 2 - Perfil de uma zona de amostra e o sinal registrado sem (A) e com (B) dispersão.

O fenômeno da dispersão em FIA tem levado ao desenvolvimento de novas metodologias que dificilmente poderiam ser feitas convencionalmente por métodos manuais, discretos, automáticos ou análise em fluxo contínuo segmentada (**VALCARCEL e LUQUE DE CASTRO**, 1984)).

A chamada Titulação em Análise por Injeção em Fluxo (**RUZICKA**, et al., 1977), foi a primeira aplicação desenvolvida dentre as técnicas baseadas no gradiente. Se uma amostra, por exemplo de um ácido, é injetada num fluxo carregador de uma base, a zona dispersa do ácido começará gradualmente a ser neutralizada pela base. Em ambos os lados da zona da amostra dispersa existem elementos do fluido carregador (base) onde o ácido será neutralizado. Estes dois pontos de equivalência formam um par, com o mesmo valor de D , e sua distância (medida como um intervalo de tempo para um fluxo constante) aumentará com o aumento da concentração do ácido injetado ou com o decréscimo da concentração da base. Uma relação pode ser estabelecida entre esses intervalos de tempo e a concentração dos ácidos.

Foram também desenvolvidas técnicas de Diluição por Gradiente (**RUZICKA e HANSEN**, 1983) e Calibração por Gradiente (**OLSEN**, et al., 1982). Na primeira são feitas leituras a determinados tempos preestabelecidos, a partir do máximo do pico, onde o processo de dispersão já causou diluição na amostra, evitando que diluições manuais sejam necessárias. A Calibração por Gradiente é uma extensão, onde a diluição causada pela dispersão é acompanhada por uma reação química, evitando que calibrações repetitivas sejam feitas.

A técnica de Parada de Fluxo (**RUZICKA e HANSEN**, 1976) também tem sido utilizada em combinação com a Diluição por Gradiente (**OLSEN**, et al., 1982), com o propósito de aumentar a sensibilidade das medidas

pelo aumento do tempo de residência, assim como medir a taxa da reação para servir de base para leituras posteriores.

Instrumentos que podem fazer uma varredura rapidamente (ópticos ou eletroquímicos) também foram combinados com técnicas baseadas em gradientes, para causar aumento da faixa de concentrações possíveis de serem detectadas numa única medida.

Técnicas de gradiente baseadas em Zonas Coalescentes têm sido desenvolvidas, onde gradientes de concentração são formados quando duas, ou mais, zonas de amostras são injetadas simultaneamente, produzindo curvas de resposta que podem ser completamente ou parcialmente superpostas. Estes sistemas têm servido de base para uma maneira econômica de introduzir reagentes em sistemas FIA (**BERGAMIN**, et al., 1978), e para quantificar a extensão de interferentes em reações químicas.

A presença de um gradiente da amostra injetada na solução do reagente possibilita a obtenção de curvas de respostas complexas. Ao invés de um único pico, como normalmente encontrado, vários máximos e mínimos podem ser obtidos. Este princípio foi primeiro aplicado por **BETTERIDGE e FIELDS** (1981), que analisaram misturas binárias de íons complexos de metais, utilizando a dependência do pH na sua formação.

Um grande número de aplicações em FIA têm surgido com a utilização de detetores multicanais de varredura rápida, como os de Arranjo Lineares de Diodos (**BLANCO**, et al., 1987). Esses detetores em sistemas de gradientes produzem superfícies complexas como resposta. Dados deste tipo requerem métodos mais sofisticados de interpretação baseados em técnicas quimiométricas, sem as quais não seria possível obter informações úteis.

Com a ajuda de métodos multivariados no tratamento dos dados, a técnica da Análise por Injeção em Fluxo pode ser expandida, oferecendo a

possibilidade de se fazer determinações multicomponentes, compensação de interferentes e detecção de amostras anômalas.

LUKKAKI e LINDEBERG (1988) foram os primeiros a fazerem uso de gradientes de concentração e detetores de Arranjos Lineares de Diodos para determinação simultânea de ácidos orgânicos que absorvem na região espectral do ultravioleta, utilizando o Método do Mínimos Quadrados Parciais.

Recentemente, foram determinados gradientes de pH e constantes de ácidos fracos utilizando um método quimiométrico denominado de Análise de Fatores Evoluintes (EFA) (**NØRGAARD**, 1991) e detetores multicanais.

1.3. ARRANJO DE ULTRAMICROELETRODOS

1.3.1. INTRODUÇÃO

Celas voltamétricas nos modernos polarógrafos, são dotadas de três eletrodos, sendo um de referência, um auxiliar e um indicador; ao contrário dos polarógrafos mais antigos que trabalhavam com apenas dois eletrodos, sendo um de referência e outro indicador. A razão de utilização de três eletrodos nos polarógrafos modernos reside no fato que estes possuem um circuito eletrônico denominado potenciostato, que por retroalimentação corrige o potencial aplicado à cela, mantendo-o estático, apesar das variações decorrentes na solução em análise, não sendo o caso dos polarógrafos mais antigos que trabalhavam com apenas dois eletrodos.

No instrumento utilizado neste trabalho, são utilizados apenas dois eletrodos, um de referência e outro indicador, sendo o eletrodo indicador um arranjo de 5 por 31 microeletrodos, podendo ser acessados individualmente, em grupos ou mesmo como um único eletrodo. Como a corrente capacitiva é proporcional a área do eletrodo, quando esta é diminuída ocorre um aumento da relação corrente faradáica / corrente capacitiva (i_f/i_c). Este aumento ocorre

porque a corrente capacitiva devido a formação da dupla camada elétrica diminui exponencialmente com o decréscimo da área do eletrodo enquanto a corrente faradáica diminui linearmente em relação ao decréscimo da área (**WIGHTMAN**, 1981; **PONS e FLEISHMANN**, 1987). Assim, o uso de microeletrodos reduz a capacitância da dupla camada elétrica facilitando a mudança do potencial do eletrodo, permitindo fazer medidas voltamétricas mais rápidas que aquelas obtidas quando eletrodos clássicos são usados (**HOWELL e WIGHTMAN**, 1984).

Estudos têm demonstrado que cobre pode ser utilizado como substrato para eletrodo de filme de mercúrio (MFE). Quando comparado a eletrodos preparados com substratos de ouro, platina, prata e níquel, o eletrodo de cobre apresenta, como substrato, um maior sobrepotencial para hidrogênio em relação aos três primeiros sendo apenas menor em 20 mV em relação ao níquel. Além disso o filme preparado sobre cobre apresenta melhor estabilidade mecânica que em carbono vítreo, sendo comparável à platina e prata e perdendo em estabilidade para ouro e níquel (**YOSHIDA**, 1981).

ALEXANDER e AKAPONGKUL (1983) propõem a utilização de eletrodo de cobre amalgamado, com 1,0 mm de diâmetro, como sensor amperométrico para a determinação de cobre, zinco e cádmio em um sistema em fluxo. A cela é constituída por três eletrodos. O eletrodo de cobre amalgamado fica próximo do eletrodo auxiliar (fio de platina, com 0,6 mm de diâmetro), colocados em oposição um ao outro dentro da linha de fluxo, com o eletrodo de referência colocado na saída do fluxo, a uma distância de 25,0 cm da cela amperométrica. Apesar da limitação deste tipo de eletrodo, quanto à ampliação da faixa de potencial alcançado é, apesar deste fato, um eletrodo de baixo custo e facilmente disponível.

DONTEN e KUBLIK (1985) fizeram um estudo das condições ótimas para o preparo, armazenagem, condicionamento e renovação de eletrodos de filme de mercúrio, utilizados em voltametria, no qual um dos substratos era o cobre. Para o caso específico deste metal, as desvantagens relatadas são a menor faixa de potencial positivo possível de ser utilizada e a possibilidade de reações de interferência dos metais depositados com o cobre do substrato ou com aquele que se dissolve no mercúrio.

Por outro lado o próprio metal cobre foi utilizado como sensor servindo não apenas como substrato para mercúrio em vários trabalhos citados na literatura. **STULIK**, et al. (1988) utilizaram um eletrodo de cobre para monitorar amperometricamente aminoácidos num sistema de fluxo, sendo proposto que estas espécies interajam, formando complexos com o íon cúprico da fina camada de óxido/hidróxido de cobre(II) formada na superfície deste eletrodo.

Cobre como eletrodo de trabalho também foi utilizado por **HITCHMAN e TROJANOWICZ** (1992) para monitorar potenciométricamente proteínas. Os resultados são discutidos em termos da formação de óxido na superfície do eletrodo e da complexação de biomoléculas com o cobre. O estudo inicial de caracterização do eletrodo e da interação deste com as proteínas foi feito com voltametria cíclica utilizando tampão fosfato como eletrólito de suporte.

1.3.2. CONSTRUÇÃO DO ARRANJO DE ULTRAMICROELETRODOS

Os eletrodos foram feitos de fio de cobre com diâmetro da ordem de 55 μm , disponível comercialmente, constituído de 7 fios individuais, sem verniz e com revestimento externo de polietileno sobre o conjunto dos fios. Este revestimento foi retirado sem utilização de instrumento de corte para evitar

DONTEN e KUBLIK (1985) fizeram um estudo das condições ótimas para o preparo, armazenagem, condicionamento e renovação de eletrodos de filme de mercúrio, utilizados em voltametria, no qual um dos substratos era o cobre. Para o caso específico deste metal, as desvantagens relatadas são a menor faixa de potencial positivo possível de ser utilizada e a possibilidade de reações de interferência dos metais depositados com o cobre do substrato ou com aquele que se dissolve no mercúrio.

Por outro lado o próprio metal cobre foi utilizado como sensor servindo não apenas como substrato para mercúrio em vários trabalhos citados na literatura. **STULIK**, et al. (1988) utilizaram um eletrodo de cobre para monitorar amperometricamente aminoácidos num sistema de fluxo, sendo proposto que estas espécies interajam, formando complexos com o íon cúprico da fina camada de óxido/hidróxido de cobre(II) formada na superfície deste eletrodo.

Cobre como eletrodo de trabalho também foi utilizado por **HITCHMAN e TROJANOWICZ** (1992) para monitorar potenciométricamente proteínas. Os resultados são discutidos em termos da formação de óxido na superfície do eletrodo e da complexação de biomoléculas com o cobre. O estudo inicial de caracterização do eletrodo e da interação deste com as proteínas foi feito com voltametria cíclica utilizando tampão fosfato como eletrólito de suporte.

1.3.2. CONSTRUÇÃO DO ARRANJO DE ULTRAMICROELETRODOS

Os eletrodos foram feitos de fio de cobre com diâmetro da ordem de 55 μm , disponível comercialmente, constituído de 7 fios individuais, sem verniz e com revestimento externo de polietileno sobre o conjunto dos fios. Este revestimento foi retirado sem utilização de instrumento de corte para evitar

modificação nos diâmetros dos fios individuais. O conjunto de multieletrodos foi montado em duplicata, como mostrado na figura 4, facilitando sobremaneira a confecção dos mesmos. Os fios devem ficar perfeitamente esticados para não se tocarem, pois o conjunto de 31x5 eletrodos ocupa área de apenas 15mm x 3mm, como ilustrado no esquema da figura 5.

Os direcionadores dos fios são feitos de plástico (Figura 3) com perfurações simétricas para espaçar os eletrodos entre si de maneira uniforme. Estes direcionadores foram obtidos de cartuchos de resinas trocadoras de íons, onde funcionam como contentores da resina na coluna, deixando fluir a água a ser deionizada.

O arranjo de 31 eletrodos de cobre foi construído esticando-se cada fio na montagem, feita com dois conectores “anphenol” de 36 pinos separados por placas de acrílico (Figura 4). No final da montagem estas placas formam o molde para a adição da mistura de monômero da resina de poliéster e catalisador, recém-preparada, que após a polimerização forma o suporte que dá rigidez mecânica ao conjunto de eletrodos e o isolamento elétrico. Após 10 a 12 horas a resina polimeriza, adquirindo rigidez e transparência semelhantes às aquelas observadas para o acrílico. Finalmente o molde pode ser desfeito, e o arranjo cortado transversalmente, o que leva à obtenção de dois conjuntos de multieletrodos. O arranjo é então submetido a desgaste mecânico com várias lixas de diversas granulometrias até sua superfície apresentar uma boa regularidade. A partir desta fase é submetido ao polimento em uma politriz construída especialmente para esta finalidade. Na primeira etapa de polimento foi utilizado um produto comercial tendo como abrasivo a dolomita. Depois, foram utilizadas duas aluminas com granulometrias de 1,0 e 0,3 μm , próprias para trabalhos metalográficos (ROHWEEDER, 1995).

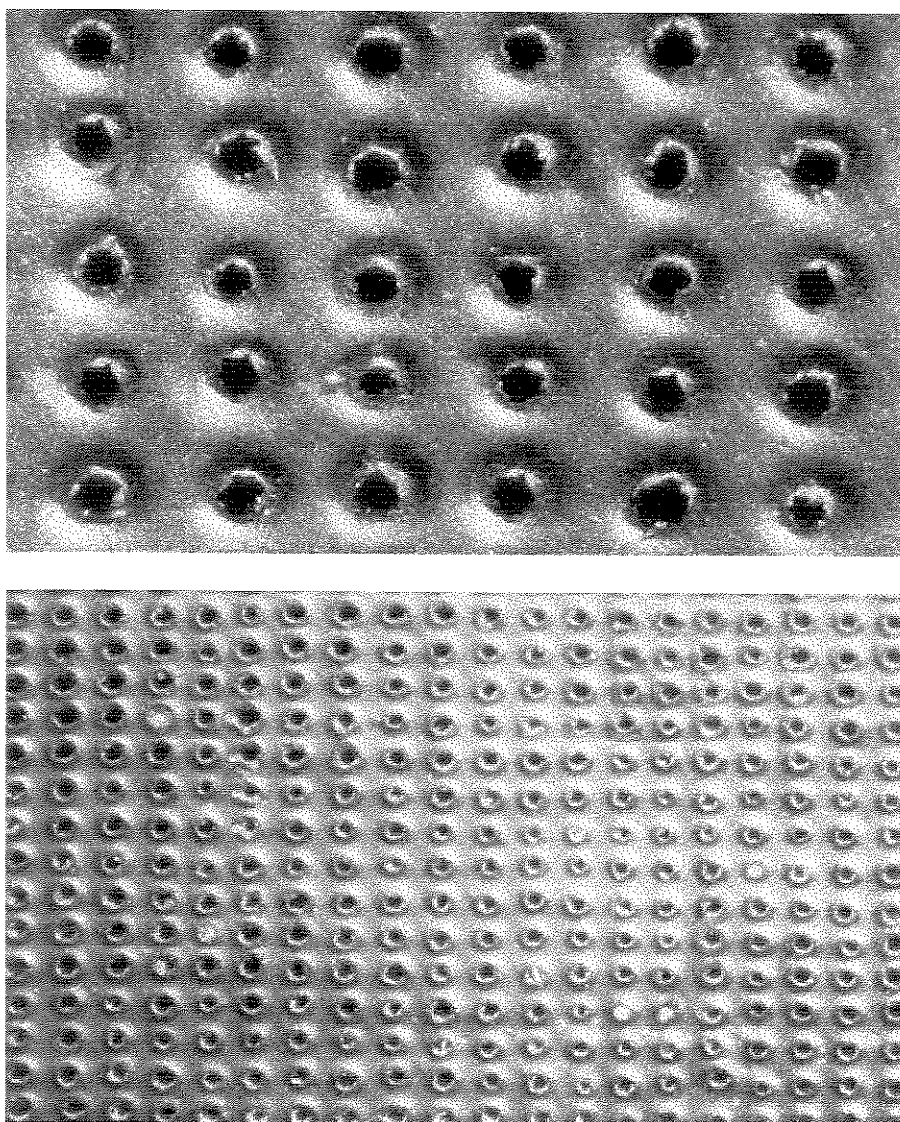


Figura 3 - Suporte plástico direcionador dos fios de cobre com aumento de 45 vezes (acima) e 15 vezes (abaixo).

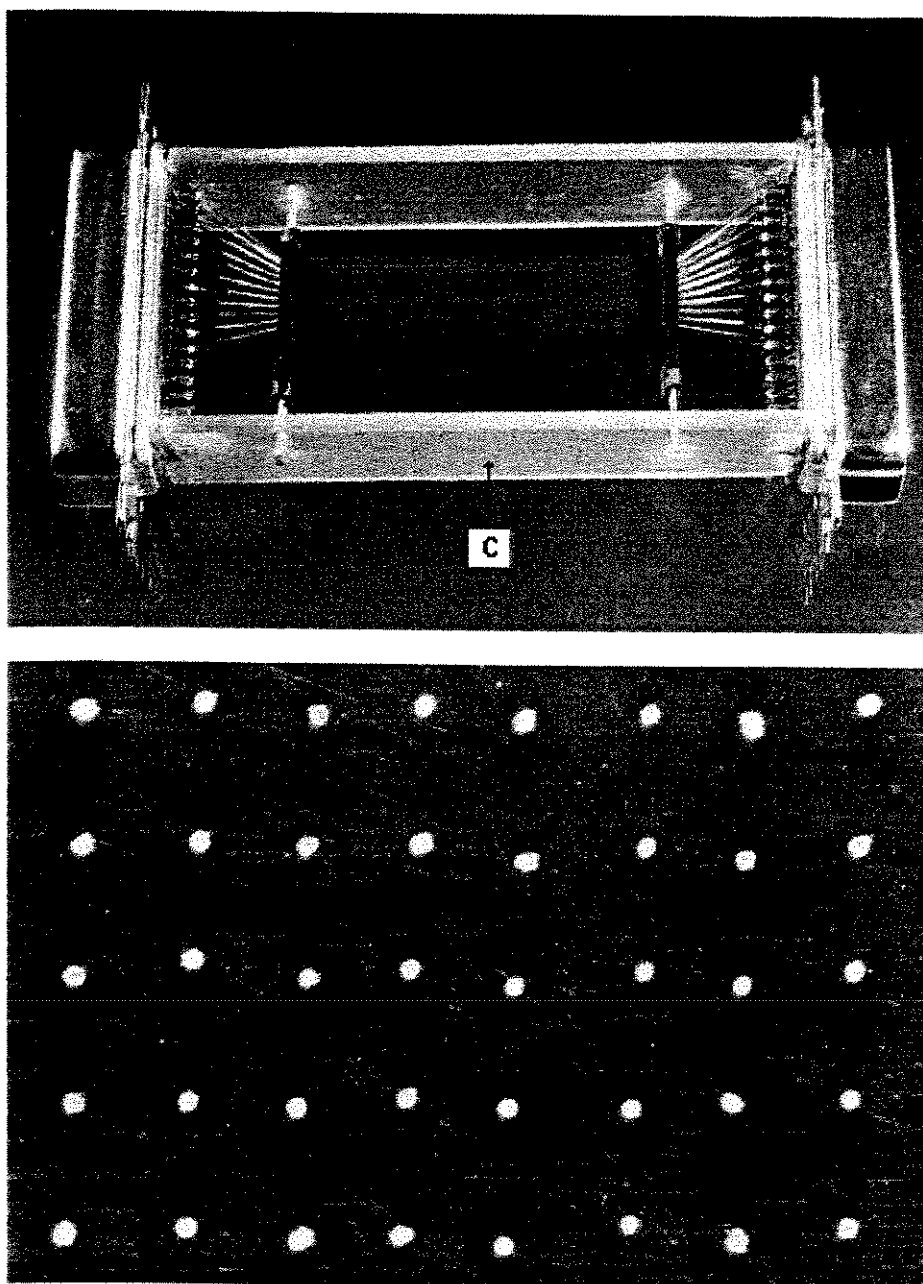


Figura 4 - Arranjo para a montagem dos microeletrodos de cobre (acima) e superfície do arranjo com um aumento de 25 vezes (abaixo). C = Local do corte transversal após preenchimento com resina de poliéster.

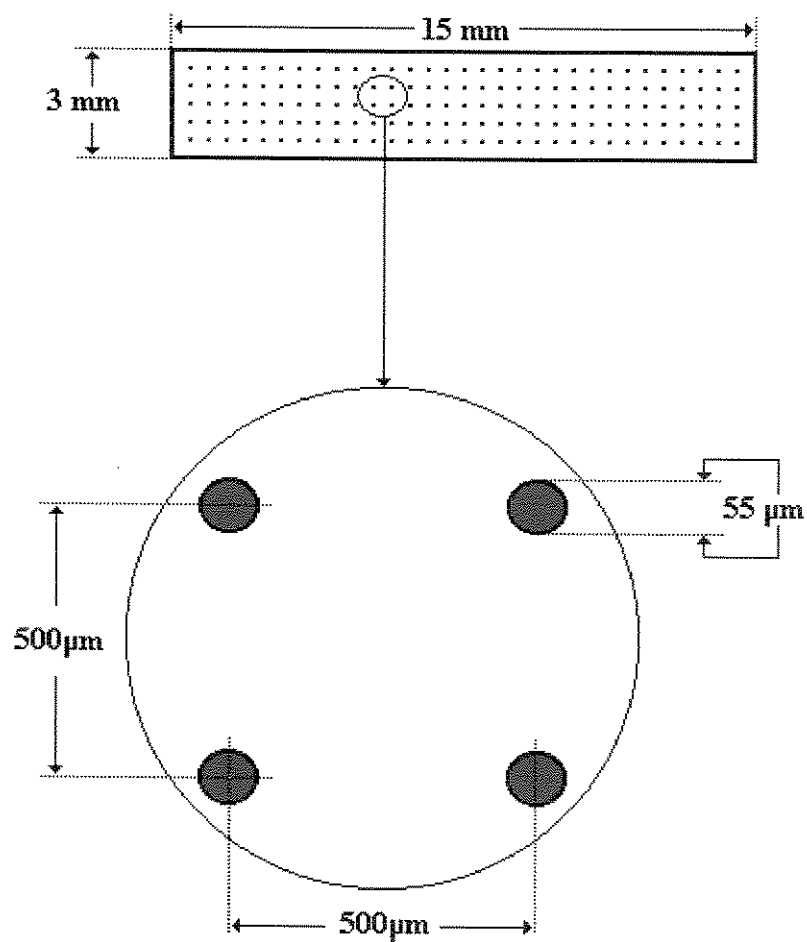


Figura 5 - Esquema do arranjo dos microeletrodos de cobre

1.3.3. OBTENÇÃO DO FILME DE MERCÚRIO NOS MICROELETRODOS

Quando todos os eletrodos de cobre, observados através de uma lupa (Carl Zeiss) com aumento máximo de 100 vezes, não apresentavam mais ranhuras em sua superfície, o arranjo foi lavado com água deionizada, e posteriormente mergulhado em solução de H_3PO_4 a 60 % em massa, por 1 minuto, lavado novamente em água deionizada e então mergulhado em solução conjunta de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ por 10 minutos, sem aplicação de potencial, para a formação do filme de mercúrio. Outro procedimento, que foi testado mas não utilizado nos procedimentos analíticos posteriores, envolvia a aplicação de potencial de +0,4 volts contra eletrodo de referência de Ag/AgCl. Em seguida o eletrodo foi colocado como fundo de um pequeno vasilhame de acrílico como mostrado na Figura 6; após lavagem com água deionizada o espaço interno foi preenchido com 10 mL de uma solução de HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, desoxigenada durante 30 minutos com nitrogênio, procedendo-se a três ciclos de 20 varreduras cíclicas entre +0,2 e -1,3 volts, para a homogeneização do filme de mercúrio sobre o substrato de cobre, com uma taxa de varredura de $168,5 \text{ mV s}^{-1}$ e um tempo de espera de 0,2 s entre cada varredura cíclica. Entre cada conjunto de 20 varreduras cíclicas fez-se nova desoxigenação por 90 s. Um voltamograma típico pode ser visto na figura 7. Um filme de espessura de aproximadamente $1,0 \mu\text{m}$ é obtido pelo processo de eletrodeposição no período de 3 minutos; já quando o filme é obtido espontaneamente uma espessura de $0,1 \mu\text{m}$ a $1,5 \mu\text{m}$ é obtida para intervalos de tempo de 1 a 10 minutos, respectivamente (**DONTEN e KUBLIK**, 1985).

O arranjo de ultramicroeletrodos (UMEs), a ser utilizado como sensor múltiplo em fluxo contínuo, como uma cela de fluxo laminar (Figura 8), se liga ao polarógrafo multicanal por meio de um cabo multiveios blindado. O cabo possui dois conectores em suas extremidades, isto facilita o polimento da

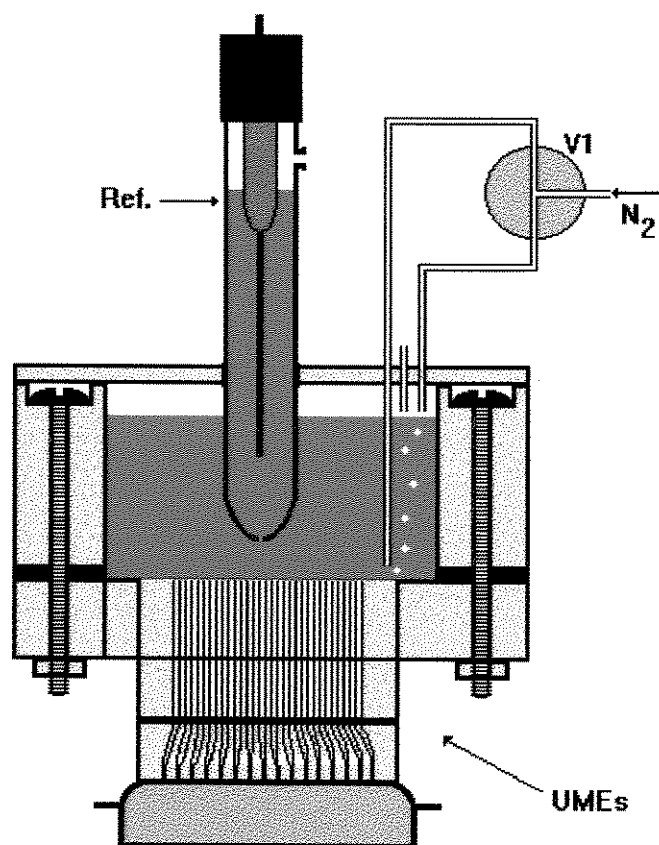


Figura 6 - Montagem do eletrodo múltiplo para execução de voltametria cíclica; V1 = válvula solenóide “three-way” para N₂; Ref. = eletrodo de referência de Ag/AgCl e UMEs = ultramicroeletrodos.

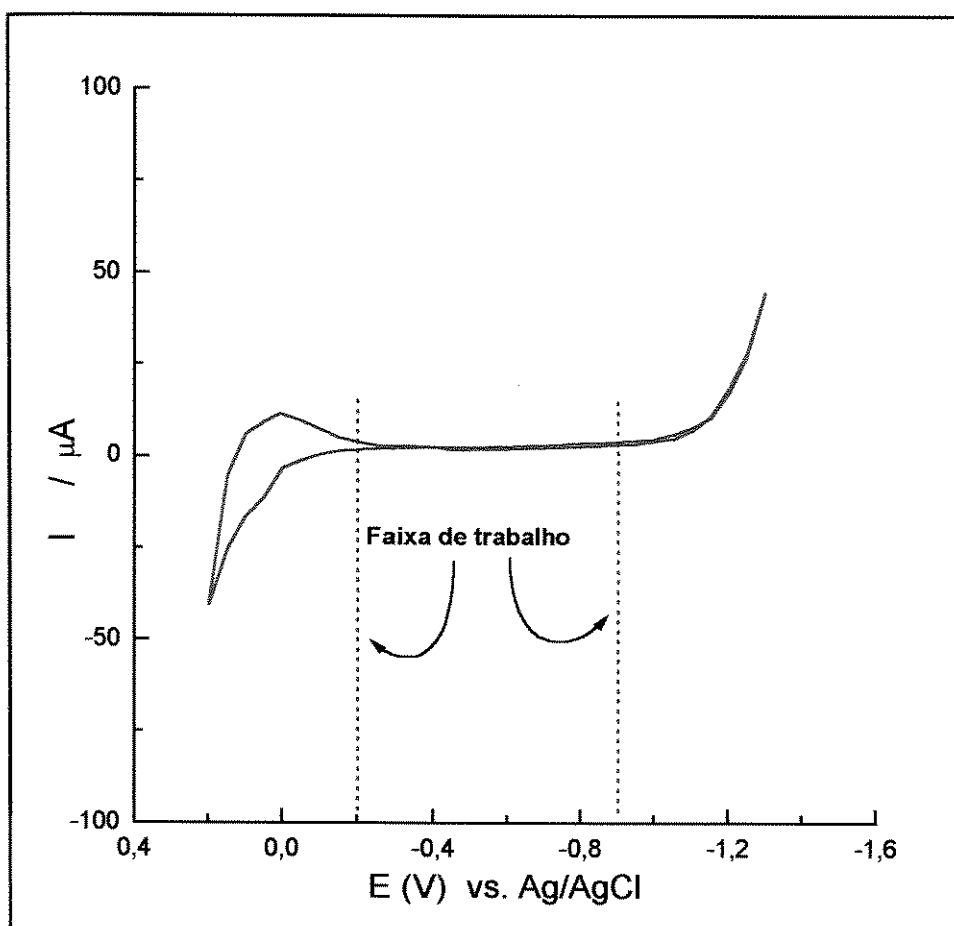


Figura 7 - Voltamograma típico para a homogeneização do filme de mercúrio sobre a superfície do conjunto de ultramicroeletrodos de cobre; taxa de varredura = $168,5 \text{ mV s}^{-1}$.

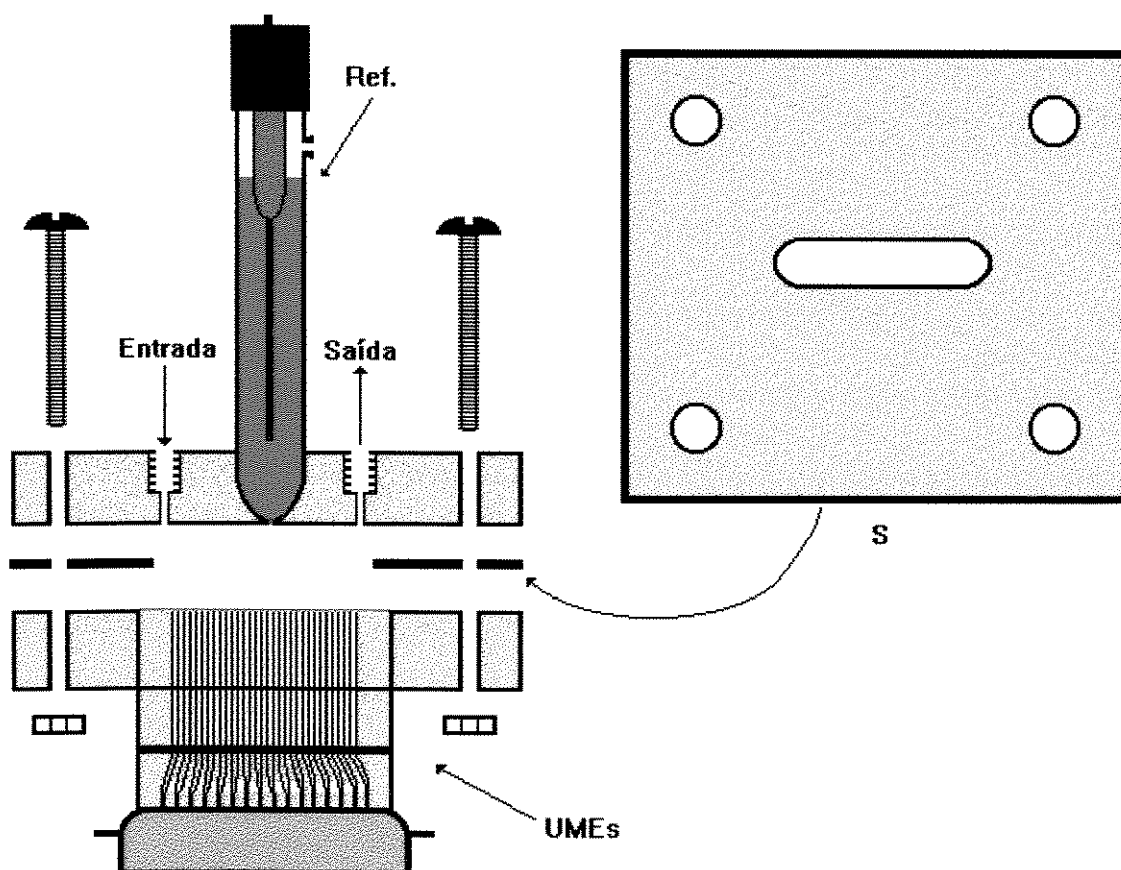


Figura 8 - Montagem do eletrodo múltiplo como uma cela de fluxo laminar; S = Separador de borracha com espessura de 0,5 mm; Ref = Eletrodo de referência de Ag/AgCl; UMEs = Conjunto de ultramicroeletrodos.

superfície dos eletrodos, pois pode ser desconectado dos mesmos. O eletrodo de referência do tipo Ag/AgCl fica fixado imediatamente sobre o conjunto de ultramicroeletrodos, isolado dos mesmos por um separador, feito com lâmina de borracha (espessura de 0,5 mm), com um canal para o fluxo das soluções com uma área tal que comporte todo o conjunto de eletrodos, e um volume que mantém limitada a dispersão da amostra injetada.

Utilizou-se a técnica de voltametria de pulso diferencial na parte analítica do trabalho e voltametria cíclica na homogeneização do filme de mercúrio sobre o conjunto de ultramicroeletrodos de cobre.

1.4. VOLTAMETRIA MULTIELEMENTAR EM FLUXO

1.4.1. INTRODUÇÃO

Voltametria hidrodinâmica define o uso de técnicas voltamétricas e amperométricas em um fluxo de analitos eletroativos de tal maneira a manter sobre o eletrodo de trabalho condições de convecção e difusão bem definidas. As maneiras mais comuns para estabelecer estas condições hidrodinâmicas são por agitação da solução, rotação do eletrodo ou por um fluxo contínuo de eletrólito que transporta a espécie eletroativa. Considerando o último caso, a geometria do eletrodo de trabalho pode ser tubular, planar com fluxo paralelo, planar com fluxo perpendicular e o denominado “wall-jet”. No presente trabalho utilizando-se um polarógrafo multicanal, o conjunto de microeletrodos trabalha com fluxo paralelo à superfície dos mesmos.

Instrumentos multicanais são definidos como sendo aqueles que podem analisar simultaneamente mais de um elemento ou espécie química. Este tipo de instrumento é mais comumente encontrado em métodos espectroscópicos de análise, utilizando, por exemplo, os espectrofotômetros com arranjo linear de fotodiodos.

Apesar de pouco comuns, existem descrições na literatura de instrumentos destinados a fazer medidas voltamétricas onde mais de um eletrodo de trabalho são empregados em uma única cela (**SMITH e WHITE**, 1985). Normalmente este tipo de instrumento se caracteriza por apresentar um conversor corrente-voltagem para cada eletrodo de trabalho e alguns dispositivos eletrônicos, como chaves analógicas, multiplexadores, ou conversores A/D com entradas multiplexadas, que permitam a leitura individual de corrente proveniente de cada eletrodo. Evidentemente, cada eletrodo de trabalho opera a potenciais diferentes e isto é tradicionalmente obtido com auxílio de um divisor de tensão. O modelo de cela de três eletrodos é o mais utilizado neste caso. A Figura 9 mostra um esquema geral de um instrumento voltamétrico multicanal.

Nos últimos anos foram desenvolvidos instrumentos capazes de operar com até 16 eletrodos de trabalho de tamanhos convencionais (**BREARLY et al.**, 1989; **HOOGVLIET, et al.**, 1991; **FIELDEN, et al.**, 1993). Estes instrumentos foram também desenhados para operar com modelos de celas de três eletrodos, sendo que nestes, o potencial é aplicado diretamente sobre cada eletrodo de trabalho e o circuito de realimentação onde os eletrodos de referência e auxiliar estão ligados é aterrado. Desta forma, o instrumento torna-se mais flexível, pois os potenciais de cada eletrodo de trabalho podem variar independentemente.

Por outro lado, para cada canal é necessário o uso de um conversor corrente/voltagem associado a um conversor digital/analógico (D/A). Este último é responsável pela aplicação do sinal de excitação sobre cada eletrodo de trabalho, o que torna a construção do instrumento mais complexa e de custo mais elevado.

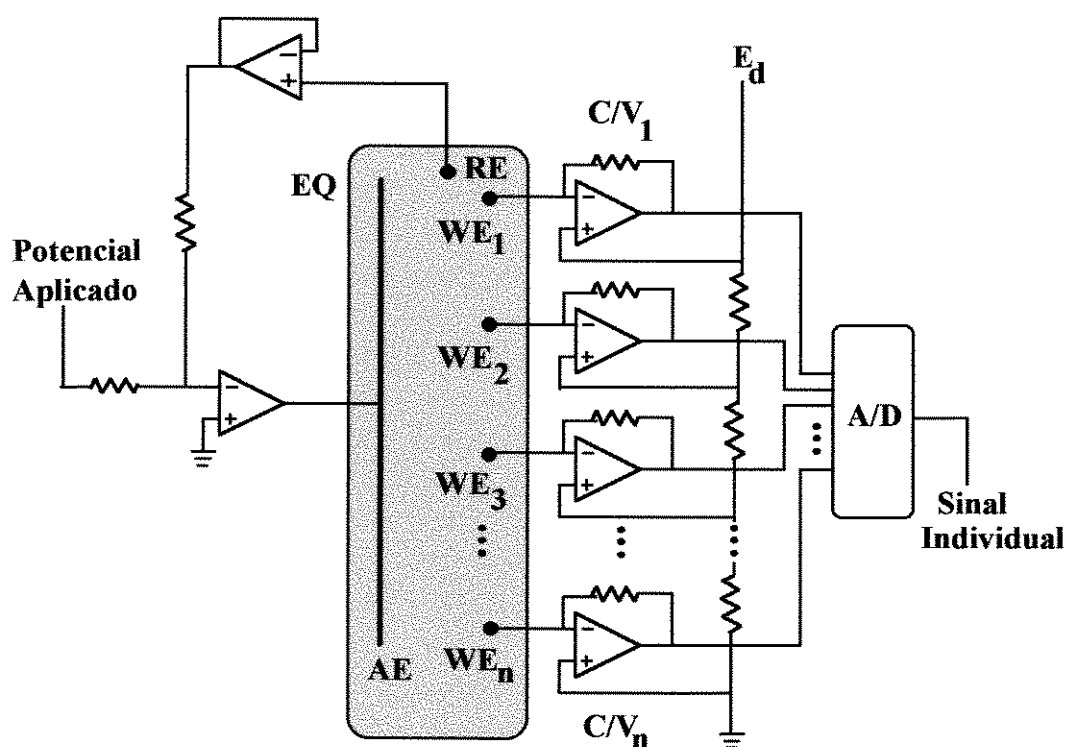


Figura 9 - Esquema de um instrumento voltamétrico multicanal. A/D - conversor analógico/digital com entrada multiplexada; C/V - conversores corrente/voltagem; E_d - potencial aplicado ao divisor de tensão; WE - eletrodo de trabalho; AE - contra-eletrodo; EQ - cela eletroquímica.

AOKI, et al.(1992), propõem um sistema de detecção eletroquímico multicanal para análise por injeção em fluxo e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). neste caso, a cela voltamétrica foi fabricada com 16 microeletrodos na forma de banda de tal maneira que o fluxo corre perpendicularmente ao arranjo, numa extensão de 2mm aproximadamente. Os eletrodos são de ouro e o arranjo foi fabricado por litografia sobre um substrato de vidro.

JONATHAN, et al. (1994), descrevem uma técnica denominada detecção amperométrica de varredura rápida (R.S.A.D.). Utilizaram uma cela com oito ultramicroeletrodos de platina no formato de banda com 5 μm de largura cada, para análise de catecolaminas, como composto modelo, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Celas voltamétricas multieletrodos de geometria variável para serem utilizadas em análise por injeção em fluxo são descritas por **FIELDEN**, et al. (1994). Neste trabalho são discutidas duas possibilidades de análise em fluxo: “Wall Jet” e fluxo laminar com os arranjos de ultramicroeletrodos de cobre recobertos com uma camada de platina, obtida por eletrodeposição.

McGRATH, et al. (1995) apresentam um potenciostato com 4 canais para ser utilizado na análise de íons metálicos em fluxo. O arranjo com quatro eletrodos de carbono vítreo de 1 mm de diâmetro cada um foi disposto na configuração de cela de fluxo radial. O trabalho mostra que o uso de um arranjo de eletrodos facilita a aquisição de informação eletroquímica em tres dimensões em tempo real (corrente x potencial x tempo). Respostas lineares para injeção de solução de Cu(II) foram obtidas na faixa de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Num dos primeiros trabalhos a descrever a utilização de voltametria de varredura rápida em análise por injeção em fluxo, **JANATA**, et al. (1982), exploraram a possibilidade oferecida por esta técnica quanto à criação de um

gradiente por dispersão da zona da amostra. A cela voltamétrica utilizada é constituída de tres eletrodos, sendo o de referência de Ag/AgCl, o auxiliar de platina e o indicador de mercúrio.

Todos os instrumentos, previamente descritos, foram avaliados na análise em fluxo e em cromatografia líquida de alta eficiência, apresentando diferenças de resposta para cada canal mesmo quando todos os eletrodos de trabalho operam ao mesmo potencial. Este comportamento de resposta foi atribuído às diferentes áreas dos eletrodos (**BREARLY**, et al., 1989; **HOOGVLIET**, et al., 1991) e foram corrigidas normalizando-se as respostas dos eletrodos para os dados de corrente obtidos para uma espécie eletroativa aplicando-se o mesmo potencial sobre todos os eletrodos.

O instrumento utilizado no presente trabalho foi desenvolvido em trabalho anterior (**ROHWEEDER**, 1995), cujo objetivo principal foi o de avaliar o uso do método multiplexado baseado na transformada de Hadamard em medidas voltamétricas. Para tanto, havia a necessidade de se utilizar um instrumento capaz de operar com diversos eletrodos de trabalho, permitindo ainda, que tais eletrodos pudessem ser selecionados de forma apropriada, segundo a matriz de Hadamard, durante as várias etapas necessárias para se fazer uma medida multiplexada.

A falta de um instrumento que satisfizesse tais requisitos tornou necessário o desenvolvimento de maneira a fazer uso das vantagens quando do emprego de UMEs em medidas voltamétricas.

O desenvolvimento do instrumento teve como base o modelo de cela eletroquímica de dois eletrodos sendo que o único conversor corrente-voltagem foi ligado ao contra-eletrodo como descrito no estudo de **FITCH e EVANS** (1986). A Figura 10 mostra o desenho esquemático do instrumento desenvolvido com seus componentes principais.

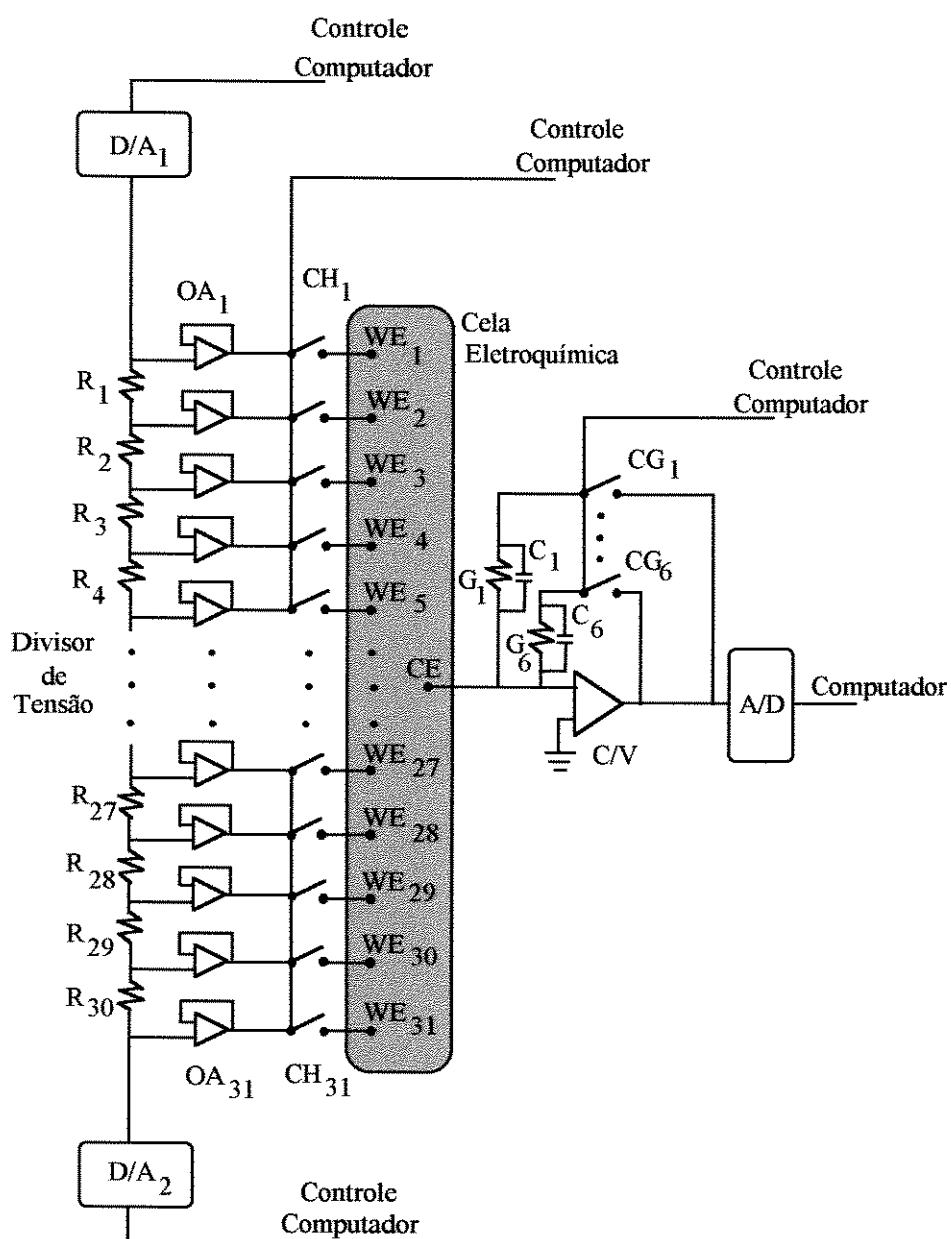


Figura 10 - Desenho esquemático do sistema voltamétrico multieletrodo (ROHWEEDER, 1995).

O esquema mostra que o contra-eletrodo (CE) está ligado ao conversor corrente-voltagem, enquanto os 31 eletrodos de trabalho ($WE_1 - WE_{31}$) estão ligados, através de chaves analógicas ($CH_1 - CH_{31}$), ao sistema de controle do potencial aplicado à cela eletroquímica. Este sistema é composto por um divisor de tensão contendo trinta resistores ($R_1 - R_{30}$), dois conversores digitais/analógicos (D/A_1 e D/A_2) de oito bits e trinta e um amplificadores operacionais (OA_1 a OA_{31}).

Os sinais analógicos de corrente gerada na cela eletroquímica, após passagem pelo conversor corrente-voltagem, são transformados em sinais digitais com auxílio de um único conversor analógico/digital (A/D) de 12 bits.

A seleção dos eletrodos empregados em uma medida é feita através de chaves analógicas ($CH_1 - CH_{31}$) controladas pelo microcomputador. Sistema semelhante empregando chaves analógicas ($CG_1 - CG_6$), é utilizado para selecionar os resistores ($G_1 - G_2$) que determinam o ganho do conversor corrente-voltagem.

O sistema de comunicação entre o microcomputador e o instrumento utiliza uma comunicação tipo "handshake" através de uma interface paralela de oito bits operando de modo assíncrono como proposto por **MALCOME-LAWES** (1988), compatível com microcomputadores da linha IBM-PC.

A interface utiliza um porta de comunicação bidirecional programável, PPI-8255, mais dois integrados, uma porta tipo "NAND" de 8 entradas (74LS30) e 4 portas tipo "OR" (74LS32). Esta porta é utilizada para o envio de endereços e de dados para o instrumento voltamétrico e recebimento de dados pelo microcomputador. Este sistema mostrado na Figura 11, é montado em placa apropriada, com a técnica de "Wire-Wrap" e colocada num conector de expansão ("slot") do microcomputador.

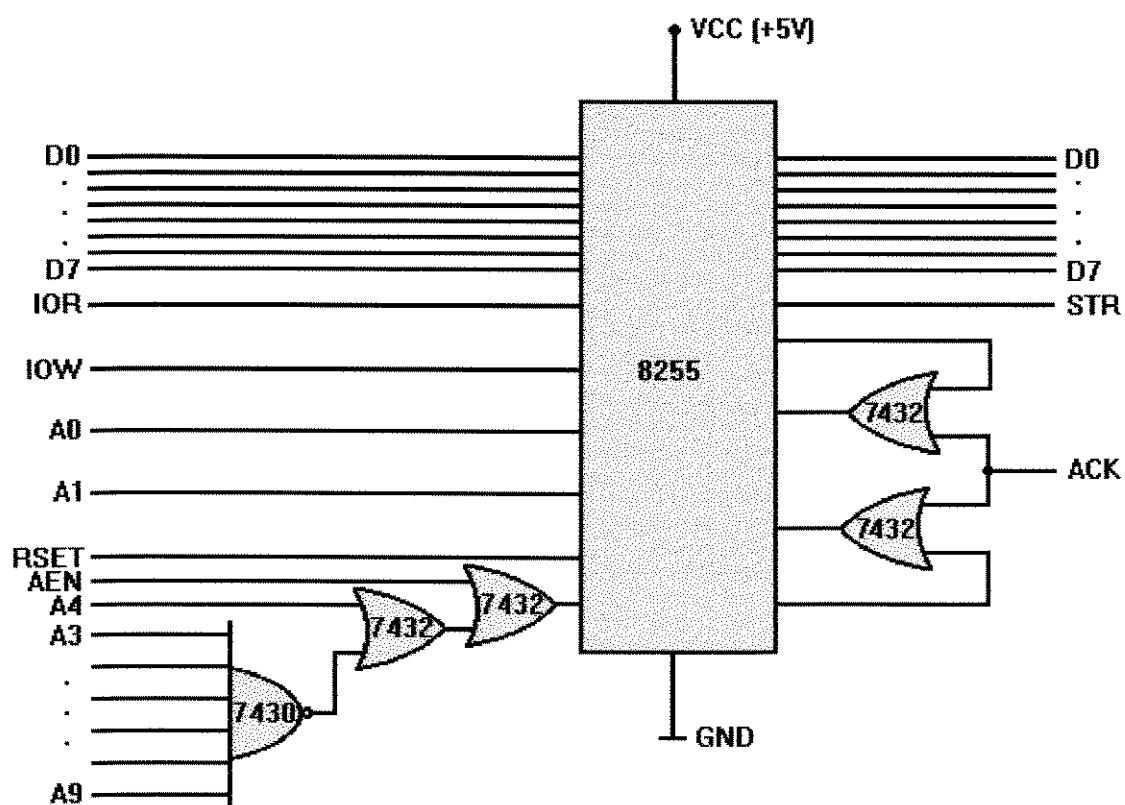
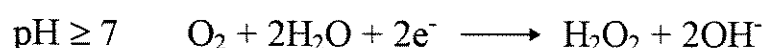
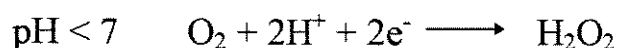


Figura 11 - Esquema da Interface Assíncrona

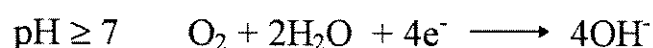
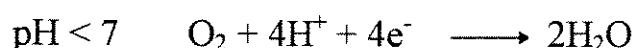
1.4.2. DESOXIGENAÇÃO EM FLUXO

O oxigênio se dissolve em água pura, que está em contato com a atmosfera a 25 °C, para formar uma solução de concentração aproximadamente igual a 0,5 mmol L⁻¹. Nesta concentração a corrente obtida na redução catódica pode obscurecer o sinal analítico de interesse e conseqüentemente deve ser removido antes de se executar as medidas voltamétricas.

A eletrorredução do oxigênio molecular em soluções aquosas sobre eletrodos de mercúrio, procede em duas maneiras conhecidas. A primeira, uma redução quase reversível a peróxido de hidrogênio, ocorre com uma troca de dois elétrons, dependendo do pH do meio, segundo as equações:



próximo a -0,5 volts vs ECS; a segunda maneira, uma redução irreversível do oxigênio, com uma troca de quatro elétrons. Dependendo do pH do meio ocorre segundo as equações:



entre -0,5 e -1,3 volts vs. ECS (EG&G PARC, 1988; HEYROVSKÝ, et al., 1993).

As reduções em meio ácido, neutro ou básico geram altas correntes que obscurecem as respostas analíticas. Por outro lado, reduções do oxigênio em meios neutro ou básico resultam na formação, ou já ocorrem na presença de íons hidroxila, que em sistemas não tamponados levam à precipitação de íons metálicos ao redor do eletrodo diminuindo a corrente. Em análises por redissolução anódica, o contato do oxigênio com os metais depositados no eletrodo pode levar a reações de dissolução dos metais influenciando na corrente.

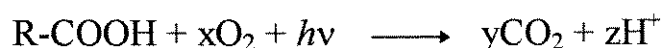
BUTLER, et al. (1994) fizeram estudo comparando quatro metodologias para remoção de oxigênio dissolvido, borbulhamento com nitrogênio, argônio ou outro gás inerte, aquecimento com ebulição à pressão de 1 atmosfera, aplicação de ultra-som sob vácuo e aquecimento com ebulição sob vácuo. Verificaram que a melhor metodologia é o borbulhamento com nitrogênio.

Normalmente a desoxigenação da solução sob análise numa cela voltamétrica é feita borbulhando-se nitrogênio purificado ou outro gás inerte. Diversas alternativas foram descritas com a intenção de adaptar esta metodologia para análises em fluxo.

RISINGER, et al. (1987) propõem consumir o oxigênio através de uma reação catalítica deste com glicose adicionada ao carregador com a enzima glicose oxidase imobilizada num reator.

TROJANEK (1980) descreve uma metodologia para eliminar oxigênio numa linha de fluxo baseado no uso de tubos concêntricos onde o tubo interno é uma membrana tubular semi-permeável; **REIM** (1983), descreve metodologia semelhante através do uso de uma membrana tubular semi-permeável, com a diferença que a membrana se encontra num recipiente onde se faz vácuo. Após vários testes com Teflon, Tygon, Nafion e borracha de silicone, esta última escolhida para o desenvolvimento do trabalho.

BARISCI (1992) propõe a remoção do oxigênio dissolvido no fluido de um sistema em fluxo por uma reação fotoquímica entre o eletrólito de suporte e o oxigênio, induzida por radiação ultra-violeta. Ácidos orgânicos tais como ácido cítrico, fórmico e oxálico foram utilizados como eletrólito de suporte. A reação global proposta é representada por,



O ácido cítrico apresentou melhor eficiência, sendo também mais eficiente do que com o método convencional por borbulhamento com nitrogênio.

A determinação de cobre, cádmio e chumbo foi utilizada para demonstrar a performance desta metodologia.

Por uma questão de simplicidade optou-se por desoxigenar as soluções bombeadas, no presente trabalho, por borbulhamento contínuo dos frascos estoques do eletrólito de suporte, do EDTA e o dos íons sob análise, conforme a Figura 12. A desvantagem desta metodologia em relação ao aparecimento de bolhas ao longo da linha de fluxo foi contornada com uma câmara de permeação colocada próximo ao detetor.

1.4.3. SISTEMA DE ANÁLISE EM FLUXO

O sistema em fluxo utilizado para a análise de misturas de íons consiste em linha por onde se bombeia uma solução tampão de ácido acético / acetato de sódio ($\text{pH} = 4,85$), denominado de primeiro eletrólito, e em linha separada de uma solução dos íons a serem analisados, bombeadas continuamente, numa vazão constante de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, para a câmara de mistura. Na seqüência é injetado um volume fixo de $200 \mu\text{L}$ de uma solução de EDTA $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ em tampão ácido acético / acetato de sódio ($\text{pH} = 4,85$), denominado de segundo eletrólito, na linha do primeiro eletrólito, criando um gradiente de EDTA disponível para complexação dos íons presentes na mistura, ficando evidenciado no padrão superficial apresentado o efeito desta modificação.

As soluções contidas em frascos de polietileno são permanentemente desoxigenadas com nitrogênio (Figura 12).

O injetor montado com quatro válvulas solenóides de três vias (NResearch - 161T031, 12V, 80mA) (FARIA e PASQUINI, 1991) funciona sob o comando do microcomputador de acordo com intervalos de tempos

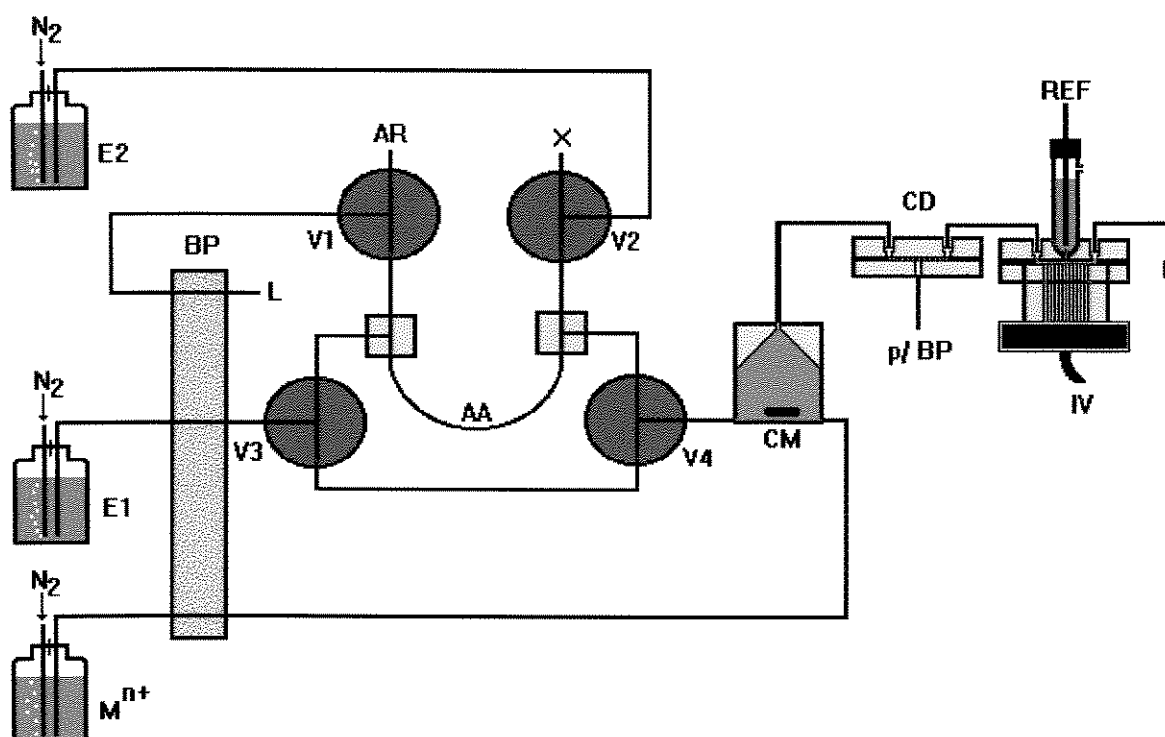
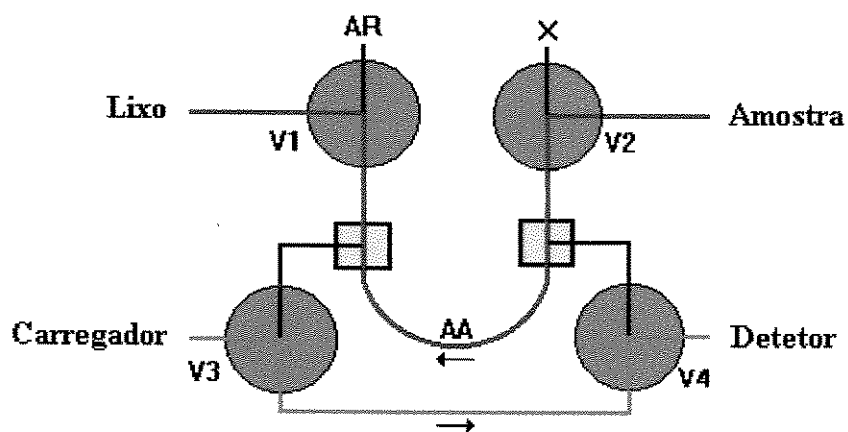
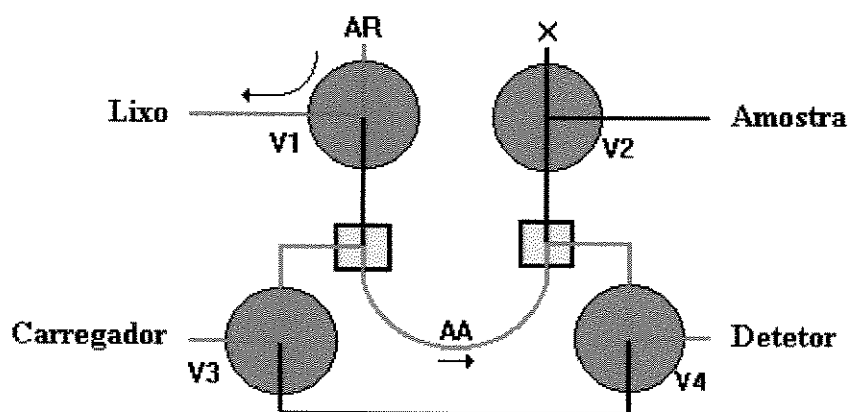


Figura 12 - Sistema de análise em fluxo. E₁- Tampão HOAc/NaOAc, pH=4,85; E₂ - Solução de EDTA 0,05 mol L⁻¹ em tampão de HOAc/NaOAc; Mⁿ⁺ - Solução de Pb²⁺, Ti⁺ ou Cd²⁺ ou mistura dos três, em HNO₃ 0,01 mol L⁻¹; V₁, V₂, V₃, V₄ - Válvulas solenóides de teflon; L- Lixo; BP - Bomba peristáltica; CM - Câmara de mistura; AR - Conexão da válvula V1 aberta ao ambiente; X - Conexão da válvula V2 fechada ao ambiente; IV - Cabo múltiplo para conexão ao instrumento voltamétrico; CD - Câmara de degaseificação; AA = Alça de amostragem de 200 μ L.



(A)



(B)

Figura 13 - Injetor com quatro válvulas solenóides de três vias; etapa da amostragem (A), etapa da injeção (B).
Legenda de acordo com a figura 12.

preestabelecidos dentro do programa de controle citado. O esquema do injetor nas etapas de amostragem e injeção pode ser visto na Figura 13. A solução de EDTA sendo injetada num volume mínimo na linha do primeiro eletrólito, tampão de ácido acético/acetato de sódio pH 4,85, será diluída na câmara de mistura criando um gradiente de concentração de EDTA, conforme a Figura 14.

Uma câmara para desgaseificação foi adicionada após a câmara de mistura, pois com agitação, o nitrogênio dissolvido pode formar bolhas prejudicando a leitura na cela de eletrodos.

A detecção voltamétrica com varredura de potencial é objeto de muitos estudos tentando obter melhorias na informação eletroquímica dos componentes de uma mistura numa linha de fluxo.

A presença de um gradiente de concentração das espécies da amostra ou de uma espécie que por reação modifique as concentrações das espécies presentes na amostra, possibilita a obtenção de curvas de respostas complexas, cujas formas apresentam informações mais ricas sobre as espécies presentes. Ao invés de um único pico, como normalmente é encontrado, vários máximos e mínimos podem ser obtidos.

Freqüentemente um experimento químico pode conter muitas informações normalmente não utilizadas. Com as possibilidades deste sistema pode-se observar variações significativas nos voltamogramas durante as varreduras dentro do gradiente criado, o que levará a um aumento de informação sobre o sistema estudado permitindo-se a aplicação de técnicas quimiométricas de calibração multivariada.

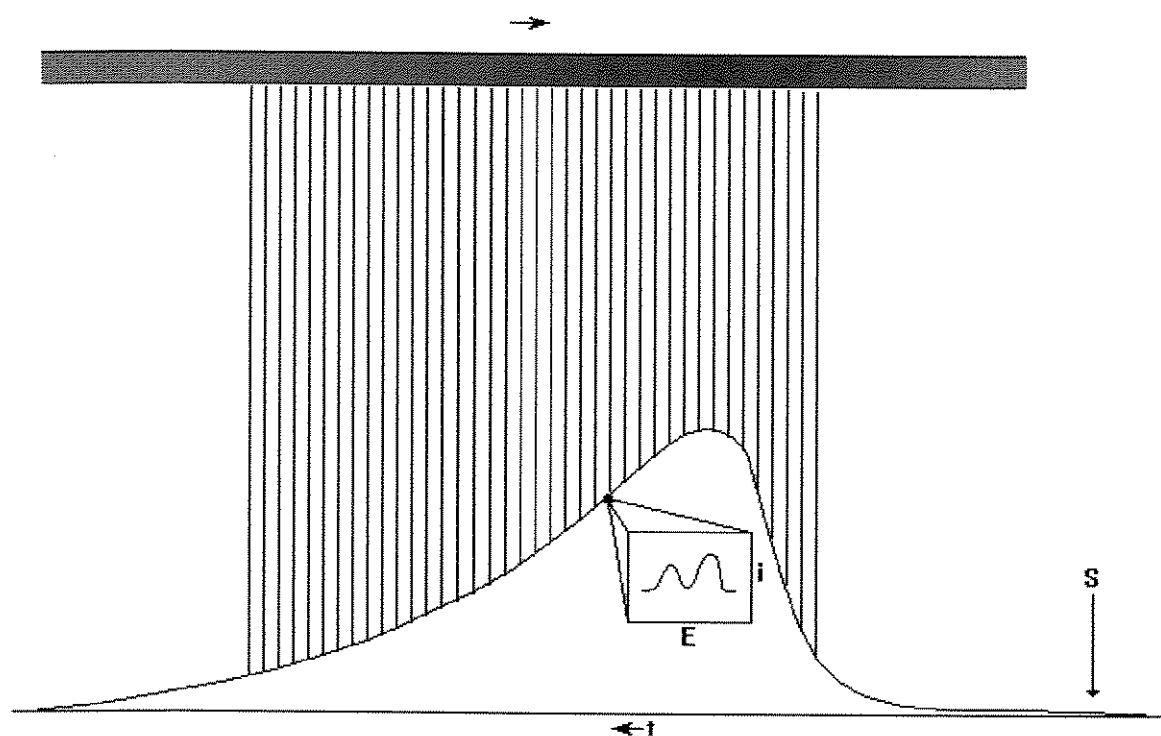


Figura 14 - Formação do gradiente de concentração de EDTA;
 S = Injeção de EDTA; t = Tempo; E = Potencial;
 i = Corrente.

1.4.4. TÉCNICAS DE VARREDURAS

ROHWEDDER (1995) descreve diversas rotinas em linguagem Basic para a aplicação do potencial na cela eletroquímica para os dois diferentes modos de operação dos conversores D/A do instrumento voltamétrico construído. Dois procedimentos básicos de leitura do arranjo de eletrodos foram utilizados. No primeiro caso, denominado de varredura de potencial, ambos os conversores D/A têm seus potenciais modificados de forma a aplicarem o mesmo potencial ao divisor de tensão. Esta rotina permite ainda, ao usuário, a seleção do eletrodo ou grupo de eletrodos, pertencentes ao arranjo de UMEs, que serão empregados em uma medida. No segundo caso, denominado de varredura de eletrodo, os dois conversores operam a potenciais distintos e todos os eletrodos, pertencentes ao arranjo, participam das medidas, sendo o potencial de cada um deles determinado pelo seu ponto de conexão ao divisor de tensão e pela diferença de potencial entre os dois conversores D/A. Afora alguns testes feitos com o modo denominado varredura de eletrodos, todo o trabalho foi conduzido de acordo com a primeira maneira de aplicar o potencial aos eletrodos. Assim a cela multieletrodo não foi aproveitada como um sensor multicanal, mas sim aproveitando-se das vantagens inerentes à utilização de um arranjo de microeletrodos (**PONS and FLEISCHMAN**, 1987).

A Figura 15 ilustra o modo de aplicação do potencial, quando os conversores D/A operam sob o mesmo valor de potencial. O número de conversões feitas pelo D/A, bem como a faixa empregada no cálculo do valor médio das leituras de corrente podem ser selecionados previamente. Ao final da rotina todas as chaves analógicas associadas aos eletrodos são desconectadas para evitar a deterioração dos eletrodos. Neste trabalho o número de conversões foi sempre num total de 100, empregando-se a faixa de 10 a 25 para o cálculo do valor médio das leituras de corrente. A técnica analítica utilizada foi a voltametria

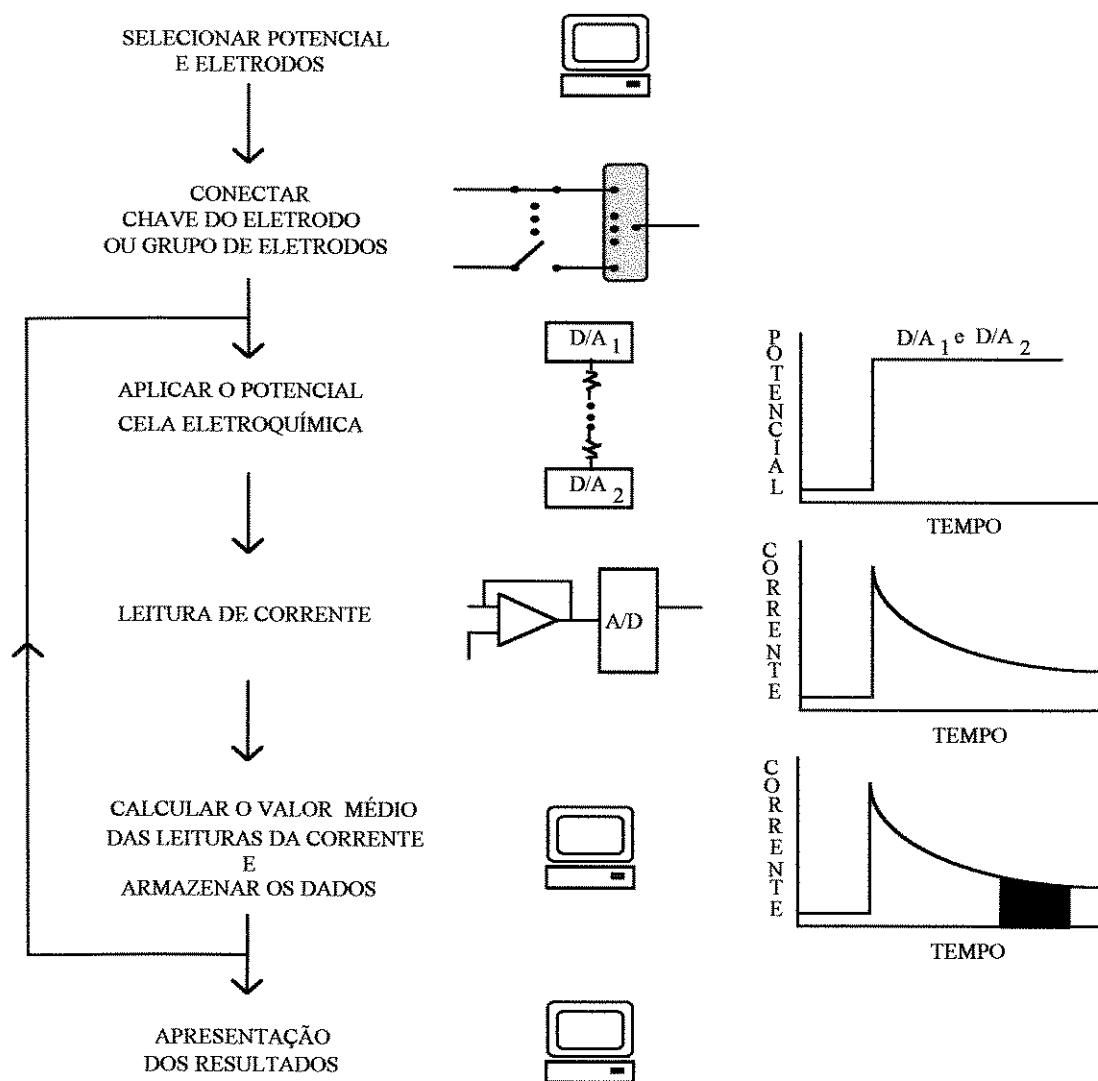


Figura 15 - Rotina de leitura para quando ambos os conversores D/A estão operando sob o mesmo potencial.

de pulso diferencial, com uma amplitude de pulso igual a 100 mV, taxa de varredura de 175 mV s⁻¹ e faixa de potencial explorado de -0,2 a -0,9 volts.

Ao final das rotinas os voltamogramas são prontamente visualizados no monitor do microcomputador. É ainda permitido a aplicação de filtros digitais com médias móveis, alteração da escala de potencial ou corrente, visualização sob vários pontos de vista e quando necessário, imprimir e gravar os dados adquiridos. Estas possibilidades facilitam a tomada de decisão para interpretar os resultados obtidos, mas posteriormente uma melhor representação pode ser obtida para melhor visualização, utilizando-se programas gráficos comerciais. A aplicação de filtros digitais com média móvel ponderada, aos dados voltamétricos, tem como objetivo melhorar a apresentação dos sinais voltamétricos para os valores de corrente obtidos.

As rotinas desenvolvidas com esse objetivo possuem três opções diferentes de filtro. No primeiro caso, denominado de filtro dois, a média é calculada entre dois pontos vizinhos, tendo cada um o mesmo peso. No segundo caso, denominado de filtro três, a média é calculada entre tres pontos consecutivos, novamente todos possuem o mesmo peso. No último caso, denominado de filtro cinco, a média é calculada entre cinco pontos consecutivos, tendo o valor central peso tres, seus dois vizinhos mais próximos peso dois e os mais distantes peso um. As relações matemáticas são mostradas a seguir:

Filtro dois:

$$I_n = (i_n + i_{n+1}) / 2$$

Filtro três:

$$I_n = (i_{n-1} + i_n + i_{n+1}) / 3$$

Filtro cinco:

$$I_n = (i_{n-2} + 2i_{n-1} + 3i_n + 2i_{n+1} + i_{n+2}) / 9$$

onde:

i_n = i-ésimo valor da corrente encontrada

I_n = i-ésimo valor da corrente calculada

Quando se trabalha com a técnica de varredura de eletrodos, deve-se levar em consideração as diferenças de áreas dos eletrodos. Aim para corrigir diferenças nos valores de corrente, é disponível uma rotina que normaliza a resposta obtida para cada eletrodo pertencente ao arranjo. No caso específico deste trabalho não foi necessário a utilização desta rotina pois os eletrodos operavam sempre num mesmo potencial e definido tempo.

Capítulo 2

AQUISIÇÃO, PROCESSAMENTO DE DADOS E CONTROLE DO INSTRUMENTO

2.1. INTRODUÇÃO

Um microcomputador marca Zenith, compatível com IBM PC/AT 286, provido de co-processador matemático 80287 foi utilizado para controlar as funções do instrumento, bem como, fazer a aquisição dos dados, utilizando-se um programa desenvolvido em linguagem BASIC, com o “software” da Microsoft QUICK-BASIC 4.5 (ROHWEDDER, 1995). O preparo dos dados para o posterior processamento foi feito em microcomputador 486, utilizando-se o programa gráfico ORIGIN 3.5; finalmente o processamento quimiométrico dos dados foi feito com os programas disponíveis no pacote “Chemometric ToolBox”, que operam no ambiente MATLAB, “software” da MathWorks, como esquematizado na Figura 16.

A comunicação entre o instrumento voltamétrico e o microcomputador, foi feita através de uma interface de 8 bits, construída no próprio laboratório, descrita no Capítulo 1.

2.2. LINGUAGEM UTILIZADA

O programa utilizado para controle e aquisição dos dados desenvolvido em linguagem BASIC, foi utilizado em sua forma executável para garantir uma maior reprodutibilidade nos tempos de comunicação entre o computador e o instrumento e também para aumentar a velocidade na aquisição

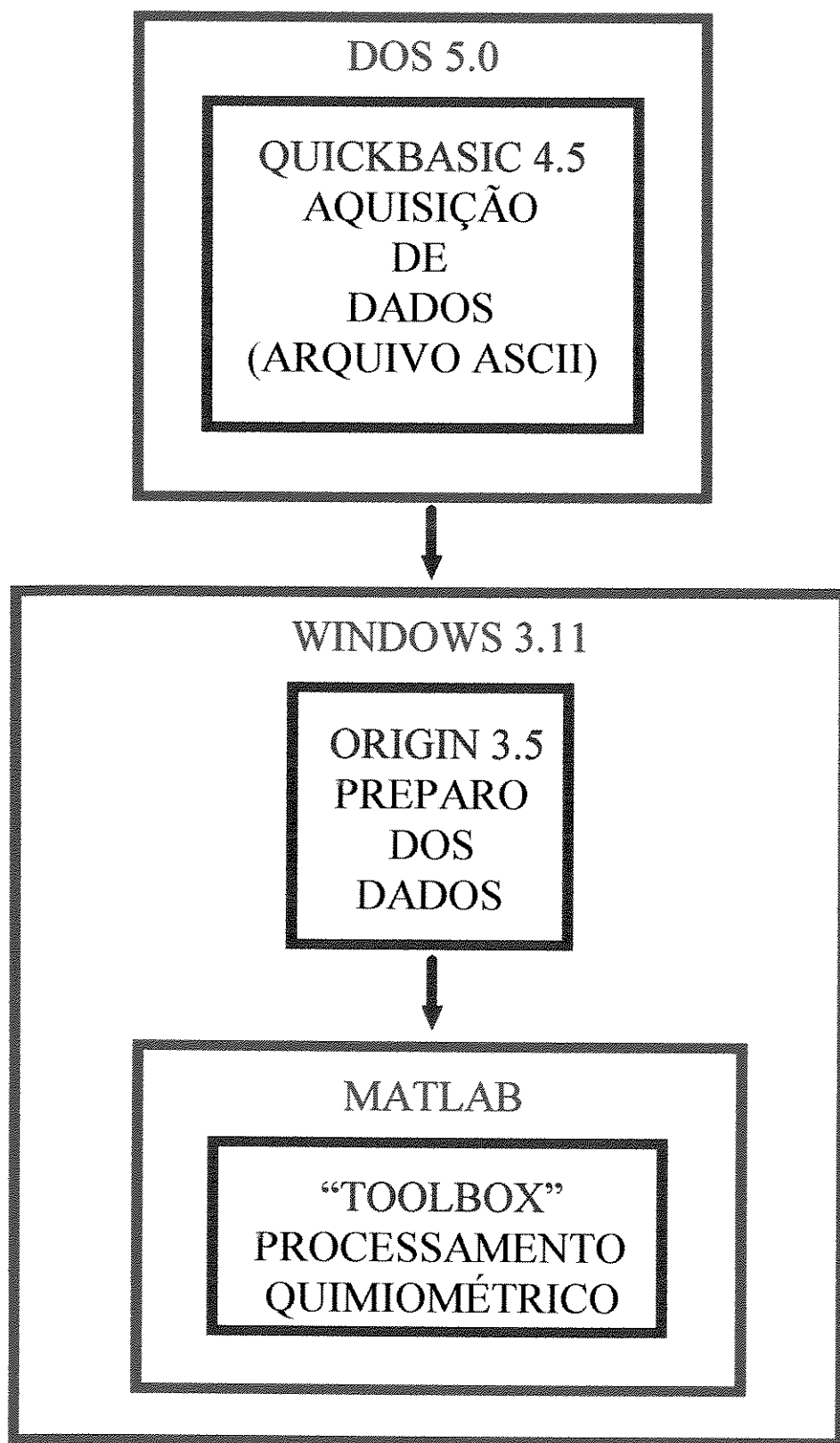


Figura 16 - Esquema geral da aquisição, preparo e processamento dos dados voltamétricos.

dos dados. O programa fonte é listado no Capítulo 7.

2.3. PREPARO DOS DADOS

Os dados adquiridos com o instrumento voltamétrico foram armazenados em arquivo no formato ASCII. Este arquivo foi trabalhado dentro do programa ORIGIN 3.5. Para tal, a matriz original dos dados constando de 2160 linhas e 1 coluna, que é formada por 80 varreduras sob 27 valores de potenciais, médias móveis dos 31 valores de potenciais iniciais referentes aos 31 eletrodos, foi inicialmente transformada em uma matriz 80 x 27, como esquematizado na figura 17 para posterior visualização da superfície, como por exemplo, na figura 41.

As matrizes obtidas por este processo, num total de 16, representam as 16 misturas do planejamento experimental (Figura 38). Para a obtenção da matriz de respostas a ser utilizada no PLS multidimensional, contendo todas as 16 matrizes iniciais, foram necessários rearranjos como mostrados nas Figuras 18 e 19. No caso da Figura 19, a primeira linha de cada matriz original forma uma nova matriz, a segunda linha de cada matriz forma uma segunda matriz e assim sucessivamente de tal maneira que ao final tem-se um conjunto de 80 novas matrizes de 16 linhas por 27 colunas. Em seguida estas matrizes são colocadas lado a lado de tal maneira a se ter uma única matriz de 16 linhas por 2160 colunas, conforme a Figura 20, esta matriz será correlacionada com a matriz de concentração, de 16 linhas por 3 colunas, no PLS multidimensional. Esta matriz de respostas, de 16 x 2160 contém toda a informação das 16 amostras na faixa de potencial trabalhada e no gradiente de EDTA criado.

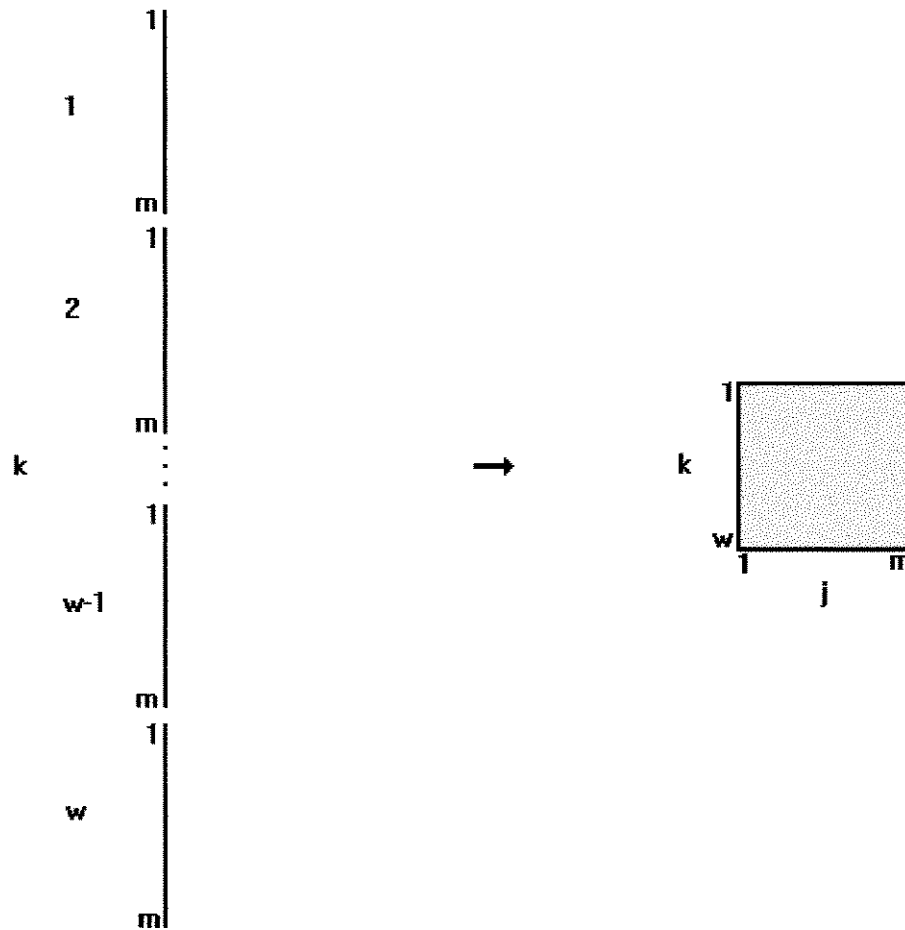


Figura 17 - Transformação de uma matriz $kj \times 1$ obtida no instrumento voltamétrico para uma matriz $k \times j$, onde as variáveis k e j assumem valores máximos iguais às variáveis $w=80$ e $m=27$, respectivamente número de varreduras e número de eletrodos, utilizada na visualização dos voltamogramas num gradiente de EDTA.

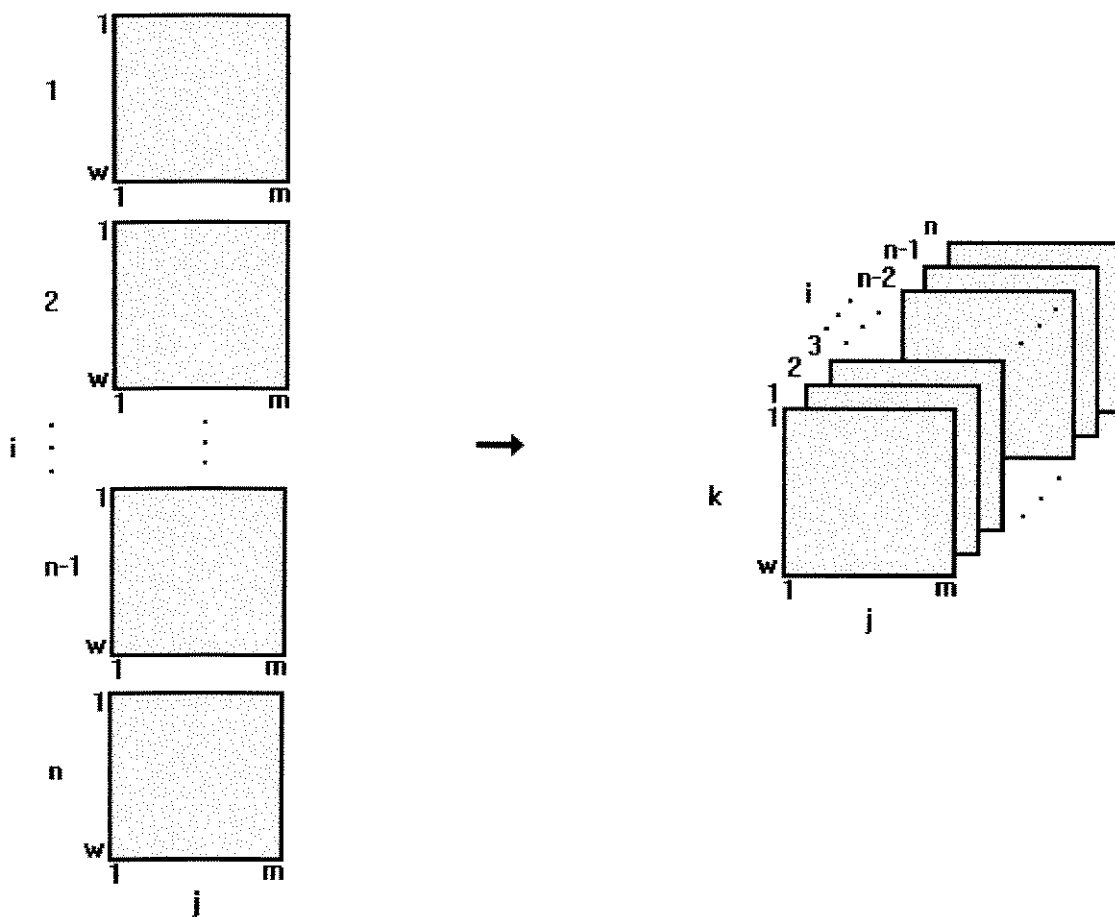


Figura 18 - Obtenção da matriz tridimensional $k \times j \times i$, a partir das matrizes bidimensionais $k \times j$, onde k, j e i assumem valores máximos iguais às variáveis $w = 80$, $m = 27$ e $n = 16$, respectivamente, sendo n o número de amostras.

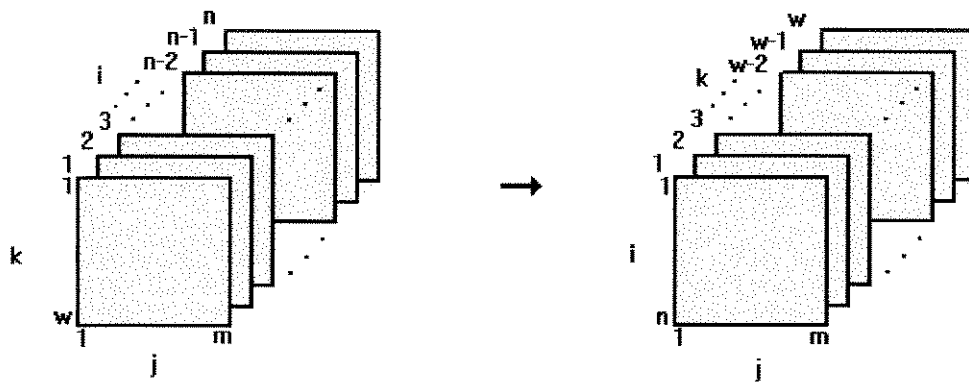


Figura 19 - Rearranjo da matriz tridimensional $k \times j \times i$ para a matriz tridimensional $i \times j \times k$ para o PLS multidimensional, onde i, j e k assumem valores máximos iguais às variáveis $n=16$, $m=27$ e $w=80$, respectivamente.

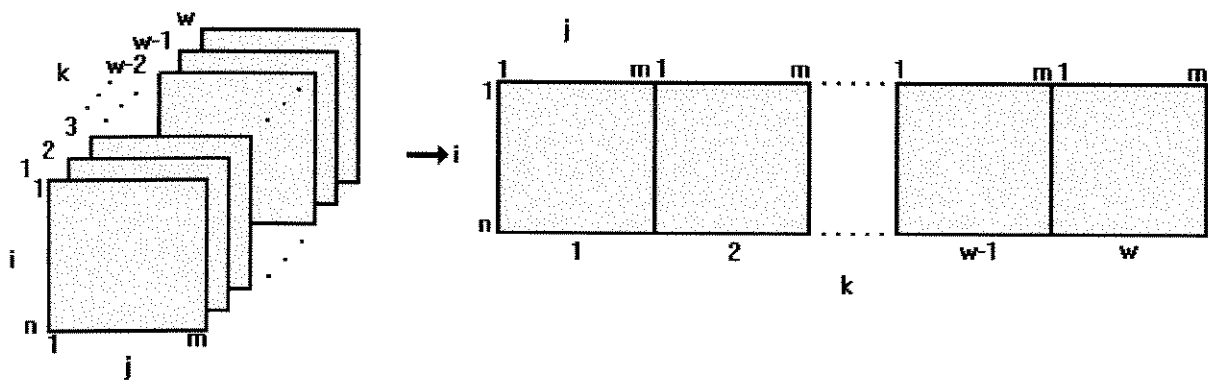


Figura 20 - Obtenção da matriz bidimensional $i \times kj$ a partir da matriz tridimensional $i \times j \times k$, onde i, j e k assumem valores máximos iguais às variáveis $n=16$, $m=27$ e $w=80$, respectivamente; para aplicação do PLS multi-dimensional.

2.4. PROCESSAMENTO QUIMIOMÉTRICO

O ambiente onde se trabalhou no processamento quimiométrico dos dados foi o ambiente MATLAB, este é essencialmente um ambiente de computação e uma linguagem de programação com comandos que podem ser desenvolvidos para executar processamento de dados, álgebra matricial e análise numérica.

O nome MATLAB é um acrónimo para **MATrix LABoratory** e é um produto da firma MathWorks, Inc. O MATLAB fornece um ambiente de programação com matrizes formando a estrutura básica de dados (**Math Works, 1993**). Isto possibilita resolver problemas numéricos em uma fração do tempo que se levaria para desenvolver programas em linguagens tais como Fortran, BASIC ou C. A notação é natural, ou seja não há necessidade de se aprender novos comandos de sintaxe.

A força real no uso do MATLAB está nos “Toolbox” que podem ser adicionados. “Toolbox” para MATLAB são disponíveis para redes neurais, estatística, processamento de sinais, otimização e técnicas quimiométricas. Presentemente dois “Toolbox” para quimiometria estão disponíveis comercialmente. O pacote original, foi escrito por Neal Gallanger disponível comercialmente pela MathWorks; o mais recente, denominado “PLS Toolbox”, foi escrito por Barry Wise e Neal Gallanger e está disponível pela firma Eigenvector Technologies (**WISE, 1992**). Estas bibliotecas de funções matemáticas operacionam o MATLAB para resolver classes particulares de problemas. Ou seja, estas bibliotecas de funções adicionais expandem a capacidade do MATLAB, fornecendo aplicações específicas. O “TollBox” de Quimiometria é um módulo para uso com o MATLAB contendo ferramentas para as técnicas quimiométricas básicas tais como regressão linear múltipla, regressão

de componentes principais, e regressão dos quadrados mínimos parciais em variáveis latentes (**WISE, 1992**).

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

Os programas utilizados são listados no Capítulo 7; a maneira como os mesmos operam será discutida no capítulo 3.

Capítulo 3

MÉTODOS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

3.1. INTRODUÇÃO

A Quimiometria é a parte da Química que utiliza métodos matemáticos e estatísticos, assim como aqueles baseados em lógica matemática, aplicados a problemas de origem química para definir ou selecionar as condições de medidas e experiências, e permitir a obtenção do máximo de informações a partir da análise dos dados químicos.

A extração de informação dos resultados de um experimento muito freqüentemente envolve a análise de um considerável número de variáveis. Freqüentemente um pequeno número destas pode conter muitas informações químicas, enquanto a maioria adiciona pouco ou nada àquilo que é interpretado em termos químicos.

Com a sofisticação sempre crescente das técnicas instrumentais, impulsionada pela grande disponibilidade de microprocessadores e microcomputadores no laboratório químico, tornam-se necessários tratamentos de dados mais complexos do ponto de vista matemático e estatístico, a fim de relacionar os sinais obtidos (intensidades, por exemplo) com os resultados desejados (concentrações). Muita ênfase tem sido dada aos sistemas multivariados, nos quais se pode medir muitas variáveis simultaneamente (ou de forma seqüencial, com grande eficiência) ao se estudar uma amostra qualquer. Nesses sistemas, a conversão da resposta instrumental no dado químico de interesse, requer a utilização de técnicas de estatística multivariada, álgebra

matricial e análise numérica. Essas técnicas se constituem no momento na melhor alternativa para a interpretação de dados e para a aquisição do máximo de informações sobre o sistema (BRUNS, 1985).

Um conceito básico importante é o de fator, porque os Métodos de Calibração Multivariada, que serão vistos a seguir, são processos de modelagem de fatores. Segundo uma definição geral, fator é uma combinação linear de variáveis originadas de uma matriz **X** ou **Y**, as quais serão relacionadas.

Parte substancial das atividades em Quimiometria está voltada à resolução de picos sobrepostos, tanto na análise de substâncias puras como na de misturas. O método multivariado de análise de componentes principais vem se tornando método padrão na separação de picos sobrepostos em análise de misturas de muitos componentes.

Os dados químicos multivariados podem ser arranjados na forma de uma tabela de dados, onde objetos são dispostos em linhas e variáveis em colunas. Os objetos freqüentemente são compostos químicos, e as variáveis valores de concentrações, pH, condutividade, tempos em sistemas de fluxo, alturas (ou áreas) de espectros ou picos cromatográficos.

A notação normalmente empregada em álgebra linear e utilizada pelos principais autores de textos sobre Quimiometria será aqui utilizada. Letras maiúsculas em negrito representarão matrizes, e letras minúsculas em negrito representarão vetores (linhas ou colunas de matrizes). As letras minúsculas normais representarão escalares, que podem ser elementos de matrizes (a_{ij}), de vetores (a_j) ou constantes (a). A transposta de uma matriz ou vetor será representado por um sobrescrito "T", como por exemplo $\mathbf{X}^T$. A operação da transposição é dada pela troca das linhas pelas colunas.

A tabela de dados pode ser representada como uma matriz, do tipo mostrado na Figura 21, com n linhas e p colunas, onde o elemento x_{ki} da matriz de dados, indica o valor do k -ésimo objeto e da i -ésima variável.

É possível estabelecer uma relação entre duas matrizes de dados X e Y , quando houver uma dependência entre as propriedades que descrevem cada uma delas. A forma de estabelecer essa relação é a base da **Calibração Multivariada** (POPPI, 1993).

A **Calibração Multivariada** consiste basicamente de duas fases: a **calibração** e a **previsão**.

Na fase de calibração, tomando como exemplo o caso de determinações voltamétricas de espécies eletroativas em misturas, são obtidos n voltamogramas para n amostras das misturas, com p valores de potenciais, obtendo-se uma matriz Y , com n linhas e p colunas, e uma matriz X , com n linhas e q colunas, n linhas do número de misturas e q colunas dos componentes da mistura. A matriz X forma o **bloco das variáveis independentes**, enquanto a matriz Y o **bloco das variáveis dependentes**. Os dados utilizados nesta etapa constituem o **Conjunto de Treinamento**.

O próximo passo é desenvolver um modelo matemático apropriado que melhor possa reproduzir X a partir dos dados da matriz Y . Esse modelo é utilizado na fase de previsão para estimar as concentrações dos constituintes de novas amostras, a partir de seus voltamogramas. Os dados utilizados nesta fase formam o **Conjunto Teste**.

Os dados para a calibração multivariada podem ser organizados conforme mostrado na Figura 22.

Muitas vezes, antes que o modelo seja desenvolvido, é conveniente tratar os dados de modo a tornar os cálculos computacionais melhor

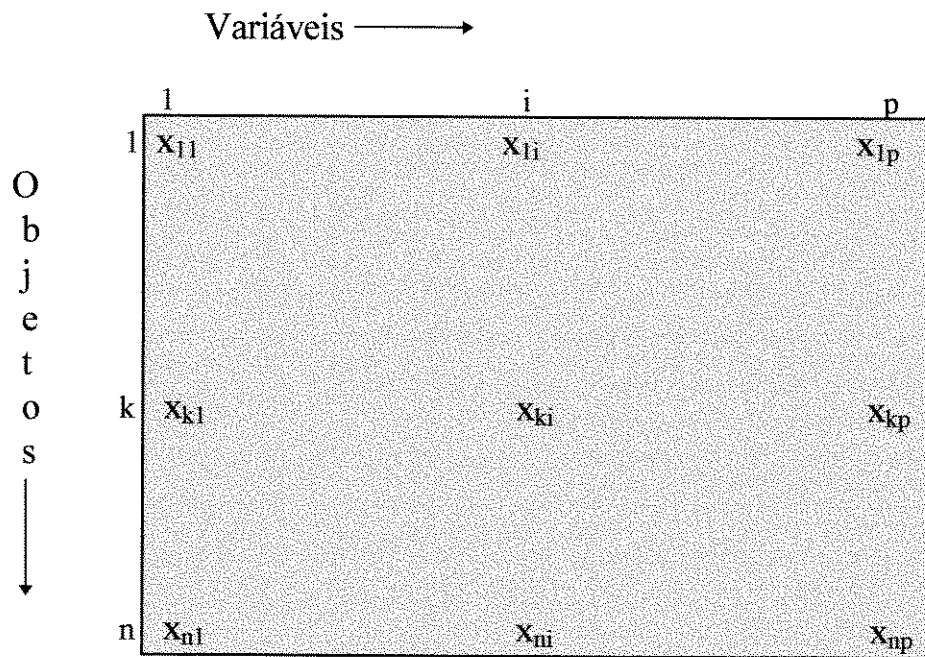


Figura 21 - Matriz de dados químicos

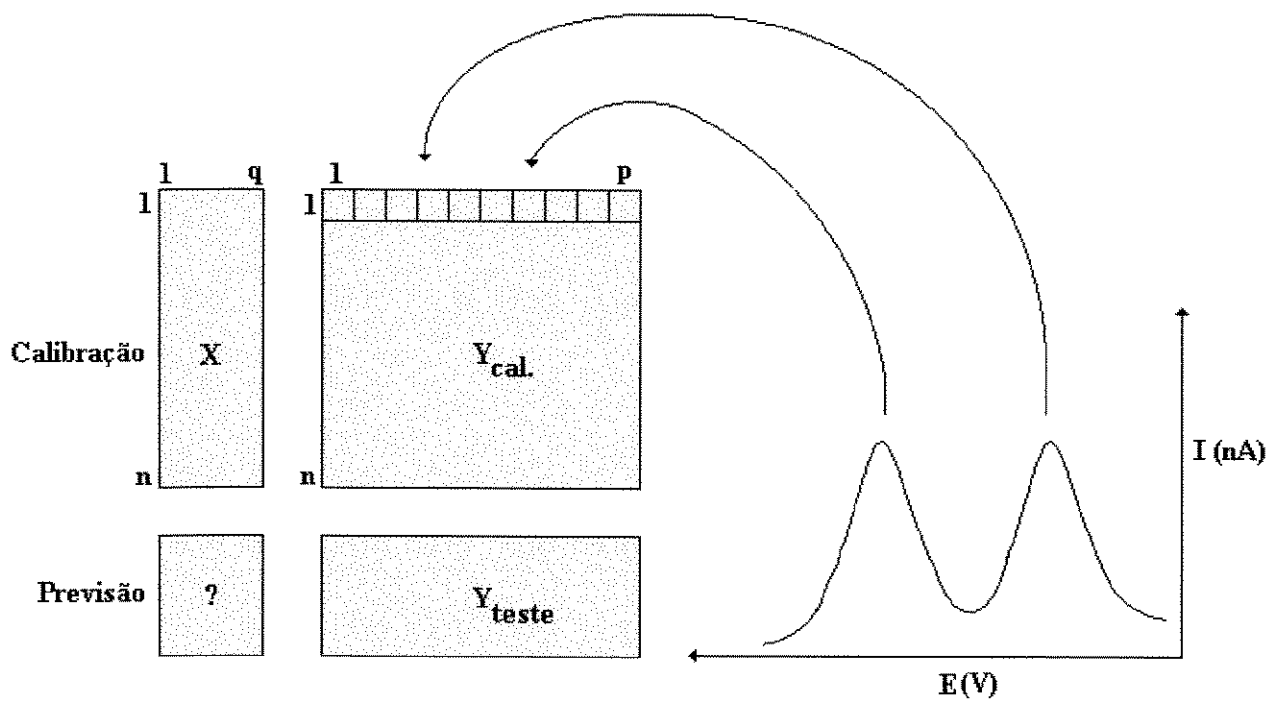


Figura 22 - Organização dos dados voltamétricos para a calibração multivariada no PLS bidimensional.

condicionados. Normalmente, o primeiro passo envolve um **escalamiento** fazendo com que cada variável tenha a mesma influência no estágio inicial dos cálculos. Esta operação é feita pela divisão de todos os valores de uma certa variável pelo seu desvio padrão, de forma que a **variância** torna-se **unitária**. Isso assegura que as influências relativas das diferentes variáveis sobre os cálculos sejam independentes das suas unidades, pois passam a ser expressas em unidades de desvio padrão. Os dados também podem ser **centrados na média**, isso corresponde a fazer com que, para cada variável, seus valores tenham **média zero**. Durante toda a descrição dos métodos matemáticos discutidos a seguir, assume-se que as variáveis tem média zero.

Métodos de Calibração Multivariada têm sido cada vez mais utilizados em química analítica, principalmente quando os componentes presentes numa mistura necessitam ser determinados, mas a informação analítica disponível não apresenta seletividade. Dentre esses métodos, há um enorme destaque ao método dos **Mínimos Quadrados Parciais (PLS)**. Estes, vêm ganhando importância devido principalmente à simplicidade do algoritmo e excelente poder de previsão.

3.2. ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (“PCA”)

A Análise das Componentes Principais (PCA, de “Principal Components Analysis”) é um dos métodos mais freqüentemente utilizados na extração e interpretação de informação de dados multivariados. O conjunto de dados consiste de muitas variáveis como absorvâncias a diferentes comprimentos de onda na região do UV/VIS ou IR, ou quantidades de diferentes constituintes em amostras para análise.

A Análise das Componentes Principais faz o seguinte: (a) transforma as variáveis originais em novos eixos (Componentes Principais) ortogonais, de tal maneira que os dados expressos como os “scores” naqueles eixos não apresentam correlação entre si; (b) expressa tanto quanto possível a variação total dos dados em poucos Componentes Principais; e (c) cada Componente Principal derivada sucessivamente expressa quantidades decrescentes da variação (SMITH, 1991).

A Análise das Componentes Principais é usualmente conduzida por um método conhecido como Decomposição de Valores Singulares (SVD). Para uma matriz $\mathbf{D}$, $m \times n$, a aplicação desta metodologia fornece,

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

onde $\mathbf{U}$ é a matriz $n \times m$, e $\mathbf{S}$ e $\mathbf{V}$ são matrizes $n \times n$ ($\mathbf{S}$ é a matriz diagonal). A matriz $\mathbf{R} = \mathbf{U} * \mathbf{S}$ é chamada matriz $n \times m$ dos “scores” e a matriz $\mathbf{C} = \mathbf{V}^T$ é a matriz $n \times n$ dos “loadings”. Numa representação geométrica, a matriz de dados originais pode ser considerada como m pontos colocados em gráficos em um espaço n -dimensional em que os eixos originais sofreram rotação para um novo conjunto de eixos ortogonais. As coordenadas dos pontos originais neste novo espaço são dadas pela matriz dos “scores”, e a orientação dos novos eixos no espaço dos eixos originais é dada pela matriz dos “loadings” ou autovalores.

A derivação das componentes principais é feita da seguinte maneira: considerando um conjunto de dados onde $x_1, x_2, \dots, x_p$ são as p variáveis, a primeira Componente Principal é dada pela combinação linear de todas elas, com um peso a_p a cada uma respectivamente, como abaixo:

$$CP_1 = a_1.x_1 + a_2.x_2 + \dots + a_p.x_p$$

No exemplo mais simples mostrado na Figura 23 (SMITH, 1991), as duas variáveis são substituídas pela Primeira Componente Principal, CP_1 ,

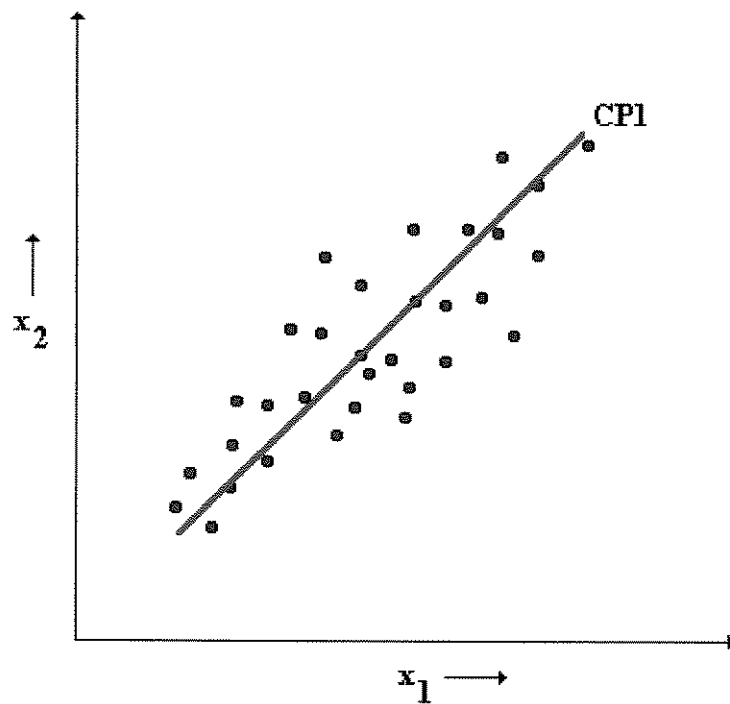


Figura 23 - Representação geométrica da primeira componente principal, a partir das duas variáveis originais x_1 e x_2 .

cuja direção está na direção da maior variância dos dados. A primeira Componente Principal é a combinação linear das variáveis para as quais os “scores” tem máxima variação.

A segunda Componente Principal é a combinação linear, ortogonal à primeira Componente Principal, sujeita à mesma restrição, dos “scores” não correlacionados com os “scores” de maior variação. Sucessivamente as Componentes Principais de maiores ordens são derivadas no mesmo caminho, com a requisição de serem ortogonais a todas as outras Componentes Principais anteriores.

A análise das Componentes Principais tem importantes aplicações em Química tais como análise de misturas, reconhecimento de padrões e calibração multivariada. A primeira destas aplicações tenta determinar o número de componentes presentes em uma amostra desconhecida. A aplicação desta técnica no reconhecimento de padrões faz uso dos autovetores e dos “scores” indexando diferenças entre classes. Para aplicações em calibração multivariada, a Análise das Componentes Principais é também utilizada como um método para reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados.

3.3. ANÁLISE DE FATORES EVOLUINTES (“EFA”)

A idéia fundamental da **Análise de Fatores Evoluintes** é seguir a evolução dos pesos da matriz de dados **D** como uma função das variáveis ordenadas, por exemplo pH na titulação espectrofotométrica. Isto é feito por autoanálise numa matriz de dados crescentes. Os logaritmos dos valores singulares correspondentes às componentes principais determinadas por PCA versus o aumento ou decréscimo do pH, são postos em um mesmo gráfico.

A **Análise de Fatores Evoluintes**, EFA (de “Evolving Factor Analysis”), é um método poderoso para a análise de dados multivariados com uma ordem intrínseca produzidos por muitos instrumentos modernos interfaceados a microcomputadores, tais como a especiação em sistemas de múltiplos equilíbrios usando, por exemplo, titulação espectrofotométrica. Os dados podem ser listados, de acordo com os valores de pH, do mais baixo ao mais alto. As primeiras colunas podem conter os dados medidos a baixos valores de pH e as últimas colunas aqueles obtidos a altos valores de pH. O método é baseado na análise repetitiva do autovalor do conjunto de dados das matrizes obtidas durante o processo evolutivo. A autoanálise é executada numa série completa de matrizes, que são construídas por sucessivas adições de espectros à matriz prévia durante o processo evolutivo. Como novas espécies absorventes, os autovalores dos fatores abstratos aumentam por uma ordem de magnitude. Os logaritmos dos autovalores são colocados em gráfico como função da titulação em processo (REN e GAO, 1995).

Começando da primeira linha da tabela de dados, por exemplo, o primeiro voltamograma, os autovetores são sucessivamente calculados para todas as submatrizes X_i que são formadas pelas primeiras $i=1...P$ linhas de acordo com,

$$X_i = S * L + E$$

onde S ($i \times N$) é a matriz de “scores” e L ($N \times N$) a matriz de “loadings”. A primeira e mais importante etapa é a correta determinação do número de fatores desconhecidos, N . Para fazer isto, todos os q autovetores da matriz de dados são usualmente determinados primeiro; isto é o tamanho de S é inicialmente $i \times q$ e de L é $q \times q$. Para a primeira submatriz X_i , que é construída pela primeira linha da tabela de dados, calcula-se o autovetor. Uma segunda linha é então

adicionada e os autovetores são calculados novamente. Na seqüência, a autoanálise é executada sobre três linhas e assim sucessivamente. Em cada etapa, uma linha é adicionada e os valores singulares são computados até que a autoanálise seja efetuada sobre toda matriz X . Desde que o processo de análise de fatores evoluíntes desenvolve-se com variáveis ordenadas, isto é conhecido como **Análise de Fatores Evoluíntes direta**.

Os valores singulares ou, mais freqüentemente, seus logaritmos são colocados em gráficos contra a variável ordenada. Para tornar o gráfico mais claro, todos os pontos calculados para o primeiro autovetor são conectados com uma linha; analogamente linhas são também desenhadas para conectar o segundo autovetor e assim sucessivamente. No eixo da variável ordenada onde um valor singular se sobressai além do nível do ruído, uma nova espécie aparece, conduzindo a um aumento do peso do valor singular. Por exemplo, quando a linha que descreve o primeiro valor singular sobressai-se ao ruído, a detecção da primeira espécie começa no sistema sobre investigação. O ponto onde o segundo valor singular sobressai-se ao ruído indica a presença da segunda espécie e assim por diante. De fato, o número de espécies pode então, em teoria, ser facilmente determinado por inspeção dos gráficos da Análise de Fatores Evoluíntes. O número de valores singulares acima do nível de ruído, isto é o peso da matriz de dados, é igual ao número de espécies implícitas.

Em analogia à Análise de Fatores Evoluíntes direta, pode-se também executar a análise do fim para o início em relação à variável ordenada. Isto é chamado de **Análise de Fatores Evoluíntes Inversa**. Começando com o último voltamograma, os autovetores são novamente determinados para todas as submatrizes X_i formadas pelas últimas $i = 1...p$ linhas da matriz de dados. Os autovetores ou seus logaritmos podem ser dispostos no mesmo gráfico. Para

obter informação sobre o desaparecimento das espécies, o gráfico deve agora ser lido na ordem inversa, isto é, da direita para a esquerda. Um aumento dos valores singulares acima do nível de ruído indica quando uma espécie desaparece do sistema. Então, a combinação de gráficos de Análise de Fatores Evoluintes direta e inversa, fornece informação sobre o aparecimento e desaparecimento dos analitos.

Na seqüência para corretamente associar o aparecimento de uma dada espécie com o seu desaparecimento, assume-se que a primeira espécie no sistema será a primeira a desaparecer, a segunda espécie desaparecerá na seqüência, e assim por diante. Então a região de existência da espécie, também chamada de janela de concentração, é gerada para o i -ésimo composto do ponto onde o peso cresce até o valor i no cálculo da Análise dos Fatores Evoluintes Direta para o ponto onde o peso do N_{i+1} no cálculo inverso. Por outro lado se nesta janela de concentração uma espécie não está presente sua concentração é consequentemente zero.

3.4. REGRESSÃO DOS QUADRADOS MÍNIMOS PARCIAIS (“PLS”)

Os primeiros trabalhos com a utilização do PLS em Química foram feitos no início dos anos 80 por de **SJÖSTRÖM**, et al. (1983). Alguns trabalhos indicam que é uma boa alternativa aos mais clássicos como Regressão Linear Múltipla e Regressão das Componentes Principais pois, os parâmetros do modelo não mudam muito quando diferentes amostras são utilizadas na calibração. Também possui vantagens na programação pois, seu algoritmo é relativamente curto e fácil de ser implementado. É baseado numa extensão do

algoritmo NIPALS (“Nonlinear Iterative Partial Least Squares”), desenvolvido por **WOLD** (1966), que decompõe a matriz de dados originais em uma soma do produto de dois vetores.

O PLS é baseado numa decomposição bilinear da matriz de calibração. **BRO** (1996), explana o algoritmo do PLS de um ponto de vista matemático, geométrico e estatístico. A Figura 24 ilustra a representação geométrica do modelo do PLS. As componentes do PLS **t** e **u** são representadas por vetores como linhas sólidas. Elas estão inclinadas levemente em relação às componentes principais representadas por linhas pontilhadas para estabelecer uma correlação máxima entre a componente de respostas, **u**, e a componente de descrição, **t**.

O algoritmo a ser mostrado, assim como toda a teoria, está baseado num trabalho de **GELADI** e **KOWASLKI** (1986). Entretanto, existem outras formulações para o PLS, cada qual tendo suas vantagens para uma determinada aplicação em particular.

No PLS tanto a matriz das variáveis independentes **X**, como a das variáveis dependentes **Y** são representadas pela Análise das Componentes Principais:

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

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

Uma relação entre os dois blocos pode ser realizada correlacionando-se os “scores” para cada componente de cada vez, utilizando-se um modelo linear:

$$\mathbf{u}_h = \mathbf{b}_h \mathbf{t}_h$$

onde

$$\mathbf{b}_h = \mathbf{u}_h \mathbf{t}_h / \mathbf{t}_h^T \mathbf{t}_h$$

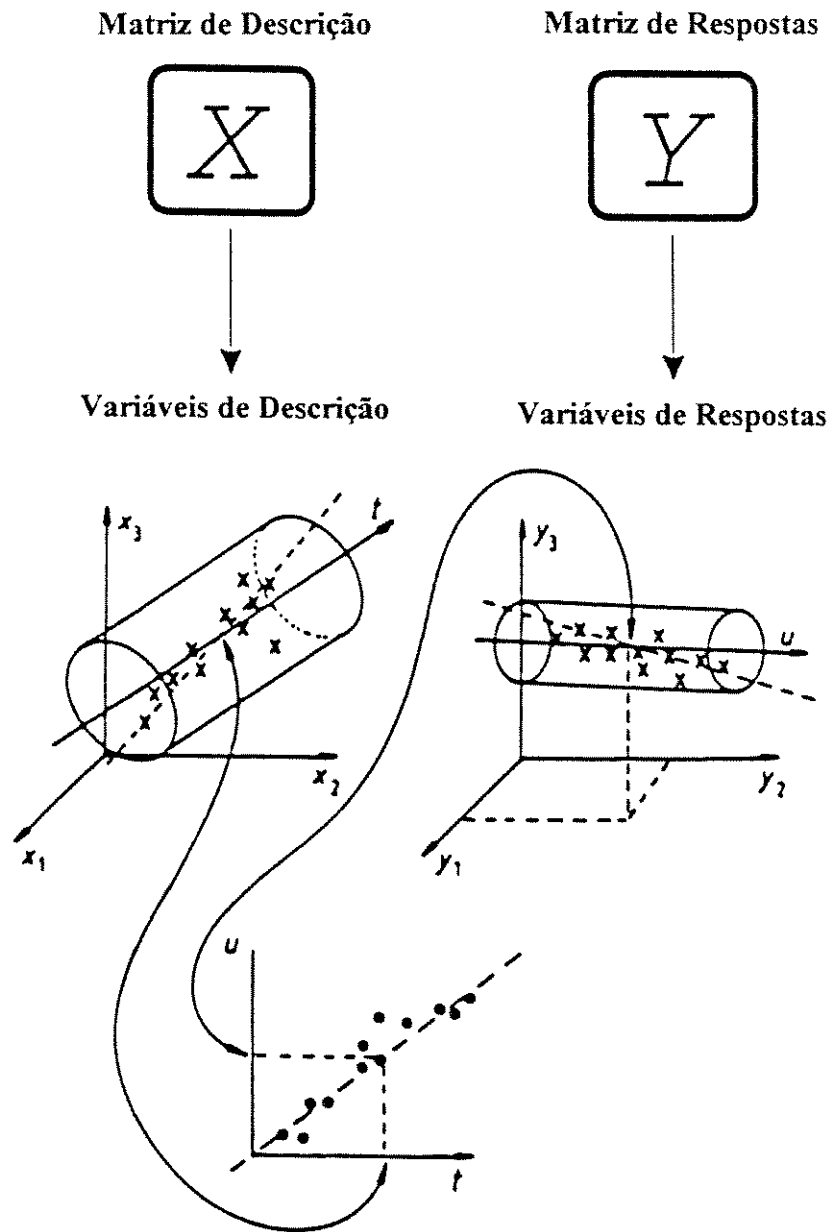


Figura 24 - Representação geométrica do modelo do PLS

para cada $h=1,2,\dots,a$, componentes principais.

Esse modelo, entretanto não é o melhor possível. Isto porque a Análise de Componentes Principais é feita em cada matriz separadamente, podendo resultar numa relação não muito satisfatória (não linear entre os “scores” dos dois blocos). Deve-se buscar um modelo onde as matrizes de resíduos **E** e **F** sejam as menores possíveis e, ao mesmo tempo, conseguir uma relação linear entre **t** e **u**.

No PLS isto é feito por uma leve mudança nos valores dos “scores”, de forma a produzir a melhor relação possível. Há uma fusão das modelagens do algoritmo NIPALS para os dois blocos, sendo porém alterado os “scores” nos passos iniciais.

Uma das etapas fundamentais em calibração multivariada está na escolha correta do número de componentes principais, existindo o risco da perda de informação com a utilização de um número insuficiente. Por outro lado, o emprego de um número maior que o necessário só introduz ruídos na modelagem.

3.5. REGRESSÃO DOS QUADRADOS MÍNIMOS PARCIAIS MÚLTIPLOS (“N-PLS”)

O PLS pode ser estendido para dados multidimensionais, onde as variáveis não são apenas um vetor, mas dados dispostos numa matriz. Exemplos destes casos podem ser vistos num sistema de HPLC com o detetor espectrofotométrico constituído de um arranjo de fotodiodos, registrando absorvâncias, para vários comprimentos de onda quase instantaneamente.

A nomenclatura para o PLS multi-dimensional obedece às seguintes normas: escalares são indicados por letras minúsculas em *itálico*, vetores por letras minúsculas em **negrito**, matrizes bidimensionais por letras maiúsculas em

negrito, matrizes tridimensionais por letras maiúsculas sublinhadas e em negrito e finalmente matrizes quadri-dimensionais por letras maiúsculas duplamente sublinhadas e em negrito. As letras I, J, K, L e M são utilizadas para indicar a dimensão das diferentes ordens.

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

A análise de regressão baseada no PLS, como visto antes, é um método para construir modelos de regressão entre variáveis independentes, chamadas **x**, e dependentes, chamadas **y**. O algoritmo trabalha nos dados originais, de tal maneira que para cada amostra/objeto, diversas variáveis são determinadas. O conjunto de amostras de calibração pode subsequenteemente ser arranjado em duas matrizes, uma contendo as variáveis independentes e a outra as variáveis dependentes. Cada linha destas matrizes contém as variáveis determinadas para cada amostra.

O mais importante aspecto do PLS é que a decomposição é realizada de tal maneira que os vetores “scores” computados sucessivamente tem

a propriedade de máxima covariância com a parte não explicada das variáveis dependentes. Esta é a principal diferença do PLS em relação à PCR.

A generalização do PLS para um conjunto de dados em mais que duas dimensões foi descrito por **WOLD**, et al. (1987). Assumindo que X e Y consistem dos valores reais e estimados, respectivamente, o PLS tridimensional leva ao seguinte modelo:

$$X_{nij} = \sum t_{ns} p_{sij} + e_{nij} ; n = 1, \dots, N; i = 1, \dots, I; j = 1, \dots, J$$

$$Y_{nij} = \sum u_{ns} q_{sij} + f_{nij} ; n = 1, \dots, N; i = 1, \dots, M; j = 1, \dots, P$$

que pode ser escrito na forma matricial:

$$\underline{X} = \underline{T} \otimes \underline{P}^T + \underline{E}$$

$$\underline{Y} = \underline{U} \otimes \underline{Q}^T + \underline{F}$$

e

$$\underline{U} = \underline{T} * \underline{B} + \underline{H}$$

onde $\underline{P}$ é uma matriz tridimensional com os elementos típicos p_{sij} , e $\underline{Q}$, $\underline{E}$ e $\underline{F}$ são análogas a $\underline{P}$ e $\otimes$ representa o produto de Kronecker. O produto de Kronecker de duas matrizes A e B é definido como sendo a matriz C que tem a seguinte forma particionada:

$$C = \left[\begin{array}{ccc} a_{11}B & \dots & a_{1w}B \\ \vdots & & \vdots \\ a_{v1}B & \dots & a_{vw}B \end{array} \right]$$

isto é, cada elemento da matriz A é multiplicado por toda a matriz B .

As ordens de X e Y podem ser diferentes. A decomposição dos blocos de matrizes tanto no PLS tradicional quanto no PLS tridimensional é ilustrada na figura 25 (**XIE** et alli, 1995).

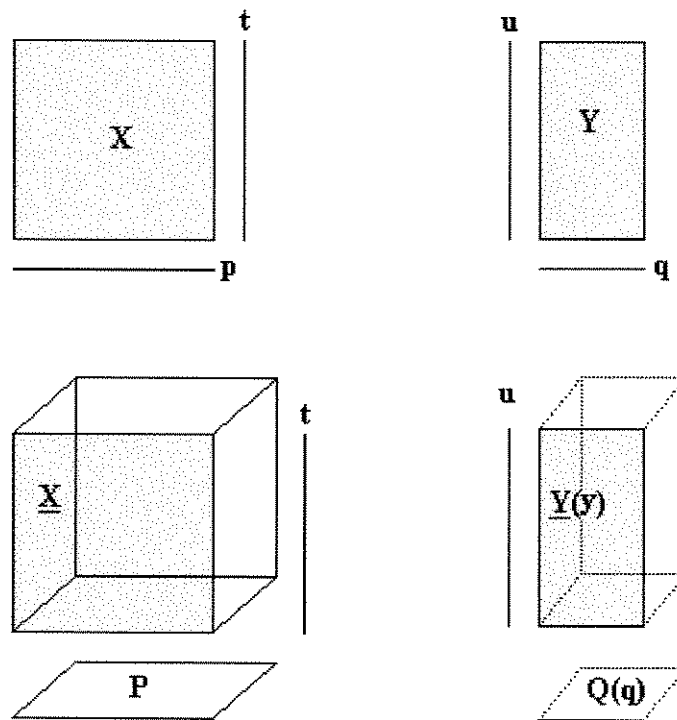


Figura 25 - Esquemas comparativos entre os modelos de PLS bi- e tri-dimensional. O modelo de PLS com uma variável latente para dois blocos de matrizes X e Y e para matrizes tridimensionais $\underline{Y}$ e $\underline{X}$. As linhas pontilhadas representam a possível ausência da terceira dimensão.

Capítulo 4

SISTEMA EM ESTUDO Pb(II) / Tl(I) / Cd(II)

4.1. INTRODUÇÃO

A resolução de sinais sobrepostos é um problema geral em Química Analítica. Afortunadamente, em eletroanálise este não é o problema mais severo porque podemos minimizar o problema por deslocamento do sinal como desejado na escala de potencial, por exemplo, pela troca do pH, do eletrólito, etc.. Isto explica o porque de poucas tentativas terem sido feitas para conseguir uma alta resolução do sinal por meios instrumentais ou matemáticos (**HENRION et al.**, 1990).

A utilização de polarografia de pulso diferencial está no momento muito bem estabelecida. Esta técnica analítica é caracterizada por sua seletividade e sensibilidade e é portanto, freqüentemente utilizada para a determinação de metais pesados (Cobre, Cádmio, Chumbo, etc.) em diferentes matrizes sem uma separação prévia. Por outro lado, em certos casos, a seletividade desta técnica não é suficiente para resolver misturas de íons metálicos tais como Cd(II) e In(II) ou Pb(II) e Tl(I) porque os potenciais dos picos destes íons são muito próximos e conseqüentemente os polarogramas são consideravelmente sobrepostos.

NEVADO e FLORES (1992), propõem um método de determinação de misturas com picos voltamétricos sobrepostos, exemplificando com misturas binárias de Cádmio(II)/Índio(III) e Tálho(I)/Chumbo(II) por polarografia de pulso diferencial. Este método consiste em medir a intensidade da corrente derivada para o voltamograma da mistura no potencial onde a corrente é igual a

zero para os voltamogramas das espécies individuais. Foi observado que para qualquer relação entre os íons em mistura a relação entre a concentração de um deles e a corrente medida neste processo é linear. Por outro lado esta metodologia só pode ser utilizada para sistemas em que os potenciais de pico não se alteram significativamente com a concentração, pois uma troca nestes potenciais resultaria numa troca de locais de medidas das correntes derivadas.

BATLEY e FLORENCE (1975) propõem a determinação de Tl(I) em águas naturais por voltametria de pulso diferencial com redissolução anódica, utilizando como eletrólito de suporte, tampão acetato a pH 4,6. Tl(I) apresenta uma onda bem definida tanto utilizando eletrodo de filme de mercúrio quanto eletrodo de gota pendente de mercúrio. No filme de mercúrio o pico ocorre num potencial de -0,67 Volts vs ECS, onde está sujeito à interferência do Cd(II) cujo pico ocorre a -0,60 Volts vs ECS, enquanto na gota pendente de mercúrio o pico para Tl(I) ocorre a -0,47 Volts vs ECS e pode ser obscurecido pelo Pb(II) cujo pico ocorre a -0,41 Volts vs ECS. A adição de EDTA ao tampão acetato foi utilizada para mascarar estas interferências.

BROWN e BROWN (1981) demonstram a utilização do filtro de Kalman para análise de multicomponentes utilizando voltametria de varredura linear. Para tanto, trabalham com misturas de Cd(II) / In(III) e Cd(II) / In(III) / Pb(II) cujos componentes apresentaram picos com separação entre 40 e 200 mV entre eles. Seguindo a mesma metodologia, **SCOLARI (1984)** analisou misturas de Tl(I) / Pb(II), utilizando voltametria de onda quadrada; a relação entre as concentrações foi variada de 50:1 até 1:60. Em misturas onde Tl(I) era o constituinte em maior concentração o erro estimado foi da ordem de 1%, por outro lado onde Pb(II) era o constituinte em maior concentração o erro observado situou-se entre 2 e 5%. Experimentos posteriores incluindo Cd(II) na mistura mas

não no modelamento, mostraram uma boa correlação na quantificação usando-se o filtro de Kalman.

A aplicação da regressão dos quadrados mínimos parciais (PLS) a dados de voltametria de pulso diferencial com redissolução anódica (ASV), obtidos para Tl(I) e Pb(II) é proposta por **HENRION**, et al. (1990). Os resultados obtidos por este trabalho demonstram claramente que a utilização desta metodologia no tratamento dos dados analíticos, levam a uma melhoria na reprodutibilidade. Obviamente o melhor resultado conseguido é devido ao PLS fazer uso de toda a informação contida no voltamograma.

Aplicando a mesma técnica ASV, **LUKASZEWSKI** e **ZEMBRZUSKI** (1992), determinaram Tl(I) em solos utilizando a metodologia de análise em fluxo. O eletrólito consistia de uma mistura de ácido ascórbico com EDTA.

Um eletrodo de filme de mercúrio foi utilizado por **VON LAAR**, et al. (1994) na análise de Tl(I) em solos pela técnica ASV, onde o eletrólito era ácido ascórbico e EDTA, a pH 4,5. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos por espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite e mostraram boa concordância. Sob estas condições as interferências de Pb(II) e Cd(II) são eliminadas. A adição de ácido ascórbico é necessária para remover a interferência do ferro(III).

A determinação de Tl(I) pela técnica voltamétrica de pulso diferencial com redissolução anódica é proposta por **CAI** e **KHOO** (1995), utilizando eletrodo de pasta de carbono modificada com 8-hidroxiquinolina. De acordo com os autores, a presença de EDTA no eletrólito de suporte além de complexar outros interferentes, complexa Tl(III), assim o tálio apresenta apenas um pico voltamétrico.

4.2. FORMAÇÃO DO GRADIENTE PARA Pb(II) / Tl(I) / Cd(II).

A injeção de um volume fixo de solução tampão de acetato de sódio/Ácido acético, pH 4,85, contendo EDTA $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ numa linha contendo apenas o tampão, que vai diretamente a uma câmara de mistura, a qual recebe também uma linha com os íons metálicos a serem analisados, causa por dispersão a criação de um gradiente de EDTA, o qual complexa seletivamente os íons metálicos. É importante assinalar que a acidez na linha de fluxo que se dirige ao detetor não sofre modificações, apenas ocorre variação na concentração do EDTA.

Conforme as constantes de complexação dos íons estudados, Pb(II), Tl(I) e Cd(II), com o EDTA, pode-se inferir a ordem que os complexos aparecem, ou no caso específico deste experimento, a ordem em que os mesmos desaparecem. Para o caso do Tl(I), em pH 4,85, não há aparentemente complexação e assim a onda voltamétrica relativa a este íon permanece constante durante todo o gradiente criado (Figura 26). Já para os casos dos íons Pb(II) e Cd(II), como a constante de complexação com EDTA para o Pb(II) é maior que para o Cd(II) têm-se uma descomplexação primeiramente para o cádmio e em seguida para o chumbo (Figuras 27 e 28).

No intervalo de potencial estudado (-0,2 a -0,9 Volts)s os íons estudados apresentaram os seguintes potenciais de pico:

$$\text{Pb(II)} = -0,45 \text{ Volts} \quad \text{Tl(I)} = -0,57 \text{ Volts} \quad \text{Cd(II)} = -0,62 \text{ Volts}$$

Pelos voltamogramas dos três íons individuais numa concentração de $60 \mu\text{g mL}^{-1}$, pode-se verificar que enquanto as ondas voltamétricas dos íons Cd(II) e Pb(II), são mais estreitas, o mesmo não ocorre com a onda voltamétrica do Tl(I). Esta ocupa praticamente toda o intervalo, para o eletrólito utilizado.

Para todos os casos foram feitas 80 varreduras, no intervalo de potencial estudado, com um tempo de 2s entre cada varredura. Foram obtidas

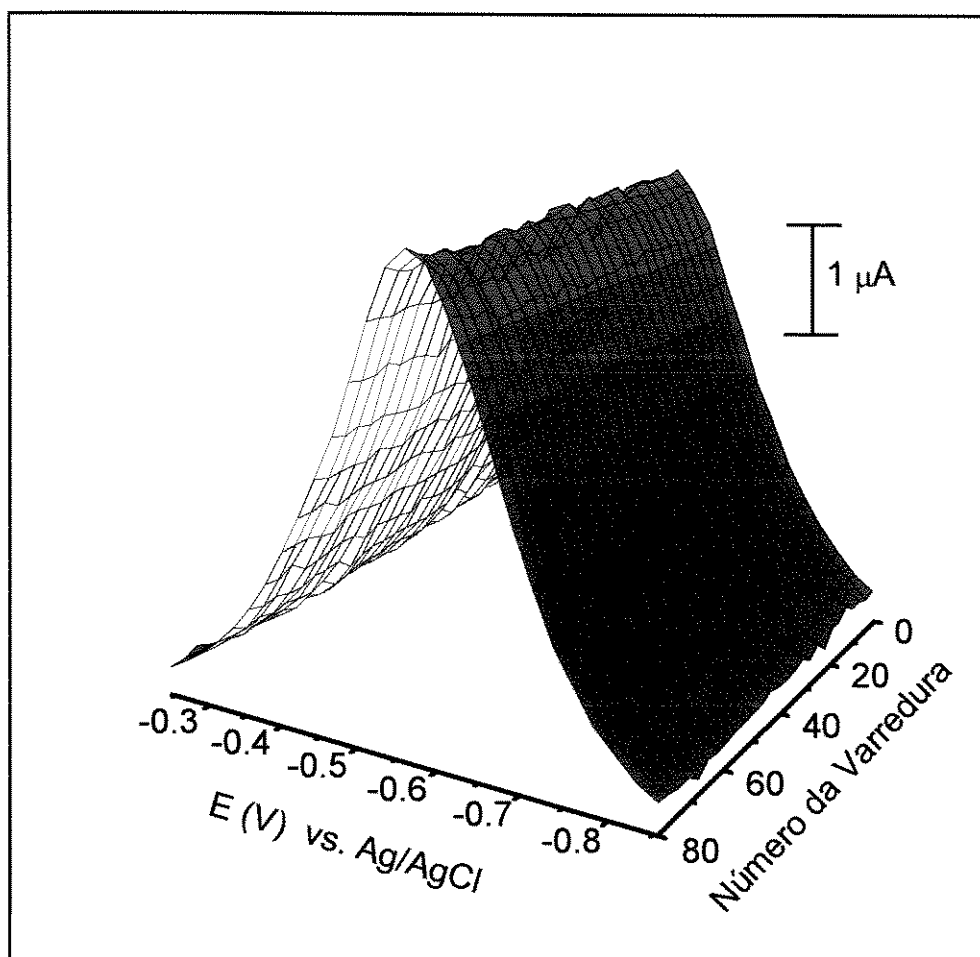


Figura 26 - Voltamogramas de Tálzio(I) $60 \mu\text{g mL}^{-1}$, no gradiente de EDTA e eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COONa} / \text{CH}_3\text{COOH}$, $\text{pH} = 4,85$. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s.

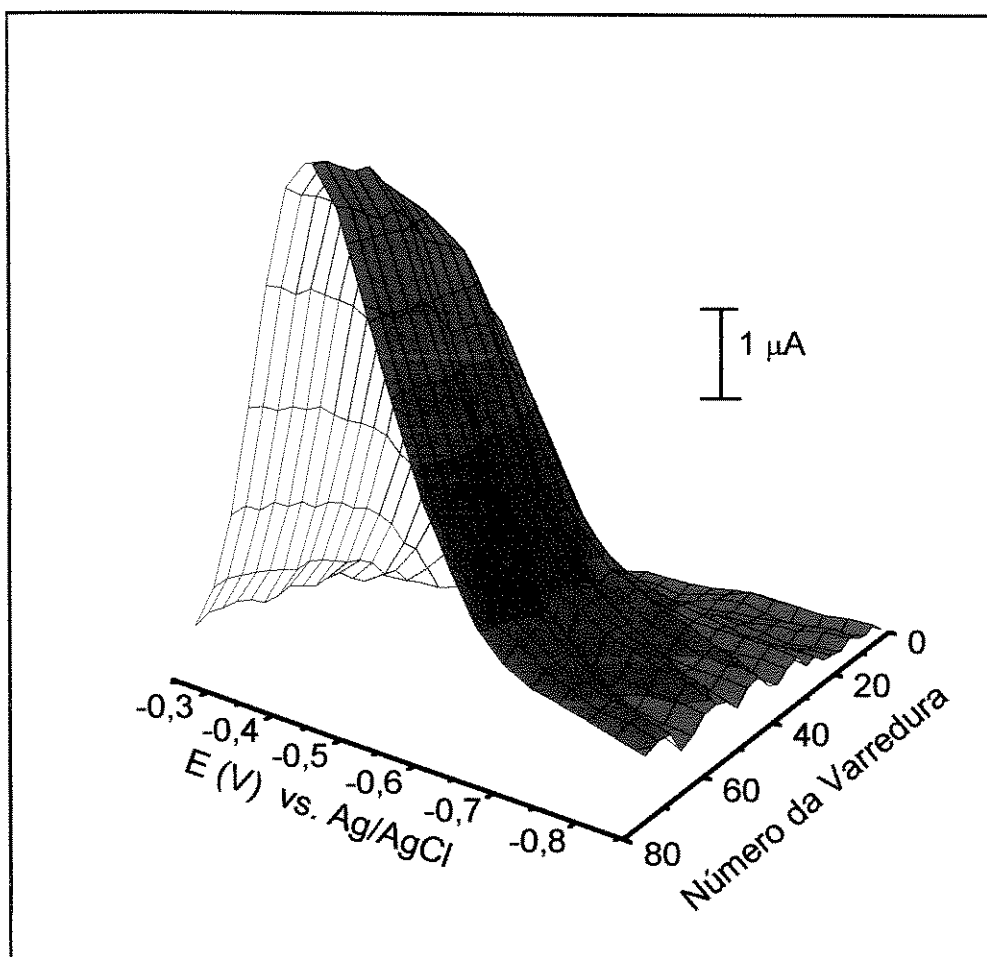


Figura 27 - Voltamogramas de Chumbo(II) $60 \text{ m}\mu\text{g L}^{-1}$, no gradiente de EDTA e eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COONa} / \text{CH}_3\text{COOH}$, $\text{pH} = 4,85$. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s.

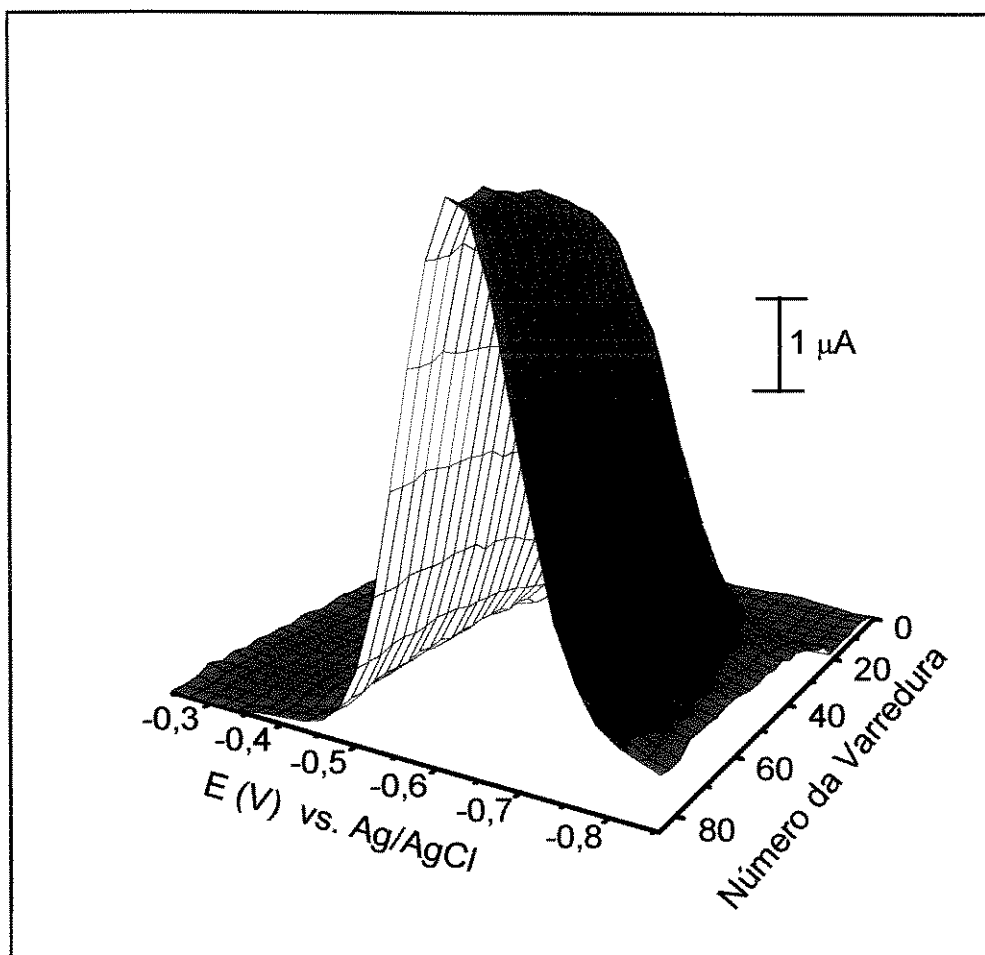


Figura 28 - Voltamogramas de Cádmio(II) $60 \mu\text{g mL}^{-1}$, no gradiente de EDTA e eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COONa} / \text{CH}_3\text{COOH}$, $\text{pH} = 4,85$. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2s.

respostas de corrente para 31 valores diferentes de potencial igualmente espaçados. Para melhorar a apresentação dos voltamogramas aplicou-se o procedimento da média móvel, os chamados filtros digitais, e preferencialmente com 5 valores sequenciais, com pesos 1, 2, 3, 2, e 1 respectivamente, de acordo com (ROHWEEDER, 1995). Assim todas as matrizes de dados apresentavam após esta operação 27 valores de corrente para cada voltamograma.

As Figuras 29, 30 e 31 mostram o efeito de se variar a concentração dos íons Tl(I), Pb(II) e Cd(II), dentro do gradiente de EDTA, na região de potencial onde cada um apresenta o pico máximo de corrente. Para todas as concentrações para o íon Tl(I), o perfil é o mesmo, ou seja, não há complexação e a corrente para cada valor de concentração é praticamente a mesma, com exceção da varredura para a concentração igual a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ onde se observa um pequeno aumento da corrente entre a primeira varredura e a décima quinta. Quanto ao íon Pb(II), como a constante de complexação com EDTA é maior que aquela correspondente para o íon Cd(II), observa-se que só após a vigésima varredura começa a aparecer o perfil voltamétrico do primeiro, quando na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Finalmente o íon Cd(II) começa a mostrar seu perfil voltamétrico por volta da décima sétima varredura, também na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$.

5.3. ESTABILIDADE PARA Pb(II) / Tl(I) / Cd(II)

O sistema montado mostrou boa estabilidade frente à resposta voltamétrica dos íons estudados na ausência do gradiente de concentração de EDTA, como pode ser observado nas Figuras 32, 33 e 34. Nestes casos aproveitaram-se dados do experimento anterior, nas varreduras em que o EDTA já havia sido praticamente eliminado por diluição na câmara de mistura. Os dados

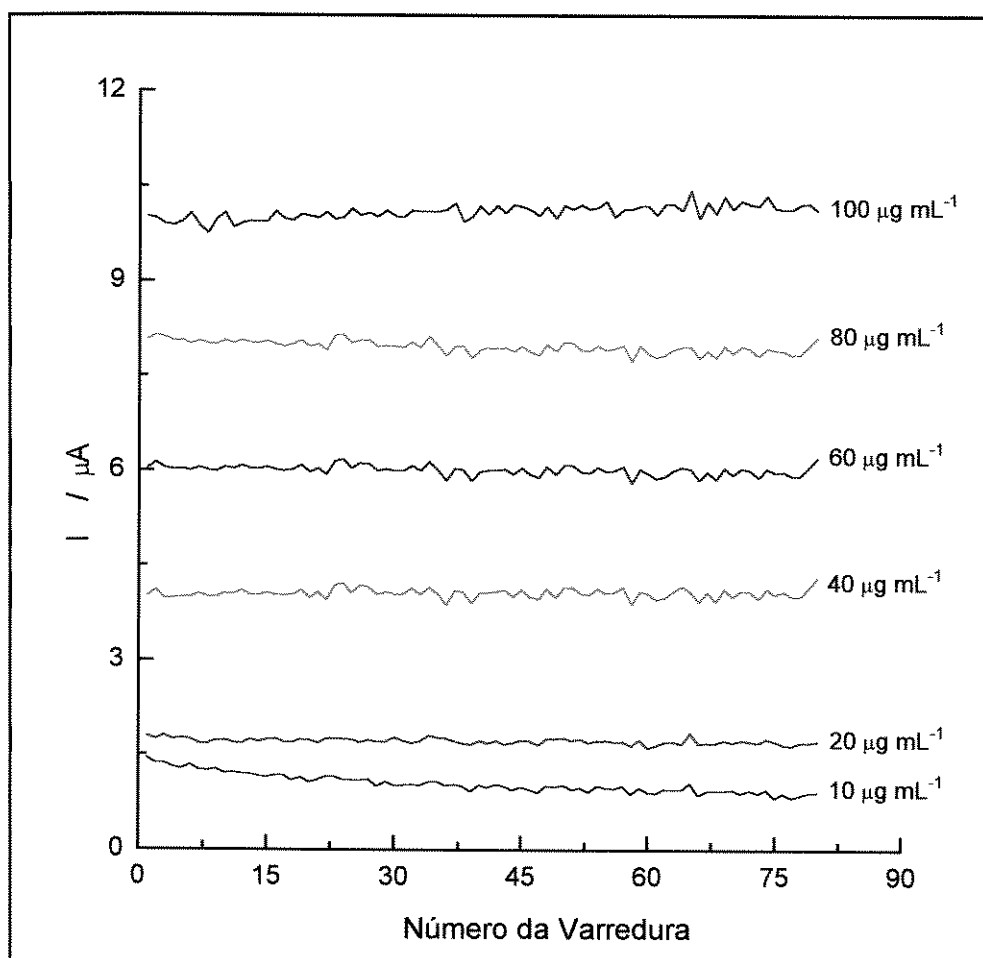


Figura 29 - Máximo de corrente para Tálcio(I) no gradiente de EDTA e eletrólito de suporte CH₃COONa / CH₃COOH, pH = 4,85, no potencial de -0,57 V vs Ag/AgCl. Taxa de varredura = 175 mV s⁻¹; Tempo entre varreduras = 2 s.

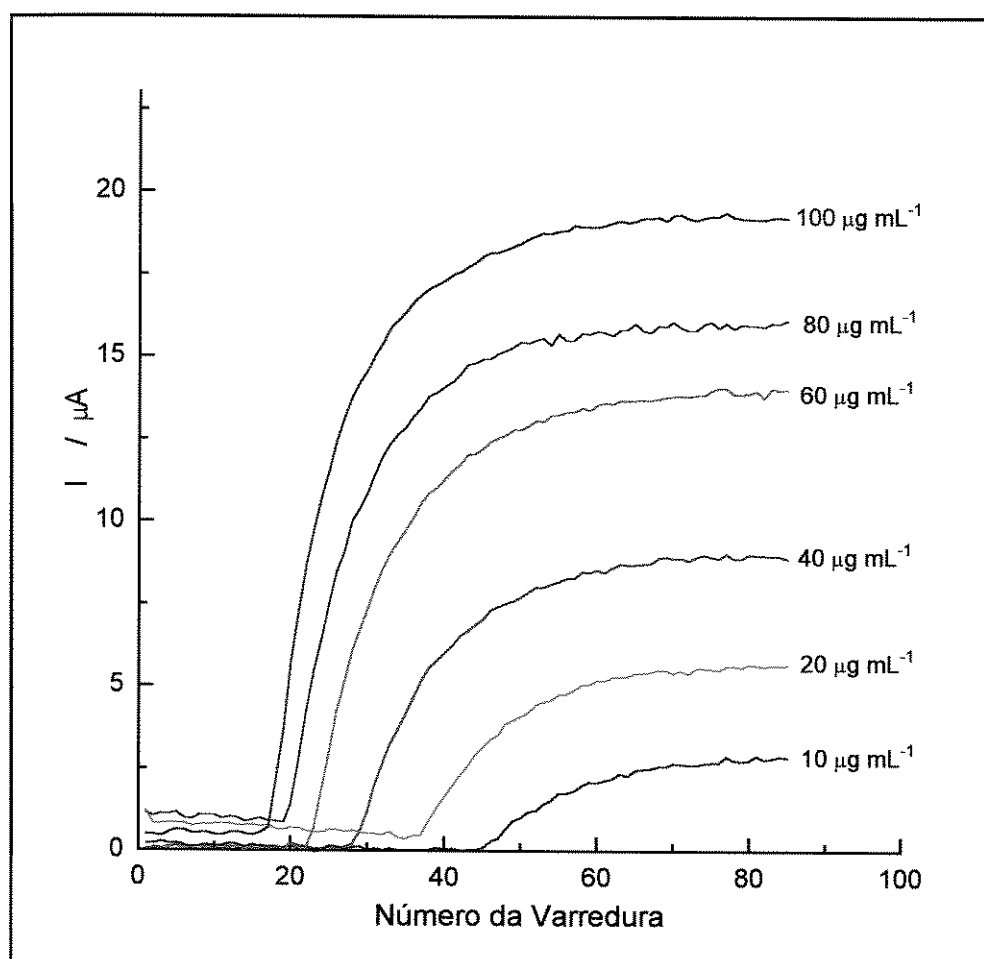


Figura 30 - Máximo de corrente para Chumbo(II) no gradiente de EDTA e eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COONa} / \text{CH}_3\text{COOH}$, $\text{pH} = 4,85$, no potencial de $-0,45 \text{ V}$ vs Ag/AgCl . Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2s.

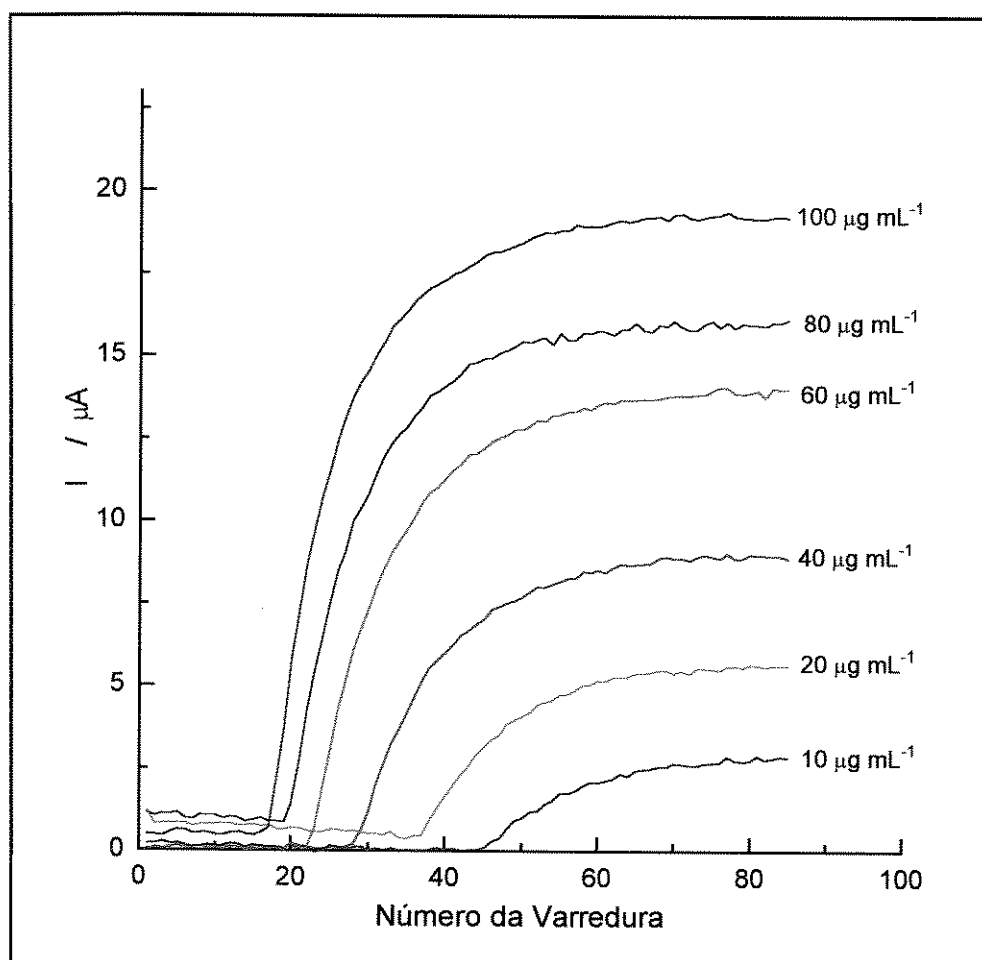


Figura 31 - Máximo de corrente para Cádmio(II) no gradiente de EDTA e eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COONa} / \text{CH}_3\text{COOH}$, $\text{pH} = 4,85$, no potencial de $-0,62 \text{ V}$ vs Ag/AgCl . Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s .

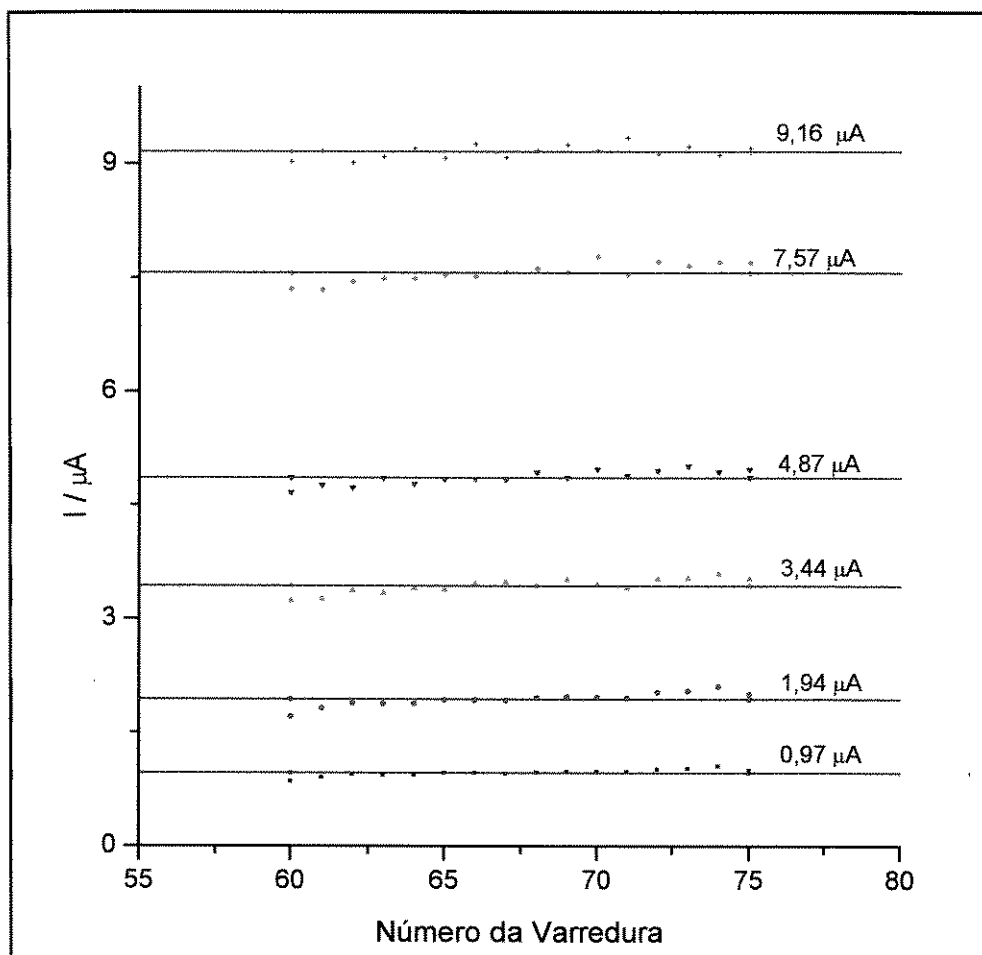


Figura 32 - Máximo de corrente para Chumbo(II) no eletrólito de suporte CH_3COONa / CH_3COOH , $\text{pH} = 4,85$, no potencial de $-0,45 \text{ V}$ vs Ag/AgCl . Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s.

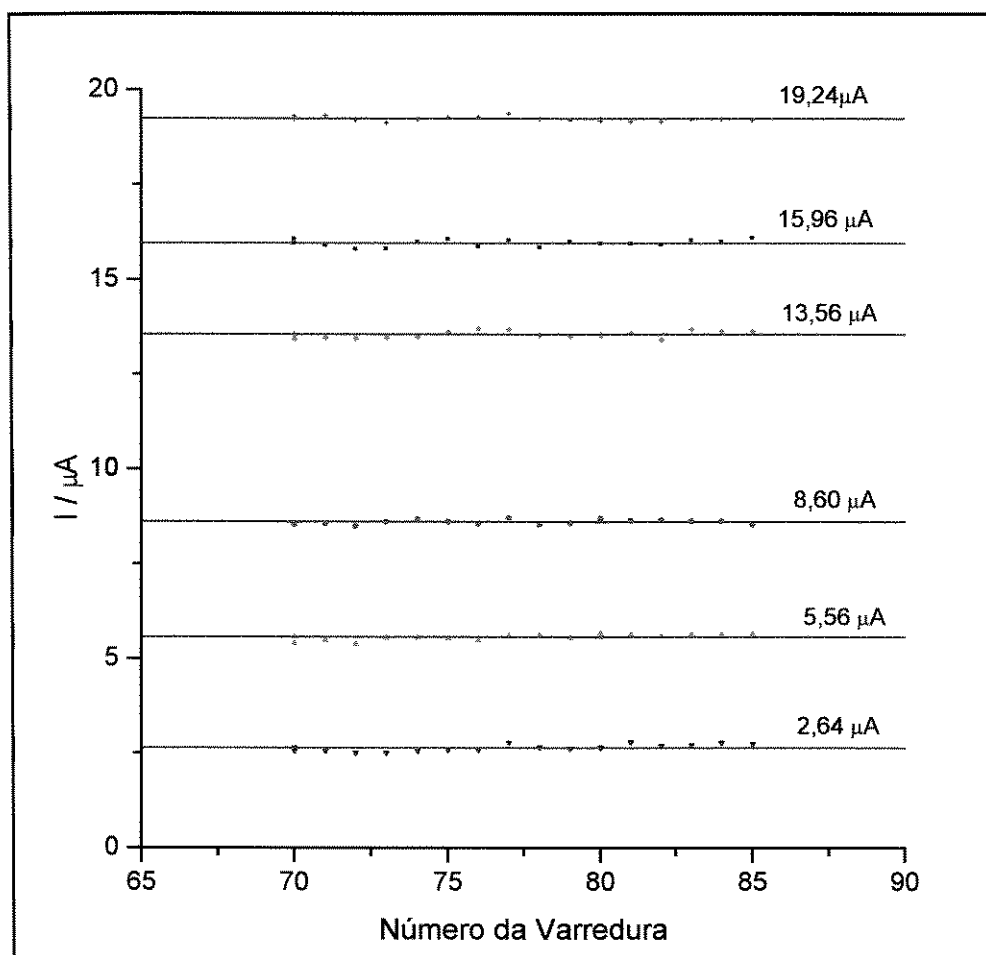


Figura 33 - Máximo de corrente para Cádmio(II) no eletrólito de suporte CH_3COONa / CH_3COOH , $\text{pH} = 4,85$, no potencial de $-0,62 \text{ V}$ vs Ag/AgCl . Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s.

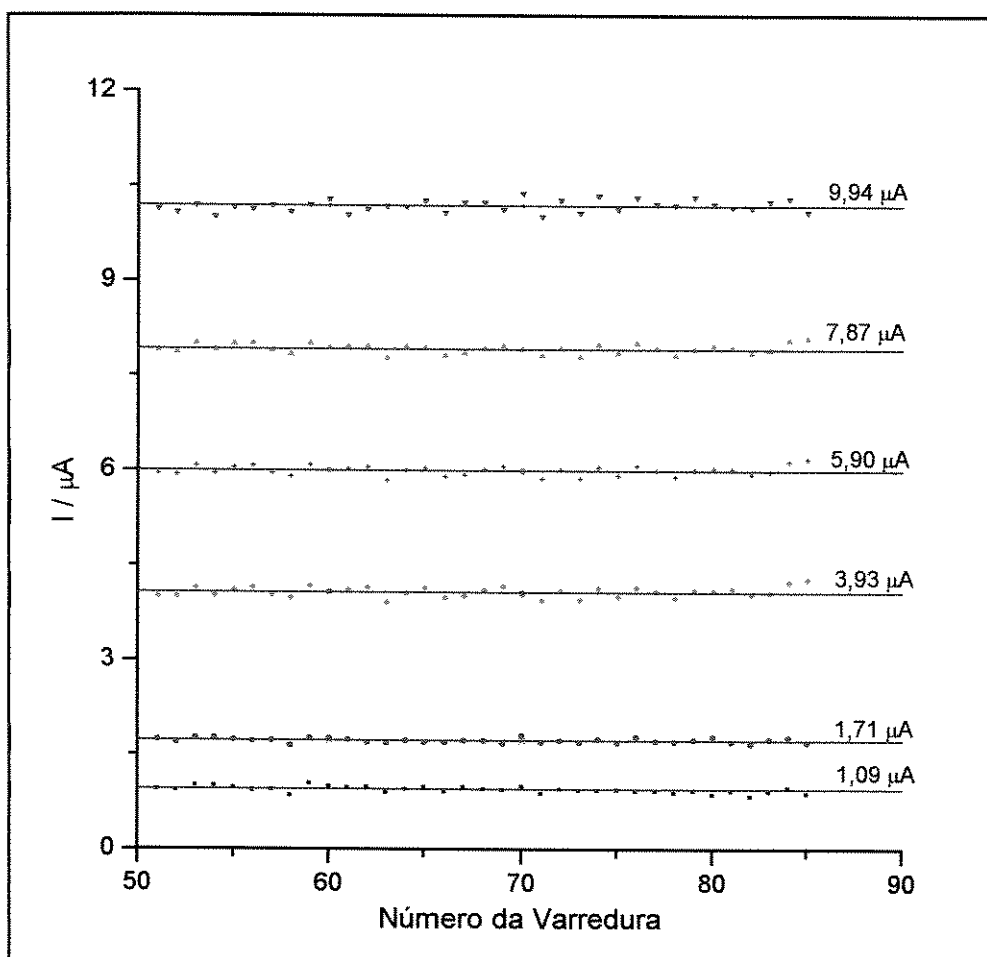


Figura 34 - Máximo de corrente para Tálho(I) no eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COONa} / \text{CH}_3\text{COOH}$, $\text{pH} = 4,85$, no potencial de $-0,57 \text{ V}$ vs Ag/AgCl . Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s.

mostrados em gráfico, são dos máximos de corrente para cada voltamograma, nos respectivos potenciais de pico. Para o caso específico do Tálho(I) são todos os voltamogramas pois, não há complexação com o EDTA nas condições do experimento.

4.4. LINEARIDADE PARA Pb(II) / Tl(I) / Cd(II)

Com os dados do experimento anterior pode-se verificar a correlação linear das respostas voltamétricas frente à variação da concentração dos íons Pb(II), Cd(II) e Tl(I). As Figuras 35, 36 e 37 mostram que nos três casos a resposta é linear para o intervalo de concentração utilizado. Em nenhum experimento houve a preocupação de diminuir o intervalo de concentração uma vez que o objetivo do trabalho era testar a viabilidade da cela de eletrodos múltiplos, numa linha de fluxo, em determinações de espécies que apresentam ondas voltamétricas sobrepostas.

As respostas voltamétricas para chumbo e tálho são equivalentes, com uma pequena vantagem para chumbo, enquanto as respostas para o cádmio são bem maiores que os dois anteriores, o que considerando as propriedades destes íons, está de acordo com os dados disponíveis na literatura.

4.5. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA Pb(II) / Tl(I) / Cd(II)

Para a quantificação das três espécies, foi feito um planejamento experimental com 16 amostras com concentrações variadas e diferentes para as três espécies, distribuídas simetricamente num diagrama triangular, semelhante aos planejamentos propostos por **CAHN**, et al. (1988) e **DÍAZ**, et al. (1994), formando o conjunto de treinamento, conforme a Figura 38 e tabela 1; o mesmo conjunto foi utilizado como teste, trabalhando-se com “cross-validation”, que

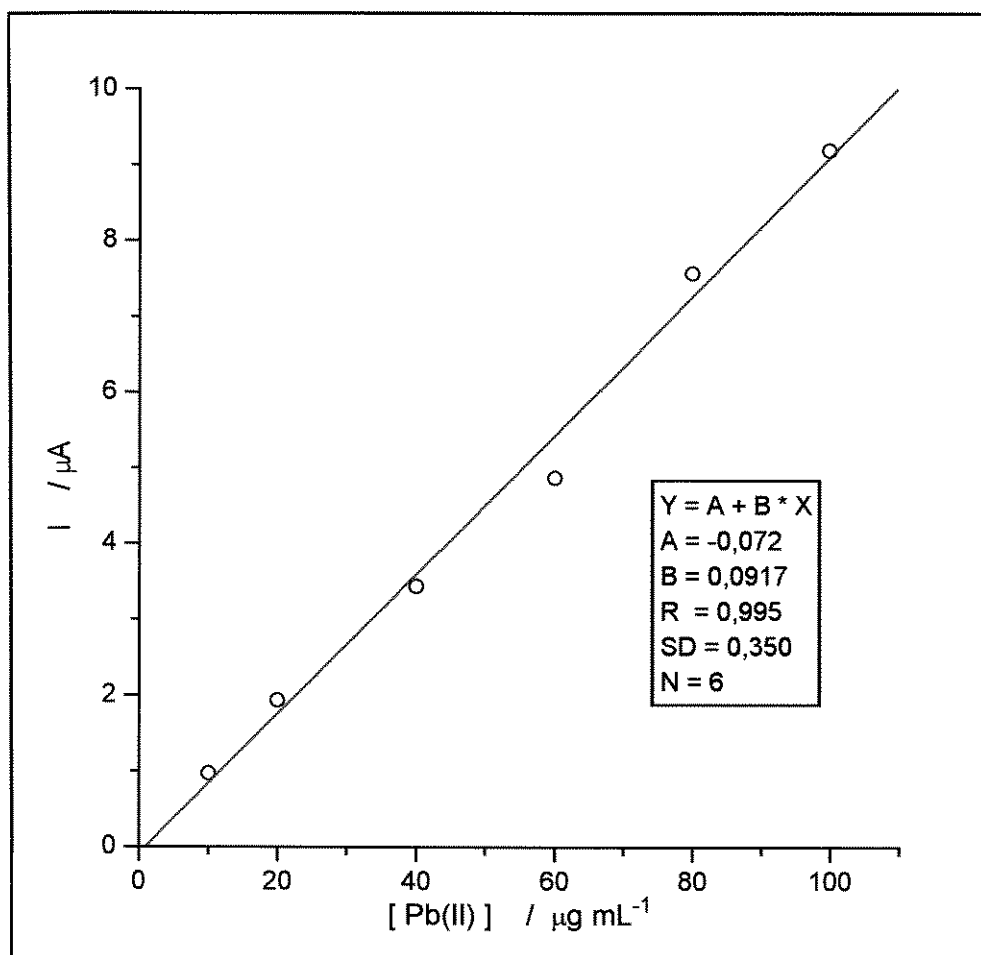


Figura 35 - Linearidade de respostas para Chumbo(II) no eletrólito de suporte CH_3COONa / CH_3COOH , $pH = 4,85$, no potencial de $-0,45 V$ vs $Ag/AgCl$.

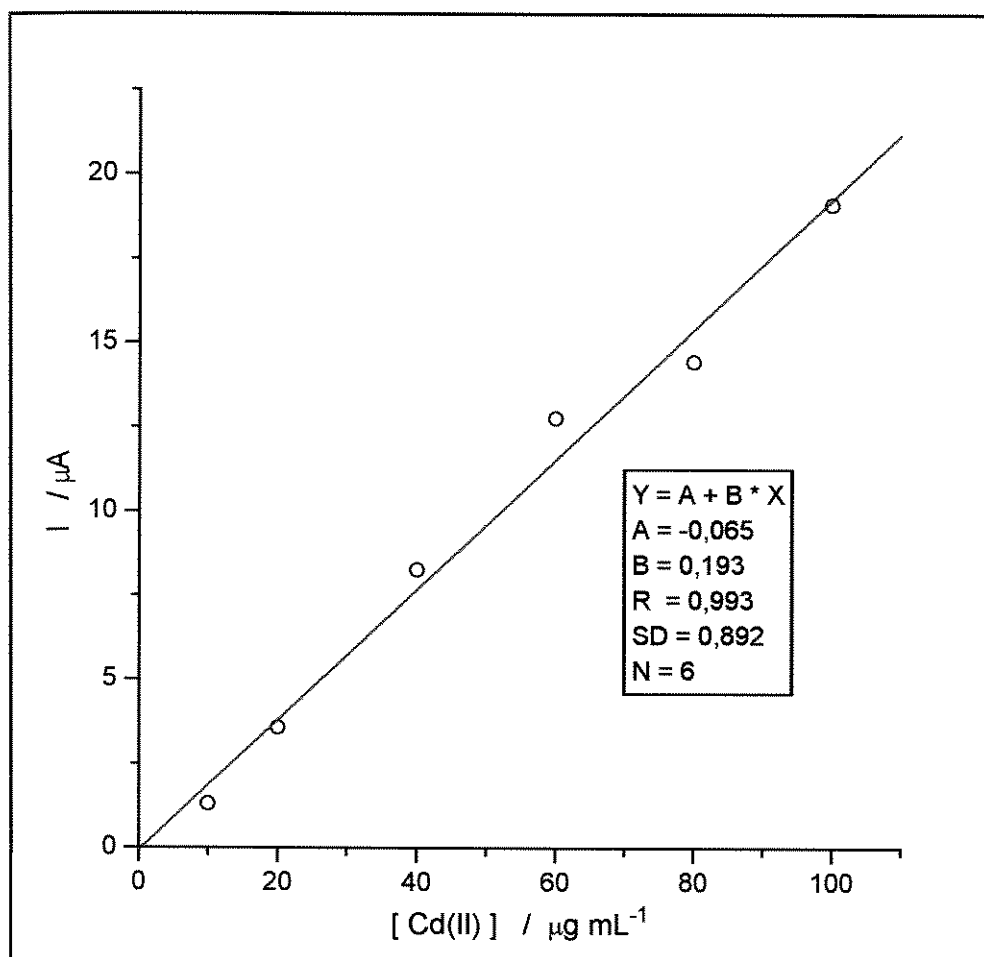


Figura 36 - Linearidade de respostas para Cádmio(II) no eletrólito de suporte CH_3COONa / CH_3COOH , $pH = 4,85$, no potencial de $-0,62 V$ vs $Ag/AgCl$.

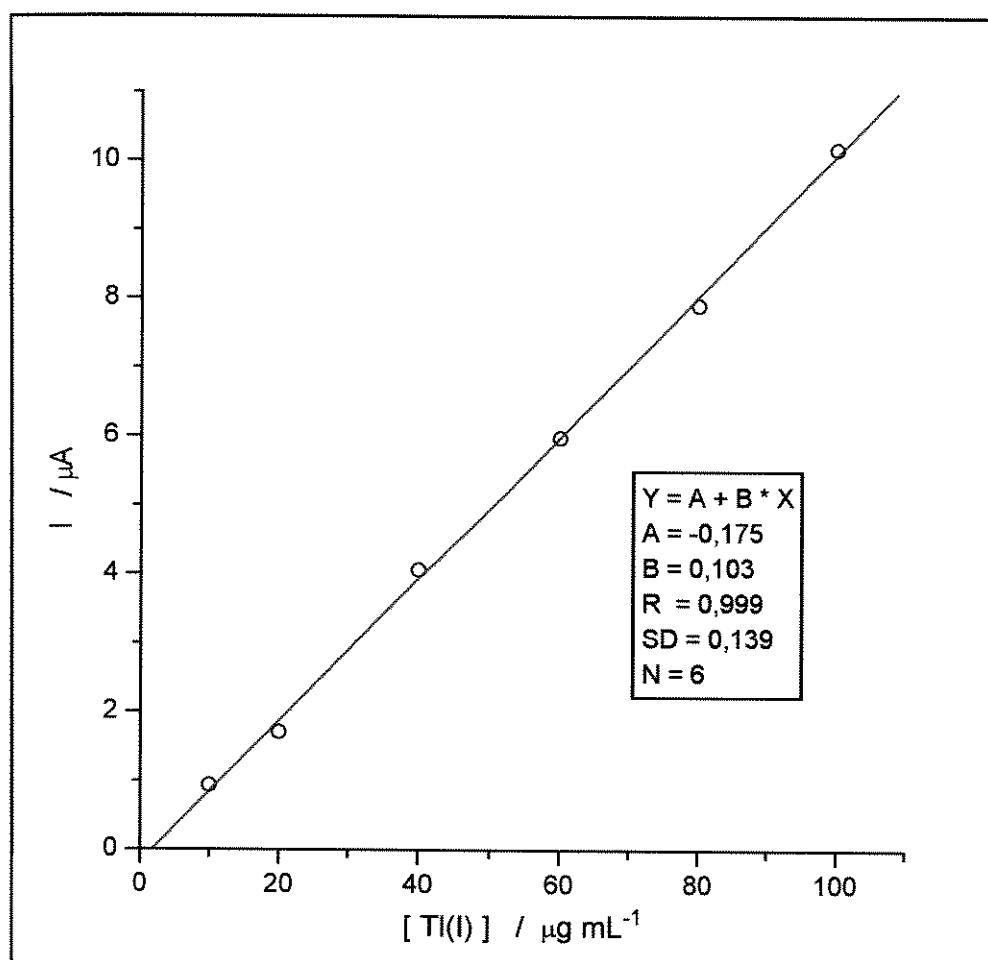


Figura 37 - Linearidade de respostas para Tálzio(I) no eletrólito de suporte CH_3COONa / CH_3COOH , $pH = 4,85$, no potencial de $-0,57 V$ vs $Ag/AgCl$.

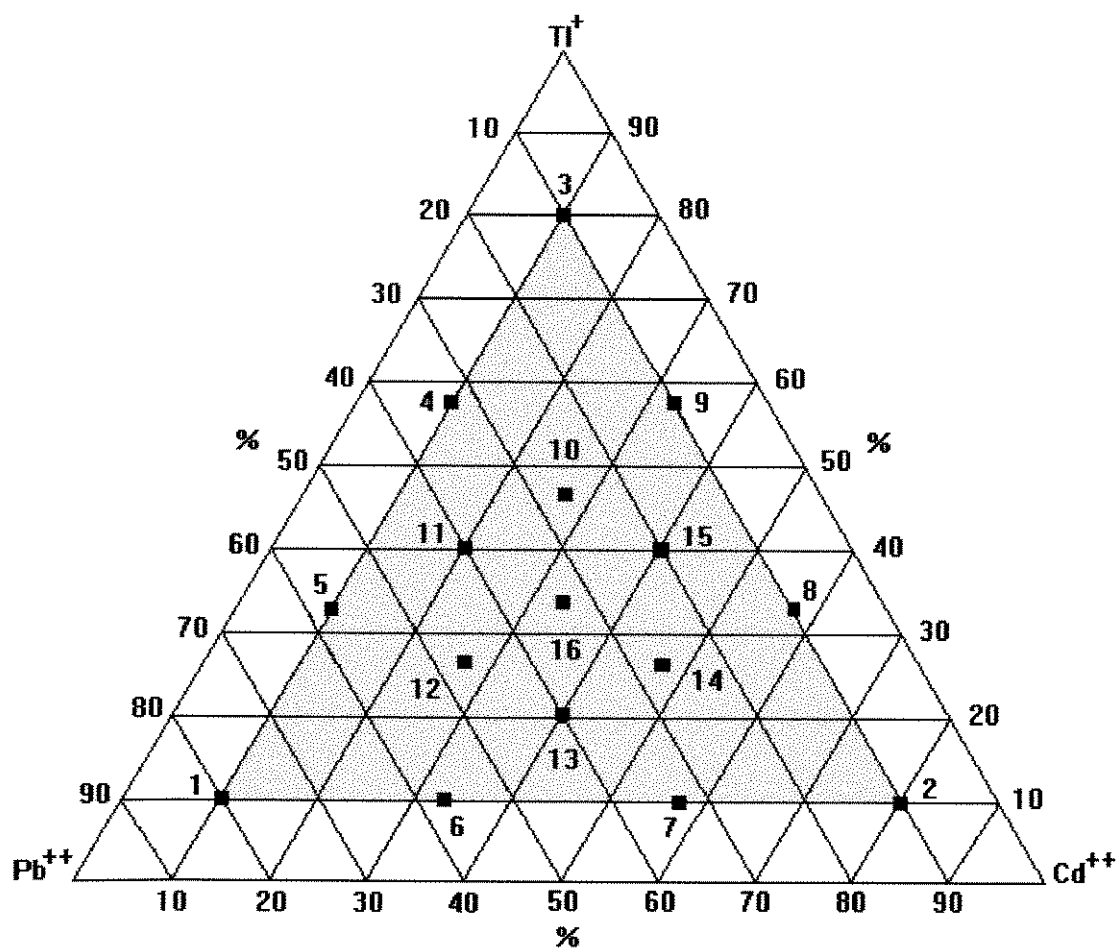


Figura 38 - Planejamento experimental para as misturas padrões de Pb(II), Cd(II) e Tl(I), com as concentrações expressas em $\mu\text{g mL}^{-1}$ numericamente equivalentes às porcentagens de cada íon no diagrama ternário.

Mistura Padrão	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		
	Pb(II)	Cd(II)	Tl(I)
1	80,00	10,00	10,00
2	10,00	80,00	10,00
3	10,00	10,00	80,00
4	32,50	10,00	57,50
5	57,50	10,00	32,50
6	57,50	32,50	10,00
7	32,50	57,50	10,00
8	10,00	57,50	32,50
9	10,00	32,50	57,50
10	26,50	26,50	47,00
11	40,00	20,00	40,00
12	47,00	26,50	26,50
13	40,00	40,00	20,00
14	26,50	47,00	26,50
15	20,00	40,00	40,00
16	33,33	33,33	33,33

Tabela 1 - Planejamento experimental para as misturas padrões de Pb(II), Cd(II) e Tl(I).

consiste em se obter o modelo de calibração multivariada retirando-se a cada modelamento uma das amostras e testando-se a correlação para a mesma. Conforme a tabela 1 pode ser observado que a soma das concentrações é sempre igual a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e a concentração mínima para cada espécie é $10 \mu\text{g mL}^{-1}$.

A idéia fundamental é utilizar os dados voltamétricos obtidos para estas misturas e pela técnica de calibração multivariada para sistemas com mais de duas dimensões, obter um modelo para posterior determinação destes três componentes nas misturas com concentrações não determinadas.

As leituras tomadas em duplicatas utilizadas para a calibração multivariada, para o PLS bi-dimensional e para o multi-dimensional, foram feitas numa ordem aleatória. No primeiro caso utilizou-se apenas o último voltamograma do conjunto de 80 varreduras de potencial no gradiente de EDTA para cada amostra. Os resultados das leituras voltamétricas para estas misturas, num gradiente de EDTA, podem ser vistos na Figura 39, e para a última varredura de cada mistura podem ser vistos na Figura 40. As Figuras 41, 42, 43 e 44 mostram com mais detalhes os voltamogramas de algumas das misturas utilizadas no planejamento experimental. Para uma melhor visualização do efeito do gradiente de EDTA sobre os três íons estudados, a disposição dos voltamogramas tridimensionais podem ser vistos na forma de curvas de níveis ilustradas com as Figuras 45, 46, 47 e 48, que se correlacionam com as Figuras 41, 42, 43 e 44, respectivamente. Como as diferenças nos potenciais de pico para as três espécies são pequenas, há uma sobreposição dos voltamogramas do Tl(I) com Cd(II) e do Tl(I) com Pb(II), resultando finalmente em respostas não diferenciadas dos três, na ausência do gradiente de EDTA. Este fato impossibilita determinações simultâneas destes íons quando em misturas sem utilização de técnicas quimiométricas de calibração; optando pela criação do gradiente de

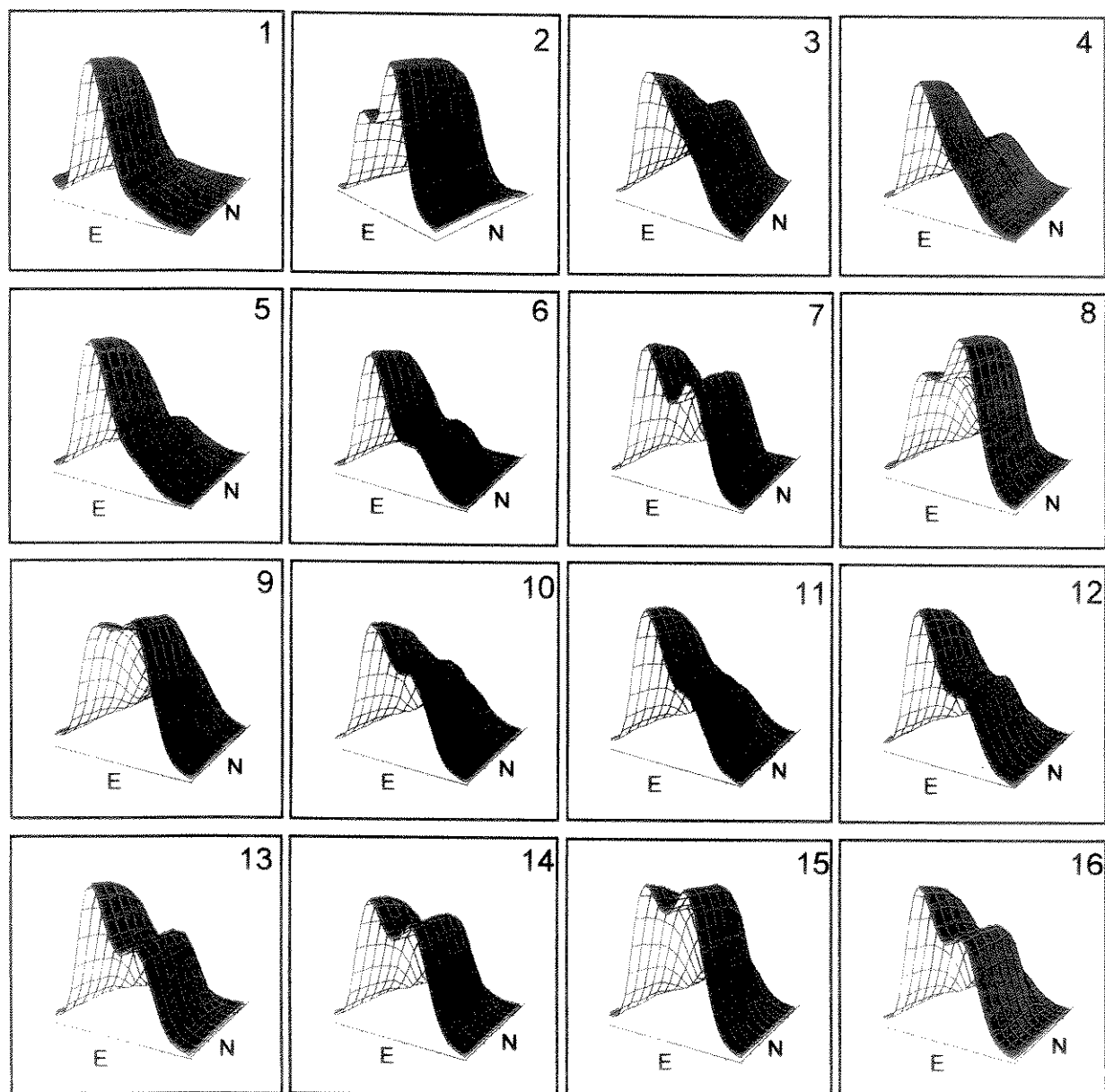


Figura 39 - Voltamogramas das misturas padrões de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) de acordo com o planejamento experimental da figura 38. E = Faixa de potencial de -0,2 a -0,9 V vs Ag/AgCl; Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; N = Número da varredura (0 a 80); Tempo entre varreduras = 2 s; Tempo total para cada conjunto de 80 varreduras = 510 s.

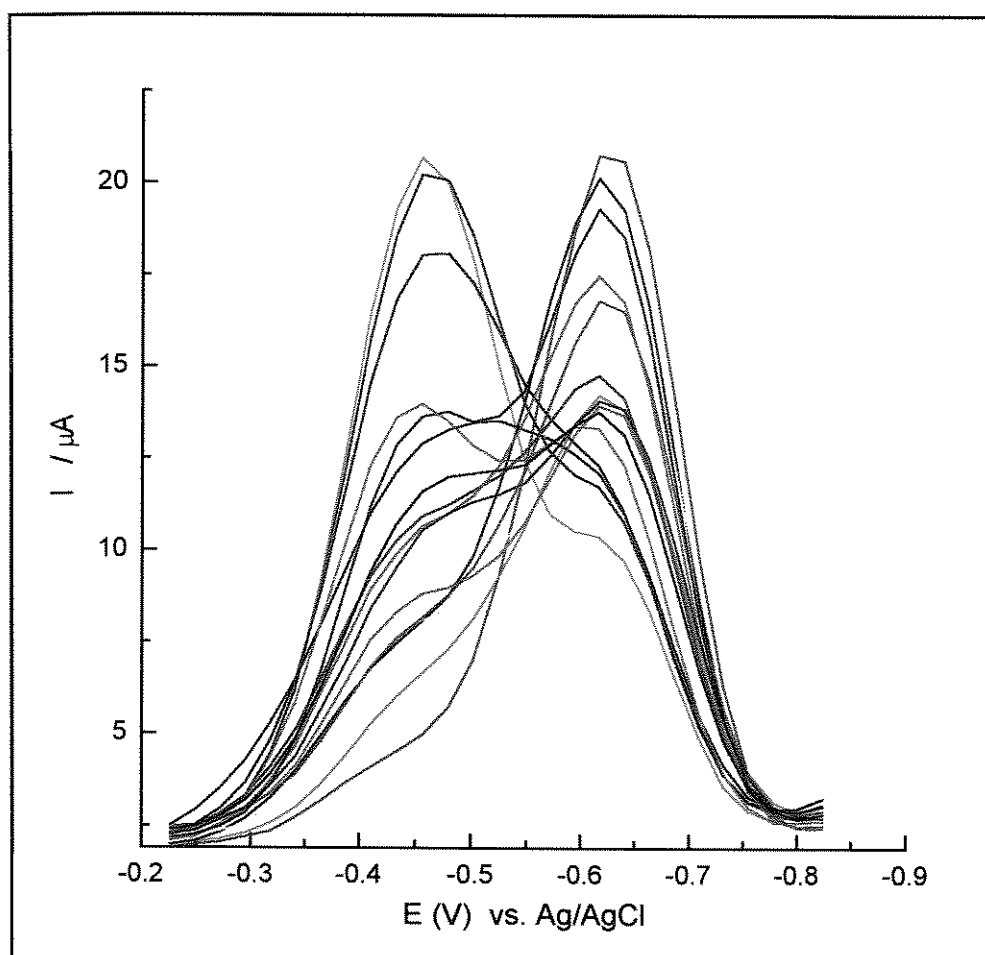


Figura 40 - Varredura de número 80 para cada mistura do planejamento experimental da figura 38.

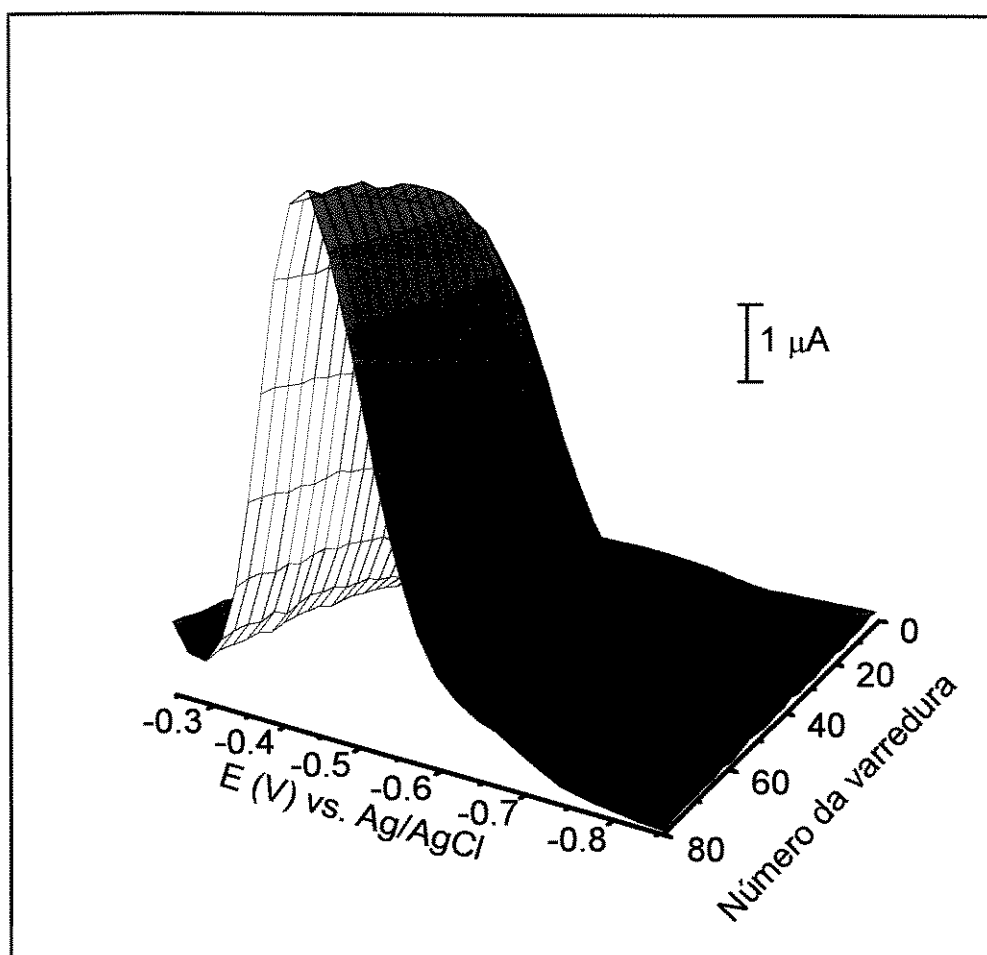


Figura 41 - Voltamogramas da mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte de $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 80, 10 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} Tempo entre varreduras = 2 s.

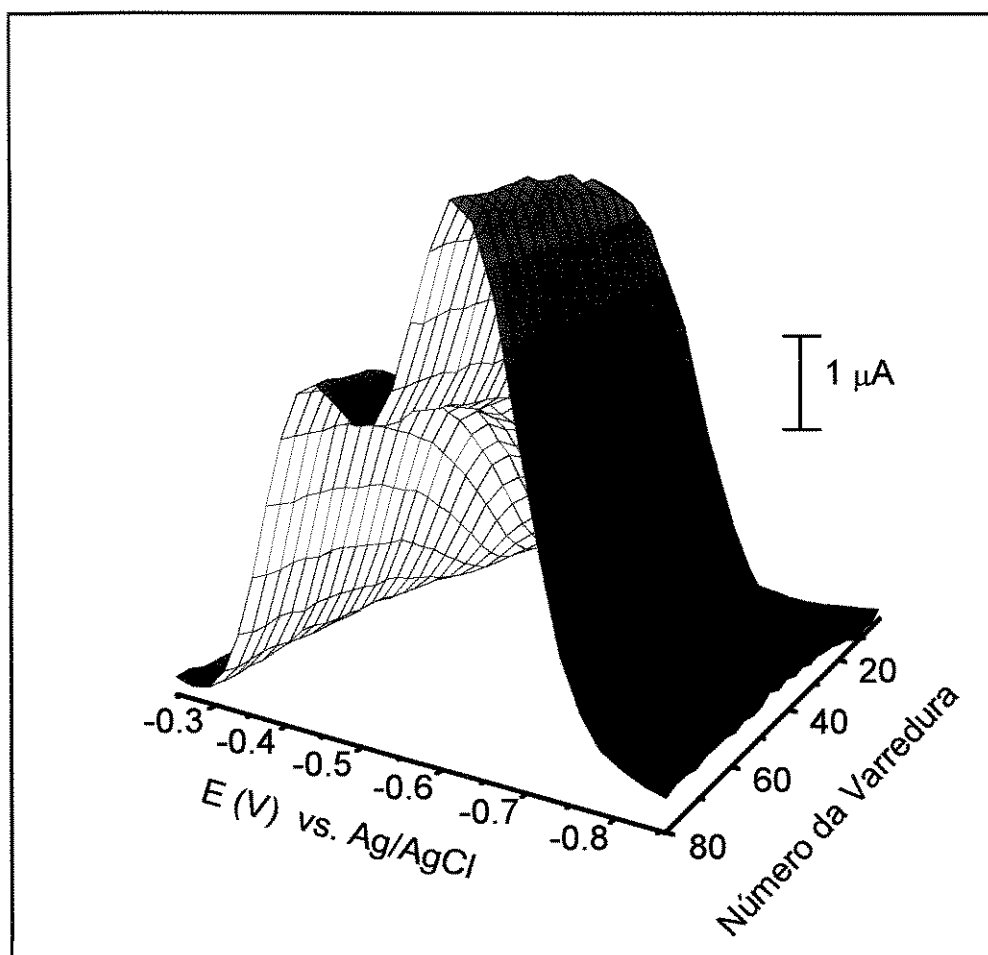


Figura 42 - Voltamogramas da mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte de $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 10, 80 e $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s.

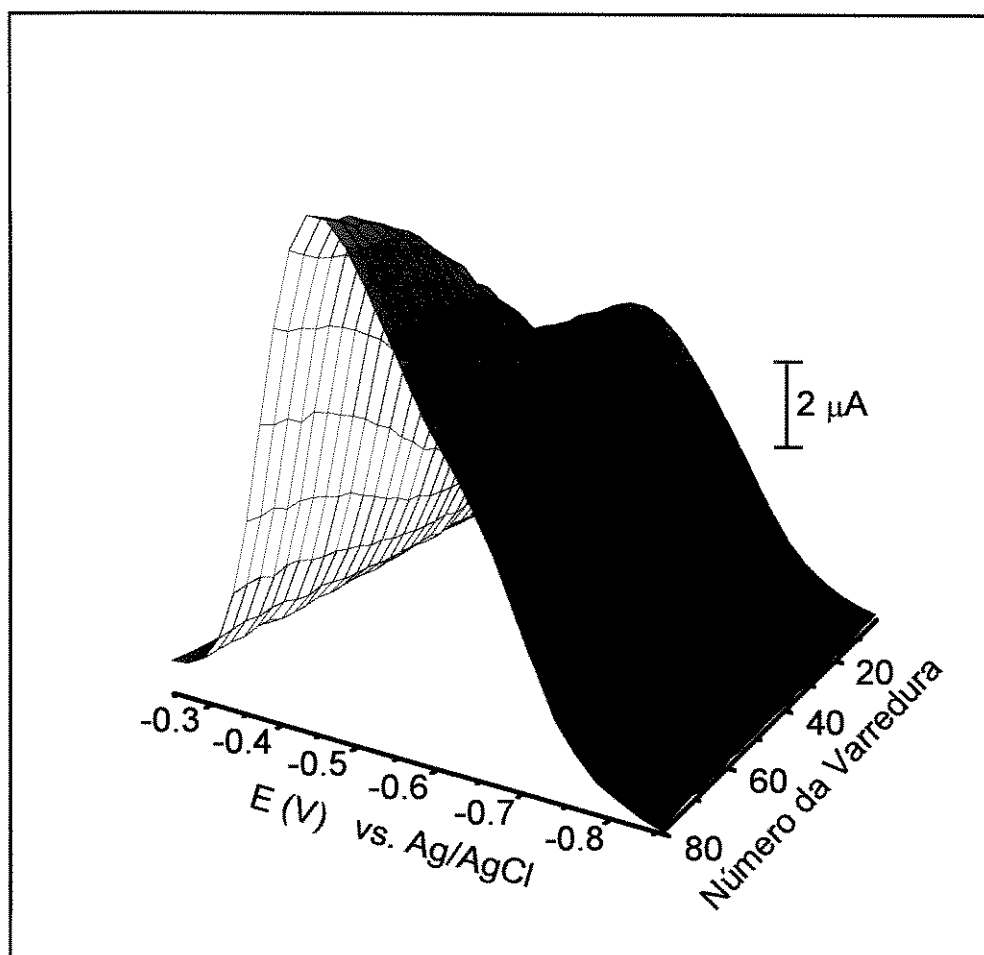


Figura 43 - Voltamogramas da mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte de $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 10, 10 e 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; tempo entre varreduras = 2 s.

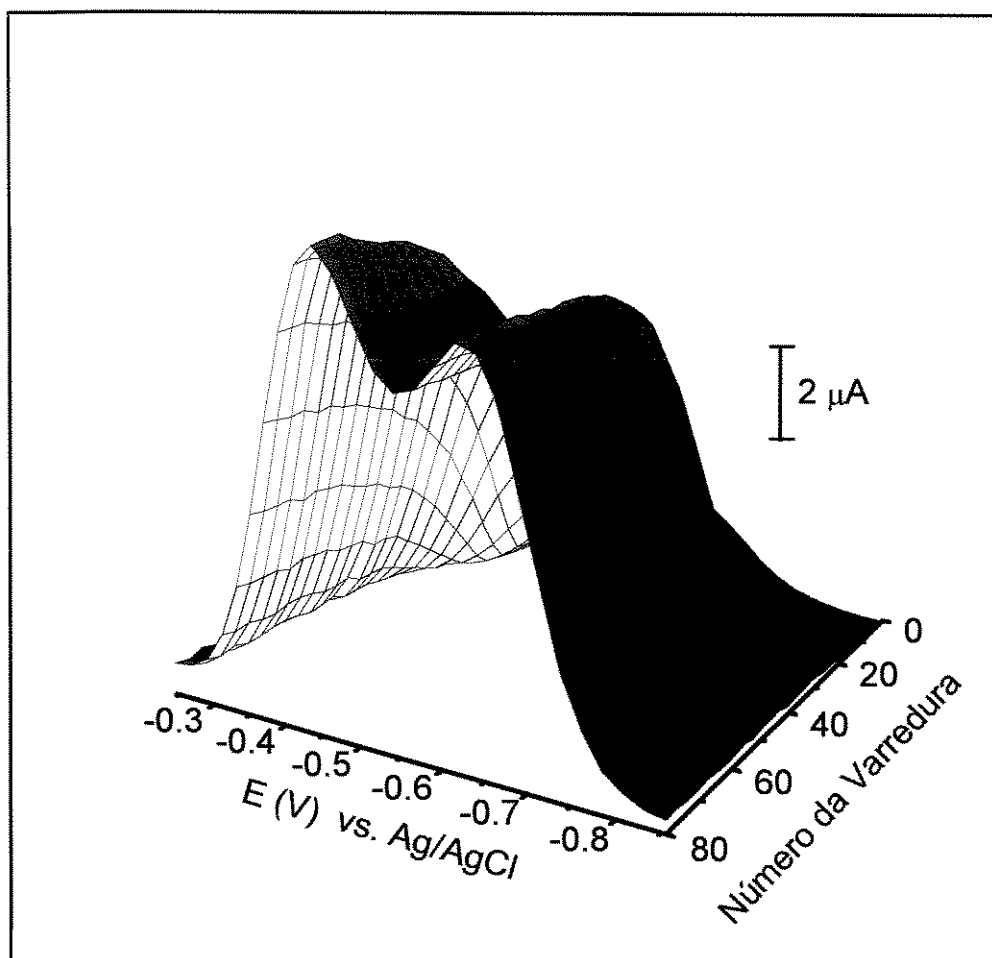


Figura 44 - Voltamogramas da mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte de $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de $26,5$; $47,0$ e $26,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s .

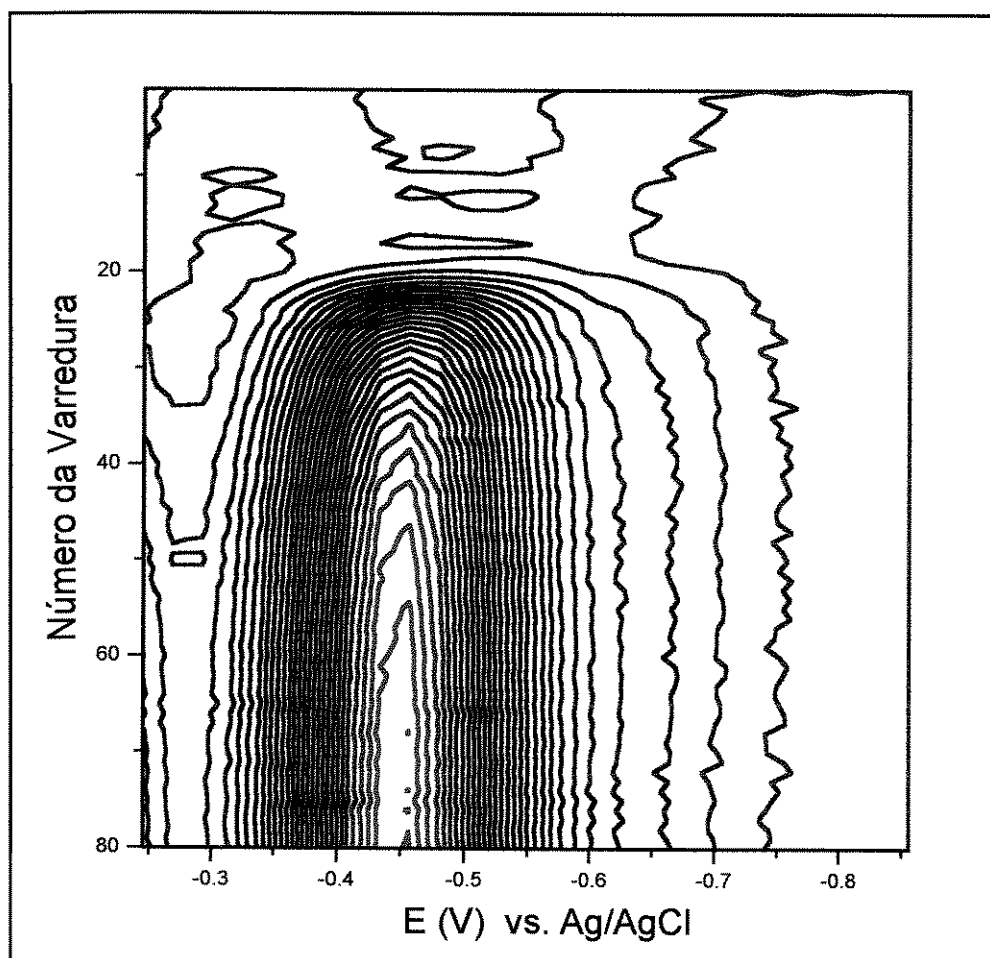


Figura 45 - Superfície de contorno para os Voltamogramas da mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte de $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 80, 10 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s.

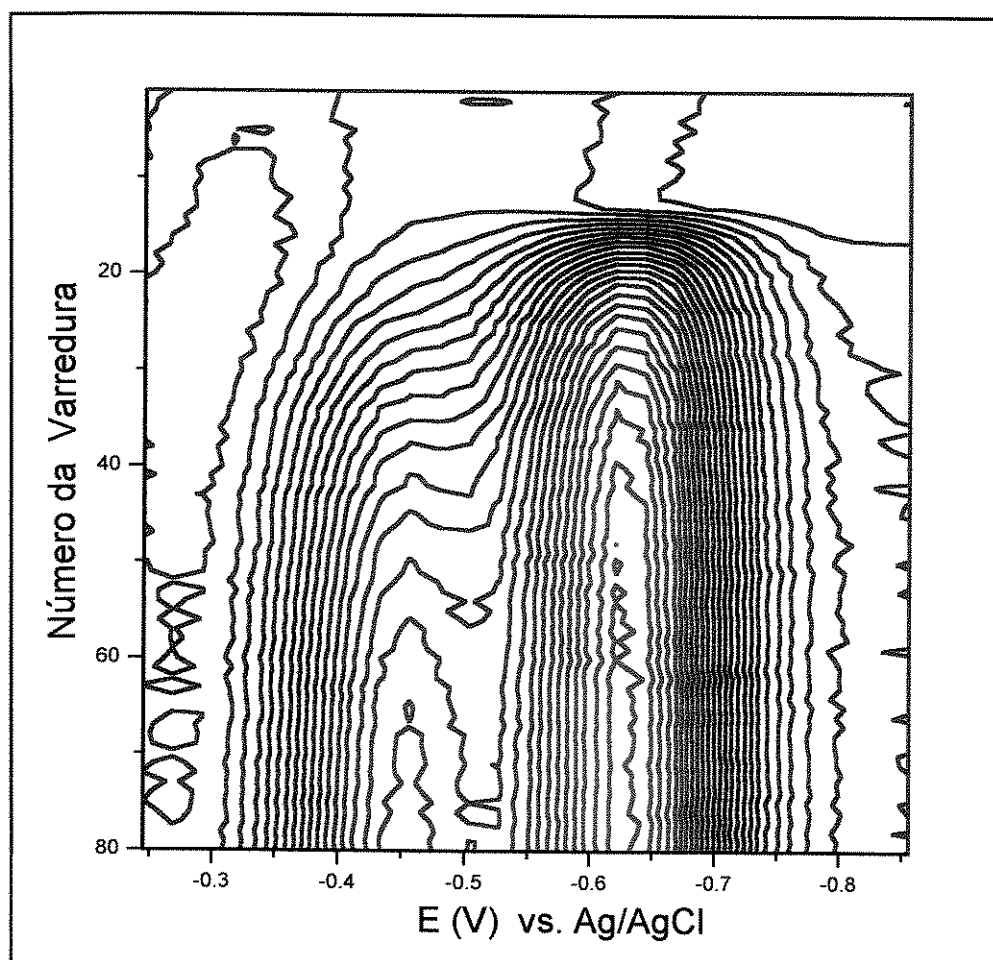


Figura 46 - Superfície de contorno para os Voltamogramas da mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte de $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 10, 80 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA. Taxa de varredura = 175 mV.s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s.

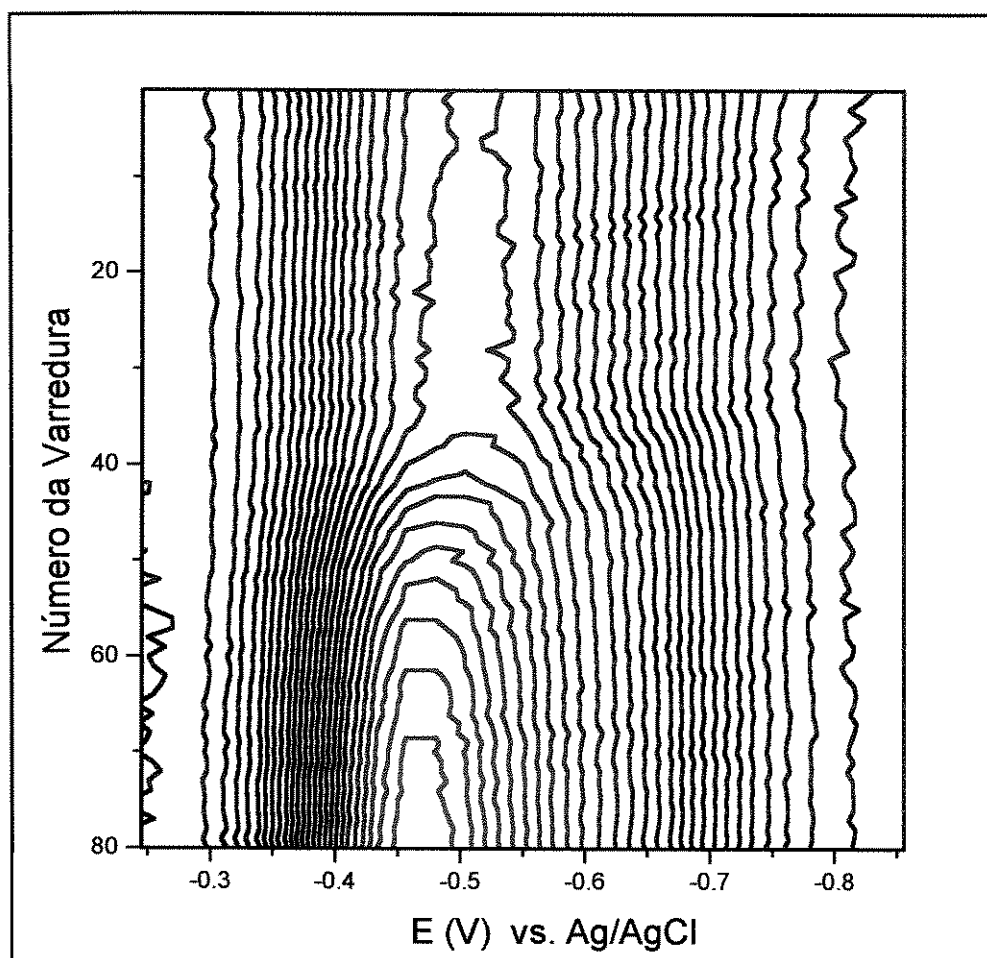


Figura 47 - Superfície de contorno para os Voltamogramas da mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte de $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 10, 10 e $80 \mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s.

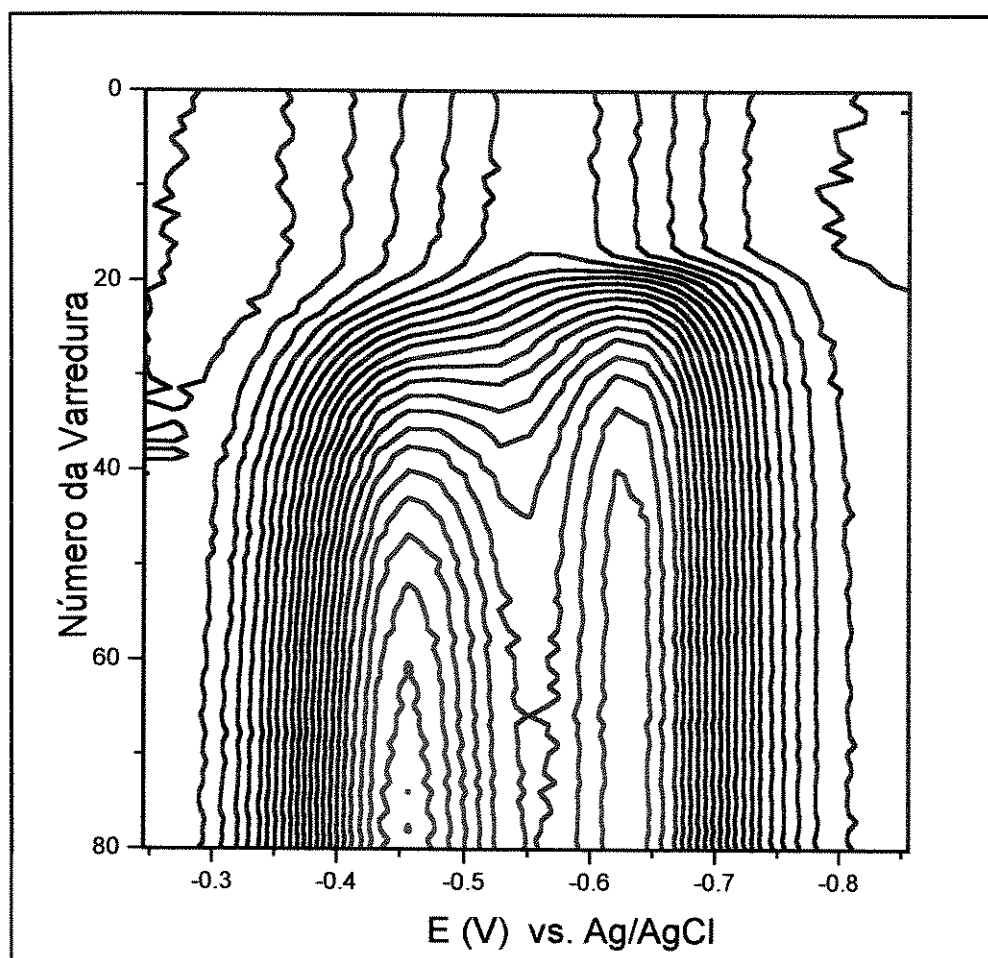


Figura 48 - Superfície de contorno para os Voltamogramas da mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte de $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de $26,5$; 47 e $26,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA. Taxa de varredura = 175 mV s^{-1} ; Tempo entre varreduras = 2 s .

EDTA melhora-se a diferenciação. Isto juntamente com as técnicas de calibração multivariada levam à obtenção de melhores resultados.

4.6. VISUALIZAÇÃO DO NÚMERO DE ESPÉCIES POR ANÁLISE DE FATORES EVOLUINTES.

A título de ilustração, antes de fazer a calibração multivariada foram aplicados dois programas para a visualização do número de espécies presentes em solução. Inicialmente foi verificado a evolução do número de espécies livres em solução como função do gradiente de EDTA. Utilizou-se neste caso o programa que executa apenas a análise direta dos dados, pois sabidamente ao final do gradiente, como a concentração de EDTA é praticamente igual a zero todas as espécies estarão presentes na forma livre.

Em três misturas (Figuras 49, 50 e 51) do planejamento experimental (Figura 38), escolhidas aleatoriamente, é possível observar apenas três espécies presentes, se destacando acima do ruído, correspondendo aos três íons livres Pb(II), Cd(II) e Tl(I). O momento do aparecimento de cada espécie é diferente, em função da variação da concentração de cada uma em cada mistura.

Para fazer a análise de fatores evoluíntes na forma direta e inversa, optou-se por utilizar dados de duas misturas (Figuras 52 e 53) onde por transposição da matriz dos dados originais verificou-se a evolução de cada espécie em função da diferença de potencial aplicado. Observa-se claramente a presença de três espécies, o que está de acordo com as misturas trabalhadas. Para o caso de Tl(I), observa-se uma onda mais espalhada o que causa enfim sobreposição sobre as ondas dos íons Pb(II) e Cd(II), mostrando a necessidade de aplicação das técnicas de calibração multivariada utilizadas.

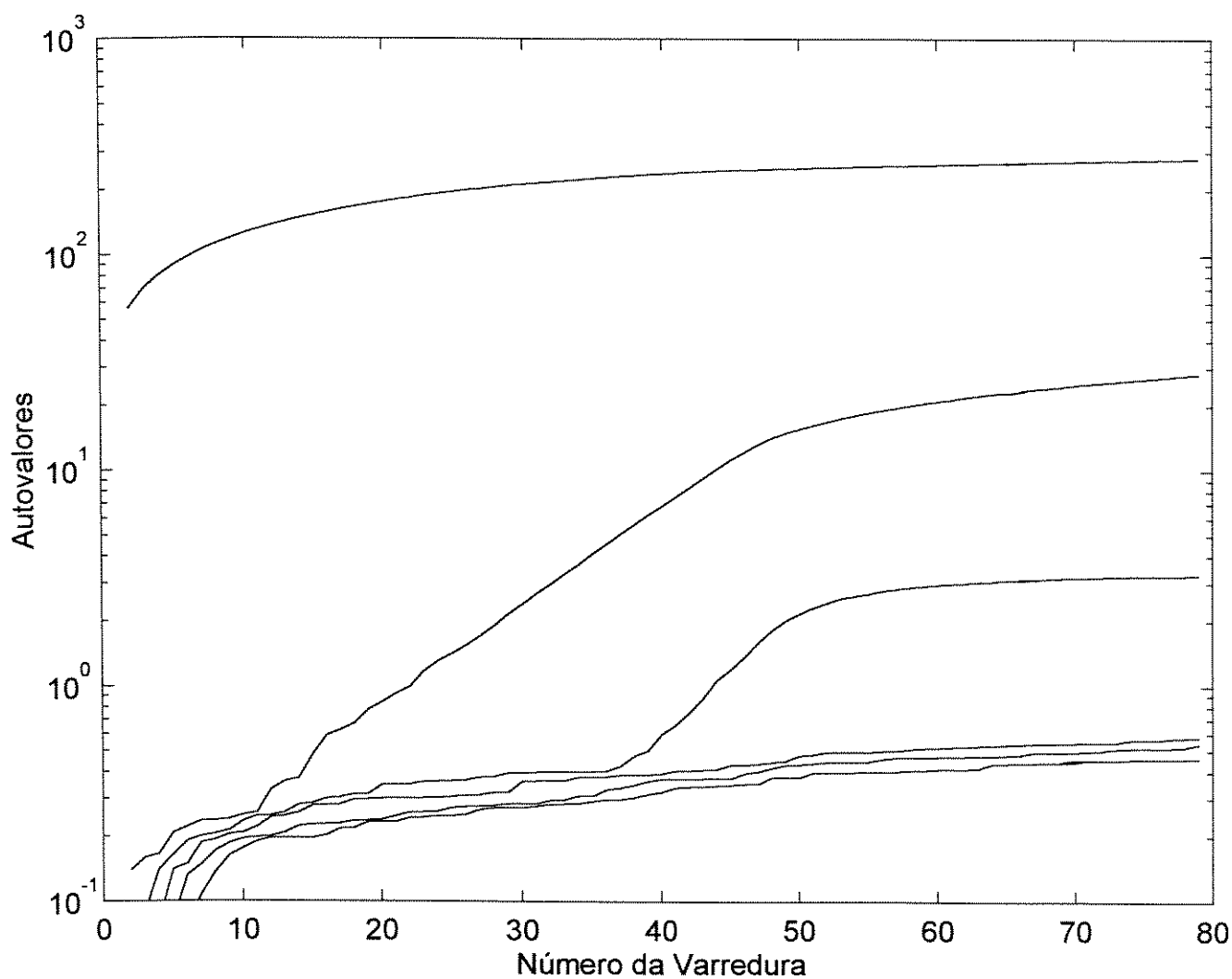


Figura 49 - Análise de Fatores evolutivos para a mistura de de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 32,5; 10 e $57,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA.

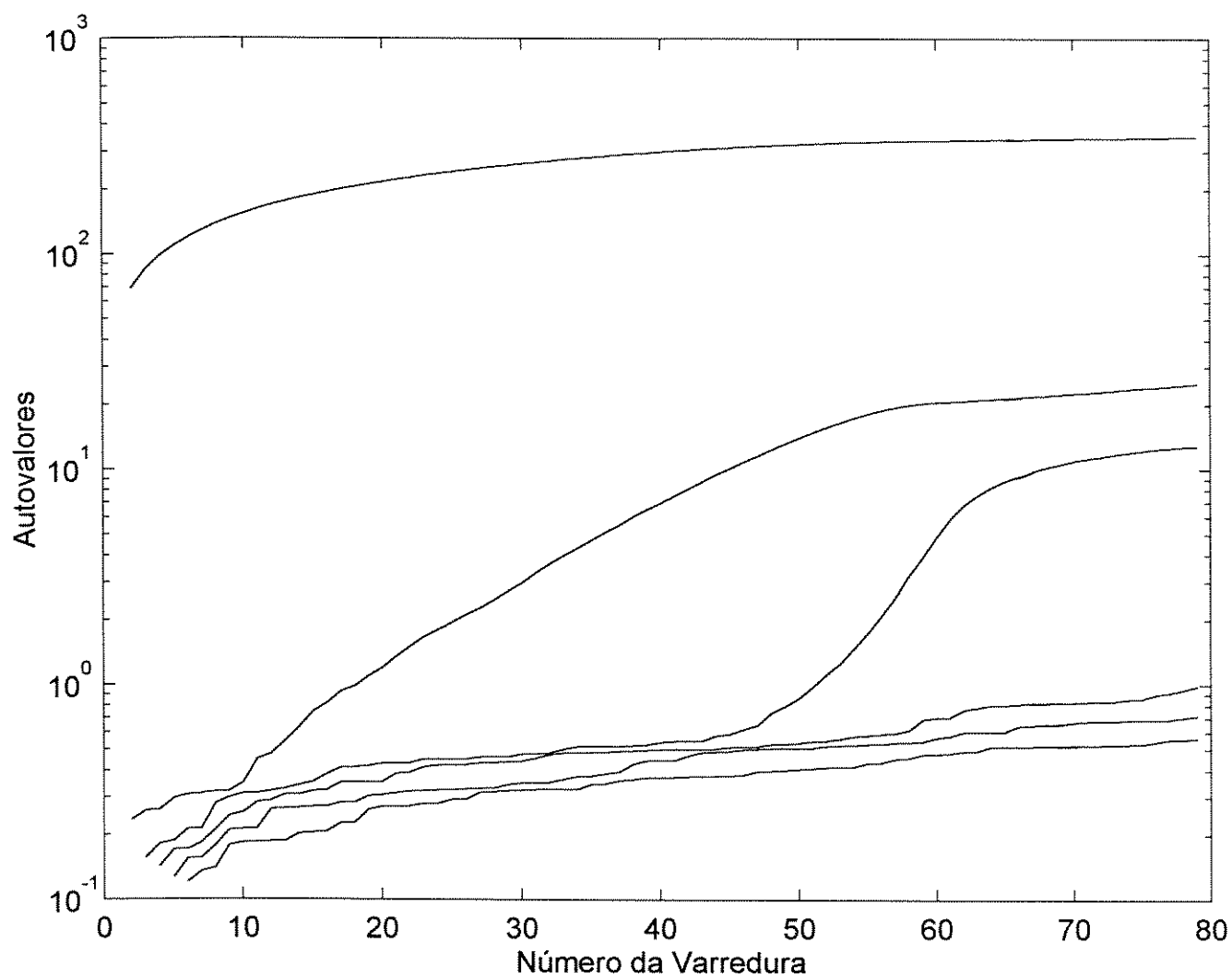


Figura 50 - Análise de Fatores evoluíntes para a mistura de de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 20, 40 e $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA.

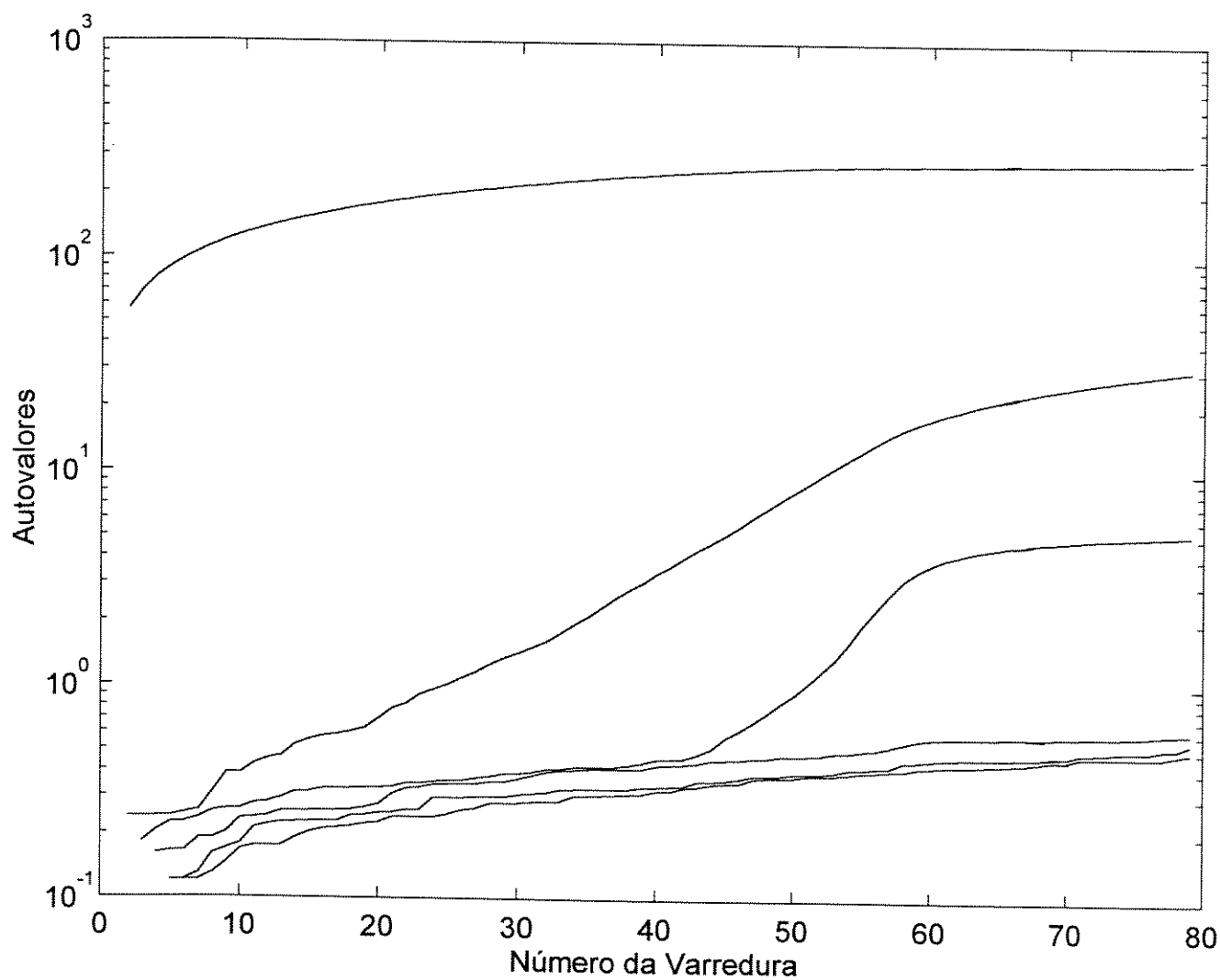


Figura 51 - Análise de Fatores evoluíntes para a mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 57,5; 10 e $32,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e gradiente de EDTA.

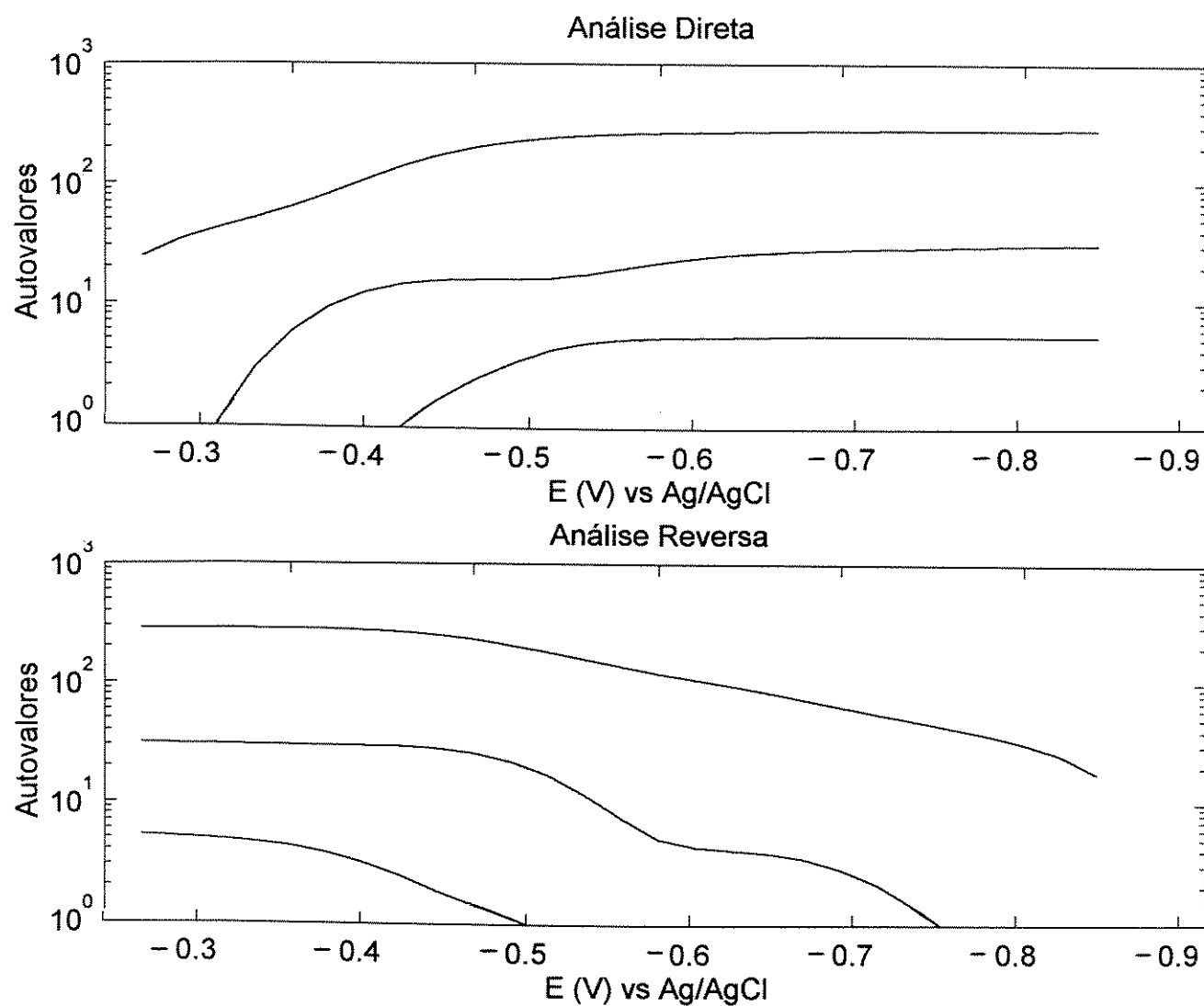


Figura 52 - Análise de Fatores Evoluintes Direta e Inversa para a mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$, respectivamente nas concentrações de 57,5; 10 e $32,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA.

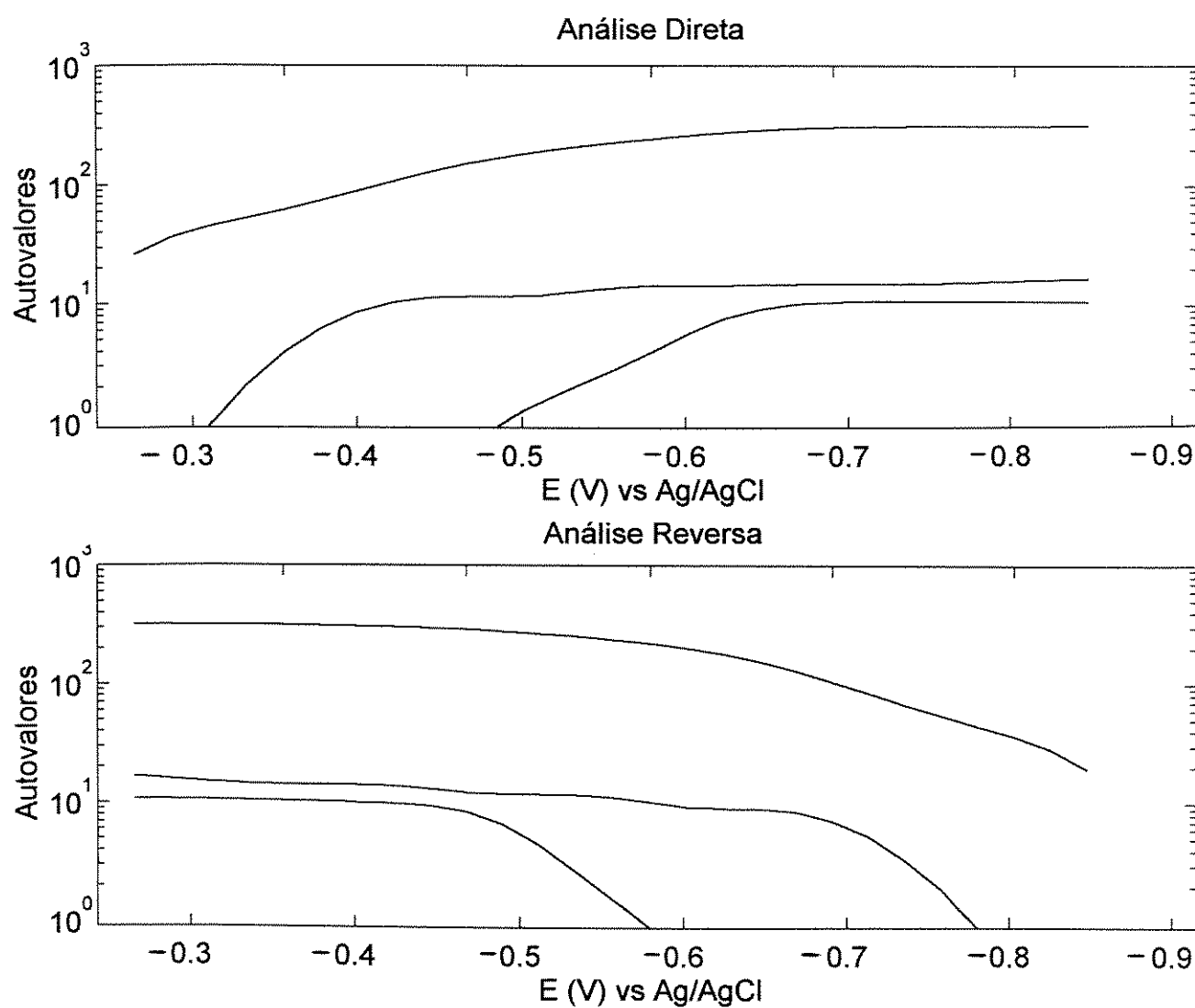


Figura 53 - Análise de Fatores Evoluintes Direta e Inversa para a mistura de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) em eletrólito de suporte $\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{pH} = 4,85$; respectivamente nas concentrações de 10, 32,5 e $57,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e no gradiente de EDTA.

As matrizes contêm os dados de corrente de cada voltamograma para 27 valores de potenciais, obtidos em 80 varreduras sucessivas no gradiente de EDTA.

Uma das mais importantes peças de informação que pode ser obtida da análise de fatores evoluíntes é o número de componentes contribuindo para a variância. Isto é chamado de posto da matriz.

O número de espécies é estimado por diversos critérios baseados na teoria de erros em análise de fatores (MALINOWSKI, 1991).

A idéia fundamental da Análise de Fatores Evoluíntes é seguir a evolução do posto dos dados da matriz como função de uma variável ordenada, como por exemplo, o gradiente de EDTA ou a diferença de potencial. Isto é feito por análise das componentes principais ("PCA") sobre uma matriz crescente de dados.

O logaritmo das componentes principais em função do gradiente de EDTA, e caso se use a transposta da matriz, em função da diferença de potencial, são colocados no mesmo gráfico. Uma combinação do gráfico da evolução direta e da inversa mostra onde os componentes aparecem e desaparecem, respectivamente. O número de espécies é determinado visualmente. O método não requer qualquer suposição sobre o modelo químico do sistema estudado.

Assim para corretamente associar o aparecimento de uma dada espécie com seu desaparecimento, deve-se assumir que a primeira espécie a aparecer será a primeira a desaparecer, a segunda espécie será a próxima a desaparecer e assim sucessivamente. Assim a região de existência da espécie, é denominada de janela de concentração.

4.7. APLICAÇÃO DE “PLS” BI-DIMENSIONAL

Os dados para a calibração multivariada baseada no PLS bi-dimensional, são baseados na última varredura de cada mistura do planejamento experimental. Estes dados podem ser visualizados na Figura 40. Nesta varredura o eletrólito de suporte é composto apenas de tampão NaOAc/HOAc, pH=4,85; apesar dos dados serem originados da varredura num gradiente de EDTA, a concentração de EDTA é praticamente nula, uma vez que a varredura utilizada é a última, a de número 80. Portanto, os dados obtidos são semelhantes àqueles originados por um sistema em batelada no que diz respeito à resolução dos picos

Os dados foram arranjados em duas matrizes, uma com as concentrações dos três íons em estudo, num total de 16 padrões, e a outra com os valores de corrente na última varredura, no intervalo de potencial de -0,2 volts a -0,9 volts, num total de 27 valores de corrente para cada voltamograma, tratam-se de voltamogramas com o procedimento de média móvel aplicado. Consequentemente a matriz de concentração é uma matriz de 16 linhas por 3 colunas, enquanto a matriz de respostas é formada por 16 linhas e 27 colunas. Em outro tratamento, eliminaram-se as três primeiras amostras, vértices do planejamento experimental inicial, conforme a Figura 38.

Foi determinado o número de componentes principais utilizados na calibração multivariada a partir dos Autovalores Reduzidos de Malinowski (Figura 54), conforme o programa PLSREV listado no Capítulo 7. Uma outra possibilidade é o cálculo do Erro Padrão de Previsão (EPP) a partir das previsões feitas com o PLS para as amostras do conjunto teste.

Deve ser escolhido o número de componentes principais que forneça um menor erro possível nas previsões. Para isto coloca-se o EPP ou o REV em gráfico contra o número de componentes principais. No caso deste trabalho optando-se pelo REV contra o número de componentes principais, pode ser

observado que após o quarto componente principal os valores de REV praticamente não mais se alteram, utilizando-se o PLS bi-dimensional, indicando que devem ser utilizados mais de três componentes principais nos cálculos; em contrapartida, utilizando-se o PLS multi-dimensional acima de dois componentes principais os valores não mais se alteram; o resultado seria semelhante optando-se pelo gráfico de EPP versus o número de componentes principais. Para os dois casos utilizou-se sempre três componentes principais, consequentemente as 27 variáveis originais foram reduzidas para apenas 3, com perda de pouca informação estatística no caso do PLS bi-dimensional e praticamente nenhuma perda no caso do PLS multi-dimensional.

Este resultado está de acordo com o número de espécies químicas determinadas, no caso os íons Pb(II), Cd(II) e Tl(I) e conforme visto na visualização pelo Método dos Fatores Evoluíntes. Não é conveniente utilizar um número maior de componentes principais, apesar dos erros na previsão serem ainda muito pequenos, porque apenas ruídos estarão sendo modelados.

Trabalhou-se com o planejamento contendo as 16 amostras padrões originais e com um planejamento sem os três vértices do planejamento. Em todos os casos utilizou-se “cross-validation” para a certificação do modelo proposto.

Os resultados obtidos utilizando tanto o planejamento inicial com 16 amostras padrões quanto a variação com 13 amostras padrões levam à conclusão que a calibração multivariada utilizando apenas os dados da última varredura, forneceram resultados que não mostram uma correlação acentuada entre os valores reais e estimados para as concentrações dos três íons estudados, conforme mostram as Figuras 55, 56 e 57 e as Tabelas 2 e 3, nestas últimas EA representa o erro absoluto para cada componente enquanto REP(%) representa o erro relativo médio dos valores estimados, que é a raiz quadrada do quadrado

médio do erro estimado para cada componente. As equações que definem estes parâmetros estatísticos comparativos são:

$$EA = \hat{x}_i - x_i$$

$$REP(\%) = \frac{(\sum(\hat{x}_i - x_i)^2/n)^{1/2}}{\sum x_i/n} * 100$$

onde $\hat{x}_i$ representa o valor estimado, x_i o valor real de cada componente e n o número de amostras.

Em vista dos resultados obtidos quando se optou pela calibração multivariada com o PLS bi-dimensional, aplicou-se a calibração multivariada aos dados obtidos num gradiente de EDTA.

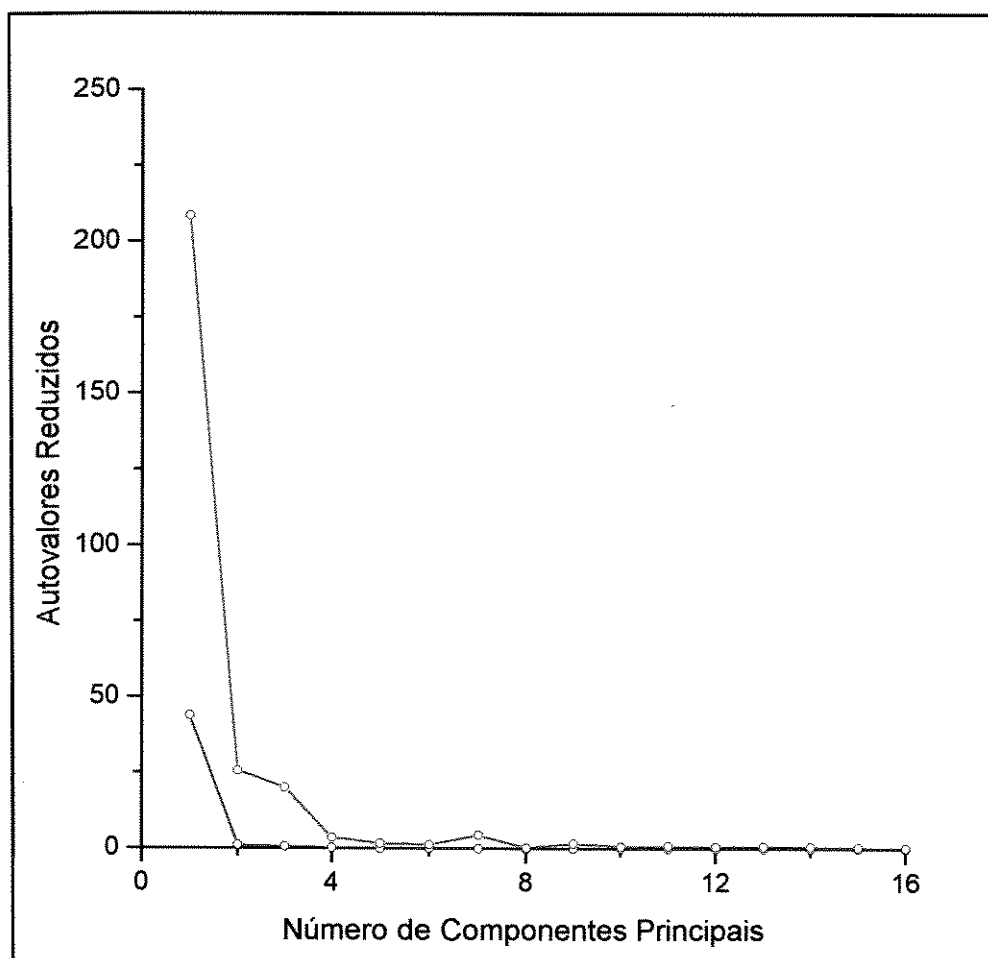


Figura 54 - Autovalores reduzidos em função do número de componentes principais na calibração multivariada aplicando-se o PLS bi-dimensional (○) e o PLS multi-dimensional (●).

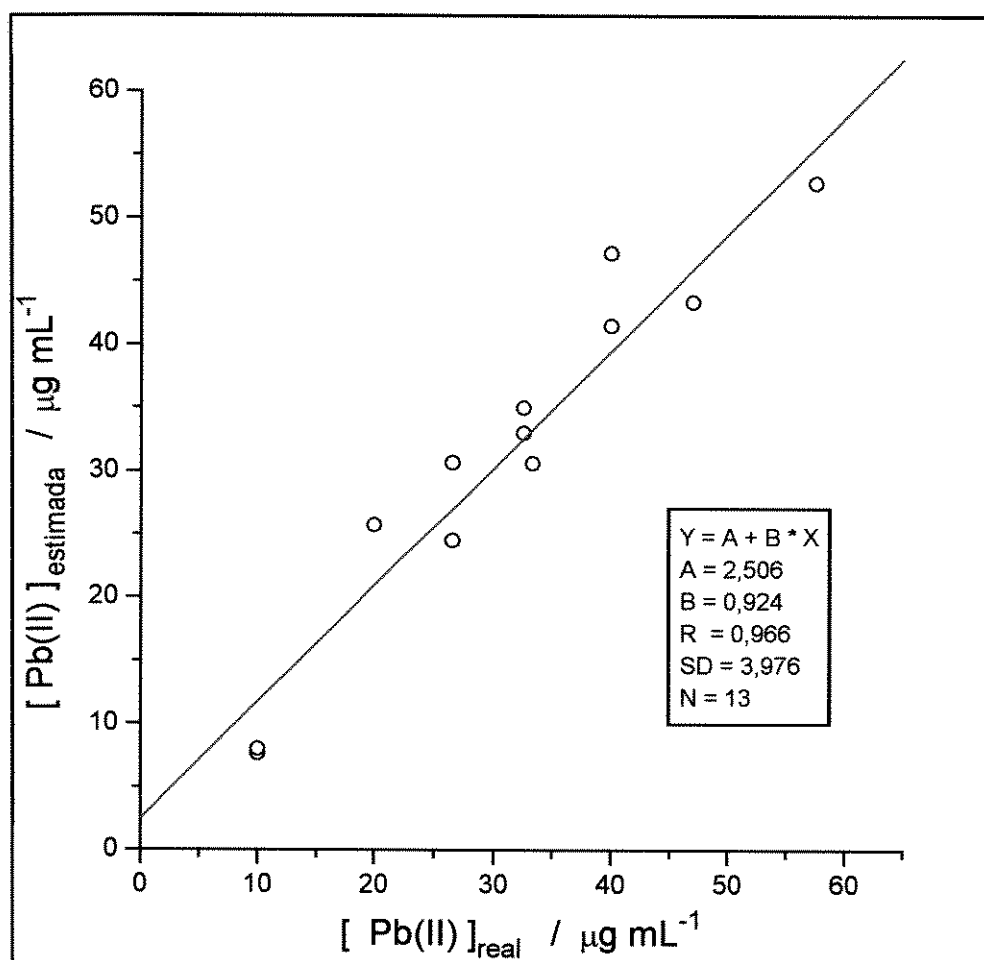


Figura 55 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para Chumbo(II), determinada por PLS bi-dimensional.

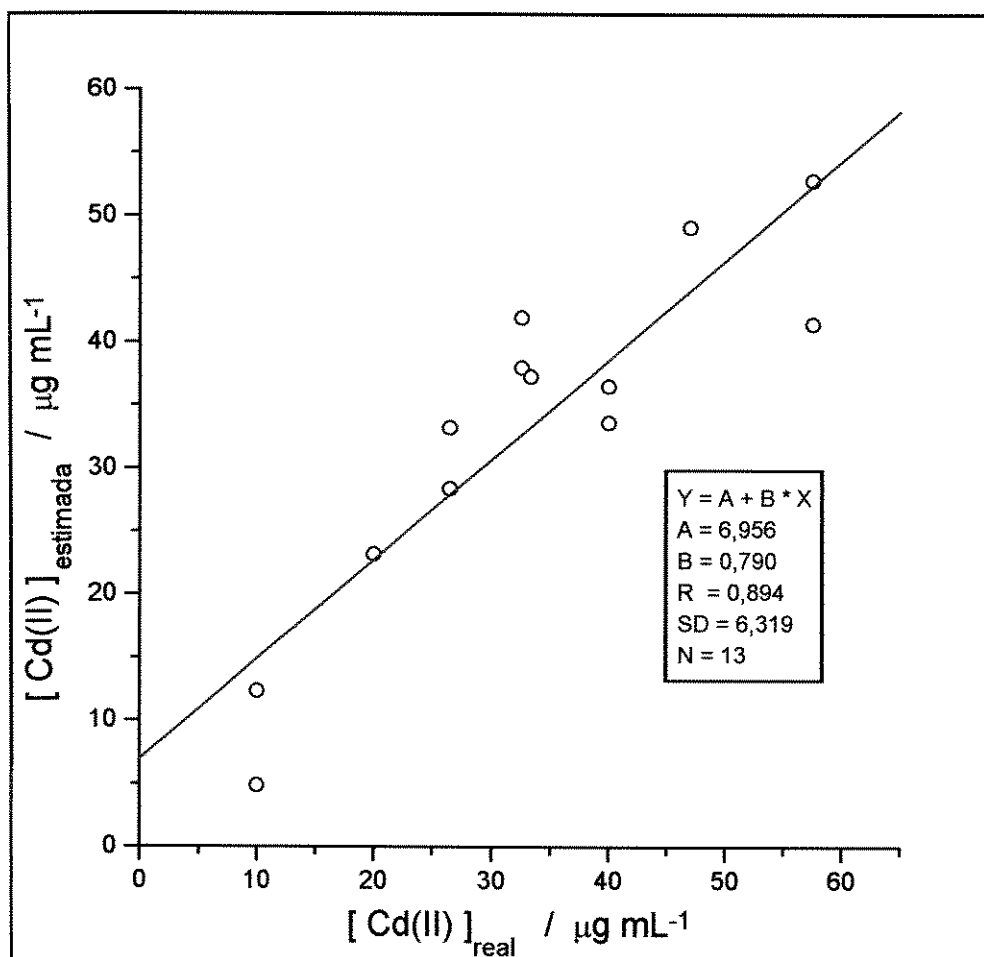


Figura 56 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para Cádmio(II), determinada por PLS bi-dimensional.

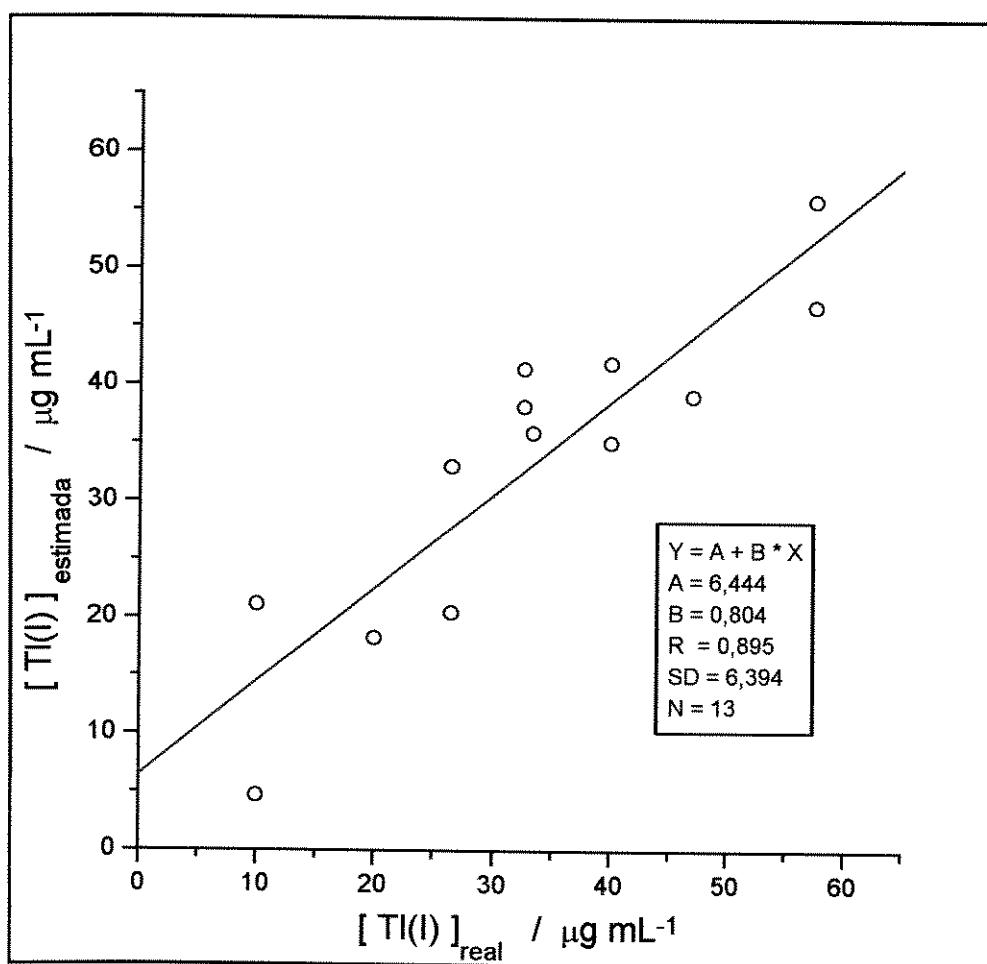


Figura 57 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para Tálho(I), determinada por PLS bi-dimensional.

4.8. APLICAÇÃO DE “PLS” MULTI-DIMENSIONAL

Com a diferenciação no grau de complexação das três espécies em função da concentração variável do EDTA criada pelo gradiente, é possível melhorar as determinações individuais das espécies em mistura utilizando-se o PLS multi-dimensional. Para isso utiliza-se não apenas os dados de um voltamograma em concentração definida de EDTA ou na sua ausência, mas todos os voltamogramas nas várias concentrações de EDTA no gradiente criado.

Os resultados obtidos, trabalhando-se com calibração multivariada denominada PLS multi-dimensional ilustram as possibilidades analíticas advindas desta técnica.

Um conjunto de 16 padrões de misturas de Pb(II), Cd(II) e Tl(I), de acordo com o planejamento experimental no item 4.5, gerou um total de 16 matrizes, de 27 valores de corrente obtidas em função do potencial versus 80 varreduras, ou seja 2160 valores de corrente para cada padrão; estas matrizes combinadas resultaram numa matriz 16 (número de misturas padrões) versus 2160 (potencial x número de varreduras no gradiente de EDTA) com um total de 34.560 valores de corrente, utilizada no PLS multi-dimensional. Além do volume de informação maior neste caso em relação ao bi-dimensional, o poder de diferenciação entre as espécies aumenta com a diferenciação dos voltamogramas no gradiente de EDTA. Neste caso optou-se também pela aplicação da calibração multivariada, num segundo momento, utilizando as 13 amostras padrões mais centrais do planejamento experimental da Figura 38.

Os resultados obtidos, sempre utilizando-se “cross-validation” conforme as Figuras 58, 59 e 60 e Tabelas 2 e 3, atestam a melhoria acentuada na correlação entre os valores reais e estimados para os três íons estudados em relação à calibração utilizando-se o PLS bi-dimensional. Pelas tabelas 2 e 3

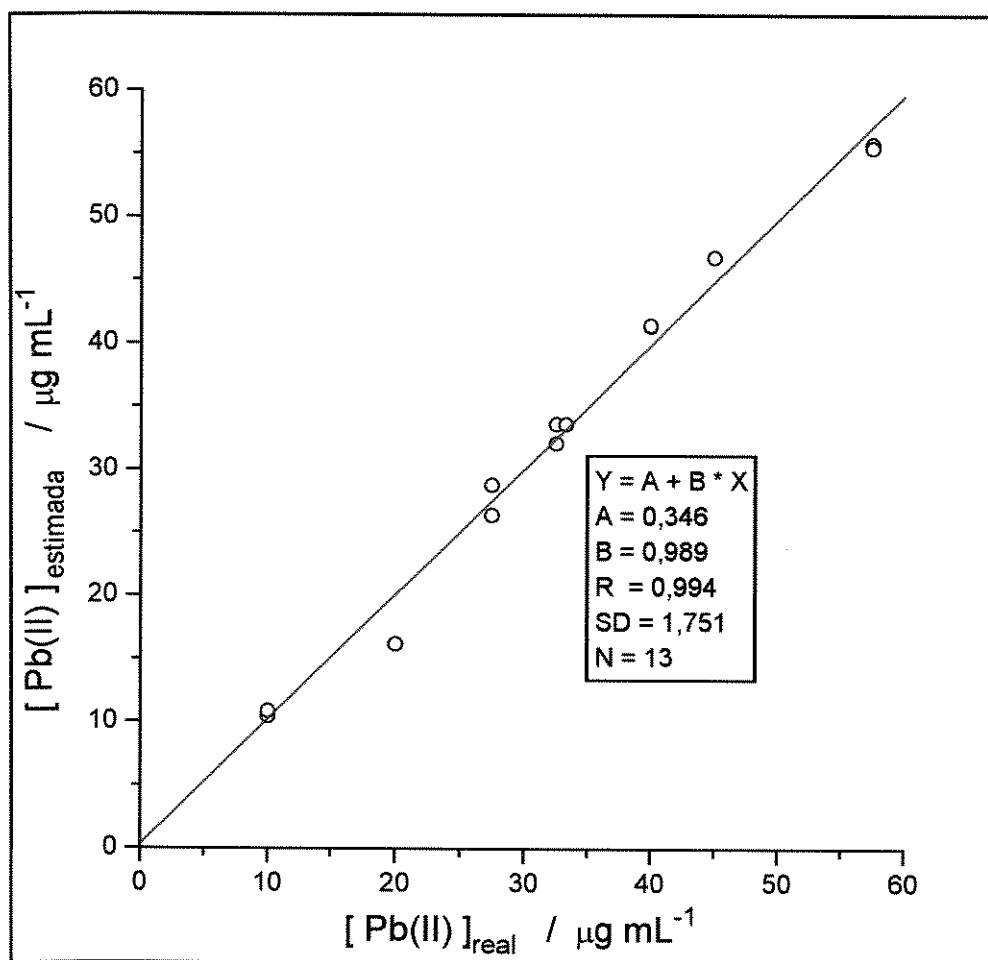
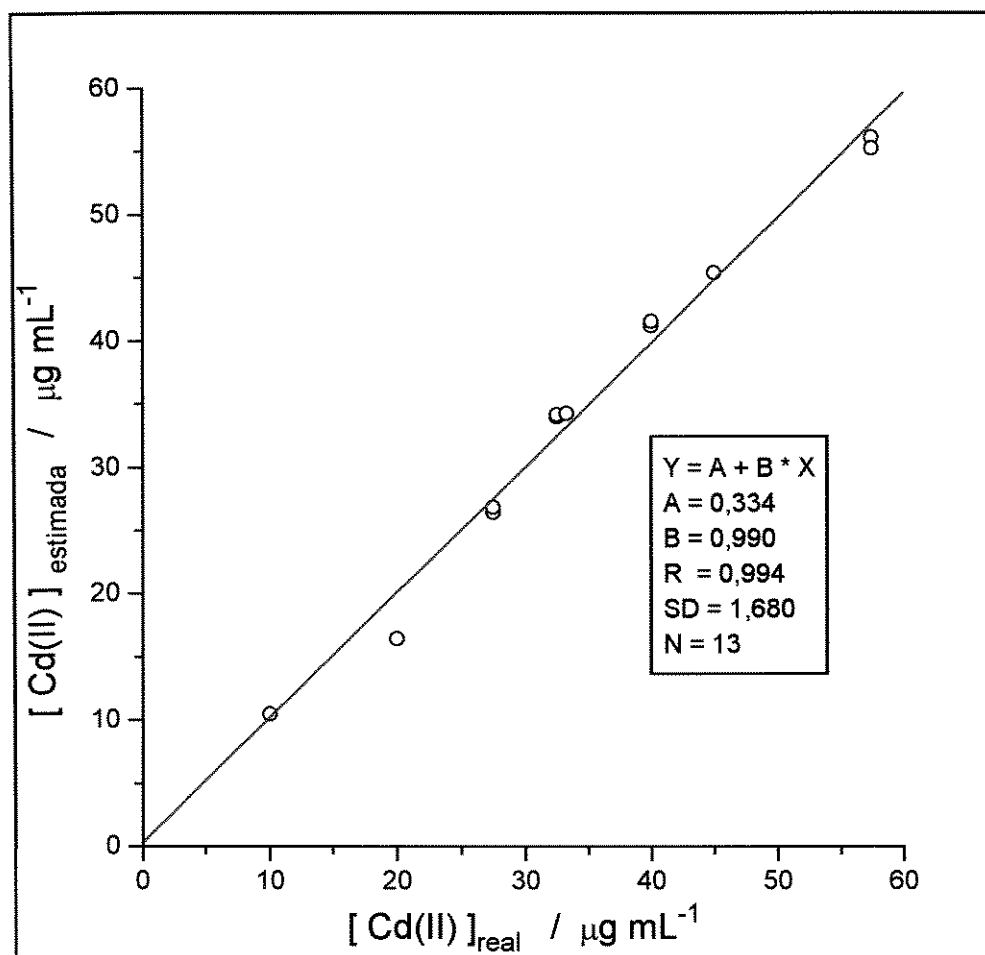


Figura 58 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para Chumbo(II), determinada por PLS multi-dimensional.



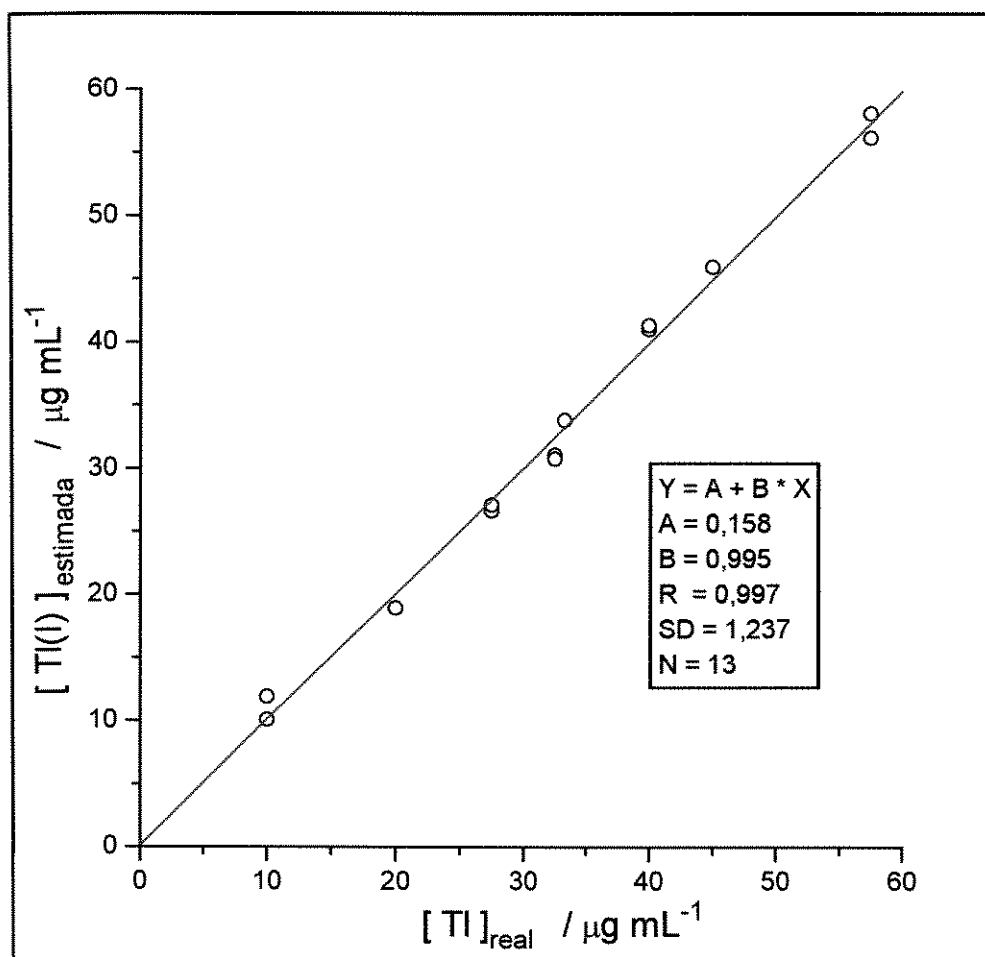


Figura 60 - Correlação entre as concentrações reais e estimadas para Tálzio(I), determinada por PLS multi-dimensional.

PLS Bidimensional								
Cd(II) _{real}	Cd(II) _{estim}	EA *	Pb(II) _{real}	Pb(II) _{estim}	EA	Tl(I) _{real}	Tl(I) _{estim}	EA
10.00	18.56	8.56	80.00	70.16	-9.84	10.00	12.93	2.93
80.00	75.14	-4.86	10.00	8.26	-1.74	10.00	9.64	-0.36
10.00	15.33	5.33	10.00	7.57	-2.43	80.00	79.09	-0.91
10.00	12.31	2.31	32.50	37.96	5.46	57.50	35.13	-22.37
10.00	18.23	8.23	57.50	55.25	-2.25	32.50	37.83	5.33
32.50	33.10	0.60	57.50	55.65	-1.85	10.00	5.98	-4.02
57.50	24.22	-33.29	32.50	35.13	2.63	10.00	28.07	18.07
57.50	63.92	6.42	10.00	8.72	-1.28	32.50	30.27	-2.23
32.50	44.93	12.43	10.00	6.78	-3.22	57.50	55.14	-2.36
26.50	24.25	-2.25	26.50	29.83	3.33	47.00	45.61	-1.39
20.00	27.97	7.97	40.00	42.35	2.35	40.00	36.12	-3.88
26.50	20.69	-5.81	47.00	45.93	-1.07	26.50	32.05	5.55
40.00	49.90	9.90	40.00	49.89	9.88	20.00	13.84	-6.16
47.00	39.53	-7.47	26.50	20.37	-6.13	26.50	36.66	10.16
40.00	27.53	-12.47	20.00	26.39	6.39	40.00	42.43	2.43
33.30	28.37	-4.93	33.30	33.21	-0.09	33.30	32.41	-0.89

PLS Multidimensional								
Cd(II) _{real}	Cd(II) _{estim}	EA	Pb(II) _{real}	Pb(II) _{estim}	EA	Tl(I) _{real}	Tl(I) _{estim}	EA
10,00	15,15	5.15	80,00	78,16	-1.84	10,00	9,12	-0.88
80,00	70,98	-9.02	10,00	12,84	2.84	10,00	12,00	2.00
10,00	16,22	6.22	10,00	12,60	2.60	80,00	77,17	-2.83
10,00	7,94	-2.06	32,50	28,69	-3.81	57,50	60,11	2.61
10,00	4,92	-5.08	57,50	56,24	-1.26	32,50	32,90	0.40
32,50	30,22	-2.28	57,50	57,94	0.44	10,00	10,07	0.07
57,50	60,98	3.48	32,50	31,22	-1.28	10,00	10,61	0.61
57,50	59,60	2.10	10,00	5,8	-4.32	32,50	31,33	-1.17
32,50	29,49	-3.01	10,00	10,45	0.45	57,50	58,28	0.78
26,50	24,80	-1.70	26,50	27,91	1.41	47,00	46,97	-0.03
20,00	14,90	-5.10	40,00	41,80	1.80	40,00	41,67	1.67
26,50	25,61	-0.89	47,00	49,15	2.15	26,50	26,35	-0.15
40,00	44,03	4.03	40,00	42,33	2.33	20,00	17,78	-2.22
47,00	49,81	2.81	26,50	25,76	-0.74	26,50	25,97	-0.53
40,00	42,55	2.55	20,00	18,24	-1.76	40,00	40,12	0.12
33,30	34,41	1.11	33,30	33,94	0.64	33,30	33,30	0.00

Íon	PLS			
	Bidimensional		Multidimensional	
	R **	REP (%) ***	R	REP (%)
Cd(II)	0,828	33,02	0,978	12,30
Pb(II)	0,970	14,17	0,994	6,42
Tl(I)	0,906	24,73	0,997	4,12

(*)EA = Erro Absoluto (**)R = Coeficiente de Correlação (***)REP = Erro Relativo Médio da Estimativa

Tabela 2 - Aplicação do PLS para um conjunto com 16 misturas padrões utilizando “cross-validation”.

PLS Bidimensional								
Cd(II) _{real}	Cd(II) _{estim}	EA	Pb(II) _{real}	Pb(II) _{estim}	EA	Tl(I) _{real}	Tl(I) _{estim}	EA
10.00	12.36	2.36	32.50	33.01	0.51	57.50	46.91	-10.59
10.00	4.90	-5.10	57.50	52.77	-4.73	32.50	41.47	8.97
32.50	41.96	9.46	57.50	52.78	-4.72	10.00	4.72	-5.28
57.50	41.47	-16.03	32.50	35.01	2.51	10.00	21.11	11.11
57.50	52.82	-4.68	10.00	7.66	-2.34	32.50	38.19	5.69
32.50	38.00	5.49	10.00	8.01	-1.99	57.50	55.99	-1.51
26.50	33.24	6.74	26.50	30.67	4.17	47.00	39.11	-7.90
20.00	23.22	3.22	40.00	41.52	1.52	40.00	35.13	-4.87
26.50	28.41	1.91	47.00	43.40	-3.60	26.50	33.04	6.54
40.00	36.53	-3.47	40.00	47.25	7.25	20.00	18.27	-1.73
47.00	49.12	2.12	26.50	24.56	-1.94	26.50	20.49	-6.01
40.00	33.64	-6.36	20.00	25.77	5.77	40.00	41.94	1.94
33.30	37.29	3.99	33.30	30.62	-2.68	33.30	35.94	2.64

PLS Multidimensional								
Cd(II) _{real}	Cd(II) _{estim}	EA	Pb(II) _{real}	Pb(II) _{estim}	EA	Tl(I) _{real}	Tl(I) _{estim}	EA
10.00	10.50	0.50	32.50	32.11	-0.39	57.50	58.10	0.60
10.00	10.49	0.49	57.50	55.84	-1.66	32.50	31.12	-1.38
32.50	34.02	1.52	57.50	55.51	-1.99	10.00	10.11	0.11
57.50	56.21	-1.29	32.50	33.66	1.16	10.00	11.96	1.96
57.50	55.33	-2.17	10.00	10.45	0.45	32.50	30.77	-1.73
32.50	34.20	1.70	10.00	10.85	0.85	57.50	56.21	-1.29
26.50	26.45	-1.05	26.50	28.82	1.32	47.00	45.99	0.99
20.00	16.47	-3.53	40.00	41.42	1.42	40.00	41.03	1.03
26.50	26.89	-0.61	47.00	46.84	1.84	26.50	26.65	-0.85
40.00	41.28	1.28	40.00	41.43	1.43	20.00	18.95	-1.05
47.00	45.49	0.49	26.50	26.42	-1.08	26.50	27.11	-0.39
40.00	41.59	1.59	20.00	16.20	-3.80	40.00	41.35	1.35
33.30	34.28	0.98	33.30	33.62	0.32	33.30	33.85	0.55

Íon	PLS			
	Bidimensional		Multidimensional	
	R **	REP ***	R	REP
Cd(II)	0,894	19,74	0,994	4,71
Pb(II)	0,966	11,47	0,994	4,75
Tl(I)	0,895	19,64	0,997	3,38

(*)EA = Erro Absoluto (**)R = Coeficiente de Correlação (***)REP = Erro relativo Médio das Estimativas

Tabela 3 - Aplicação do PLS para um conjunto com 13 misturas padrões utilizando “cross validation”.

verifica-se também uma melhoria quando o conjunto de dados utilizados no modelamento não apresenta os vértices do planejamento, conforme a Figura 38.

Uma representação das correlações envolvendo todas as variáveis estudadas, no caso Pb(II), Cd(II) e Tl(I), pode ser vista na Figura 61, mas para facilitar a interpretação as representações bi-dimensionais caracterizam melhor as correlações, como mostram gráficos (Figuras 62, 63 e 64) dispondo-se os valores reais e estimados para dois íons simultaneamente. No caso, a Figura 62 mostra as correlações entre os valores reais e estimados para Pb(II) e Cd(II), a Figura 63, Cd(II) e Tl(I) e a Figura 64, Pb(II) e Tl(I). Acredita-se que com estas representações um melhor perfil da amostra esteja sendo mostrado em lugar de apenas discutir cada íon isoladamente.

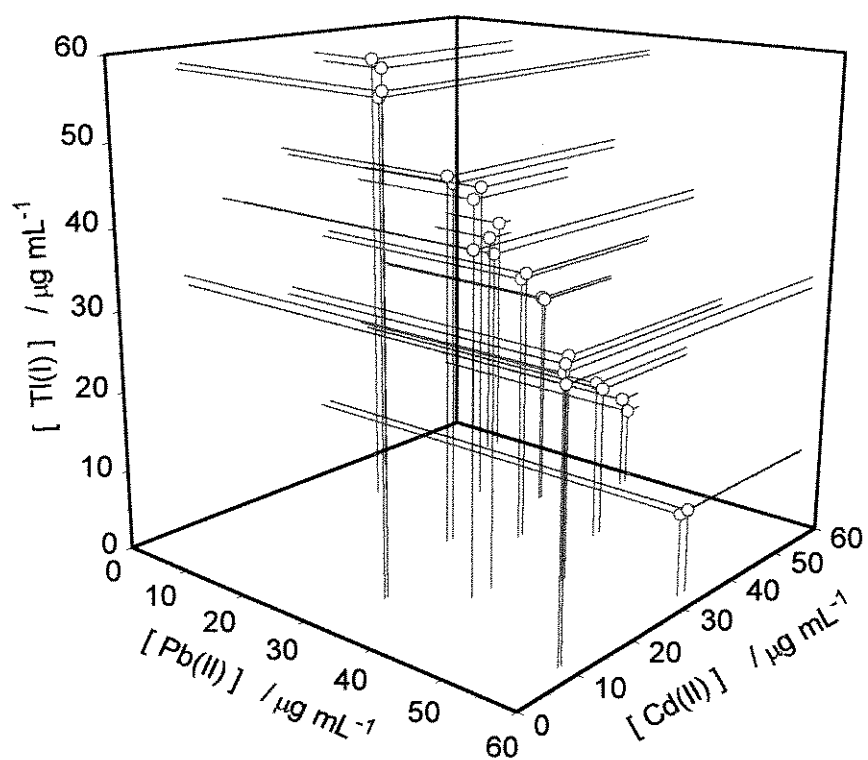


Figura 61 - Correlações entre as concentrações reais (o) e estimadas (o) para Pb(II) vs. Cd(II) vs. Tl(I) determinadas por PLS multi-dimensional.

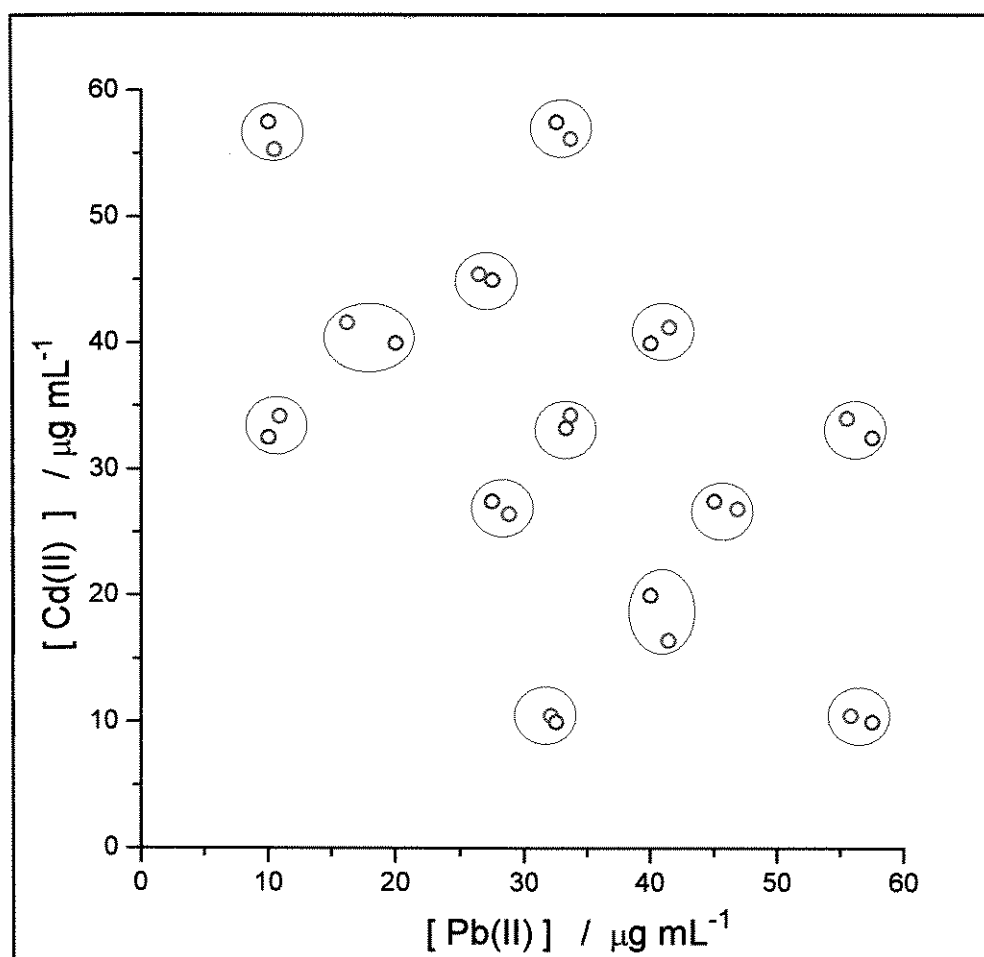


Figura 62 - Correlação entre as concentrações reais (o) e estimadas (o) para Pb(II) vs Cd(II), determinada por PLS multi-dimensional.

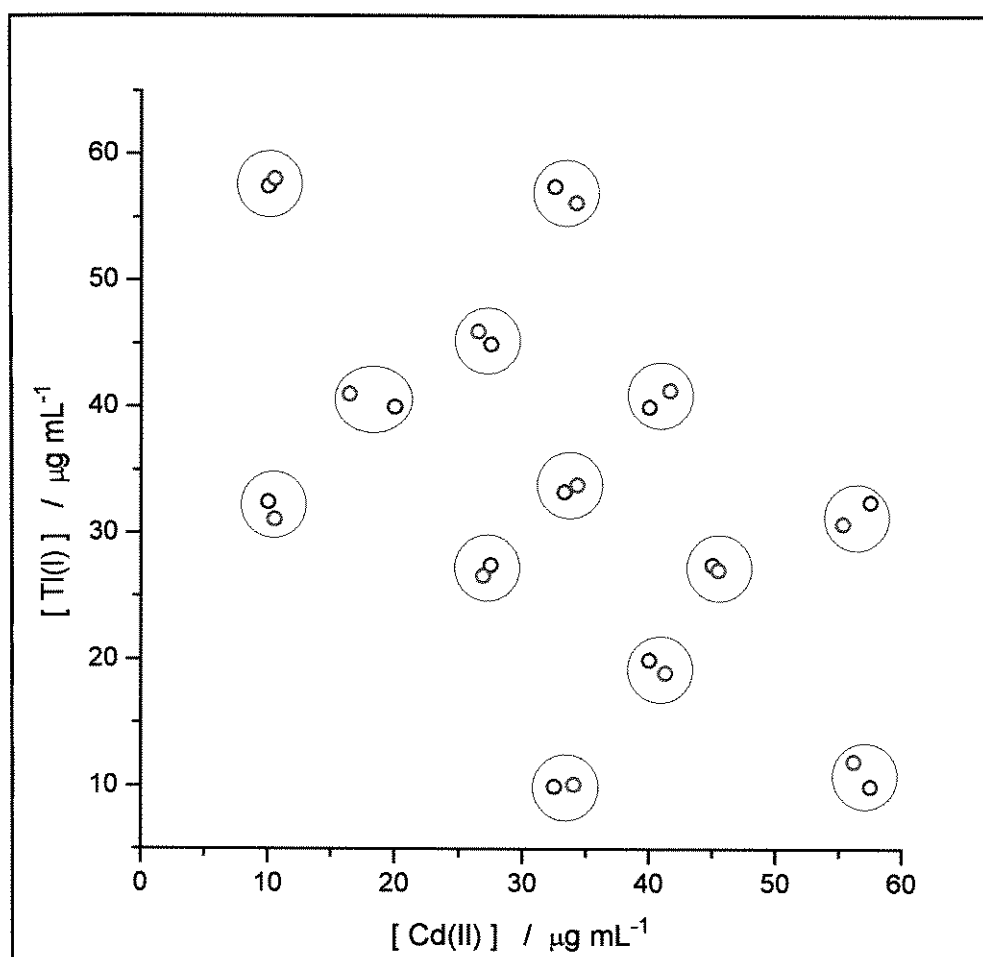


Figura 63 - Correlação entre as concentrações reais (o) e estimadas (o) para Cd(II) vs Tl(I), determinada por PLS multi-dimensional.

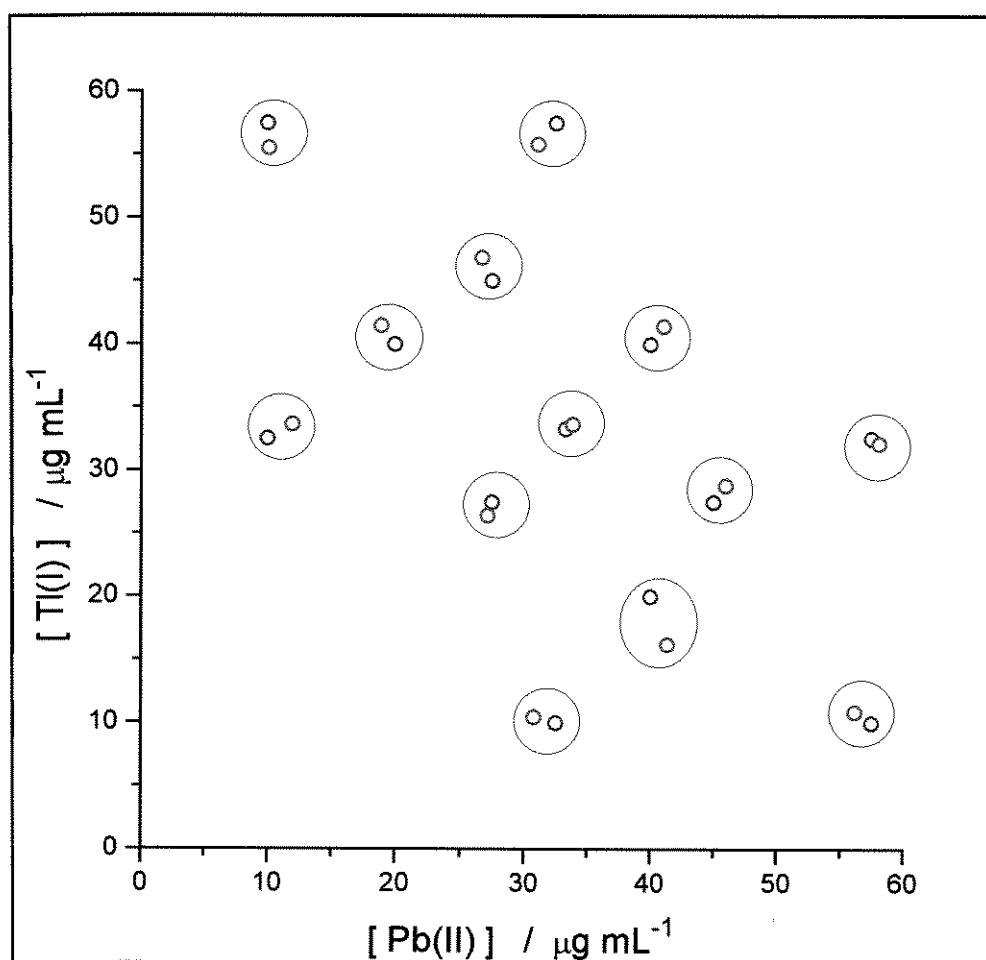


Figura 64 - Correlação entre as concentrações reais (o) e estimadas (o) para Pb(II) vs Tl(I), determinada por PLS multi-dimensional.

Capítulo 5

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho foi demonstrada a possibilidade da utilização de um sistema em fluxo com detecção voltamétrica através de um cela de microeletrodos múltiplos de cobre recobertos com filme de mercúrio, criando-se um gradiente de EDTA na linha de fluxo, para a determinação quantitativa de íons metálicos que apresentam ondas voltamétricas sobrepostas. Para isto foi necessário a utilização de técnicas quimiométricas de calibração multivariada.

Trabalhando-se com dados voltamétricos de Pb(II), Cd(II) e Tl(I) obtidos com e sem o gradiente de EDTA, foram aplicados, respectivamente, o PLS bi-dimensional e o PLS multi-dimensional; os resultados mostram claramente que a utilização dos dados com o gradiente levam a um melhor resultado frente aos valores reais das concentrações dos íons nas várias misturas testes.

A utilização de procedimentos de Filtragem Digital, denominados de médias móveis, mostraram-se muito importantes para uma melhor apresentação visual dos voltamogramas, assim como para a obtenção de melhor reprodutibilidade das medidas voltamétricas.

Uma grande vantagem da metodologia proposta é a rapidez. Um conjunto de 80 voltamogramas, dentro das condições do gradiente criado, pode ser obtido em aproximadamente 8 minutos.

Como desvantagens podem ser enumeradas o número de amostras que devem ser preparadas para que seja estabelecida a modelagem com o PLS, além de problemas de matriz nas amostras desconhecidas que não podem ser solucionados. Isto é, como na maioria dos métodos de calibração, a matriz deve-se igualar o máximo possível à matriz dos padrões de calibração.

O sistema montado abre perspectivas de determinação de outras espécies eletroativas e que apresentam ondas voltamétricas sobrepostas, como é o caso de resíduos de pesticidas no meio ambiente. Outra possibilidade é a criação de gradiente de acidez, o que fatalmente influirá nas reações de complexação e consequentemente levará a modificações no perfil voltamétrico das espécies sendo analisadas.

O desenvolvimento de arranjos de ultramicroeletrodos de platina ou ouro, em lugar do arranjo de cobre utilizado permitirá uma maior reprodutibilidade das respostas ao longo de um período maior de tempo, evitando-se a necessidade frequente de polimento e recomposição do filme de mercúrio.

Capítulo 6

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, P.W. e AKAPONGKUL, U., *Anal. Chim. Acta*, 148: 103-109, 1983.

ALEXANDER, P.W. e AKAPONGKUL, U., *Anal. Chim. Acta*, 166: 119-127, 1984.

AOKI, A.; MATSUE, T. e UCHIDA, I., *Anal. Chem.*, 64: 44-49, 1992.

BARISCI, J. N. e WALLACE, G.G., *Electroanalysis*, 4: 323-326, 1992.

BATLEY, G. E. e FLORENCE, T. M., *Electroanal. Chem. Interf. Electrochem.*, 61, 205-211, 1975.

BERGAMIN FILHO, H.; ZAGATTO, E.A.; KRUG, F.J. e REIS, B.F., *Anal. Chim. Acta*, 101: 17-23, 1978.

BETTERIDGE, D. e FIELDS, B., *Anal. Chim. Acta*, 132: 139-155, 1981.

BLANCO, n M.; GENE, J.; ITURRIAGA, H.; MASPOCH, S. e RIBA, J., *Talanta*, 34: 987-993, 1987.

BOND, A.M., *J. Electroanal. Chem.*, 118: 381-394, 1981.

BREARLY, T.H.; DISHI, A.K. e FIELDEN, P.R., *Anal. Proc.*, 26: 389-390, 1989.

BRO, R., *J. Chemometrics*, 10: 47-61, 1996.

BROWN, T. F. e BROWN, S. D., *Anal. Chem.*, 53: 1410-1417, 1981.

BRUNS, R.E., *Quím. Nova*, 2: 84-99, 1985

BUTLER, I. B.; SCHOONEN, A. A. e RICHARD, D. T., *Talanta*, 41: 211-215, 1994.

- CAHN, F. e COMPTON, S., *Appl. Spectrosc.*, 42: 865-872, 1988.
- CAI, Q. e KHOO, S. B., *Electroanalysis*, 4, 379-385, 1995.
- DÍAZ, T. G.; VALENZUELA, M. I. A. e SALINAS, F. *Frezenius Z. Anal. Chem.*, 350: 692-701, 1994.
- DONTEN, D. e KUBLIK, Z., *J. Electroanal. Chem.*, 196: 275-290, 1985.
- EG&G PARC, *Model 394B - Polarographic Analyser Instruction Manual*, Princeton, 1988.
- FARIA, L. C. e PASQUINI, C. *Quím. Nova*, 14: 216-218, 1991.
- FIELDEN, P.R. e MCCREEDY, T., *Anal. Chim. Acta*, 273: 111-121, 1993.
- FIELDEN, P.R. e MCCREEDY, T. RUCK, N. e VAIREANU, D., *Analyst*, 119: 953-958, 1994.
- FITCH, A. e EVANS, D., *J. Electroanal. Chem.*, 202: 83-91, 1986.
- GELADI, P. e KOWALSKI, B.R., *Anal. Chim. Acta*, 185: 1-17, 1986.
- HANSEN, E.H., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 329: 656-659, 1988.
- HENRION, A.; HENRION, R.; HENRION, G. e SCHOLZ F., *Electroanalysis*, 2: 309-312, 1990.
- HEYROVSKÝ, M. e VAVRICKA, S., *J. Electroanal. Chem.* 353: 335-340, 1993.
- HITCHMAN, M. e TROJANOWICZ, M., *Electroanalysis*, 4: 941-948, 1992.
- HOOGVLIET, J.C.; REIJN, J.M. e VAN BENNEKON, W.P., *Anal. Chem.*, 63: 2418-2423, 1991.
- HOWELL, J. O. and WIGHTMAN, R. M., *Anal. Chem.*, 56: 524-529, 1984.
- JANATA, J. e RUZICKA, J., *Anal. Chim. Acta*, 139: 105-115, 1982.
- KUBÁN, V., *Crit. Rev. Anal. Chem.* 22: 477-557, 1991.
- LUKASZEWSKI, Z. e ZEMBRUSKI, W., *Talanta*, 39, 221-227, 1992.
- LUKKAKI, I. e LINDEBERG, W., *Anal. Chim. Acta*, 211: 1-10, 1988.

- MALCOME-LAWES, D.J., *Microcomputers and Laboratory Instrumentation* Plenum Press, 2^a ed., London, 1988.
- MATH WORKS, *MatLab*, Math Works, Natick, MA, 1993.
- McGRATH, M. J.; FANG, T.; DIAMOND, D. e SMYTH, M. R., *Anal. Lett.*, 28: 685-696, 1995.
- NØRGAARD, L., *Anal. Chim. Acta*, 225: 143-148, 1991.
- NEVADO, J.J.B. e FLORES, J.R., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 342: 273-275, 1992.
- OLSEN, S.; RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., *Anal. Chim. Acta*, 136: 101-112, 1982.
- OSTERYOUNG, J., *J. Chem. Educ.*, 60: 296-298, 1983.
- PASQUINI, C. e FARIA, L. C., *Anal. Chim. Acta*, 193: 19-27, 1987.
- PONS, S. and FLEISHMANN, M., *Anal. Chem.*, 59: 1391A-1399A, 1987.
- POPPI, R. J., *Construção de um espectrofotômetro com transformada de Hadamard e sua aplicação na análise por injeção em fluxo*. Tese de doutorado. Campinas, 1993, 187p.
- REIM, R. E., *Anal. Chem.*, 55: 1188-1191, 1983.
- REN, S. e GAO, L., *J. Autom. Chem.*, 17: 173-177, 1995.
- RISINGER, L.; YANG, X. e JOHANSSON, G., *Anal. Chim. Acta*, 200: 313-318, 1987.
- ROHWEDDER, J.J.R., *Desenvolvimento de um sistema multieletrodo para medidas voltamétricas: voltametria multiplexada com uso de transformada de Hadamard*. Tese de doutorado. Campinas, 1995, 221p.
- RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., *Anal. Chim. Acta*, 78: 145-157, 1975.
- RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., *Anal. Chim. Acta*, 99: 37-76, 1976.
- RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., *Anal. Chim. Acta*, 145: 1-15, 1983.

- RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. e MOSBAEK, H., *Anal. Chim. Acta.*, 92: 235-249, 1977.
- SJÖSTRÖM, M.; WOLD, S.; LINDBERG; PERSSON and MARTENS, H., *Anal. Chim. Acta*, 150: 61-70, 1983.
- SLATER, J. M. e WATT, E. J. *Analyst*, 119: 273-277, 1994.
- SMITH, C.P. e WHITE, H.S., *Anal. Chem.*, 57: 2764-2770, 1985.
- SMITH, G. L., *Anal. Proc.*, 28: 150-151, 1991
- STULÍK, K.; PAKÁCOVÁ, V.; LE, K. e HENNISSSEN, B., *Talanta*, 35: 455-460, 1988.
- TROJANEK, A. e HOLUB, K. *Anal. Chim. Acta*, 121: 23-28, 1980.
- VALCARCEL, M. e LUQUE DE CASTRO, M.D., *Análisis por Inyección en Flujo*, Imprensa San Pablo, Córdoba, 1984.
- VON LAAR, C.; REINKE, R. e SIMON, J. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 45: 692-693, 1994.
- XIE, Y.; BAEZA-BAEZA, J.J. e RAMIS-RAMOS, G. *Chem. Intell. Lab. Syst.*, 27: 211-220, 1995.
- WANG, J., *Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, VCH, New York, 1988.
- WIGHTMAN, R. M., *Anal. Chem.*, 53 : 1125A-1134A, 1981.
- WISE, B. M., *PLS_Toolbox*, Richland, WA, 1992.
- WOLD, H., *Research Papers in Statistics*, Wiley, New York, 1966.
- WOLD, S.; GELADI, P.; ESBENSEN, K. e ÖHAMAN, J., *J. Chemometrics*, 1: 41-45, 1987.
- YOSHIDA, Z., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 54: 562-567, 1981.
- ZAGGATO, E.A.; REIS, B.F.; BERGAMIN, H. e KRUG, F.J., *Anal. Chim. Acta*. 109: 45-54, 1979.

Capítulo 7

ANEXOS

Neste anexo são descritas na primeira parte as formulações das principais soluções com as quais se trabalhou. Na segunda parte são mostrados o programa fonte em QuickBasic utilizado para o controle e aquisição dos dados do sistema voltamétrico e os programas quimiométricos contidos no pacote “ToolBox” utilizados no processamento dos dados multivariados, que operam dentro do ambiente do MatLab.

7.1. Preparo das Soluções

- **Chumbo(II)** - Solução estoque $4,8313 \text{ mmol L}^{-1}$ de chumbo(II) foi preparada a partir do metal (Merck). Uma certa quantidade do metal na forma de grãos foi lavada sequencialmente com uma solução 1:1 de HNO_3 , água deionizada, álcool etílico e acetona. Após secagem, 1,0 g do metal foi dissolvido em 10 mL de uma solução 1:1 de HNO_3 . Após a dissolução do metal o ácido restante foi evaporado e o material restante foi dissolvido em ácido nítrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, transferindo-se a solução para balão volumétrico de 1L e completando-se o volume com HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

- **Cádmio(II)** - Solução estoque $8,8968 \text{ mmol L}^{-1}$ de cádmio(II) foi preparada a partir do metal (Baker Chemical), com um procedimento semelhante ao descrito para chumbo(II).
- **Tálio(I)** - Solução estoque $3,7900 \text{ mmol L}^{-1}$ de tálio(I) foi preparada a partir da dissolução de $0,5000 \text{ g}$ de acetato de tálio(I) em ácido nítrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, transferindo-se a solução para balão volumétrico de $0,5 \text{ L}$, completando-se o volume com HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.
- **Tampão acetato** - Solução tampão de ácido acético ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) / acetato de sódio ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), foi preparada por dissolução de $41,020 \text{ g}$ de acetato de sódio (Mallinckrodt) e $28,6 \text{ mL}$ de ácido acético glacial (Mallinckrodt) em um copo de Becker de 1 L com aproximadamente $0,45 \text{ L}$ de água deionizada; o pH da solução foi ajustado para $4,85$ com NaOH 4 mol L^{-1} ou ácido acético glacial, em seguida a solução foi transferida para balão volumétrico de $0,5 \text{ L}$, completando-se o volume com água deionizada.
- **Ácido nítrico** - Soluções $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $1:1$ foram preparadas a partir do ácido nítrico concentrado (Merck).
- **Mercúrio(II)** - Solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de Hg(II) contendo ácido nítrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada a partir da dissolução de mercúrio metálico (Carlo Erba), de grau polarográfico, em ácido nítrico.
- **Ácido fosfórico** - Solução a $60\% \text{ m/v}$ foi preparada a partir de ácido fosfórico concentrado (Merck).
- **Metavanadato de amônio** - Foi preparada uma solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de metavanadato de amônio em ácido clorídrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

- **Nitrato de crômio(III)** - Foi preparada uma solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de nitrato de crômio(III) (Vetec) em ácido clorídrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.
- **EDTA** - Solução $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$ foi preparada por dissolução de 18,612 g do sal em água deionizada e a solução foi transferida para balão de 1L e o volume completado com água deionizada.

7.2. Programas Utilizados

7.2.1. MULTDFA - Programa Gerenciador em QuickBasic

```

DECLARE SUB regression (x1!, x2!, y1!, y2!, a!, b!)
DECLARE SUB ajuste ()
DECLARE SUB inverter (itot!(), datacur!())
DECLARE SUB pause ()
DECLARE SUB errorhandle (flag!)
DECLARE SUB injecao ()
DECLARE SUB escala ()
DECLARE SUB graphics ()
DECLARE SUB varpar (flagvar%, flagpar%)
DECLARE SUB setflip ()
DECLARE SUB secmenu (tecnic$, k$, tp1!, tps!, flagvar%)
DECLARE SUB aplipot (p1%, p2%)
DECLARE SUB calpot (itot(), flagcpot%, a, elecp%)
DECLARE SUB ciclica (byt1%, byt2%, byt3%, byt4%, nelec%, direct$, elecp%, flagret%)
DECLARE SUB cicloconver (itot(), elecp%)
DECLARE SUB ciclicover (cover!(), elecp%)
DECLARE SUB control (g%, v%, a%)
DECLARE SUB currentover (over(), elecp%)
DECLARE SUB currentread (current(), ni%)
DECLARE SUB curtot (cent(), tot)
DECLARE SUB delay (temp)
DECLARE SUB delaycalibr (fact#)
DECLARE SUB direction (direct$, datacur(), elecp%, scan%, tecnic$, temp, fator$, num$, ni, grapoint,
flagtrat%)
DECLARE SUB displaytest ()
DECLARE SUB elecarray (byt1%, byt2%, byt3%, byt4%, nelec%)
DECLARE SUB filevol (datacur(), elecp%, scan%, tecnic$, temp, fator$, num$, ni, grapoint)
DECLARE SUB instep ()
DECLARE SUB message (ly%, xc%, cor%, mess$)
DECLARE SUB outda (ad%, bytetosend%)
DECLARE SUB potfix (geopot, p1%, p2%)
DECLARE SUB potgraf (x!(), ni!)
DECLARE SUB potrange (pot, poten, pot%, poten%)
DECLARE SUB printscreen (x1%, x2%, y1%, y2%, br%, linv%, fl%, mode$, dens$)
DECLARE SUB purgetime (t!, tecnic$)
DECLARE SUB pularray (byt1%, byt2%, byt3%, byt4%, itot(), flagret%, par!, a!, elecp%)
DECLARE SUB readinter (ad%, di%)
DECLARE SUB transform (specr!(), spechad!())
DECLARE SUB tratcurva (curtrat!(), datacur!(), fc!(), fator$, smooth$, flagtrat%, num$, grapoint, ni)
DECLARE SUB variav ()
DECLARE SUB varredura (prescan%, scan%, totscan%, flagret%)
DECLARE SUB axis (n!, m!, ho!, inx!, iny!, stepx!, ymip!, ymap!, tickcsx!, tickesy!, tickcsz!)
DECLARE SUB labels (namex$, namelinx!, namecolx!, xl!, xci!, xcfl, valx1$, valx2$, namey$, nameliny!,
namecoly!, yli!, yci!, yfl, ycf!, valy1$, valy2$, namez$, namelinz!, namecolz!, zc!, zli!, zfl, valz1$, valz2$)
DECLARE SUB surface (n, m, ho!, vo!, vsize!, inx!, iny!, stepx!, scr$, y!(), flagwall%, ymip, ymap,
flagerror%)
DECLARE SUB maxmin (ymin!, ymax!)
DECLARE SUB hidden (x1!, x2!, y1!, y2!, scr$, contour())

```

```

DECLARE SUB transf(vo, vsize, ymin, ymax, yo, yi)
DECLARE SUB regression(x1!, x2!, y1!, y2!, a!, b!)
CONST contr% = 1003, PA% = 1000, PB% = 1001, PC% = 1002
CONST OHSTR% = 3, OLSTR% = 2, IHSTR% = 5, ILSTR% = 4, OSSTR% = 11
CONST IACK% = 32, OACK% = 128, hill% = 255
CONST ADC% = 239, dacd% = 223, daci% = 191
CONST iof% = 1
CONST notchange = -1, valveoff = 0, valveon = 1

COMMON SHARED ho, vo, vsize, inx, iny, stepx, ymax, ymin, flaginv%
COMMON SHARED flagscr%, display$, unit$, bctr%
COMMON SHARED tp, tps, tr, td, ty, tf, ted, td1, ty1, tf1, ted1, temp
COMMON SHARED pot, poten, pot%, poten%, pd, pod%, poden%, pr, pf, nelec%
COMMON SHARED gan%, np%, ii%, ifi%, amp, ampl, fact#, grapoint
COMMON SHARED prescan%, scan%, totscan%, curcont%, cont%, flagmax%

DIM SHARED current(500), curredif(500), fc(31)
DIM SHARED itot(120, 31), datacur(120, 31)

OUT contr%, 193: OUT PA%, hill%: OUT PB%, OHSTR%
CALL instep
CALL setflip
dout% = 0: ma = 5: stb = .002
FOR n = 0 TO 3
    add% = 255 - 2 ^ n
    CALL outda(add%, 255)
NEXT
CLS : LOCATE 20, 5: PRINT ">READING PARAMETERS";
OPEN "corfc.dat" FOR INPUT AS #2
FOR n = 1 TO 31
    INPUT #2, fc(n)
NEXT
CLOSE #2
CALL delaycalibr(fact#)
OPEN "fiaparam.dat" FOR INPUT AS #2
INPUT #2, tp, tps, tr, td, ty, tf, ted, pot, poten, pd, pr, pf
INPUT #2, amp, gan%, np%, ii%, ifi%, cont%, curcont%, unit$
INPUT #2, ho, vo, vsize, inx, iny, stepx
CLOSE #2
CALL control(gan%, valveoff, valveoff)
CALL potrange(pot, poten, pot%, poten%)
CALL potfix(pd, pod%, poden%)
CALL aplipot(pod%, poden%)
tp1 = tp * 60
ampl = amp / 1000
td1 = (td * 1000) * fact#
ty1 = (ty * 1000) * fact#
tf1 = (tf * 1000) * fact#
ted1 = (ted * 1000) * fact#
fator$ = "N"
smooth$ = "N"

```

```

num$ = "N"
flaginv% = 1
flagpar% = 0
flagvar% = 0
flagtrat% = 0
flagmax% = 0
ON ERROR GOTO ditchme
CALL displaytest
servicemenu: CLS
LOCATE 3, 27: PRINT "MAIN MENU"
LOCATE 6, 24: PRINT "1. DIFF ELECT SCAN";
LOCATE 8, 24: PRINT "2. DIFF POTEN SCAN";
LOCATE 10, 24: PRINT "3. ADJUST INJECT";
LOCATE 12, 24: PRINT "4. PARAMETERS";
LOCATE 14, 24: PRINT "5. CURRENT TIMER"
LOCATE 25, 24: PRINT "[Q] FOR QUIT";
wkey:
k$ = ""
WHILE k$ = ""
k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
IF k$ = "1" THEN GOTO pulseread
IF k$ = "2" THEN GOTO microarray
IF k$ = "3" THEN GOTO ajus
IF k$ = "4" THEN flagvar% = 4: GOTO parameter
IF k$ = "5" THEN CHAIN "FIADCUR.EXE"
IF k$ = "Q" THEN END
GOTO wkey
ajus:
CALL ajuste
GOTO servicemenu
parameter:
CALL varpar(flagvar%, flagpar%)
IF flagvar% = 0 GOTO servicemenu
IF flagvar% = 1 GOTO pulseread
IF flagvar% = 3 GOTO microarray
IF flagvar% = 4 GOTO servicemenu
pulseread:
flagvar% = 0
tecnic$ = "DIFF ELECT SCAN"
CALL secmenu(tecnic$, k$, tp1, tps, flagvar%)
IF k$ = "1" THEN GOTO runner1
IF k$ = "4" THEN : flagvar% = 1: GOTO parameter
IF k$ = CHR$(27) GOTO servicemenu
runner1:
CLS
LOCATE 1, 30: PRINT "DIFF ELECT SCAN"
CALL calpot(itot(), flagret%, temp, elecp%)
IF flagret% = 1 THEN GOTO pulseread
CALL inverter(itot(), datacur())
CALL maxmin(ymin, ymax)

```

```

    grapoint = 31
scl1:
    CALL graphics
    LOCATE 1, 30: PRINT "DIFF ELECT SCAN"
    LOCATE 2, 1: PRINT "PI"; pot; "V"; " "; "PF"; poten; "V"; " "; "G"; gan%; " "; "NP"; np%; " "; "NI"; ii%;
    " "; "NF"; ifi%; " "; "S"; scan%; " "; "PS"; prescan%
    LOCATE 2, 68: PRINT "T "; USING "###.#"; temp; : LOCATE 2, 75: PRINT "s"
    CALL ciclicover(itot(), elecp%)
    flagtrat% = 0
    CALL direction(direct$, datacur(), elecp%, scan%, tecnic$, temp, fator$, num$, ni, grapoint, flagtrat%)
    IF direct$ = "N" THEN GOTO pulseread
    IF direct$ = "C" THEN
        CALL escala
        CALL inverter(itot(), datacur())
        GOTO scl1
    END IF
    IF direct$ = "F" THEN
        CALL tratcurva(itot(), datacur(), fc(), fator$, smooth$, flagtrat%, num$, grapoint, ni)
        GOTO scl1
    END IF
microarray:
    flagvar% = 0
    tecnic$ = "DIFF POTEN SCAN"
    CALL secmenu(tecnic$, k$, tp1, tps, flagvar%)
    IF k$ = "1" THEN GOTO runner9
    IF k$ = "4" THEN : flagvar% = 3; GOTO parameter
    IF k$ = CHR$(27) GOTO servicemenu
runner9:
    CLS
    LOCATE 1, 28: PRINT "DIFF POTEN SCAN"
    LOCATE 8, 15: PRINT "TO PULSE ONE ELECTRODE ENTER WITH THE SAME NUMBER"
    CALL eleccarray(byt1%, byt2%, byt3%, byt4%, nelec%)
    LOCATE 25, 15: PRINT "Press [C] for Cancel or [ENTER] to Continuos";
    k$ = ""
    WHILE k$ <> CHR$(13) AND k$ <> "C"
        k$ = UCASE$(INKEY$)
    WEND
    IF k$ = "C" THEN GOTO runner9
    CALL pularray(byt1%, byt2%, byt3%, byt4%, itot(), flagret%, dp, temp, elecp%)
    IF flagret% = 1 GOTO microarray
    tecnic$ = "DIFF POTEN SCAN"
    CALL inverter(itot(), datacur())
    CALL maxmin(ymin, ymax)
    grapoint = 31
scl2:
    CALL graphics
    LOCATE 1, 30: PRINT "DIFF POTEN SCAN"
    LOCATE 2, 1: PRINT "PI"; pot; "V"; " "; "PF"; poten; "V"; " "; "G"; gan%; " "; "NP"; np%; " "; "NI"; ii%;
    " "; "NF"; ifi%; " "; "S"; scan%; " "; "PS"; prescan%; " "; "NE"; nelec%;
    LOCATE 2, 70: PRINT "T "; USING "###.#"; temp; : LOCATE 2, 77: PRINT "s"
    LOCATE 20, 1

```

```

CALL ciclicover(itot(), elecp%)
flagtrat% = 1
CALL direction(direct$, datacur(), elecp%, scan%, tecnic$, temp, fator$, num$, ni, grapoint, flagtrat%)
IF direct$ = "N" THEN GOTO microarray
IF direct$ = "C" THEN
CALL escala
CALL inverter(itot(), datacur())
GOTO scl2
END IF
IF direct$ = "F" THEN
CALL tratcurva(itot(), datacur(), fc(), fator$, smooth$, flagtrat%, num$, grapoint, ni)
GOTO scl2
END IF
ditchme:
SELECT CASE ERR
CASE 6
CLS
LOCATE 25, 5: PRINT "<OVERFLOW> Press SpaceBar";
CALL pause
RESUME servicemenu
CASE 11
CLS
LOCATE 25, 5: PRINT "<DIVISION BY ZERO> Press SpaceBar";
CALL pause
RESUME servicemenu
CASE 25
CLS
BEEP
LOCATE 25, 5: PRINT "<PRINTER OFF> Turne On and Press SpaceBar";
CALL pause
LOCATE 25, 5: PRINT SPC(50);
LOCATE 25, 5: PRINT ">PRINTING";
RESUME
CASE 5
flagscr% = 1
RESUME NEXT
CASE ELSE
LOCATE 25, 5: PRINT "ERROR NUMBER: ", ERR;
CLS
CALL pause
RESUME servicemenu
END SELECT

SUB ajuste
CLS
flagajust% = 0
LOCATE 3, 30: PRINT "ADJUST INJECT";
ajust:
k$ = ""
LOCATE 25, 17: PRINT "[I]njection    [S]top    [Esc]";
WHILE k$ <> "I" AND k$ <> "S" AND k$ <> CHR$(27)

```

```

k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
IF k$ = "I" THEN
LINE (200, 138)-(378, 183), , B
LOCATE 12, 32: PRINT "INJECTING"
CALL control(notchange, valveon, notchange)
flagajust% = 1
END IF
IF k$ = "S" AND flagajust% = 1 THEN
CALL control(notchange, valveoff, notchange)
LOCATE 12, 32: PRINT " STOP "
END IF
IF k$ = CHR$(27) THEN EXIT SUB
GOTO ajust
END SUB

```

```

SUB aplipot (p1%, p2%)
CALL outda(191, p1%)
CALL outda(223, p2%)
END SUB

```

```

SUB axis (n, m, ho, inx, iny, stepx, ymip, ymap, tickcsx, tickcsy, tickcsz)
' axis x
LINE (ho + stepx, ymip)-(ho + stepx + ((m - 1) * stepx), ymip)
LINE (ho + stepx, ymip)-(ho + stepx, ymip + 8)
LINE (ho + stepx + ((m - 1) * stepx), ymip)-(ho + stepx + ((m - 1) * stepx), ymip + 8)
IF tickcsx > 0 THEN
piece = ((m - 1) * stepx) / tickcsx
ELSE
piece = ((m - 1) * stepx)
END IF
FOR j = ho + stepx TO ho + stepx + ((m - 1) * stepx) STEP piece
LINE (j, ymip)-(j, ymip + 4)
NEXT j
'axis y
LINE (ho + stepx, ymip)-(ho + stepx - ((n - 1) * inx), ymip - ((n - 1) * iny))
LINE (ho + stepx, ymip)-(ho + stepx - 10, ymip)
LINE (ho + stepx - ((n - 1) * inx), ymip - ((n - 1) * iny))-(ho + stepx - ((n - 1) * inx) - 8, ymip - ((n - 1) * iny))
'axis z
IF tickcsy > 0 THEN
piece = n / tickcsy
ELSE
piece = n
END IF
FOR j = 0 TO (n - 1) STEP piece
LINE (ho + stepx - (j * inx), ymip - (j * iny))-(ho + stepx - (j * inx) - 5, ymip - (j * iny))
NEXT j
'axis z
LINE (ho + stepx - ((n - 1) * inx), ymip - ((n - 1) * iny))-(ho + stepx - ((n - 1) * inx), ymip - ((n - 1) * iny) - (ymip - ymap))

```

```

    LINE (ho + stepx - ((n - 1) * inx), ymip - ((n - 1) * iny)-(ho + stepx - ((n - 1) * inx) - 8, ymip - ((n - 1) *
iny))
    LINE (ho + stepx - ((n - 1) * inx), ymip - ((n - 1) * iny) - (ymip - ymap))-(ho + stepx - ((n - 1) * inx) - 8,
ymip - ((n - 1) * iny) - (ymip - ymap))
    IF tickcsz <> 0 THEN
        piece = (ymip - ymap) / tickcsz
    ELSE
        piece = (ymip - ymap)
    END IF
    FOR j = ymip - ((n - 1) * iny) TO ymip - ((n - 1) * iny) - (ymip - ymap) STEP -piece
        LINE (ho + stepx - ((n - 1) * inx), j)-(ho + stepx - ((n - 1) * inx) - 4, j)
    NEXT j
END SUB

```

```

SUB calpot (itot(), flagret%, temp, elecp%)
flagret% = 0
ERASE itot
anele:
CALL varredura(prescan%, scan%, totscan%, flagret%)
IF flagret% = 1 THEN EXIT SUB
CALL injecao
CLS
LOCATE 1, 30: PRINT "DIFF ELECT SCAN"
LOCATE 13, 30: PRINT "START TIME";
CALL aplipot(pod%, poden%)
FOR n = 0 TO 3
    add% = 255 - 2 ^ n
    CALL outda(add%, 0)
NEXT
CALL delay(td1)
FOR n = 0 TO 3
    add% = 255 - 2 ^ n
    CALL outda(add%, 255)
NEXT
IF pot > poten THEN
    podif = pot - ampl
    podfen = poten - ampl
END IF
IF pot <= poten THEN
    podif = pot + ampl
    podfen = poten + ampl
END IF
CALL potrange(podif, podfen, podif%, podifen%)
CALL potfix(pr, por%, poren%)
CALL aplipot(por%, poren%)
LOCATE 13, 29: PRINT SPC(20);
LOCATE 12, 25: PRINT "Reading Electrode Array"
temp = TIMER
i = 0
DO WHILE i < totscan%
    i = i + 1

```

```

elec% = 0
DO WHILE elec% < 31
elec% = elec% + 1
elec% = elec%
IF elec% <= 8 AND elec% > 0 THEN
elec% = elec% - 1
elec% = 255 - 2 ^ elec%
CALL outda(254, elec%)
CALL aplipot(pot%, poten%)
CALL currentread(current(), np%)
CALL delay(tfl)
CALL aplipot(podif%, podifen%)
CALL currentread(curredif(), np%)
CALL aplipot(por%, poren%)
CALL delay(ty1)
CALL outda(254, 255)
END IF
IF elec% > 8 AND elec% <= 16 THEN
elec% = elec% - 9
elec% = 255 - 2 ^ elec%
CALL outda(253, elec%)
CALL aplipot(pot%, poten%)
CALL currentread(current(), np%)
CALL delay(tfl)
CALL aplipot(podif%, podifen%)
CALL currentread(curredif(), np%)
CALL aplipot(por%, poren%)
CALL delay(ty1)
CALL outda(253, 255)
END IF
IF elec% > 16 AND elec% <= 24 THEN
elec% = elec% - 17
elec% = 255 - 2 ^ elec%
CALL outda(251, elec%)
CALL aplipot(pot%, poten%)
CALL currentread(current(), np%)
CALL delay(tfl)
CALL aplipot(podif%, podifen%)
CALL currentread(curredif(), np%)
CALL aplipot(por%, poren%)
CALL delay(ty1)
CALL outda(251, 255)
END IF
IF elec% > 24 AND elec% <= 31 THEN
elec% = elec% - 25
elec% = 255 - 2 ^ elec%
CALL outda(247, elec%)
CALL aplipot(pot%, poten%)
CALL currentread(current(), np%)
CALL delay(tfl)
CALL aplipot(podif%, podifen%)

```

```

CALL currentread(curredif(), np%)
CALL aplipot(por%, poren%)
CALL delay(ty1)
CALL outda(247, 255)
END IF
FOR n = 1 TO np%
current(n) = (curredif(n) - current(n)) + 2048
NEXT n
CALL curtot(current(), tot)
itot(i, elecp%) = tot
LOOP
CALL delay(ted1)
LOOP
temp = TIMER - temp
CALL control(notchange, valveoff, notchange)
FOR n = 0 TO 3
add% = 255 - 2 ^ n
CALL outda(add%, 255)
NEXT
CALL cicloconver(itot(), elecp%)
END SUB

SUB ciclicover (cover(), elecp%)
SELECT CASE gan%
CASE 1
maxover = 96.5314
minover = -96.5314
CASE 2
maxover = 49.1033
minover = -49.1033
CASE 3
maxover = 4.8662
minover = -4.8662
CASE 4
maxover = .93464
minover = -.93464
CASE 5
maxover = .4564
minover = -.4564
CASE 6
maxover = .092524
minover = -.092524
END SELECT
FOR i = (prescan% + 1) TO totscan%
FOR j = 1 TO elecp%
IF cover(i, j) > maxover OR cover(i, j) < minover THEN
flagover% = 1
END IF
NEXT
NEXT
IF flagover% = 1 THEN

```

```

LOCATE 5, 60: PRINT SPC(23);
BEEP
LOCATE 5, 60: PRINT "<CURRENT OVERFLOW>"
flagover% = 0
END IF
END SUB

```

```

SUB cicloconver (itot(), elecpc%)
SELECT CASE gan%
CASE 1
FOR i = (prescan% + 1) TO totscan%
FOR j = 1 TO elecpc%
itot(i, j) = (itot(i, j) * -.047029) + 96.5314
NEXT
NEXT
CASE 2
FOR i = (prescan% + 1) TO totscan%
FOR j = 1 TO elecpc%
itot(i, j) = (itot(i, j) * -.023867) + 49.1033
NEXT
NEXT
CASE 3
FOR i = (prescan% + 1) TO totscan%
FOR j = 1 TO elecpc%
itot(i, j) = (itot(i, j) * -2.36779E-03) + 4.8662
NEXT
NEXT
CASE 4
FOR i = (prescan% + 1) TO totscan%
FOR j = 1 TO elecpc%
itot(i, j) = (itot(i, j) * -4.51894E-04) + .93464
NEXT
NEXT
CASE 5
FOR i = (prescan% + 1) TO totscan%
FOR j = 1 TO elecpc%
itot(i, j) = (itot(i, j) * -2.1997E-04) + .4564
NEXT
NEXT
CASE 6
FOR i = (prescan% + 1) TO totscan%
FOR j = 1 TO elecpc%
itot(i, j) = (itot(i, j) * -4.5189E-05) + .092524
NEXT
NEXT
END SELECT
END SUB

```

```

SUB control (g%, v%, a%)
IF v% >= 0 THEN
IF v% = 0 THEN bctr% = bctr% AND 254

```

```

IF v% = 1 THEN bctr% = bctr% OR 1
END IF
IF a% >= 0 THEN
IF a% = 0 THEN bctr% = bctr% AND 253
IF a% = 1 THEN bctr% = bctr% OR 2
END IF
IF g% >= 0 THEN
bctr% = bctr% OR 252
bctr% = bctr% AND (255 - (2 ^ (g% + 1)))
END IF
CALL outda(127, bctr%)
END SUB

```

```

SUB currentread (current(), ni%)
FOR n% = 1 TO ni%
    CALL readinter(239, di%)
    CALL readinter(239, dl%)
    di% = ((di% * 16) + dl%)
    current(n%) = di%
NEXT
END SUB

```

```

SUB curtot (cent(), tot)
tot = 0
FOR n = ii% TO ifi%
tot = tot + cent(n)
NEXT
tot = tot / ((ifi% - ii%) + 1)
END SUB

```

```

SUB delay (cil)
FOR j = 1 TO cil
NEXT
END SUB

```

```

SUB delaycalibr (fact#)
ti# = TIMER
test:
te# = TIMER
IF te# = ti# THEN GOTO test
FOR l = 1 TO 20000#
NEXT
te# = TIMER - te#
n# = (2 / te#) * 20000
a# = TIMER
cal:
t# = TIMER
IF t# = a# THEN GOTO cal
FOR l = 1 TO n#
NEXT
t# = TIMER - t#

```

```
fact# = n# / (t# * 1000)
END SUB
```

```
SUB direction (direct$, datacur(), elecp%, scan%, tecnic$, temp, fator$, num$, ni, grapoint, flagtrat%)
direct: direct$ = ""
LOCATE 25, 2: PRINT SPC(79);
LOCATE 25, 3
PRINT "[S]ave [P]rint [C]hange Scale [N]ew Voltammogram [F]actor";
WHILE direct$ <> "S" AND direct$ <> "P" AND direct$ <> "N" AND direct$ <> "C" AND direct$ <> "F"
direct$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
IF direct$ = "C" OR direct$ = "N" OR direct$ = "F" THEN EXIT SUB
LOCATE 25, 3: PRINT SPC(75);
IF direct$ = "S" THEN CALL filevol(datacur(), elecp%, scan%, tecnic$, temp, fator$, num$, ni, grapoint)
IF direct$ = "P" THEN CALL printscreen(3, 630, 1, 336, 100, 10, 0, "p", "H")
GOTO direct
END SUB
```

```
SUB displaytest
flagscr% = 0
display$ = "vga"
SCREEN 12
IF flagscr% = 1 THEN flagscr% = 0: display$ = "ega": SCREEN 9
IF flagscr% = 1 THEN flagscr% = 0: display$ = "cga": SCREEN 2
END SUB
```

```
SUB elecarray (byt1%, byt2%, byt3%, byt4%, nelec%)
chan1: LOCATE 12, 51: PRINT SPC(10);
LOCATE 12, 25: INPUT "INITIAL ELECTRODE NUMBER : ", set1$
set1% = VAL(set1$)
IF set1% < 1 OR set1% > 31 GOTO chan1
chan2: LOCATE 14, 51: PRINT SPC(10);
LOCATE 14, 25: INPUT " FINAL ELECTRODE NUMBER : ", set2$
set2% = VAL(set2$)
IF set2% < 1 OR set2% > 31 OR set2% < set1% GOTO chan2
byt1% = 255
byt2% = 255
byt3% = 255
byt4% = 255
IF set1% < 9 THEN
s1% = set1% - 1
s2% = set2%
IF set2% > 8 THEN
s2% = 8
END IF
byt1% = (2 ^ s2%) - (2 ^ s1%)
byt1% = 255 - byt1%
END IF
IF set1% < 17 AND set2% > 8 THEN
IF set1% < 9 THEN
s1% = 0
```

```

END IF
IF set1% < 17 AND set1% > 8 THEN
s1% = set1% - 9
END IF
s2% = set2% - 8
IF set2% > 16 THEN
s2% = 8
END IF
byt2% = (2 ^ s2%) - (2 ^ s1%)
byt2% = 255 - byt2%
END IF
IF set1% < 25 AND set2% > 16 THEN
IF set1% < 17 THEN
s1% = 0
END IF
IF set1% < 25 AND set1% > 16 THEN
s1% = set1% - 17
END IF
s2% = set2% - 16
IF set2% > 24 THEN
s2% = 8
END IF
byt3% = (2 ^ s2%) - (2 ^ s1%)
byt3% = 255 - byt3%
END IF
IF set1% < 32 AND set2% > 24 THEN
IF set1% < 25 THEN
s1% = 0
END IF
IF set1% < 32 AND set1% > 24 THEN
s1% = set1% - 25
END IF
s2% = set2% - 24
byt4% = (2 ^ s2%) - (2 ^ s1%)
byt4% = 255 - byt4%
END IF
nelec% = (set2% + 1) - set1%
END SUB

SUB errorhandle (flag)
SELECT CASE flag
CASE 1
mens$ = "Final x is greather than 639"
CASE 2
mens$ = "Final position y is smaller 1"
CASE 3
mens$ = "Final position z is smaller 1"
CASE 4
mens$ = "step x is too large"
CASE 5
mens$ = "Rotation x is too large"

```

```

CASE 6
    mens$ = "Rotation y is too large"
END SELECT
PRINT "> "; mens$
END SUB

SUB escala
FOR n = 1 TO 11
LOCATE (n + 3), 59: PRINT SPC(20);
NEXT
LOCATE 25, 1: PRINT SPC(78);
LINE (476, 32)-(639, 184), , B
inv$ = "N"
LOCATE 4, 62: PRINT "1.Position x :"; : PRINT USING "###"; ho;
LOCATE 5, 62: PRINT "2.Position y :"; : PRINT USING "###"; vo;
LOCATE 6, 62: PRINT "3.Position z :"; : PRINT USING "###"; vsize;
LOCATE 7, 62: PRINT "4.Rotation x :"; : PRINT USING "###"; inx;
LOCATE 8, 62: PRINT "5.Rotation y :"; : PRINT USING "###"; iny;
LOCATE 9, 62: PRINT "6.Step x   :"; : PRINT USING "###"; stepx;
LOCATE 10, 62: PRINT "7.Scale ymax :"; : PRINT USING "####"; ymax;
LOCATE 11, 62: PRINT "8.Scale ymin :"; : PRINT USING "####"; ymin;
LOCATE 12, 62: PRINT "9.Invert Fig.:"; : PRINT ; inv$;
LOCATE 13, 63: PRINT "<[Esc] to exit>"
chang:
k$ = ""
WHILE k$ <> "1" AND k$ <> "2" AND k$ <> "3" AND k$ <> "4" AND k$ <> "5" AND k$ <> "6" AND k$ <> "7" AND k$ <> "8" AND k$ <> "9" AND k$ <> CHR$(27)
k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
IF k$ = "1" THEN
flagpar% = 1
chang1: LOCATE 4, 76: PRINT SPC(3);
LOCATE 4, 62: INPUT "1.Position x :", ho$
ho = VAL(ho$)
IF ho <= 0 AND ho$ <> "0" OR LEN(ho$) > 3 THEN GOTO chang1
IF ho < 0 OR ho > 640 GOTO chang1
END IF
IF k$ = "2" THEN
flagpar% = 1
chang2: LOCATE 5, 76: PRINT SPC(3);
LOCATE 5, 62: INPUT "2.Position y :", vo$
vo = VAL(vo$)
IF vo <= 0 AND vo$ <> "0" OR LEN(vo$) > 3 THEN GOTO chang2
IF vo < 0 OR vo > 350 GOTO chang2
END IF
IF k$ = "3" THEN
flagpar% = 1
chang3: LOCATE 6, 76: PRINT SPC(3);
LOCATE 6, 62: INPUT "3.Position z :", vsize$
vsize = VAL(vsize$)
IF vsize <= 0 AND vsize$ <> "0" OR LEN(vsize$) > 3 THEN GOTO chang3

```

```

IF vsize < 0 OR vsize > 250 GOTO chang3
END IF
IF k$ = "4" THEN
flagpar% = 1
chang4: LOCATE 7, 76: PRINT SPC(3);
LOCATE 7, 62: INPUT "4.Rotation x :", inx$
inx = VAL(inx$)
IF inx <= 0 AND inx$ <> "0" OR LEN(inx$) > 2 THEN GOTO chang4
IF inx < 0 OR inx > 20 GOTO chang4
END IF
IF k$ = "5" THEN
flagpar% = 1
chang5: LOCATE 8, 76: PRINT SPC(3);
LOCATE 8, 62: INPUT "5.Rotation y :", iny$
iny = VAL(iny$)
IF iny <= 0 AND iny$ <> "0" OR LEN(iny$) > 2 THEN GOTO chang5
IF iny < 0 OR iny > 20 GOTO chang5
END IF
IF k$ = "6" THEN
flagpar% = 1
chang6: LOCATE 9, 76: PRINT SPC(3);
LOCATE 9, 62: INPUT "6.Step x :", stepx$
stepx = VAL(stepx$)
IF stepx <= 0 AND stepx$ <> "0" OR LEN(stepx$) > 2 THEN GOTO chang6
IF stepx < 0 OR stepx > 20 GOTO chang6
END IF
IF k$ = "7" THEN
flagpar% = 1
chang7: LOCATE 10, 76: PRINT SPC(4);
LOCATE 10, 62: INPUT "7.Scale ymax :", ymax$
ymax = VAL(ymax$)
IF LEN(ymax$) > 4 OR ymax < -100 OR ymax > 90 GOTO chang7
END IF
IF k$ = "8" THEN
flagpar% = 1
chang8: LOCATE 11, 76: PRINT SPC(4);
LOCATE 11, 62: INPUT "8.Scale ymin :", ymin$
ymin = VAL(ymin$)
IF LEN(ymin$) > 4 OR ymin < -90 OR ymin > 100 GOTO chang8
END IF
IF k$ = "9" THEN
flagpar% = 1
LOCATE 12, 76: PRINT SPC(3);
inv$ = ""
WHILE inv$ <> "Y" AND inv$ <> "N"
inv$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
IF inv$ = "Y" THEN flaginv% = flaginv% * (-1)
LOCATE 12, 76: PRINT ; inv$;
END IF
IF k$ = CHR$(27) THEN

```

```

FOR n = 1 TO 10
LOCATE (n + 3), 62: PRINT SPC(18);
NEXT
LOCATE 8, 65: PRINT "PLEASE WAIT";
EXIT SUB
END IF
GOTO chang
END SUB

```

```

SUB filevol (datacur(), elecpc%, scan%, tecnic$, temp, fator$, num$, ni, grapoint)

```

```

cont% = cont% + 1
flagconc% = 0
spac% = 22
spacconc% = 11
spactec% = 24
spacunit% = 7
ident:
IF flagconc% = 0 THEN
nk = 0
col% = 15
tanh% = 20
LOCATE 25, 3: PRINT SPC(50);
LOCATE 25, 3: PRINT "FILE NAME: ";
END IF
IF flagconc% = 1 THEN
nk = 0
col% = 66
tanh% = 10
LOCATE 25, 50: PRINT SPC(27);
LOCATE 25, 50: PRINT "CONCENTRATION:";
LOCATE 25, 76: PRINT unit$;
END IF
name$ = ""
k$ = ""
flk = 1
WHILE (flk = 1) AND (nk <= tanh%)
WHILE k$ = ""
k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
IF k$ = CHR$(0) + CHR$(75) THEN
k$ = ""
name$ = LEFT$(name$, LEN(name$) - 1) + k$
LOCATE 25, col%: PRINT SPC(LEN(name$) + 1);
LOCATE 25, col%: PRINT name$;
nk = nk - 2
IF nk < 0 THEN nk = -1
END IF
IF k$ = CHR$(13) THEN k$ = "": flk = 0
IF k$ = CHR$(27) THEN k$ = "": cont% = cont% - 1: EXIT SUB
name$ = name$ + k$

```

```

nk = nk + 1
k$ = ""
LOCATE 25, col%: PRINT name$;
WEND
IF nk > tanh% GOTO ident
IF flagconc% = 0 THEN
chama$ = name$
flk = 0
flagconc% = 1
spac% = spac% - nk
GOTO ident
END IF
IF flagconc% = 1 THEN
concent$ = name$
spacconc% = spacconc% - nk
END IF
cont$ = LTRIMS(STR$(cont%))
IF cont% < 10 THEN
cont$ = "00" + cont$
ELSEIF cont% < 100 THEN
cont$ = "0" + cont$
END IF
filepot$ = "vol" + cont$ + ".pot"
spactec% = spactec% - LEN(tecnic$)
spacunit% = spacunit% - LEN(unit$)
idfile$ = chama$ + SPACES$(spac%) + concent$ + SPACES$(spacconc%) + unit$ + SPACES$(spacunit%) +
tecnic$ + SPACES$(spactec%) + DATE$ + filepot$
CHDIR "c:\multpot\voltammo"
OPEN filepot$ FOR OUTPUT AS #4
WRITE #4, idfile$
WRITE #4, tp, tps, tr, td, ty, tf, ted, pot, poten, pd, pr, pf, amp
WRITE #4, gan%, np%, ii%, ifi%
WRITE #4, nelec%, prescan%, scan%, totscan%, temp, elecp%
WRITE #4, grapoint, ni, fator$, num$, tecnic$, concent$, unit$
FOR i = (prescan% + 1) TO totscan%
FOR j = 1 TO grapoint
WRITE #4, datacur(i, j)
NEXT
NEXT
CLOSE #4
OPEN "volnames.pot" FOR APPEND AS #5
WRITE #5, idfile$
CLOSE #5
CHDIR "c:\multpot"
OPEN "fiaparam.dat" FOR OUTPUT AS #2
WRITE #2, tp, tps, tr, td, ty, tf, ted, pot, poten, pd, pr, pf
WRITE #2, amp, gan%, np%, ii%, ifi%, cont%, curcont%, unit$
WRITE #2, ho, vo, vsize, inx, iny, stepx
CLOSE #2

END SUB

```

```

SUB graphics
inig:
scr$ = "vga"
flagwall% = 0
tickcsx = 10: tickcsy = 10: tickcsz = 10
m = grapoint
n = scan%
CALL surface(n, m, ho, vo, vsize, inx, iny, stepx, scr$, datacur(), flagwall%, ymip, ymap, flagerror%)
IF flagerror% = 1 THEN
CALL escala
GOTO inig
END IF
CALL axis(n, m, ho, inx, iny, stepx, ymip, ymap, tickcsx, tickcsy, tickcsz)
namex$ = "potential"
xl = (vo * 25 / 350) + 2
xci = (ho * 80 / 640) + 1
xcf = ((ho * 80 / 640) + (3.7 * stepx)) + 1
namelinx = xl
namecolx = ((ho * 80 / 640) + (3.7 / 3 * stepx))
valx1$ = STR$(pot): valx2$ = STR$(poten)
yli = ((vo * 25 / 350) - ((n * 25 / 350) * iny)) + 1
yci = (ho * 80 / 640) - (inx * n * 80 / 640) - 1
ylf = (vo * 25 / 350) + (1 * inx / 3)
ycf = (ho * 80 / 640) - 7
namey$ = "time":
nameliny = (ylf - ((ylf - yli) / 2))
namecoly = (ycf - ((ycf - yci) / 2) - (LEN(namey$)))
te = (temp + (ted * scan%))
IF flaginv% = 1 THEN
valy1$ = "0": valy2$ = STR$(te)
END IF
IF flaginv% = -1 THEN
valy1$ = STR$(te): valy2$ = "0"
flaginv% = 1
END IF
zc = yci - 3
zli = yli - (ABS(vo - vsize) * 25 / 350) - 1
zlf = yli - 1
namez$ = "current"
namelinz = zli
namecolz = zc + 2
valz1$ = STR$(ymax): valz2$ = STR$(ymin)
CALL labels(namex$, namelinx, namecolx, xl, xci, xcf, valx1$, valx2$, namey$, nameliny, namecoly, yli, yci,
ylf, ycf, valy1$, valy2$, namez$, namelinz, namecolz, zc, zli, zlf, valz1$, valz2$)
END SUB

SUB hidden (x1, x2, y1, y2, scr$, contour())
SELECT CASE LCASE$(scr$)
CASE IS = "cga"
scr = 199

```

```

CASE IS = "ega"
    scr = 349
CASE IS = "vga"
    scr = 479
END SELECT
IF x1 < 1 OR x1 > 639 OR x2 < 1 OR x2 > 639 THEN EXIT SUB
IF y1 < 1 OR y1 > scr OR y2 < 1 OR y2 > scr THEN EXIT SUB
IF x1 = x2 THEN
    FOR i = y1 TO y2
        x = x1
        y = i
        IF y < contour(x) THEN
            PSET (x, y)
            contour(x) = CINT(i)
        END IF
    NEXT i
    EXIT SUB
END IF
CALL regression(x1, x2, y1, y2, a, b)
IF ABS(x1 - x2) >= ABS(y1 - y2) THEN
    FOR i = x1 TO x2
        x = i
        y = a * i + b
        IF y < contour(i) THEN
            PSET (x, y)
            contour(i) = CINT(y)
        END IF
    NEXT i
    EXIT SUB
END IF
IF y1 > y2 THEN
    FOR i = y1 TO y2 STEP -1
        x = ((i - b) / a)
        y = i
        IF y < contour(x) THEN
            PSET (x, y)
            contour(x) = CINT(y)
        END IF
    NEXT i
END IF
IF y2 > y1 THEN
    FOR i = y2 TO y1 STEP -1
        x = ((i - b) / a)
        y = i
        IF y < contour(x) THEN
            PSET (x, y)
            contour(x) = CINT(y)
        END IF
    NEXT i
END IF
END SUB

```

```

SUB injecao
  CLS
injt看:
  LOCATE 12, 41: PRINT SPC(10);
  LOCATE 14, 25: INPUT "WAIT TIME: ", TW$
  TW = VAL(TW$)
  IF TW <= 0 AND TW$ <> "0" OR LEN(TW$) > 3 THEN GOTO injtim
  TW = (TW * 1000) * fact#
  CLS
  CALL control(notchange, valveon, notchange)
  LOCATE 24, 3: PRINT "> WAITING ("; TW$; "s) ";
  CALL delay(TW)
END SUB

SUB instep
  CLS
  IF io!% = 0 THEN EXIT SUB
  tsend:  GOSUB send: GOSUB send: GOSUB send: z = 0
  tag:    IF (INP(PC%) AND OACK%) > 0 THEN GOSUB send: GOTO ntest
  z = z + 1: IF z <= 100 THEN GOTO tag
  GOSUB send: z = 0
  tag1:   IF (INP(PC%) AND OACK%) > 0 THEN GOSUB send: GOTO ntest
  z = z + 1: IF z <= 100 THEN GOTO tag1
  fail1:  mess$ = "INTERFACE NOT OPERATING - is it on? PRESS <RET>"
  BEEP
  CALL message(23, 16, 7, mess$)
  GOTO tsend
ntest:
  GOSUB send: GOSUB send
  IF (INP(PC%) AND OACK%) > 0 THEN GOTO fail1 ELSE EXIT SUB
send:
  OUT PB%, OHSTR%: OUT PA%, 255
  OUT PB%, OLSTR%
  OUT PB%, OHSTR%
  RETURN
END SUB

SUB inverter (itot(), datacur())
  a = 0
  b = 0
  FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%
    b = b + 1
    a = (totscan% + 1) - (j - prescan%)
    FOR i = 1 TO 31
      datacur(b, i) = itot(a, i)
    NEXT
  NEXT
  IF flaginv% = -1 THEN
    b = 0
    FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%

```

```

b = b + 1
FOR i = 1 TO 31
  itot(j, i) = datacur(b, i)
NEXT
NEXT
a = 0
b = 0
FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%
  a = (totscan% + 1) - (j - prescan%)
  b = b + 1
FOR i = 1 TO 31
  datacur(b, i) = itot(a, i)
NEXT
NEXT
END IF
END SUB

```

SUB labels (namex\$, namelinx, namecolx, xl, xci, xcf, valx1\$, valx2\$, namey\$, nameliny, namecoly, yli, yci, ylf, ycf, valy1\$, valy2\$, namez\$, namelinz, namecolz, zc, zli, zlf, valz1\$, valz2\$)

```

'label x
  IF xl > 1 AND xl < 25 AND xci > 0 AND xcf < 79 THEN
    LOCATE xl, xci: PRINT valx1$;
    LOCATE xl, xcf: PRINT valx2$;
    IF LEN(namex$) < ((xcf - xci) - 1) THEN
      LOCATE namelinx, namecolx: PRINT namex$;
    END IF
  END IF
'label y
  IF yli > 1 AND ylf < 25 AND yci > 0 AND ycf < 79 THEN
    LOCATE yli, yci: PRINT INT(VAL(valy1$));
    LOCATE ylf, ycf: PRINT INT(VAL(valy2$));
    IF (ylf - yli) > 2 THEN
      LOCATE nameliny, namecoly: PRINT namey$;
    END IF
  END IF
'label z
  IF zc > 0 AND zc < 79 AND zli > 1 AND zlf < 25 THEN
    LOCATE zli, zc: PRINT USING "####.#"; VAL(valz1$);
    LOCATE zlf, zc: PRINT USING "####.#"; VAL(valz2$);
    IF LEN(namez$) < ((zlf - zli) - 1) THEN
      FOR i = 1 TO LEN(namez$)
        LOCATE namelinz + i, namecolz: PRINT MID$(namez$, i, 1)
      NEXT i
    END IF
  END IF
END SUB

```

```

SUB maxmin (ymin, ymax)
SELECT CASE gan%
CASE 1
  ymax = 100

```

```

ymin = -100
CASE 2
ymax = 50
ymin = -50
CASE 3
ymax = 5
ymin = -5
CASE 4
ymax = 1
ymin = -1
CASE 5
ymax = .5
ymin = -.5
CASE 6
ymax = .1
ymin = -.1
END SELECT
END SUB

```

```

SUB message (ly%, cx%, cor%, mess$)
COLOR 0, c: LOCATE ly%, cx%: PRINT SPC(66);
LOCATE ly%, cx%: COLOR 0, cor%: PRINT mess$: COLOR 7, 0
END SUB

```

```

SUB outda (ad%, bytetosend%)
OUT PB%, OHSTR%
OUT PA%, ad%
OUT PB%, OLSTR%
WHILE (INP(PC%) AND OACK% = 0): WEND
OUT PB%, OHSTR%
OUT PA%, bytetosend%
OUT PB%, OLSTR%
WHILE (INP(PC%) AND OACK% = 0): WEND
OUT PB%, OHSTR%
OUT PA%, HIL%
END SUB

```

```

SUB pause
k$ = ""
WHILE k$ <> CHR$(32)
k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
END SUB

```

```

SUB potfix (gepot, p1%, p2%)
fixar:
p1% = CINT(-66.16875899999999# * gepot + 125.099357#)
p2% = CINT(-70.727808# * gepot + 122.826188#)

END SUB

```

```

SUB potgraf (x(), ni)
dp = (poten - pot) / 30
pi = ni + pot
FOR k = 1 TO 31
x(k) = pi + (dp * (k - 1))
NEXT
CLS
END SUB

```

```

SUB potrange (pot, poten, p1%, p2%)
range:
p1% = CINT(-66.16875899999999# * pot + 125.099357#)
p2% = CINT(-70.727808# * poten + 122.826188#)
END SUB

```

```

SUB printscreen (x1%, x2%, y1%, y2%, br%, linv%, fl%, mode$, dens$) STATIC
DIM dpr%(800)
LOCATE 25, 3: PRINT "> PRINTING";
'ON ERROR GOTO ditchme:
cr$ = CHR$(13): esc$ = CHR$(27): sp$ = CHR$(32)
extn$ = CHR$(0): lin1$ = CHR$(10)
IF y2% < y1% OR x2% < x1% THEN EXIT SUB
IF dens$ = "I" OR dens$ = "L" THEN den = 0
IF dens$ = "h" OR dens$ = "H" THEN den = 1
VIEW
WIDTH LPRINT 255
LPRINT esc$; "@";
LPRINT esc$; "3"; CHR$(11);
FOR n% = 1 TO linv%
LPRINT lin1$
NEXT
SELECT CASE mode$
CASE IS = "I", "L"
d% = br% + y2% - y1%: a% = x1%: t% = y2% - y1%
GOSUB numbyte
DO WHILE a% < x2%
FOR x% = 0 TO 7
FOR y% = y2% TO y1% STEP -1
con% = POINT((x% + a%), y%)
IF con% > 0 THEN
dpr%(y2% - y%) = dpr%(y2% - y%) + 2 ^ (7 - x%)
END IF
NEXT y%
NEXT x%
GOSUB ptrow
GOSUB arow
IF keys$ = "c" OR keys$ = "C" THEN EXIT DO
a% = a% + 8
LOOP
CASE IS = "p", "P"
d% = br% + x2% - x1%: fl% = 1: a% = y1%: t% = x2% - x1%

```

```

GOSUB numbyte
DO WHILE a% < y2%
FOR y% = 0 TO 7
FOR x% = x1% TO x2%
con% = POINT(x%, (y% + a%))
IF con% > 0 THEN
dpr%(x% - x1%) = dpr%(x% - x1%) + 2 ^ (7 - y%)
END IF
NEXT x%
NEXT y%
GOSUB ptrow
GOSUB arow
IF keys$ = "c" OR keys$ = "C" THEN EXIT DO
a% = a% + 8
LOOP
CASE ELSE
STOP
END SELECT
LPRINT CHR$(12);
LPRINT esc$, "@";
EXIT SUB
numbyte:
IF fl% = 0 THEN d% = (y2% * 2) + br%
b% = INT(d% / 256)
k% = d% MOD 256
RETURN
ptrow:
LPRINT esc$, "*"; CHR$(den); CHR$(k%); CHR$(b%);
OPEN "LPT1:BIN" FOR OUTPUT AS #4
FOR j% = 1 TO br%
PRINT #4, CHR$(0);
NEXT
FOR prn% = 1 TO t%
IF fl% = 0 THEN PRINT #4, extn$;
PRINT #4, CHR$(dpr%(prn% - 1));
NEXT
CLOSE #4
LPRINT esc$, "J"; CHR$(11);
LPRINT cr$;
RETURN
arow:
ERASE dpr%
keys$ = INKEY$
RETURN
END SUB

SUB pularray (byt1%, byt2%, byt3%, byt4%, itot(), flagret%, dp, temp, elecp%)
flagret% = 0
ERASE itot
CLS
LOCATE 1, 30: PRINT "DIFF POTEN SCAN"

```

```
CALL varredura(prescan%, scan%, totscan%, flagret%)
IF flagret% = 1 THEN EXIT SUB
CALL injecao
CLS
LOCATE 1, 30: PRINT "DIFF POTEN SCAN"
LOCATE 13, 33: PRINT "START TIME";
CALL aplipot(pod%, poden%)
FOR n = 0 TO 3
  add% = 255 - 2 ^ n
  CALL outda(add%, 0)
NEXT
CALL delay(td1)
FOR n = 0 TO 3
  add% = 255 - 2 ^ n
  CALL outda(add%, 255)
NEXT
IF pot > poten THEN
  podif = pot - amp1
  podfen = poten - amp1
END IF
IF pot <= poten THEN
  podif = pot + amp1
  podfen = poten + amp1
END IF
CALL potrange(podif, podfen, podif%, podifen%)
CALL potfix(pr, por%, poren%)
CLS : LOCATE 1, 28: PRINT "DIFF POTEN SCAN"
LOCATE 13, 29: PRINT SPC(20);
LOCATE 12, 25: PRINT "Reading Electrode Array"
dp = (poten - pot) / 30
temp = TIMER
i = 0
DO WHILE i < totscan%
  i = i + 1
  elecp% = 0
  CALL outda(254, byt1%)
  CALL outda(253, byt2%)
  CALL outda(251, byt3%)
  CALL outda(247, byt4%)
  CALL aplipot(pot%, pot%)
  CALL delay(tfl)
  DO WHILE elecp% < 31
    elecp% = elecp% + 1
    parfix = pot + (dp * (elecp% - 1))
    pardix = podif + (dp * (elecp% - 1))
    CALL potfix(parfix, poray%, porenay%)
    CALL aplipot(poray%, porenay%)
    CALL currentread(current(), np%)
    CALL potfix(pardix, podif%, podifen%)
    CALL aplipot(podif%, podifen%)
    CALL currentread(curredif(), np%)
```

```

FOR n = 1 TO np%
current(n) = (curredif(n) - current(n)) + 2048
NEXT n
CALL curtot(current(), tot)
itot(i, elecp%) = tot
LOOP
FOR n = 0 TO 3
add% = 255 - 2 ^ n
CALL outda(add%, 255)
NEXT
CALL delay(ted1)
LOOP
temp = TIMER - temp
CALL control(notchange, valveoff, notchange)
FOR n = 0 TO 3
add% = 255 - 2 ^ n
CALL outda(add%, 255)
NEXT
CALL cicloconver(itot(), elecp%)
END SUB

```

```

SUB purgetime (t, tecnic$)
CLS : flagtime% = 0
LOCATE 1, 28: PRINT tecnic$: LOCATE 8, 33: PRINT "PURGE"
LOCATE 12, 26: PRINT "PURGE TIME (s) :"; : LOCATE 14, 26: PRINT "TOTAL TIME (s) :";
a = TIMER: CALL control(notchange, notchange, notchange)
DO WHILE TIMER - a <= t AND k$ <> "R"
k$ = "": k$ = UCASE$(INKEY$): IF k$ = "R" THEN : CALL control(notchange, notchange, notchange):
flagtime% = 1: EXIT DO
LOCATE 12, 42: PRINT INT(TIMER - a): LOCATE 14, 42: PRINT t: LOCATE 24, 25: PRINT " PRESS [R]
TO RETURN";
LOOP
IF flagtime% = 1 THEN EXIT SUB: LOCATE 8, 30: PRINT SPC(40);
LOCATE 12, 26: PRINT SPC(40); : LOCATE 14, 26: PRINT SPC(40);
LOCATE 8, 30: PRINT " REPOUSE": LOCATE 12, 26: PRINT "WAIT TIME (s) :";
LOCATE 14, 26: PRINT "TOTAL TIME (s) :"; : a = TIMER
CALL control(notchange, notchange, notchange): DO WHILE TIMER - a <= tr AND k$ <> "R"
k$ = "": k$ = UCASE$(INKEY$): IF k$ = "R" THEN : CALL control(notchange, notchange, notchange):
EXIT DO
LOCATE 12, 42: PRINT INT(TIMER - a): LOCATE 14, 42: PRINT tr
LOCATE 24, 25: PRINT " PRESS [R] TO RETURN";
LOOP
END SUB

```

```

SUB readinter (ad%, di%)
OUT PB%, OHSTR%
OUT PA%, ad%
OUT PB%, OLSTR%
WHILE (INP(PC%) AND OACK%) = 0: WEND
OUT PB%, OHSTR%
OUT PB%, IHSTR%

```

```

OUT PB%, ILSTR%
WHILE (INP(PC%) AND IACK%) = 0: WEND
t = 1
di% = INP(PA%)
OUT PB%, IHSTR%
END SUB

```

```

SUB regression (x1, x2, y1, y2, a, b)
  a = (y2 - y1) / (x2 - x1)
  b = y1 - (a * x1)
END SUB

```

```

SUB secmenu (tecnic$, k$, tp1, tps, flagvar%)
secundmenu:
CLS
LOCATE 1, 10: PRINT tecnic$
LOCATE 6, 1: PRINT "1."; tecnic$
LOCATE 8, 1: PRINT "2.LONG PURGE ";
LOCATE 10, 1: PRINT "3.FAST PURGE";
LOCATE 12, 1: PRINT "4.PARAMETERS";
CALL variav
LOCATE 23, 1: PRINT "PRESS [Esc] TO RETURN MAIN MENU";
k$ = ""
WHILE k$ <> "1" AND k$ <> "2" AND k$ <> "3" AND k$ <> "4" AND k$ <> CHR$(27)
k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND

```

```

IF k$ = "1" OR k$ = "4" OR k$ = CHR$(27) THEN EXIT SUB

```

```

IF k$ = "2" THEN
CALL purgetime(tp1, tecnic$)
GOTO secundmenu
END IF
IF k$ = "3" THEN
CALL purgetime(tps, tecnic$)
GOTO secundmenu
END IF
END SUB

```

```

SUB setflip
  OUT PB%, OHSTR%
  OUT PB%, OSSTR%
  OUT PB%, OHSTR%
END SUB

```

```

SUB surface (n, m, ho, vo, vsize, inx, iny, stepx, scr$, y(), flagwall%, ymip, ymap, flagerror%)
  DIM contour(640), lastcontour(640)
  DIM j AS INTEGER, i AS INTEGER, k AS INTEGER
  SELECT CASE LCASE$(scr$)
    CASE IS = "cga"
      scr = 199

```

```

CASE IS = "ega"
    scr = 349
CASE IS = "vga"
    scr = 479
END SELECT
flagerror% = 0
IF ho < 0 OR ho > 639 THEN
    CALL errorhandle(1)
    flagerror% = 1
    EXIT SUB
END IF
IF vo < 0 OR vo > 349 THEN
    CALL errorhandle(2)
    flagerror% = 1
    EXIT SUB
END IF
IF vsize > vo THEN
    CALL errorhandle(3)
    flagerror% = 1
    EXIT SUB
END IF
IF stepx > FIX(((600 - ho - stepx) / (m - 1))) THEN
    CALL errorhandle(4)
    flagerror% = 1
    EXIT SUB
END IF
IF inx > FIX((ho + stepx) / (n - 1)) THEN
    CALL errorhandle(5)
    flagerror% = 1
    EXIT SUB
END IF
IF iny > FIX((vo - (vo - vsize)) / (n - 1)) THEN
    CALL errorhandle(6)
    flagerror% = 1
    EXIT SUB
END IF
CLS

CALL transf(vo, vsize, ymin, ymax, ymin, ymip)
CALL transf(vo, vsize, ymin, ymax, ymax, ymap)
FOR i = 1 TO 640
    contour(i) = scr
NEXT i
FOR j = 1 TO n
    FOR i = 1 TO m - 1
        x1 = ho + (i * stepx)
        x2 = x1 + stepx
        CALL transf(vo, vsize, ymin, ymax, y(j, i), y1)
        CALL transf(vo, vsize, ymin, ymax, y(j, i + 1), y2)
        x1 = x1 - (inx * (j - 1))
        x2 = x2 - (inx * (j - 1))
    
```

```

        y1 = y1 - (iny * (j - 1))
        y2 = y2 - (iny * (j - 1))
        CALL hidden(x1, x2, y1, y2, scr$, contour())
    NEXT i
    IF j > 1 THEN
        FOR i = 1 TO m
            rx1 = ho + (i * stepx) - (inx * (j - 2))
            rx2 = ho + (i * stepx) - (inx * (j - 1))
            IF rx1 > 1 OR rx1 < 639 OR rx2 > 1 OR rx2 < 639 THEN
                LINE (rx1, lastcontour(rx1))-(rx2, contour(rx2))
            END IF
        NEXT i
    END IF
    FOR k = 1 TO 640
        lastcontour(k) = contour(k)
    NEXT k
NEXT j
'wall
IF flagwall% = 1 THEN
    CALL transf(vo, vsize, ymin, ymax, y(1, 1), y1)
    LINE (ho + stepx, y1)-(ho + stepx, ymip)
    CALL transf(vo, vsize, ymin, ymax, y(1, m), y1)
    LINE (ho + (m * stepx), y1)-(ho + (m * stepx), ymip)
    LINE (ho + stepx, ymip)-(ho + stepx - ((n - 1) * inx), ymip - ((n - 1) * iny))
    CALL transf(vo, vsize, ymin, ymax, y(n, 1), y3)
    LINE (ho + stepx - ((n - 1) * inx), ymip - ((n - 1) * iny))-(ho + stepx - ((n - 1) * inx), y3 - ((n - 1) * iny))
    x = ho + stepx
    pcs = 1
    DO WHILE x <= (ho + (stepx * m))
        y = ymip - pcs
        DO WHILE POINT(x, y) = 0
            IF POINT(x, y + 1) > 0 THEN EXIT DO
            PSET (x, y)
            IF POINT(x, y - 1) > 0 THEN EXIT DO
            y = y - 2
        LOOP
        IF pcs = 1 THEN pcs = 2 ELSE pcs = 1
        x = x + 1
    LOOP
    LINE (ho + stepx, ymip)-(ho + (m * stepx), ymip)
    x = ho + stepx - 1
    DO WHILE x > ho + stepx - (inx * n)
        y = ymip
        DO WHILE POINT(x, y) = 0
            y = y - 1
        LOOP
        y = y - 1
        DO WHILE POINT(x, y) = 0
            PSET (x, y)
            IF POINT(x, y - 1) > 0 THEN EXIT DO
            y = y - 1
        LOOP
    LOOP

```

```

        LOOP
        x = x - 1
    LOOP
END IF
END SUB

SUB transf (vo, vsize, ymn, ymax, yo, yi)
    yi = vo - ((yo - ymn) * (vo - vsize)) / (ymax - ymn)
END SUB

SUB tratcurva (itot(), datacur(), fc(), fator$, smooth$, flagtrat%, num$, grapoint, ni)

num% = 0
fator$ = "N"
smooth$ = "N"
tratcurv:
LOCATE 25, 1: PRINT SPC(60);
LOCATE 25, 3
PRINT "[E]lectrodes factor  [S]mooth  [F]actor and smooth  [O]riginal curve";
k$ = ""
WHILE k$ <> "E" AND k$ <> "S" AND k$ <> "F" AND k$ <> "O"
k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
IF k$ = "E" THEN
fator$ = "Y"
IF flagtrat% = 1 THEN
LOCATE 25, 1: PRINT SPC(75);
LOCATE 25, 3: PRINT ">IMPOSSIBLE. Press [R] to return";
k$ = ""
WHILE k$ <> "R"
k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
GOTO tratcurv
END IF
a = 0
b = 0
FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%
b = b + 1
a = (totscan% + 1) - (j - prescan%)
FOR i = 1 TO 31
datacur(b, i) = itot(a, i) * fc(i)
NEXT i
NEXT j
END IF
IF k$ = "S" OR k$ = "F" THEN
LOCATE 25, 1: PRINT SPC(75);
LOCATE 25, 3: PRINT "Number of the Smooth ([2] [3] [5]) :";
num$ = ""
WHILE num$ <> "2" AND num$ <> "3" AND num$ <> "5"
num$ = UCASE$(INKEY$)
WEND

```

```

smooth$ = num$
LOCATE 25, 41: PRINT num$;
num% = VAL(num$)
IF k$ = "S" THEN
a = 0
b = 0
FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%
b = b + 1
a = (totscan% + 1) - (j - prescan%)
FOR i = 1 TO 31
datacur(b, i) = itot(a, i)
NEXT i
NEXT j
END IF
IF k$ = "F" THEN
a = 0
b = 0
FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%
b = b + 1
a = (totscan% + 1) - (j - prescan%)
FOR i = 1 TO 31
datacur(b, i) = itot(a, i) * fc(i)
NEXT i
NEXT j
END IF
SELECT CASE num%
CASE 2
b = 0
FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%
b = b + 1
FOR i = 1 TO 30
datacur(b, i) = (datacur(b, i) + datacur(b, i + 1)) / 2
NEXT i
NEXT j
grapoint = 30
dp = (poten - pot) / 30
ni = dp / 2
CASE 3
b = 0
FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%
b = b + 1
FOR i = 2 TO 30
datacur(b, i - 1) = (datacur(b, i - 1) + datacur(b, i) + datacur(b, i + 1)) / 3
NEXT i
NEXT j
grapoint = 29
dp = (poten - pot) / 30
ni = dp
CASE 5
b = 0
FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%

```

```

b = b + 1
FOR i = 3 TO 29
    datacur(b, i - 2) = (datacur(b, i - 2) + (2 * datacur(b, i - 1)) + (3 * datacur(b, i)) + (2 * datacur(b, i + 1)) +
datacur(b, i + 2)) / 9
NEXT i
NEXT j
grapoint = 27
dp = (poten - pot) / 30
ni = 2 * dp
END SELECT
END IF
IF k$ = "O" THEN
fator$ = "N"
smooth$ = "N"
num$ = "N"
num% = 0
a = 0
b = 0
FOR j = (prescan% + 1) TO totscan%
    b = b + 1
    a = (totscan% + 1) - (j - prescan%)
    FOR i = 1 TO 31
        datacur(b, i) = itot(a, i)
    NEXT i
NEXT j
END IF
IF num% = 0 THEN
    grapoint = 31
    ni = 0
END IF
flagtrat% = 0

END SUB

```

SUB variav

```

LOCATE 1, 48: PRINT " CURRENT PARAMETERS";
LOCATE 2, 56: PRINT "-TIME-";
LOCATE 3, 48: PRINT "1.Slow Purge (min) :"; : PRINT USING "##.##"; tp;
LOCATE 4, 48: PRINT "2.Fast Purge (seg) :"; : PRINT USING "##.##"; tps;
LOCATE 5, 48: PRINT "3.Wait Time (seg) :"; : PRINT USING "##.##"; tr;
LOCATE 6, 48: PRINT "4.Start Time (seg) :"; : PRINT USING "##.##"; td;
LOCATE 7, 48: PRINT "5.Rest Time (seg) :"; : PRINT USING "##.##"; ty;
LOCATE 8, 48: PRINT "6.Diff Time (seg) :"; : PRINT USING "##.##"; tf;
LOCATE 9, 48: PRINT "7.Read Time (seg) :"; : PRINT USING "##.##"; ted;
LOCATE 10, 54: PRINT " -POTENTIAL-";
LOCATE 11, 48: PRINT "1.Initial Potential (Volt):"; : PRINT USING "##.##"; pot;
LOCATE 12, 48: PRINT "2.Final Potential (Volt) :"; : PRINT USING "##.##"; poten;
LOCATE 13, 48: PRINT "3.Start Potential (Volt) :"; : PRINT USING "##.##"; pd;
LOCATE 14, 48: PRINT "4.Rest Potential (Volt) :"; : PRINT USING "##.##"; pr;
LOCATE 15, 48: PRINT "5.Dep. Potential (Volt) :"; : PRINT USING "##.##"; pf;

```

```

LOCATE 16, 48: PRINT "6.Pulse Amplitude (mV)  :"; : PRINT USING "###"; amp;
LOCATE 17, 55: PRINT "- CURRENT-";
LOCATE 18, 48: PRINT "1.Sensibility (1-6)  :"; : PRINT USING "##"; gan%;
LOCATE 19, 48: PRINT "2.Point Number (max 500):"; : PRINT USING "###"; np%;
LOCATE 20, 48: PRINT "3.Initial Point (0-499) :"; : PRINT USING "###"; ii%;
LOCATE 21, 48: PRINT "4.Final Point (1-500)  :"; : PRINT USING "###"; ifi%;
LOCATE 22, 55: PRINT "- UNIT-"
LOCATE 23, 48: PRINT "1.Unit of Conc. :"; unit$;
END SUB

SUB varpar (flagvar%, flagpar%)
CLS
LOCATE 1, 33: PRINT " PARAMETERS";
LOCATE 2, 8: PRINT "-TIME-";
LOCATE 3, 1: PRINT "1.Long Purge (min)  :"; : PRINT USING "##.##"; tp;
LOCATE 4, 1: PRINT "2.Fast Purge (seg)  :"; : PRINT USING "##.##"; tps;
LOCATE 5, 1: PRINT "3.Wait Time (seg)  :"; : PRINT USING "##.##"; tr;
LOCATE 6, 1: PRINT "4.Start Time (seg)  :"; : PRINT USING "##.##"; td;
LOCATE 7, 1: PRINT "5.Rest Time (seg)  :"; : PRINT USING "##.##"; ty;
LOCATE 8, 1: PRINT "6.Diff Time (seg)  :"; : PRINT USING "##.##"; tf;
LOCATE 9, 1: PRINT "7.Read Time (seg)  :"; : PRINT USING "##.##"; ted;
LOCATE 11, 5: PRINT "-POTENTIAL-";
LOCATE 12, 1: PRINT "1.Initial Potential (Volt):"; : PRINT USING "##.##"; pot;
LOCATE 13, 1: PRINT "2.Final Potential (Volt)  :"; : PRINT USING "##.##"; poten;
LOCATE 14, 1: PRINT "3.Start Potential (Volt)  :"; : PRINT USING "##.##"; pd;
LOCATE 15, 1: PRINT "4.Rest Potential (Volt)  :"; : PRINT USING "##.##"; pr;
LOCATE 16, 1: PRINT "5.Dep. Potential (Volt)  :"; : PRINT USING "##.##"; pf;
LOCATE 17, 1: PRINT "6.Pulse Amplitude (mV)  :"; : PRINT USING "###"; amp;
LOCATE 18, 7: PRINT "-CURRENT-";
LOCATE 19, 1: PRINT "1.Sensibility (1-6)  :"; : PRINT USING "##"; gan%;
LOCATE 20, 1: PRINT "2.Point Number (max 500):"; : PRINT USING "###"; np%;
LOCATE 21, 1: PRINT "3.Initial Point (0-499) :"; : PRINT USING "###"; ii%;
LOCATE 22, 1: PRINT "4.Final Point (1-500)  :"; : PRINT USING "###"; ifi%;
LOCATE 2, 52: PRINT "-GRAPHICS-";
LOCATE 3, 51: PRINT "1.Position x: "; : PRINT USING "###"; ho;
LOCATE 4, 51: PRINT "2.Position y: "; : PRINT USING "###"; vo;
LOCATE 5, 51: PRINT "3.Position z: "; : PRINT USING "###"; vsize;
LOCATE 6, 51: PRINT "4.Rotation x: "; : PRINT USING "###"; inx;
LOCATE 7, 51: PRINT "5.Rotation y: "; : PRINT USING "###"; iny;
LOCATE 8, 51: PRINT "6.Step x  : "; : PRINT USING "###"; stepx;
LOCATE 9, 56: PRINT "-Unit-";
LOCATE 10, 51: PRINT "1.Unit of Conc. :"; unit$
LOCATE 11, 56: PRINT "-FILE-";
LOCATE 12, 51: PRINT "1.Number of Files :"; : PRINT USING "###"; cont%;
meter: k$ = ""
LOCATE 24, 10: PRINT "SELECT: [T]ime, [P]otential , [C]urrent , [G]raphics or [U]nit";
IF flagvar% = 0 THEN
LOCATE 25, 25: PRINT " PRESS [ESC] FOR MAIN MENU";
END IF
IF flagvar% > 0 THEN
LOCATE 25, 25: PRINT SPC(30);

```

```

LOCATE 25, 25: PRINT "PRESS [Esc] TO RETURN";
END IF
WHILE k$ <> "T" AND k$ <> "P" AND k$ <> "C" AND k$ <> CHR$(27) AND k$ <> "G" AND k$ <> "U"
k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
IF k$ = "U" THEN GOTO unid
IF k$ = CHR$(27) THEN
IF flagpar% = 1 THEN
OPEN "fiaparam.dat" FOR OUTPUT AS #2
WRITE #2, tp, tps, tr, td, ty, tf, ted, pot, poten, pd, pr, pf
WRITE #2, amp, gan%, np%, ii%, ifi%, cont%, curcont%, unit$
WRITE #2, ho, vo, vsize, inx, iny, stepx
flagpar% = 0
CLOSE #2
END IF
CALL control(gan%, notchchange, notchchange)
CALL potrange(pot, poten, pot%, poten%)
CALL potfix(pd, pod%, poden%)
tp1 = tp * 60
amp1 = amp / 1000
td1 = (td * 1000) * fact#
ty1 = (ty * 1000) * fact#
tf1 = (tf * 1000) * fact#
ted1 = (ted * 1000) * fact#
EXIT SUB
END IF

IF k$ = "T" THEN
LOCATE 24, 10: PRINT SPC(65);
LOCATE 25, 25: PRINT SPC(40);
LOCATE 24, 25: PRINT " [N]ew Parameter";
temp:
k$ = ""
WHILE k$ = ""
FOR n = 1 TO 10
LOCATE 2, 6: PRINT " -TIME- ";
NEXT
k$ = UCASE$(INKEY$)
FOR n = 1 TO 10
LOCATE 2, 6: PRINT SPC(12);
NEXT
WEND
IF k$ = "1" THEN
flagpar% = 1
antp1: LOCATE 3, 22: PRINT SPC(7);
LOCATE 3, 1: INPUT "1.Long Purge (min) :", tp$
tp = VAL(tp$)
IF tp <= 0 AND tp$ <> "0" OR LEN(tp$) > 4 THEN GOTO antp1
END IF
IF k$ = "2" THEN
flagpar% = 1

```

```

antp2: LOCATE 4, 22: PRINT SPC(7);
LOCATE 4, 1: INPUT "2.Fast Purge (seg)  :", tps$
tps = VAL(tps$)
IF tps <= 0 AND tps$ <> "0" OR LEN(tps$) > 3 THEN GOTO antp2
END IF
IF k$ = "3" THEN
flagpar% = 1
antp3: LOCATE 5, 22: PRINT SPC(7);
LOCATE 5, 1: INPUT "3.Wait Time (seg)  :", tr$
tr = VAL(tr$)
IF tr <= 0 AND tr$ <> "0" OR LEN(tr$) > 3 THEN GOTO antp3
END IF
IF k$ = "4" THEN
flagpar% = 1
antp4: LOCATE 6, 22: PRINT SPC(7);
LOCATE 6, 1: INPUT "4.Start Time (seg)  :", td$
td = VAL(td$)
IF td <= 0 AND td$ <> "0" OR LEN(td$) > 3 THEN GOTO antp4
END IF
IF k$ = "5" THEN
flagpar% = 1
antp5: LOCATE 7, 22: PRINT SPC(7);
LOCATE 7, 1: INPUT "5.Rest Time (seg)  :", ty$
ty = VAL(ty$)
2 IF ty <= 0 AND ty$ <> "0" OR LEN(ty$) > 4 THEN GOTO antp5
END IF
IF k$ = "6" THEN
flagpar% = 1
antp6: LOCATE 8, 22: PRINT SPC(7);
LOCATE 8, 1: INPUT "6.Diff Time (seg)  :", tf$
tf = VAL(tf$)
IF tf <= 0 AND tf$ <> "0" OR LEN(tf$) > 3 THEN GOTO antp6
END IF
IF k$ = "7" THEN
flagpar% = 1
antp7: LOCATE 9, 22: PRINT SPC(7);
LOCATE 9, 1: INPUT "7.Read Time (seg)  :", ted$
ted = VAL(ted$)
IF ted <= 0 AND ted$ <> "0" OR LEN(ted$) > 3 THEN GOTO antp7
END IF
IF k$ = "N" THEN
LOCATE 2, 4: PRINT "  -TIME-  ";
GOTO meter
END IF
GOTO temp
END IF
IF k$ = "P" THEN
LOCATE 24, 10: PRINT SPC(65);
LOCATE 25, 25: PRINT SPC(40);
LOCATE 24, 25: PRINT " [N]ew Parameter";
pocial:

```

```

k$ = ""
WHILE k$ = ""
FOR n = 1 TO 10
LOCATE 11, 4: PRINT " -POTENTIAL-";
NEXT
k$ = UCASE$(INKEY$)
FOR n = 1 TO 10
LOCATE 11, 4: PRINT SPC(15);
NEXT
WEND
IF k$ = "1" THEN
flagpar% = 1
anp1: LOCATE 12, 27: PRINT SPC(10);
LOCATE 12, 1: INPUT "1.Initial Potential (Volt):", pot$
pot = VAL(pot$): i$ = LEFT$(pot$, 1)
IF pot <= 0 AND pot$ <> "0" AND i$ <> "-" AND i$ <> "+" OR LEN(pot$) > 5 THEN GOTO anp1
IF pot < -1.8 OR pot > 1.8 GOTO anp1
END IF
IF k$ = "2" THEN
flagpar% = 1
anp2: LOCATE 13, 27: PRINT SPC(10);
LOCATE 13, 1: INPUT "2.Final Potential (Volt) :", poten$
poten = VAL(poten$): i$ = LEFT$(poten$, 1)
IF poten <= 0 AND poten$ <> "0" AND i$ <> "-" AND i$ <> "+" OR LEN(poten$) > 5 THEN GOTO anp2
IF poten < -1.8 OR poten > 1.8 GOTO anp2
END IF
IF k$ = "3" THEN
flagpar% = 1
anp3: LOCATE 14, 27: PRINT SPC(10);
LOCATE 14, 1: INPUT "3.Start Potential (Volt) :", pd$
pd = VAL(pd$): i$ = LEFT$(pd$, 1)
IF pd <= 0 AND pd$ <> "0" AND i$ <> "-" AND i$ <> "+" OR LEN(pd$) > 5 THEN GOTO anp3
IF pd < -1.8 OR pd > 1.8 GOTO anp3
END IF
IF k$ = "4" THEN
flagpar% = 1
anp4: LOCATE 15, 27: PRINT SPC(10);
LOCATE 15, 1: INPUT "4.Rest Potential (Volt) :", pr$
pr = VAL(pr$): i$ = LEFT$(pr$, 1)
IF pr <= 0 AND pr$ <> "0" AND i$ <> "-" AND i$ <> "+" OR LEN(pr$) > 5 THEN GOTO anp4
IF pr < -1.8 OR pr > 1.8 GOTO anp4
END IF
IF k$ = "5" THEN
flagpar% = 1
anp5: LOCATE 16, 27: PRINT SPC(10);
LOCATE 16, 1: INPUT "5.Dep. Potential (Volt) :", pf$
pf = VAL(pf$): i$ = LEFT$(pf$, 1)
IF pf <= 0 AND pf$ <> "0" AND i$ <> "-" AND i$ <> "+" OR LEN(pf$) > 5 THEN GOTO anp5
IF pf < -1.8 OR pf > 1.8 GOTO anp5
END IF
IF k$ = "6" THEN

```

```

flagpar% = 1
anp6: LOCATE 17, 27: PRINT SPC(10);
LOCATE 17, 1: INPUT "6.Pulse Amplitude (mV)  :", amp$
amp = VAL(amp$): i$ = LEFT$(amp$, 1)
IF amp <= 0 AND amp$ <> "0" OR LEN(amp$) > 4 THEN GOTO anp6
IF amp < 0 OR amp > 200 GOTO anp6
END IF
IF k$ = "N" THEN
LOCATE 11, 4: PRINT " -POTENTIAL-  ";
GOTO meter
END IF
GOTO pocal
END IF
IF k$ = "C" THEN
LOCATE 24, 10: PRINT SPC(65);
LOCATE 25, 25: PRINT SPC(40);
corr:
LOCATE 24, 25: PRINT " [N]ew Parameter";
k$ = ""
WHILE k$ = ""
FOR n = 1 TO 10
LOCATE 18, 6: PRINT " -CURRENT-  ";
NEXT
k$ = UCASE$(INKEY$)
FOR n = 1 TO 10
LOCATE 18, 6: PRINT SPC(15);
NEXT
WEND
IF k$ = "1" THEN
flagpar% = 1
anc1: LOCATE 19, 26: PRINT SPC(5);
LOCATE 19, 1: INPUT "1.Sensibility (1-6)  :", gan$
gan% = VAL(gan$)
IF gan% < 1 OR gan% > 6 OR LEN(gan$) > 1 THEN GOTO anc1
END IF
IF k$ = "2" THEN
flagpar% = 1
anc2: LOCATE 20, 26: PRINT SPC(5);
LOCATE 20, 1: INPUT "2.Point Number (max 500):", np$
np% = VAL(np$)
IF np% > 500 OR np% < 1 OR LEN(np$) > 3 OR np% < ifi% THEN GOTO anc2
END IF
IF k$ = "3" THEN
flagpar% = 1
anc3: LOCATE 21, 26: PRINT SPC(5);
LOCATE 21, 1: INPUT "3.Initial Point (0-499) :", ii$
ii% = VAL(ii$)
IF ii% <= 0 AND ii$ <> "0" OR ii% > (np% - 1) OR ii% > (ifi% - 1) OR LEN(ii$) > 3 THEN GOTO anc3
END IF
IF k$ = "4" THEN
flagpar% = 1

```

```

anc4: LOCATE 22, 26: PRINT SPC(5);
LOCATE 22, 1: INPUT "4.Final Point (1-500) :", ifi$
ifi% = VAL(ifi$)
IF ifi% > np% OR ifi% < 1 OR ifi% < (ii% + 1) OR LEN(ifi$) > 3 THEN GOTO anc4
END IF
IF k$ = "N" THEN
LOCATE 18, 6: PRINT " -CURRENT- ";
GOTO meter
END IF
GOTO corr
END IF
IF k$ = "G" THEN
LOCATE 24, 10: PRINT SPC(65);
LOCATE 25, 25: PRINT SPC(40);
LOCATE 24, 25: PRINT " [N]ew Parameter";
graco:
k$ = ""
WHILE k$ = ""
FOR n = 1 TO 10
LOCATE 2, 52: PRINT "-GRAPHICS-";
NEXT
k$ = UCASE$(INKEY$)
FOR n = 1 TO 10
LOCATE 2, 52: PRINT SPC(15);
NEXT
WEND
IF k$ = "1" THEN
flagpar% = 1
ang3: LOCATE 3, 66: PRINT SPC(10);
LOCATE 3, 51: INPUT "1.Position x:", ho$
ho = VAL(ho$)
IF ho <= 0 AND ho$ <> "0" OR LEN(ho$) > 3 THEN GOTO ang3
IF ho < 0 OR ho > 640 GOTO ang3
END IF
IF k$ = "2" THEN
flagpar% = 1
ang4: LOCATE 4, 66: PRINT SPC(10);
LOCATE 4, 51: INPUT "2.Position y:", vo$
vo = VAL(vo$)
IF vo <= 0 AND vo$ <> "0" OR LEN(vo$) > 3 THEN GOTO ang4
IF vo < 0 OR vo > 350 GOTO ang4
END IF
IF k$ = "3" THEN
flagpar% = 1
ang5: LOCATE 5, 66: PRINT SPC(10);
LOCATE 5, 51: INPUT "3.Position z:", vsize$
vsize = VAL(vsize$)
IF vsize <= 0 AND vsize$ <> "0" OR LEN(vsize$) > 3 THEN GOTO ang5
IF vsize < 0 OR vsize > 250 GOTO ang5
END IF
IF k$ = "4" THEN

```

```

flagpar% = 1
ang6: LOCATE 6, 66: PRINT SPC(10);
LOCATE 6, 51: INPUT "4.Rotation x:", inx$
inx = VAL(inx$)
IF inx <= 0 AND inx$ <> "0" OR LEN(inx$) > 2 THEN GOTO ang6
IF inx < 0 OR inx > 20 GOTO ang6
END IF
IF k$ = "5" THEN
flagpar% = 1
ang7: LOCATE 7, 66: PRINT SPC(10);
LOCATE 7, 51: INPUT "5.Rotation y:", iny$
iny = VAL(iny$)
IF iny <= 0 AND iny$ <> "0" OR LEN(iny$) > 2 THEN GOTO ang7
IF iny < 0 OR iny > 20 GOTO ang7
END IF
IF k$ = "6" THEN
flagpar% = 1
ang8: LOCATE 8, 66: PRINT SPC(10);
LOCATE 8, 51: INPUT "6.Step x  :", stepx$
stepx = VAL(stepx$)
IF stepx <= 0 AND stepx$ <> "0" OR LEN(stepx$) > 2 THEN GOTO ang8
IF stepx < 0 OR stepx > 20 GOTO ang8
END IF
IF k$ = "N" THEN
LOCATE 2, 52: PRINT " -GRAPHICS-  ";
GOTO meter
END IF
GOTO graco
END IF
unid:
LOCATE 24, 10: PRINT SPC(65);
LOCATE 25, 25: PRINT SPC(40);
LOCATE 24, 30: PRINT " [E]nter";
flagpar% = 1
LOCATE 10, 68: PRINT SPC(6);
unit$ = ""
unid1:
WHILE LEN(unit$) < 5
un$ = INKEY$
IF un$ = CHR$(13) THEN
GOTO meter
END IF
unit$ = unit$ + un$
un$ = ""
IF LEN(unit$) > 5 GOTO unid
LOCATE 10, 68: PRINT unit$;
WEND
IF unit$ = "" GOTO unid
GOTO meter
END SUB

```

```
SUB varredura (prescan%, scan%, totscan%, flagret%)
varred:
LOCATE 10, 48: PRINT SPC(3);
LOCATE 10, 22: INPUT "    NUMBER OF PRE-SCAN: ", prescan$
prescan% = VAL(prescan$)
IF prescan% <= 0 AND prescan$ <> "0" OR prescan% > 10 OR LEN(prescan$) > 2 THEN GOTO varred
max% = 120 - prescan%
varred1:
LOCATE 12, 48: PRINT SPC(3);
LOCATE 12, 22: PRINT "NUMBER OF SCAN (    max): ";
LOCATE 12, 38: PRINT max%;
LOCATE 12, 48: INPUT "", scan$
scan% = VAL(scan$)
IF scan% < 1 OR scan% > 200 OR LEN(scan$) > 3 OR scan% > max% THEN GOTO varred1
LOCATE 25, 3: PRINT " Press [C] for Change Scan Number, [R] to Return or [Enter] to Continue";
WHILE k$ <> CHR$(13) AND k$ <> "C" AND k$ <> "R"
k$ = UCASE$(INKEY$)
WEND
IF k$ = "R" THEN flagret% = 1: EXIT SUB
IF k$ = "C" THEN
k$ = ""
LOCATE 10, 47: PRINT SPC(5);
LOCATE 12, 47: PRINT SPC(5);
GOTO varred
END IF
totscan% = prescan% + scan%
END SUB
```

7.2.2. EFA - Análise de Fatores Evoluintes Direta

```
function efa(spl,nc)
%
% envolving factor analysis
%
% spl : matriz com os dados
% nc : numero de componentes principais
[m,n]=size(spl);
for i=2:n;
    r=svd(spl(:,1:i));
    r(n)=0;
    s(i,:)=r';
end;
ss=s(:,1:nc);
semilogy(ss)
```

7.2.3. EVOLVFA - Análise de Fatores Evoluíntes Direta e Inversa

```

function [egf,egr] = evolvfa(xdat,plot,tdat);
%EVOLVFA performs forward and reverse evolving factor analysis.
% EVOLVFA calculates the eigenvalues of sub-matrices of (xdat)
% and returns results of the forward analysis in (egf) and
% reverse analysis in (egr). The optional input (plot) allows
% the user to suppress plotting the results, and the optional
% input (tdat) is a vector to plot the results against.
% plot = 0 suppresses plotting of results.
% See also EFA_DEMO.
%
%I/O format is: [egf,egr] = evolvfa(xdat,plot,tdat);

[mx,nx] = size(xdat);
if nargin < 2
    plot = 1;
end
if nargin < 3
    tdat = [1:mx];
end
ydat = xdat';
if mx > nx
    mmax = nx;
else
    mmax = mx;
end
egf = zeros(mx,mmax);
egr = zeros(mx,mmax);

for i=1:mx
    if i < nx
        zdat = ydat(:,1:i);
    else
        zdat = xdat(1:i,:);
    end
    s = svd(zdat,0);
    egf(i,1:min(i,mmax)) = s';
end
for i=mx:-1:1
    if mx-i+1 < nx
        zdat = ydat(:,i:mx);
    else
        zdat = xdat(i:mx,:);
    end
    s = svd(zdat,0);
    egr(i,1:min(mx-i+1,mmax)) = s';
end
clear s xdat ydat zdat

```

```
if plot ~= 0
    figure
    subplot(2,1,1)
    semilogy(tdat, egf, '-')
    ylabel('Eigenvalue')
    xlabel('Time')
    title('Forward Analysis')
    subplot(2,1,2)
    semilogy(tdat, egr, '-')
    ylabel('Eigenvalue')
    xlabel('Time')
    title('Reverse Analysis')
end
```

7.2.4. PLS - Modelagem com o PLS Bi-dimensional

```

function [p, q, w, b, t, u, x, y] = pls(a, c, maxrank)
%PLS Partial Least Squares in latent variables.
% Uses the Matlab's SVD routine on the smallest
% covariance matrix for computational efficiency.
%
% [P, Q, W, B] = PLS(A, C, MAXRANK) or,
%
% [P, Q, W, B, T, U, X, Y] = PLS(A, C, MAXRANK)
%
% Where:
%
% P is the matrix of spectral factors
% Q is the matrix of concentration factors
% W is the matrix of weights
% B is the vector containing the inner relationships
% T is the matrix of spectral scores
% U is the matrix of concentration scores
% X is the matrix of spectral residuals
% Y is the matrix of concentration residuals
% A is the training set absorbance matrix
% C is the training set concentration matrix
% MAXRANK is optional limit to the number of factors calculated
%
% by Richard Kramer.
% Copyright (c) 1988-1993 by The MathWorks, Inc.

[m,n] = size(a);
[m,l] = size(c);
if nargin == 3, i = min([n, m, maxrank]); else i = min([n m]); end

x = a;
y = c;

for h = 1:i,
    xy = x' * y;
    [pt,s,qt] = svd(xy*xy,0);
    q(h,:) = qt(:,1)';
    w(:,h) = (xy * qt(:,1)) / sqrt(s(1,1));

    t(:,h) = x * w(:,h);
    tsqr = t(:,h)' * t(:,h);

    u(:,h) = y * qt(:,1);
    p(h,:) = t(:,h)' * x / tsqr;
    b(1,h) = (u(:,h)' * t(:,h)) / tsqr;

    x = x - (t(:,h) * p(h,:));
    y = y - b(h) * t(:,h) * q(h,:);
end

```

7.2.5. PLSREV - Cálculo dos Autovalores reduzidos

```
function [rev, xrev, yrev] = plsrev(a, p, q, w, b, rank)
%PLSREV      PLS analog of Malinowski's reduced eigenvalues.
%      [REV, xrev, yrev] = plsrev(A, P, Q, W, B, RANK)
%
%      REV  is the vector of reduced eigenvalues
%      XREV is the vector of the x contribution to rev
%      YREV is the vector of the y contribution to rev
%      A    is matrix of training set spectra
%      P    is the matrix of spectral factors
%      Q    is the matrix of concentration factors
%      W    is the matrix of weights
%      B    is the vector containing the inner relationships
%      RANK is the number of reduced eigenvalues to calculate
%
%      by Richard Kramer.
%      Copyright (c) 1988-1993 by The MathWorks, Inc.

[m, n] = size(a);
[maxrank, h] = size(p);
if nargin > 5, maxrank = min([rank, maxrank]); end

xrev = 0;
yrev = 0;

x = a;
for h=1:maxrank
    t(:,h) = x * w(:,h);
    x = x - t(:,h) * p(h,:);
    xrev(h) = t(:,h)'*t(:,h) / ( (n - h + 1) * (m - h + 1) );
    ct = b(h) * t(:,h) * q(h,:);
    yrev(h) = sum(sum(ct .* ct)) / ( (n - h + 1) * (m - h + 1) );
    rev(h,1) = xrev(h) + yrev(h);
end
```

7.2.6. PLSPRED - Previsão com o PLS Bi-dimensional

```

function [c, x] = pls_pred(a, p, q, w, b, n, amean, cmean, ascal, cscal)
%PLSPRED Predicts unknown concentrations using PLS.
% [c, x] = pls_pred(a, p, q, w, b, n, amean, cmean, ascal, cscal)
%
% c is the matrix of the unknown's concentrations
% x is the matrix of spectral residuals after decomposition
% a is the unknown spectrum (or spectra)
% p is the matrix of spectral factors
% q is the matrix of concentration factors
% w is the matrix of weights
% b is the vector containing the inner relationships
% n is the number of factors to use
%
% optional arguments:
%
% amean vector of means of mean-centered calibration spectra
% cmean vector of means of mean-centered calibration concentrations
% ascal vector of scaling factors of scaled calibration spectra
% cscal vector of scaling factors of scaled calibration concentrations
%
% Specify 0 for amean, cmean, ascal, cscal if no scaling or centering
%
% by Richard Kramer.
% Copyright (c) 1988-1993 by The MathWorks, Inc.

[maxrank, h] = size(p);
if nargin > 5, maxrank = min([n, maxrank]); end

c=0;
[j, i] = size(a);
if nargin > 6,
    if amean ~= 0,
        a = a - amean * ones(1, j);
    end
    if nargin > 8,
        if ascal ~= 0,
            a = a ./ (ascal * ones(1, j));
        end
    end
end

x = a;
for h=1:maxrank
    t(:,h) = x * w(:,h);
    x = x - t(:,h) * p(h,:);
    c = c + b(h) * t(:,h) * q(h,:);
end

```

```
[l, k] = size(c);  
if nargin > 9,  
    if cscal ~= 0  
        c = c .* (cscal * ones(1,l));  
    end  
end  
  
if nargin > 7,  
    if cmean ~= 0,  
        c = c + cmean * ones(1,l);  
    end  
end
```

7.2.7. n-PLS - Modelagem com o PLS Multi-dimensional

```
function [T,Wj,Wk,Wl,Wm,U,Qj,Qk,B,ypred]=n_pls(X,y,lv,opt)

% MULTI-LINEAR PLS (Submitted to J. Chemom.)
% Can handle tri, quadri- and penti-linear X
% and uni-, bi- and tri-linear Y
%
% Copyright
% Rasmus Bro 1995
% Royal Veterinary & Agricultural University, Cph.
% Thorvaldsensvej 40, 6, ii
% DK-1871 Frb, C
% Denmark
%
% Phone +45 35283267
% Fax +45 35283265
% E-mail Rasmus.bro@foodsci.kvl.dk
%
% X is I x J x K (x L x M) cube and is given as the I x JK (LM) matrix
% y is a I x Jy x Ky cube. Latter indexes run slowest
%
% X and y are assumed centered in this implementation of the algorithm
%
% If a variable 'opt' exists, the algorithm will skip the input part and use
% already defined values of:
%
% Rx Order of X
% Ry Order of y
% J..M Dimension of second .... fifth order of X
% Jy,Jk Dimension of second & third order of y
% lv Number of latent variables
%
% Outputs:
% T I x F matrix of scores of X ("loadings" of first order)
% Wj J x F loadings in second order of X
% Wk K x F loadings in third order of X
% Wl L x F loadings in fourth order of X
% Wm M x F loadings in fifth order of X
% U I x F matrix of scores of y
% Qj Jy x F loadings in second order of y
% Qk Ky x F loadings in third order of y
% B F x F matrix of regression coefficients
% ypred Predictions of calibration set
%
%
% uses N_PCA

if exist('opt')
disp(' ')
else
```

```

lv=input(' How many latent variables should be calculated (default 3!) ');if isempty(lv),lv=3;end;
Rx=input(' What is the order of X (default 3) ');if isempty(Rx),Rx=3;end;
if Rx==2
disp(' ')
disp(' Well, a tri-linear model will be made, but with on variable in the third order')
disp(' The only difference between ordinary and this bi-PLS is that no P loadings are')
disp(' introduced ')
disp(' ')
disp(' Hit any key to continue'),disp(' '),pause,end
Ry=input(' What is the order of Y (default 2 or 1) ');if isempty(Ry),Ry=2;end;

Xidx=['T','J','K','L','M','N'];
Yidx=['Iy','Jy','Ky'];

[I,Jx]=size(X);[I,Jyy]=size(y);
if Rx==2, J=Jx;K=1;end
if Rx>2
for rx=2:Rx
if exist(Xidx(rx));rrx=eval(Xidx(rx));
if isempty(rrx),rrx=0;end,else,rrx=0;end;
str=([Xidx(rx),'=input(" What is the dimension of the ', num2str(rx) , ' order of X (default ', num2str(rrx), '
");']);
eval(str)
if isempty(eval(Xidx(rx))),str=([Xidx(rx),'=rrx;']);eval(str);end;
end,else,J=Jx;
end

if Ry>2
for ry=2:Ry
if exist(Yidx(ry,:));
rrx=eval(Yidx(ry,:));
if isempty(rrx),rrx=0;end
else,rrx=0;end
str=([Yidx(ry,:)='input(" What is the dimension of the ', num2str(ry) , ' order of Y (default ', num2str(rrx), '
");']);
eval(str)
if isempty(eval(Yidx(ry,:))),str=([Yidx(ry,:)='rrx;']);eval(str);end;
end
else
Jy=Jyy;
end,clear rrx

end % if isempty(opt)

yres=y;
Xres=X;
ypred=zeros(size(y));
xmodel=zeros(I,Jx);
T=zeros(I,lv);
Wj=zeros(J,lv);

```

```

Wk=zeros(K,lv);
if Rx>3,Wl=zeros(L,lv);if Rx>4,Wm=zeros(M,lv);end,end
B=zeros(lv,lv);
Q=zeros(lv,Jyy);
Qj=zeros(Jy,lv);
if Ry>2,Qk=zeros(Ky,lv);end
U=zeros(I,lv);

sakX=ssq(Xres); saky=ssq(y);

for f=1:lv                                     % #2
[u,bbb] = n_pca(yres,1,2);clear bbb
maxit=250; it=0; ugl=u*2;;

    while (norm(u-ugl)/norm(u))>1e-8           %           % #3
        ugl=u;it=it+1;

% _____ CALCULATE T

    if Rx<4 % (meaning Rx=3)
        kovxy=reshape((Xres'*u),J,K);
        [wj,wk] = n_pca(kovxy,1,2);
        wj=wj/norm(wj);
        wk=wk/norm(wk);w=reshape(wj*wk',J*K,1)';
        T(:,f)=Xres*w';
        Wj(:,f)=wj;
        Wk(:,f)=wk;
        end

    if Rx==4
        kovxy=reshape((Xres'*u),J,K*L);
        [wj,wk,wl]=n_pca(kovxy,1,3,K,L);
        wj=wj/norm(wj); wk=wk/norm(wk);wl=wl/norm(wl);
        w=kron(wl,kron(wk,wj))';
        T(:,f)=Xres*w';
        Wj(:,f)=wj;
        Wk(:,f)=wk;
        Wl(:,f)=wl;end

    if Rx==5
        kovxy=reshape((Xres'*u),J,K*L*M);
        [wj,wk,wl,wm]=n_pca(kovxy,1,4,K,L,M);
        wj=wj/norm(wj); wk=wk/norm(wk); wl=wl/norm(wl); wm=wm/norm(wm);
        w=kron(wm,kron(wl,kron(wk,wj)))';
        T(:,f)=Xres*w';
        Wj(:,f)=wj;
        Wk(:,f)=wk;
        Wl(:,f)=wl;
        Wm(:,f)=wm;
        end

```

```

%_____ CALCULATE Q & U

    if Ry<3
        q=T(:,f)*yres;q=q/norm(q);Qj(:,f)=q;
        u=yres*q;
        U(:,f)=u;end
    if Ry==3
        q=reshape((yres'*T(:,f)),Jy,Ky);[qj,qk] = n_pca(q,1,2);qj=qj/norm(qj);qk=qk/norm(qk);
        for i=1:I,yi=reshape(yres(i,:),Jy,Ky);
            u(i,1)=(yi*qk)'*qj;end % #3
        Qj(:,f)=qj;Qk(:,f)=qk;U(:,f)=u;end

end

%_____ CALCULATE B

    B(1:f,f)=inv(T(:,1:f)'*T(:,1:f))*T(:,1:f)'*U(:,f); %y

%_____ CALCULATE PREDICTIONS

    if Ry<3
        ypred=T(:,1:f)*B(1:f,1:f)*Qj(:,1:f);end

    if Ry==3, load=[]; for a=1:Ky load=[load qj'*qk(a)];end;Q(f,:)=load;
    ypred=T(:,1:f)*B(1:f,1:f)*Q(1:f,:);end

%_____ CALCULATE RESIDUALS

    if Jy > 1,fprintf('number of iterations: %g',it);disp(' '),disp(' '),end
    xmodel=xmodel+T(:,f)*w;
    Xres=X-xmodel;
    yres=y-ypred;
    fprintf('Explained part of X: %g % ',(1-ssq(Xres)/sakX)*100);
    disp(' ')
    fprintf('Explained part of y: %g ',(1-ssq(y-ypred)/saky)*100);
    disp(' ')
    disp(' ')

end % #2

if it==maxit
('Algoritmen failed')
end
clear w str sakX sakY rx ry maxit kovxy k i k a b c Xidx Yidx f l q u it Jyy ugl wj wk wl wm yres Xres

```

7.2.8. n-PLSPRED - Previsão com o PLS Multi-dimensional

```
function [ypred]=n_pred(X,lv,Rx,Ry,Wj,Wk,Wl,Wm,Qj,Qk,B)

% prediction in N-PLS
% X is a I x J x K (x L x M) array, given as an I x JK (I x JKLM) matrix
% ypred is I x JK
% Remember to center X and y
%
% lv (# latent variables), Rx (order of X) and Ry (order of y)
% defines what happens

[I,not]=size(X);clear not
Xres=X;

t=zeros(I,lv);
[wk1, wk2]=size(Wj);
Wjj=Wj(:,1:lv);
Wkk=Wk(:,1:lv);
if Rx>3
Wll=Wl(:,1:lv);
if Rx>4
Wmm=Wm(:,1:lv);end,end

Qjj=Qj(:,1:lv);
if Ry>2
Qkk=Qk(:,1:lv);end

clear wk1 wk2

for f=1:lv

load=kron(Wkk(:,f),Wjj(:,f))';
if Rx>3,load=kron(Wll(:,f),load)';end
if Rx>4,load=kron(Wmm(:,f),load)';end

t(:,f)=Xres*load';
Xres=Xres-t(:,f)*load;
end

for f=1:lv,

if Ry>2
load=[];
for a=1:Ky
load=[load Qjj(:,f)'*Qkk(a,f)];
end;
else
load=Qj(:,f)';
end
```

```
Q(f,:)=load;
end
clear load

ypred=t(:,1:lv)*B(1:lv,1:lv)*Q(1:lv,:);

end

clear Qjj Qkk Wjj Wkk Wll Wmm
```

7.2.9. PLSCV - "Cross-Validation"

```

function [press,cumpress,minlv,b] = plscv1(x,y,lv,noninter)
% This program calculates the PRESS for the PLS model as each
% sample is left out of the data set once. If the data set is
% big it may take a long time to run since it rebuilds the PLS
% model once for each sample. The outputs are a matrix showing
% how the PRESS changes with each lv for each sample (press),
% a vector of the cumulative PRESS (cumpress) for all the tests,
% the number of lvs at minimum press (minlv) and the final
% vector or matrix b based on minlv or an optional override value
% specified at the prompt by the user. The I/O format is:
% [press,cumpress,minlv] = plscv1(x,y,lv,noninter)
% Where x is the independent data block, y is the dependent
% data block and lv is the maximum number of latent variables
% to consider. The last input, noninter, is optional and is
% used to suppress the prompt for user over-ride of the number
% of latent variables chosen. Any input here will suppress the prompt.

% Copyright
% Barry M. Wise
% 1991

[mx,nx] = size(x);
[my,ny] = size(y);
if mx ~= my
    error('x and y must have the same number of samples.')
end
if lv > nx
    error('lv must <= number of columns in x')
end
% Initialize matrices
cumpress = zeros(1,lv);
press = zeros(mx,lv);
% Arrange calibration and test matrices
clc
for i = 1:mx
    home
    s = sprintf('Now working on test set %g out of %g',i,mx);
    disp(s)
    newx = [x(1:i-1,:);x(i+1:mx,:)];
    xtest = x(i,:);
    newy = [y(1:i-1,:);y(i+1:mx,:)];
    ytest = y(i,:);
    % Obtain new pls model
    [p,q,w,t,u,b,ssq] = pls(newx,newy,lv);
    % Calculate PRESS and plot
    for j = 1:lv
        ypred = pls_pred(xtest,b,p,q,w,j);
        press(i,j) = sum(sum((ypred-ytest).^2));
    end
end

```

```

plot(press(i,:))
s = sprintf('Number of LVs vs. PRESS for Sample Number %g',i);
title(s)
xlabel('Number of Latent Variables')
ylabel('PRESS')
end
pause(2)
% Calculate cumulative PRESS and plot
cumpress = sum(press);
plot(cumpress)
title('Number of Latent Variable vs. Cumulative PRESS')
xlabel('Number of Latent Variables')
ylabel('Cumulative PRESS')
% Find and display number of lvs for minimum PRESS
[a,minlv] = min(cumpress);
t = sprintf('Minimum Cumulative PRESS is at %g LVs',minlv);
disp(t)
if nargin == 3
answ = input('Would you like to choose a different number of LVs? (Yes = 1) ');
if answ == 1
txt = sprintf('How many Latent Variables would you like? (Max = %g) ',minlv);
minlv = input(txt);
end
end
disp(' ')
disp('Now working on final PLS model')
[P,Q,W,T,U,bb,ssqdif] = pls(x,y,minlv);
b = conpred1(bb,w,p,q,minlv);
plot(b), hold on, plot(b,'o'), plot(zeros(b),'-g'), hold off
s = sprintf('Regression Coefficients in Final Model with %g LVs',minlv);
title(s)
xlabel('Variable Number')
ylabel('Regression Coefficient')

```