

RITA APARECIDA DUTRA FONSECA

CARACTERIZAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DE ÁCIDOS HÚMICOS
UTILIZANDO ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL

2005

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F676c
2005

Fonseca, Rita Aparecida Dutra, 1973-
Caracterização potenciométrica de ácidos húmicos
utilizando análise das componentes principais. / Rita
Aparecida Dutra Fonseca. – Viçosa: UFV, 2005.
xii, 70f. : il. ; 29cm.

Orientador: Efraim Lázaro Reis.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 68-70.

1. Ácido húmico - Análise. 2. Potenciometria.
3. Análise das componentes principais. 4. Química

analítica.

I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 543.2

RITA APARECIDA DUTRA FONSECA

CARACTERIZAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DE ÁCIDOS HÚMICOS
UTILIZANDO ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS

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

APROVADA: 30 de março de 2005.

Prof. César Reis
(Conselheiro)

Pesq. Vinícius de Melo Benites
(Conselheiro)

Prof. Paulo Henrique Fidêncio

Prof. Benjamin Gonçalves Milagres

Prof. Efraim Lázaro Reis
(Orientador)

A Deus.

Aos meus adorados pais José Dutra e Imaculada.

Ao meu marido Antônio Marcos.

“...Porque ter a mente boa não é o bastante; o principal é aplicá-la bem. As maiores almas são capazes tanto das maiores virtudes quanto dos maiores vícios, e aqueles que marcham lentamente podem avançar muito mais, se seguirem o caminho certo, que aqueles que correm, porém dele se afastam.”

Descartes, *Discurso sobre o método*, parte I.

“Não é paradoxo dizer que em nossos momentos mais teóricos podemos estar mais próximos de nossas aplicações mais práticas.”

A. N. Whitehead

AGRADECIMENTOS

A Deus, por mais esta conquista.

Aos meus pais, pela compreensão, dedicação e orações.

Ao meu marido, pela compreensão dos momentos de ausência e dedicação.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial, ao Departamento de Química, pela oportunidade de me tornar Mestre.

Ao professor Dr. Efraim Lázaro Reis, pela orientação, pela confiança, e principalmente pela amizade.

Ao professor Dr. César Reis, pelo aconselhamento e amizade.

Ao pesquisador Dr. Vinicius de Melo Benites, pelo aconselhamento e pela disposição de suas amostras para realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Paulo Tadeu de Almeida Campos, do Departamento de Matemática, pelo apoio, confiança e amizade.

A amiga Marisa, pela força.

A todos os colegas do Curso de Agroquímica e do LINQ, pelo companheirismo.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, a todos os professores e funcionários.

BIOGRAFIA

Rita Aparecida Dutra Fonseca, filha de José Dutra Moreira e Imaculada Lusia Moreira, nasceu em Coimbra, Minas Gerais, em 6 de agosto de 1973.

Em março de 1994, iniciou o Curso de Matemática na Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se em março de 1999 em Licenciatura plena.

Foi professora de matemática no ensino fundamental na Escola Estadual Emílio Jardim, em Coimbra, MG, no período de agosto de 1998 a dezembro de 1999.

De fevereiro de 2000 a abril de 2001, foi professora de matemática no ensino médio na Escola Estadual Emílio Jardim.

Ainda na Escola Estadual Emílio Jardim, foi professora de física no ensino médio, no período de agosto de 1999 a abril de 2001.

Em agosto de 2000, ingressou no curso de Química na Universidade Federal de Viçosa como portadora de diploma, obtendo-se o título de bacharel e licenciada em março de 2003.

Em março de 2003, iniciou o curso de pós-graduação, em nível de mestrado, em Agroquímica na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG. Submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2005.

Em novembro de 2004, prestou concurso público para Secretaria de Educação de Minas Gerais, conquistando uma vaga de professora de matemática na Escola Estadual Emílio Jardim, Coimbra, MG.

ÍNDICE

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Substâncias Húmicas.....	3
2.2. Titulação Potenciométrica.....	12
2.3. Regressão Multiparamétrica Não-Linear.....	14
2.4. Linguagem Delphi.....	22
2.5. Quimiometria.....	24
2.5.1 Análise das Componentes Principais.....	25
2.5.2. Ambiente MATLAB.....	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
3.1. Descrição das Amostras.....	32
3.2. Preparo de soluções.....	33
3.3. Aquisição dos dados amostrais.....	34
3.3.1. Titulação Potenciométrica.....	34
3.4. Tratamento dos dados.....	39
3.4.1. Análise por regressão multiparamétrica não-linear.....	39
3.4.2. Análise por métodos quimiométricos.....	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1. Titulação Potenciométrica.....	40
4.1.1. Regressão multiparamétrica Não-Linear.....	42
4.2. Análise das componentes principais dos dados potenciométricos.....	62
5. CONCLUSÕES.....	67
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS

1. Importância ambiental das substâncias húmicas segundo suas características..	7
2. Resultados obtidos pelo método de Newton-Raphson após 3 iterações.....	19
4. Unidades de conservação, município da sede, serra e bioma dominante da região nas quais foram obtidas as amostras de solo.....	32
6. Parâmetros obtidos pelo ajuste por regressão multiparamétrica não-linear das curvas de titulação potenciométrica de ácidos húmicos de solo	52
7. Valores de volumes parciais correspondentes aos cinco grupos tituláveis.....	58
8. Valores de sítios ativos H^+ , em $cmol_c kg^{-1}$, obtidos a partir da tabela dos volumes parciais dos ácidos húmicos extraídos de solo, especificando os grupos funcionais carboxílicos (GRUPO 1) e fenólicos (GRUPO 2) presentes na amostra analisada.....	59
9. Valores médios de pK_a obtidos pelo programa de ajuste por regressão multiparamétrica não-linear das curvas de titulação potenciométrica dos ácidos húmicos extraídos de solo, comparados aos valores obtidos por ALEIXO et al. (1992).....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Mecanismos propostos para a formação das substâncias húmicas.....	5
2. Esquema da estrutura macromolecular do ácido húmico desenvolvida por Schulden e Schnitzer (1993).....	10
3. Gráfico do método de Newton-Raphson para a função $f(x) = x^2 - 4$ na primeira iteração.....	20
4. Escores (t) e pesos (p) obtidos pela projeção dos valores da matriz X em vetores. Pesos: cada coluna de X é projetada em um elemento de vetor p^i . Escores: cada linha de X é projetada em um elemento de um vetor t (GUIMARÃES, 2000).....	28
5. Representação de uma componente principal para as variáveis x_1 e x_2	28
6. Transformação das variáveis originais em novos eixos ortogonais	29
7. Unidades de conservação ao longo do Espinhaço e da Mantiqueira com áreas de complexos rupestres de altitude (índice no quadro 4).....	33
8. Esquema do instrumento potenciométrico: 1 – microcomputador PC-486; 2 – potenciômetro Orion 901; 3 – cela de titulação; 4 – balança eletrônica semi-analítica; 5 – bomba peristáltica; 6 – frasco de titulante; V₁ e V₂ – válvulas solenóides “three way”, de “teflon”; e I – interface potencializadora do sinal do microcomputador.....	35
9. Sistema de titulação potenciométrica automatizado.....	35
10. Tela de abertura.....	36
11. Tela principal do programa.....	36
12. Determinação de vazão.....	37
13. Tela de entrada dos parâmetros para obter a curva de titulação.....	37
14. Tela para visualização dos dados e da cura de titulação em tempo real.....	38
15. Tela para gravação dos dados.....	38
16. (a) Curva de titulação potenciométrica do ácido húmico – amostra CD ₃ , (b) <u> </u> curva da primeira derivada e <u> </u> curva da segunda derivada.....	43
17. Tela de abertura do programa.....	48
18. Tela principal.....	48
19. Tela de dados para nova análise.....	48

20. Variação permitida entre os dados fornecidos e ajustados quando: a) delta único e b) delta diferente para cada parâmetro.....	49
21 Tela para seleção do arquivo de dados.....	49
22. Tela de abertura do arquivo de dados da titulação.....	49
23. Tela que informa o fim da análise e o número de iterações necessárias para a convergência do modelo de regressão.....	50
24. Tela de visualização dos dados originais e ajustados.....	50
25. Tela que permite salvar o arquivo de dados no local desejado.....	51
26. Curvas de titulação experimentais de ácidos húmicos com NaOH e ajustadas por regressão multiparamétrica não-linear das amostras CA_{2A}, CD₁, CP₁, DI₁, IB₂, IC_{2A} , das regiões 1, 6, 3, 2, 9 e 5 , respectivamente.....	56
27. Gráfico do número de componentes principais para os dados.....	63
28. Gráfico da análise das componentes principais, PC1 vs PC2 para as variáveis do modelo.....	63
29. Gráfico da análise das componentes principais, PC1 vs PC2 vs PC3 para os dados potenciométricos das 72 amostras.....	64
30. Gráfico da análise das componentes principais, PC1 vs PC2 para os dados potenciométricos das 72 amostras.....	65
31. Gráfico da análise das componentes principais, PC1 vs PC3 para os dados potenciométricos das 72 amostras.....	65
32. Gráfico da análise das componentes principais, PC2 vs PC3 para os dados potenciométricos das 72 amostras.....	66

RESUMO

FONSECA, Rita Aparecida Dutra, M. S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2005.

Caracterização potenciométrica de ácidos húmicos utilizando análise das componentes principais. Orientador: Efraim Lázaro Reis. Conselheiros: César Reis e Vinicius de Melo Benites.

A caracterização de ácidos húmicos de solos é de grande utilidade para o conhecimento das propriedades fundamentais do sistema orgânico do solo, para tal caracterização foi utilizada a técnica de titulação potenciométrica a fim de distinguir diferentes grupos funcionais e seus percentuais. As titulações potenciométricas dos ácidos húmicos com solução padronizada de NaOH $0,0959 \text{ mol L}^{-1}$ em força iônica mantida constante com NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foram executadas em um sistema de titulação potenciométrico, com eletrodos combinados de vidro e referência de Ag/AgCl, baseado no potenciômetro ORIOM 901 interfaceado a um microcomputador. O titulante foi adicionado por bombeamento peristáltico tendo o volume e o valor de pH da solução, medidos após cada adição. Os dados adquiridos foram submetidos a um programa computacional, cujo algoritmo é baseado no método de Newton-Raphson, desenvolvido na linguagem Delphi, para obter os valores das constantes de ionização e a porcentagem dos grupos tituláveis. Este programa mostrou-se eficiente na reprodução das curvas de titulação, observando-se que a curva de ajuste coincide com a curva de titulação experimental. Após o processamento dos dados pelo programa de ajuste, foram determinados cinco grupos funcionais para os ácidos húmicos, principalmente grupos carboxílicos e fenólicos. Os parâmetros obtidos nos ajustes das curvas experimentais foram utilizados para a caracterização de ácidos húmicos de solos de setenta e duas amostras de dez locais distintos. Para o reconhecimento de padrões, utilizou-se a análise das componentes principais (PCA), para a verificação das características destas substâncias. A análise das componentes principais dos dados potenciométricos não evidenciou separação entre as amostras. Assim, as características dos ácidos húmicos evidenciadas por titulação potenciométrica refletem as condições nas quais foi formado, apesar de não possibilitar uma separação entre os grupos. Pois todas as amostras foram extraídas, fracionadas e

purificadas, acarretando uma homogeneidade entre elas, não permitindo reconhecimento de padrões entre as mesmas.

ABSTRACT

FONSECA, Rita Aparecida Dutra, M. S., Universidade Federal de Viçosa, March 2005.

Potentiometric Characterization of Humic Acids using Principal Components Analysis. Adviser: Efraim Lázaro Reis. Committee members: César Reis e Vinicius de Melo Benites.

The soil humic acid characterization is very useful for the knowledge of main properties of soil organic system. For that characterization was used a potentiometric titration technique aiming to separate different functional groups and their percentile. The potentiometric titrations from humic acid on standard solutions of NaOH 0.0959 molL^{-1} on ionic strength kept constant with NaCl 0.1 molL^{-1} , were executed in a potentiometric titration system with glass electrodes and reference of Ag/AgCl, based on ORIOM 901 potentiometer interfaced to a computer. The titrant was added by a peristaltic pumping process with volume and pH solution valor measured after each addiction. The data was submitted to a computational program which the algorithm is based on the Newton-Raphson method developed in a Delphi language in order to obtain the ionization values constant and the percentile of titrable groups. This program had demonstrated as efficient on reproducing of the titration curves, observing the adjust curve coincides to the experimental titration curve. After the data processing by the adjust program it was determined five functional groups for humic acids mainly for carboxylic and phenolic groups. The parameters obtained in the experimental curve adjustments were used for the humic acid characterization of soils from 72 samples from 10 different locals. For pattern recognition it was used a principal component analysis (PCA) in order to verify the characteristic of these substances. The Principal component analysis from potentiometric data did not show a separation between the samples. The humic acid characteristics showed by the potentiometric titration demonstrate the conditions which they were formed, though it does not have the possibility of separation between the groups. So, all samples were extracted, fractionated and purified, coming up the homogeneity between them, so it did not permit the standard recognition between them.

1. INTRODUÇÃO

A matéria orgânica presente em solos, turfas e sedimentos consiste em uma mistura de produtos, em vários estágios de decomposição, resultantes da degradação química e biológica de resíduos vegetais e animais, e da atividade de síntese de microorganismos. Esta mistura é conhecida como húmus e se divide em substâncias não húmicas e húmicas, onde a base da diferenciação é que as substâncias não húmicas são de natureza definida como aminoácidos, proteínas, etc, ao passo que as substâncias húmicas são de estrutura química complexa, compondo um grupo de compostos heterogêneos (STEVENSON, 1982).

As substâncias húmicas são formadas a partir de inúmeros mecanismos e rotas bioquímicas, que atuam de acordo com a qualidade do substrato orgânico e as condições químicas do meio onde são processadas essas reações (BENITES, 1998).

Com base na resistência à degradação e à solubilidade em ácidos e álcalis, as substâncias húmicas têm sido classificadas em três grupos químicos: ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina.

A caracterização de substâncias húmicas é um instrumento de grande utilidade para o conhecimento das propriedades fundamentais do sistema orgânico do solo. Os dados obtidos podem ser aplicados ao estudo das interações existentes entre fração orgânica e inorgânica do solo, influência de clima, solo e vegetação na formação de substâncias húmicas, processos de humificação, atuação de substâncias húmicas como controladores de funções fisiológicas dos organismos vivos, fertilidade do solo, microbiologia do solo, efeitos geoquímicos e outros (SANTISTEBAN et al., 1997).

A análise das substâncias húmicas pode ser feita por titulação potenciométrica, a fim de distinguir diferentes grupos funcionais como os carboxílicos e fenólicos. Com a aplicação de um método de regressão multiparamétrica não-linear pode-se determinar os valores das constantes de ionização de cada grupo ácido e a porcentagem de cada um.

Uma técnica também utilizada na caracterização de substâncias húmicas, por serem constituídas de macromoléculas complexas e orgânicas, é a espectrometria na região do infravermelho (NEIMEYER et al., 1992).

Objetiva-se neste trabalho, desenvolver um programa computacional em linguagem Delphi de fácil utilização, para ajustar curvas de titulação potenciométricas, avaliar a técnica de titulação potenciométrica na determinação de parâmetros tais como constantes de ionização e porcentagens de grupos funcionais em ácidos húmicos de solos e executar reconhecimento de padrões de ácidos húmicos de solos, utilizando a análise das componentes principais para os dados potenciométricos, na tentativa de estabelecer relações entre as características presentes nestas substâncias.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Substâncias húmicas

Em 1804 SAUSSURE, apud ROCHA & ROSA (2003), introduziu o termo Húmus (do latim, equivalente a solo) para descrever a matéria orgânica presente em solos, turfas e sedimentos, que consiste em uma mistura de produtos, em vários estágios de decomposição, resultantes da degradação química e biológica de resíduos vegetais e animais, e da atividade de síntese de microorganismos. Logo, húmus é uma mistura complexa e muito resistente de substâncias amorfas e coloridas, possuindo cor castanha ou castanho-escura, que foram modificadas a partir dos tecidos originais ou sintetizados por organismos do solo. O húmus, de natureza coloidal, apresenta as seguintes características principais:

1. a superfície específica dos colóides do húmus é muito elevada, por via de regra, excedendo a das argilas silicatadas;

2. as micelas são negativamente carregadas, cargas estas que se devem, principalmente, à dissociação de grupos carboxílicos ou fenólicos. Essas cargas são, portanto, diretamente dependentes do pH do meio;

3. com elevados valores de pH, a capacidade de troca catiônica (CTC) excede consideravelmente, a da maioria das argilas silicatadas ($150-300 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$);

4. com base nos pesos, a capacidade de retenção de água é quatro a cinco vezes a das argilas silicatadas;

5. o húmus possui plasticidade e coesão reduzidas, o que pode responder por sua influência favorável na formação e estabilidade de agregados;

6. a cor escura do húmus ajuda a distinguí-lo da maioria dos outros componentes coloidais do solo e;

7. as reações de troca de cátions com o húmus são qualitativamente semelhantes às que ocorrem com argilas silicatadas.

O Húmus se divide em substâncias não-húmicas e substâncias húmicas, onde a base da diferenciação é que as substâncias não-húmicas são de natureza definida, como aminoácidos, carboidratos, lipídios, resinas e ácidos graxos, enquanto que as substâncias húmicas são de estrutura química complexa e indefinida, coloração escura, elevada massa

molecular e alto teor de grupos funcionais como carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas, com isso apresentam grau de aromaticidade elevado e compõem um grupo de compostos heterogêneos (STEVENSON, 1982).

ROCHA & ROSA (2003) propõem alguns mecanismos de formação das substâncias húmicas, embora a determinação da estrutura e a bioquímica de sua formação sejam propriedades pouco compreendidas na química do húmus.

Na figura 1, tem-se o esquema de pelo menos quatro vias principais de formação das substâncias húmicas durante a decomposição de resíduos no solo. Onde se têm como processo principal a oxidação de substratos hidrolisados monoméricos, para conduzir a polímeros macromoleculares de cor mais escura e massa molecular elevada.

Podem ocorrer simultaneamente as quatro vias no solo, porém com importância e extensão diferentes.

No mecanismo 1, propõe-se a formação das substâncias húmicas a partir da polimerização não enzimática por condensação entre aminoácidos e açúcares formados como subprodutos da atividade microbiana. Enquanto que nos mecanismos 2 e 3 a participação de quinonas é envolvida, representando a teoria clássica. No mecanismo 4, as substâncias húmicas derivam-se de ligninas modificadas (ROCHA & ROSA, 2003).

CARDOSO, apud ROCHA & ROSA (2003), em solos mal drenados e em áreas hidromórficas podem ser processadas as vias das ligninas, enquanto a síntese a partir de polifenóis pode ser de considerável importância para certos solos sob floresta. Em razão da rápida assimilação biológica dos açúcares, a teoria de condensação de aminoaçúcares é válida principalmente para meios de baixa atividade biológica.

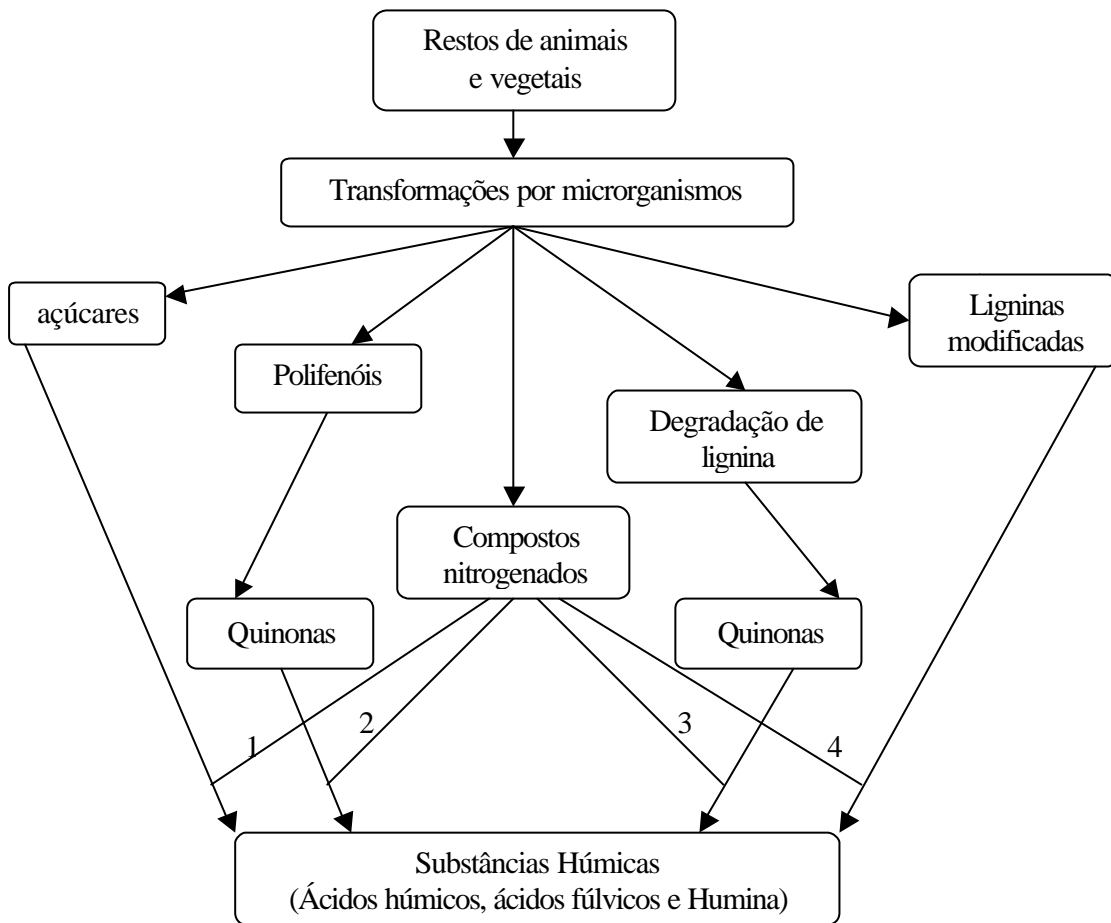


Figura 1. Mecanismos propostos para a formação de substâncias húmicas (ROCHA & ROSA, 2003).

Segundo MALCOLM (1990) a lignina não é o principal precursor de substâncias húmicas de solo. E mostra que há grandes diferenças estruturais entre substâncias húmicas de diferentes origens, como solo, rios e mar.

STEVENSON, apud ROCHA & ROSA (2004), afirma que os mecanismos baseados na decomposição polimérica de polifenóis e quinonas têm sido os mais aceitos por pesquisadores e pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas.

Com base na resistência à degradação e à solubilidade em ácidos e álcalis, as substâncias húmicas têm sido classificadas em três grupos químicos:

Ácidos fúlvicos, os ácidos com massa molar mais baixa e de cor mais clara, solúveis em ácidos e álcalis e mais suscetíveis ao ataque microbiano;

Ácidos húmicos, os ácidos com massa molar mais alta e de cor intermediária, solúveis em álcalis, porém insolúveis em ácidos, com resistência intermediária quanto à degradação; e

Humina, os ácidos com massa molar elevada e de cor escura, insolúvel tanto em ácidos quanto em álcalis, sendo mais resistente aos ataques microbianos.

Pelas diferenças físico-químicas, esses três grupamentos de materiais apresentam algumas semelhanças qualitativas, como a capacidade de adsorção e de liberação de cátions. Assim os três grupos são considerados sob a terminologia geral de húmus (GUIMARÃES, 2000).

Geralmente, aceita-se que a carga negativa da fração orgânica seja devida à dissociação de prótons de certos grupos funcionais, principalmente de grupos carboxílicos e fenólicos. Até mesmo em pH menor que sete muitos grupos carboxílicos são suficientemente ácidos para se dissociarem de forma significativa, deixando uma carga negativa no grupo funcional. Quando o pH é maior que sete, mesmo os grupos carboxílicos mais fracos e fenólicos se dissociam, contribuindo para a carga negativa total da fração orgânica. Estima-se que 85 a 90% da carga negativa do húmus se devem a esses dois grupos funcionais apenas. Além disso, os grupos enol ($-\text{COH}=\text{CH}$) e imida ($-\text{COH}=\text{NH}$) contribuem para a carga negativa dos materiais orgânicos (GUIMARÃES, 2000).

Inúmeras formas de fracionamento da matéria orgânica seja por processos físicos ou químicos, têm sido usadas. Talvez a técnica mais empregada atualmente seja o fracionamento das substâncias húmicas por solubilidade diferencial em meio alcalino ou ácido. Esse processo permite a individualização das substâncias humificadas nas frações ácido fúlvico, ácido húmico e humina, as quais se diferenciam quanto ao tamanho médio das moléculas, composições elementares, concentração de grupos reativos por unidade de carbono e capacidade de reação com elementos inorgânicos (STEVENSON, 1982).

As substâncias húmicas desempenham um importante papel no meio ambiente devido as suas características diversas (quadro 1).

Quadro 1. Importância ambiental das substâncias húmicas segundo suas características.

Características	Importâncias
Coloração escura	Aumenta a retenção de calor pelo solo, ajudando na germinação das sementes.
Alta capacidade de retenção de água (até 20 vezes sua massa)	Atuam na conservação do solo contra a erosão e mantém sua umidade.
Função tamponante em amplos intervalos de pH	Ajudam a manter as condições reacionais do solo.
Troca de cátions	Aumentam a capacidade de troca catiônica do solo.
Sua decomposição fornece CO_2 , NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} e SO_4^{2-}	Influenciam no transporte, no acúmulo e na concentração de espécies metálicas para as plantas e/ou organismos da micro e macrofauna.
Dependendo das condições do meio possuem características oxirredutoras	Influenciam na redução de espécies metálicas para a atmosfera.
Combinação com argilominerais	Permitem a troca de gases e aumentam a permeabilidade do solo, devido à cimentação das partículas do mesmo formando agregados.
Quelação	Melhoram a disponibilidade de nutrientes para as plantas maiores, devido à formação de complexos estáveis com Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} e outros cátions polivalentes.
Insolubilidade em água	Pouca matéria orgânica é lixiviada, devido sua associação com argilas e sais de cátions di e trivalentes.
Interação com compostos orgânicos antrópico (pesticidas e herbicidas)	Desempenha importante função na dispersão, na mobilidade e no transporte destes produtos nos ambientes aquáticos e terrestres.

Consideram-se ácidos húmicos o grupo de substâncias extraídas do solo ou matéria orgânica por soluções alcalinas, de coloração escura, e que formam precipitados amorfos pelo tratamento com ácidos. Participam deste grupo substâncias que apresentam estrutura comum, mas não idênticas, apresentando os seguintes grupos funcionais: carboxilas, hidroxilas fenólicas, hidroxilas alcoólicas, grupos metóxi e carbonilas (TOLEDO, 1973). É a fração das substâncias húmicas insolúvel em meio ácido, a qual apresenta massa molecular alta em torno de 3000 - 1000000 daltons e uma resistência intermediária quanto à degradação.

HATCHER (1985), afirma que, devido à baixa mobilidade dos ácidos húmicos, eles representam importante fonte de cargas para a CTC dos horizontes superficiais, sobretudo em solos tropicais.

Os ácidos húmicos resultam da condensação de compostos aromáticos (polifenóis) com produtos de decomposição de proteínas, com a possível participação de carboidratos. Apresentam um núcleo aromático e cadeias alifáticas laterais. À medida que aumenta a maturidade dos ácidos húmicos, sua natureza aromática torna-se cada vez mais definida. Comportam-se como ácidos fracos polieletrólitos e podem ser estudados por técnicas analíticas. A maior acidez dos ácidos húmicos é devida ao OH carboxílico e fenólico e/ou outros grupos enólicos que dissociam para desenvolver uma carga negativa. O grau a que estes grupos são ionizados ou protonados no valor do pH ambiental, sua abundância e distribuição influenciam a interação entre as substâncias húmicas e os solos. Assim, eles têm mais resistência à deterioração microbiológica e são os melhores agentes fixadores nos microagregados do solo. Uma outra propriedade importante do ácido húmico é sua alta capacidade tampão dentro de uma larga faixa de pH. Embora sua contribuição exata à capacidade tamponante do solo não seja esclarecida totalmente, no geral, solos ricos em substâncias húmicas são bem protegidos. A análise quantitativa de interações do ácido húmico requer dados detalhados sobre: tipos, abundância e força de grupos funcionais do ácido húmico. Assim, CEPPI, apud GUIMARÃES (2000), a elucidação das propriedades dos ácidos húmicos é complicada devido à complexidade química da sua macromolécula.

De acordo com FISCHER e SCHARADER (1921) o ácido húmico é essencialmente lignina modificada. Mas WAKSMAN (1938) observou que a "teoria da lignina" não poderia esclarecer o índice relativamente elevado do nitrogênio no ácido húmico e propôs

que a proteína produzida pela ação de microorganismo estava ligada quimicamente à lignina modificada microbiologicamente para formar o núcleo do ácido húmico. MAILLARD (1913) sugeriu que o ácido húmico resultou da interação de açúcares reduzidos com aminoácidos e aminas. Os polímeros marrons e escuros assim produzidos eram ricos em nitrogênio (GUIMARÃES, 2000).

Posteriormente, mais detalhes das estruturas químicas dos ácidos húmicos foram propostos. FUCHS (1931) sugeriu que o ácido húmico consiste em núcleos aromáticos condensados e os anéis saturados substituídos na periferia por grupos carboxila e hidroxila. A estrutura do ácido húmico proposta por DRAGUNOV et al. (1948) é composta dos anéis aromáticos substituídos por grupos hidroxila e quinona. Carboidratos e peptídeos são ligados aos carbonos que ligam os anéis, e aos grupos $-CH_2-$ ligados aos anéis. FLAIG (1964) propôs um modelo que contém os anéis aromáticos e quinona substituídos por grupos hidroxila, carboxila e metoxila (GUIMARÃES, 2000).

A estrutura proposta por SCHNITZER (1978) é constituída de anéis fenólicos e ácidos benzenocarboxílicos ligados por ligações de hidrogênio. Uma característica distinta desta estrutura é o fato de ser alternada por vácuos de dimensões diferentes que podem aprisionar compostos orgânicos e inorgânicos de baixo peso molecular. FELBECK (1965) propôs que o ácido húmico consiste nas unidades da pirona ligadas por pontes ao metileno. Os anéis de pirona são substituídos por grupos de hidroxila. Os modelos consistem nos anéis do naftaleno substituídos por hidroxila, carboxila e cadeias alifáticas curtas contendo grupos álcool, metil, carboxil e carbonila. Até então, nenhuma das estruturas químicas proposta é aceita completamente, de modo que a busca da estrutura representativa do ácido húmico continuou.

SCHULTEN & SCHNITZER (1997) analisaram por cromatografia gasosa dois ácidos húmicos que, previamente, tinham sido examinados por espectrometria de massa. Ambos os métodos confirmaram independentemente que os compostos principais produzidos a partir dos dois ácidos húmicos eram benzeno e benzenos substituídos. De interesse particular era a série do n-alkilbenzeno C_1-C_{13} . Posteriormente, o etilmetilbenzeno, metilheptilbenzeno, metiloctilbenzeno, essencialmente membros da mesma série dos alkilbenzenos, foram também identificados. Estes provavelmente são os alkilbenzenos mais importantes na rede estrutural das substâncias húmicas. Outros

compostos eram trimetil e tetrametilbenzeno, alquilfenantreno e alquilnaftaleno. A substituição alquila do naftaleno variou de um a cinco grupos metila, enquanto no fenantreno estendeu de um a quatro grupos metila. Claramente, os compostos alquilaromáticos consistem dos anéis aromáticos que são ligados covalentemente à cadeias alifáticas. Assim, propõe-se que estes arranjos foram liberados durante a pirólise de uma rede estrutural alquilaromática. Embora se saiba que a estrutura química e física de ácidos húmicos é afetada pelas fontes da matéria orgânica e do ambiente do solo, o modelo é útil para cientistas do solo para dar uma visualização do que é a estrutura geral do ácido húmico e como este pode afetar a química e a física do solo. Em seguida, a estrutura bidimensional do ácido húmico, incluindo grupos funcionais tais como carboxílico (-COOH), hidroxila (-OH) aromática e alifática, cetonas, O- e N- heterocíclicos e nitrilas foi proposta, baseada em uma grande variedade de métodos químicos. Empregou-se mais tarde, modernas técnicas para desenvolver estruturas tridimensionais de ácido húmico e de complexos minerais orgânicos do solo.

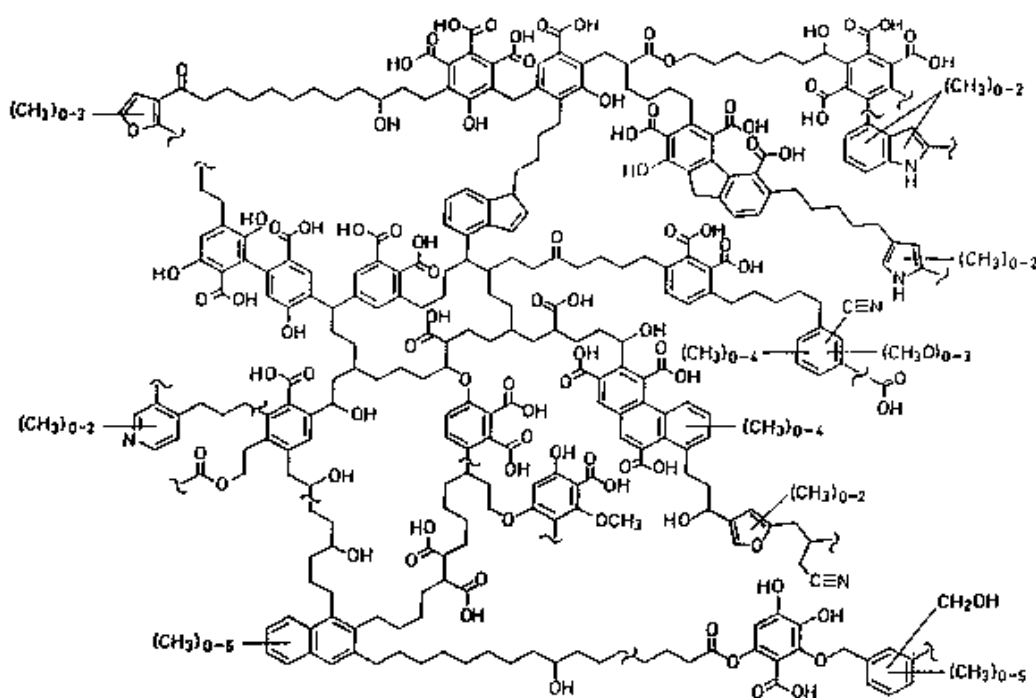


Figura 2. Esquema da estrutura macromolecular do ácido húmico proposta por SCHULTEN & SCHNITZER (1997). Os símbolos ~ representam uma seqüência de cadeias alifáticas de grande comprimento que pode sofrer variações.

A estrutura do ácido húmico apresentada na figura 2 está de acordo com a química coloidal, microscopia eletrônica, RMN¹³C e Raios-X observados em ácidos húmicos nestes muitos anos, e também com exaustivas consultas na literatura sobre substâncias húmicas. A composição elementar do ácido húmico é C₃₀₈H₃₂₈O₉₀N₅, com a massa molecular de 5539,949 g mol⁻¹ e análise elementar de 66,78% C, 5,97% H, 25,99% O e 1,26% N (SCHULTEN & SCHNITZER, 1997).

O modelo estrutural do ácido húmico bidimensional foi convertido ao modelo estrutural 3-D pelos químicos computacionais, levando em consideração a construção de modelo, otimização da conformação, estudos químicos da interação, mecânicos moleculares e os cálculos da dinâmica, utilizando o programa computacional HyperChem. O resultado obtido foi um modelo com massa molecular de 5547,004 g mol⁻¹ e análise elementar de 66,69% C, 6,09% H, 25,96% O e 1,26% N. A área da superfície calculada foi de 44,08 nm² e o volume 11,50 nm³. Mas, os ácidos húmicos não apresentam estrutura química definida e podem, assim, apresentar diferentes comportamentos (GUIMARÃES, 2000).

2.2. Titulação Potenciométrica

A titulação potenciométrica pode ser utilizada como técnica analítica na caracterização das substâncias húmicas. A curva de titulação potenciométrica é obtida a partir do potencial medido no decorrer da titulação em função do volume de titulante adicionado, determinando o ponto de equivalência da mesma.

A partir da titulação potenciométrica é possível obter resultados mais confiáveis que as titulações que utilizam indicadores químicos, sendo úteis principalmente para amostras coloridas ou turvas, também para titulações de mistura de ácidos ou, ainda, determinação de constante de ionização de ácidos fracos. Porém quando realizada manualmente, é um trabalho muito lento e tedioso, consumindo muito tempo do operador.

Segundo CUNHA (1994) existem várias vantagens ligadas ao uso de titulação automatizada, as mais relevantes dizem respeito ao gasto de reagentes e ao tempo de análise.

A base da diferenciação das titulações gravimétrica e volumétrica está no fato de se medir a massa de titulante de concentração conhecida consumida pelo titulado no primeiro

caso e o volume no segundo. Logo na titulação gravimétrica é necessário, além de uma bureta, o uso de uma balança.

Na titulação potenciométrica, o ponto final é determinado a partir dos valores da força eletromotriz de uma célula galvânica para vários volumes de reagentes adicionados. A força iônica é mantida constante durante a titulação por meio de um eletrólito de suporte. Como a localização do ponto final não envolve os erros pessoais que entram na mudança de cor de um indicador, a titulação potenciométrica constitui-se em um dos métodos analíticos mais exatos. Define-se o volume de equivalência o ponto de inflexão da curva de titulação. Pode-se localizar mais precisamente um ponto de equivalência representando a variação da força eletromotriz por unidade de volume de titulante adicionado, em função de cada um desses volumes nas vizinhanças do ponto de inflexão. A posição do máximo da curva da primeira derivada corresponde ao ponto de inflexão da curva de titulação original (LINDBERG & KOWALSKI, 1988).

Uma vez conhecido o ponto final, a força eletromotriz da célula correspondente a esse ponto pode ser obtida a partir da curva de titulação original. O ponto final também pode ser localizado a partir da derivada segunda. No ponto final, tem-se o valor da derivada segunda igual a zero, pois o valor da ordenada muda rapidamente de valores positivos para negativos (SKOOG & LEARY, 1992).

As curvas de titulação de substâncias húmicas são influenciadas pela presença de grupos carboxílicos, fenólicos e amínicos com diferentes valores de pK_a , em adição aos efeitos eletrostáticos decorrentes do acúmulo de cargas negativas com o aumento do valor de pH. Estas curvas de titulação não apresentam pontos de inflexão bem definidos, dificultando a aplicação de métodos clássicos da primeira e segunda derivadas. Titulações levadas até um valor de pH pré-estabelecido também estão sujeitas a erros devido a ampla faixa do valor de pK_a dos grupos ionizáveis (GUIMARÃES, 2000).

Em meio à expansão e facilidade do uso do computador e o surgimento de novos métodos para tratamento de dados potenciométricos, permite uma maior aplicação desta técnica. Tal como a titulação de ácidos muito fracos ou muito diluídos, e ainda misturas de ácidos que possuem valores de constantes de ionização (pK_a) muito próximos, o que não era possível aplicando os métodos conhecidos anteriormente (REIS et al., 1987).

Segundo LINDBERG & KOWALSKI (1988), na avaliação dos dados da titulação de multicomponentes, a não individualidade de cada curva de titulação é um fator que governa a precisão de predição. A intensidade no qual as curvas não se sobrepõem é dada pelas diferenças entre os valores de pK_a dos ácidos nas misturas. De maneira que as informações que diferenciam os ácidos no meio estão localizadas em volta de seus valores de pK_a ao passo que o ponto de inflexão contém informações em termos da soma total de ácidos na amostra.

Os respectivos valores das constantes de ionização dos ácidos (pK_a) podem ser determinados, aplicando uma metodologia no qual os pontos de inflexão em uma curva de titulação que não são observáveis, tornem-se evidentes identificando os respectivos pK_a dos ácidos. A possibilidade explorada é o método de regressão multiparamétrica não-linear para o tratamento dos dados da titulação potenciométrica de substâncias húmicas em meio aquoso, para diferenciar os grupos ácidos, permitindo a determinação das concentrações e dos valores de pK_a de cada grupo titulável presente nos ácidos húmicos.

2.3. Regressão multiparamétrica não-linear

A determinação do ponto de equivalência em titulações potenciométricas de ácidos e bases é feita normalmente a partir da obtenção do ponto de inflexão da curva de titulação ao traçar o gráfico volume do titulante *vs* potencial. Para melhor localização, o ponto de equivalência é obtido pelo método da segunda derivada, onde é obtido o gráfico volume de titulante *vs* d^2E/dV^2 . O ponto onde o valor da segunda derivada é zero denomina-se ponto de inflexão da curva de titulação. Mas, para eletrólitos fracos em soluções diluídas, as curvas de titulação não apresentam ponto de inflexão bem definido, tornando-se impossível a aplicação do método da segunda derivada para determinar o ponto final da titulação.

De acordo com ABATE (1997), diante de tais dificuldades na análise destes eletrólitos, surgiu a necessidade de utilização de novos métodos. Com o objetivo de quantificar a estequiometria e as constantes de ionização condicionais dos grupos ionizáveis em misturas de ácidos ou materiais complexos como substâncias húmicas, os dados das titulações potenciométricas devem ser analisados por modelos estatísticos baseados em regressão linear ou não linear, uma vez que a aplicação de métodos

tradicionais de primeira e segunda derivadas não leva a resultados confiáveis, devido à ausência de pontos de inflexão bem definidos nas curvas de titulação.

Ao analisar dados, a estatística tem entre outras a preocupação de criar modelos que explicitam estruturas do fenômeno em observação, as quais estão frequentemente misturadas com variáveis acidentais ou aleatórias. Quando identificadas essas estruturas torna-se possível um conhecimento melhor do fenômeno, e ainda explicar possíveis comportamentos do mesmo. Assim, uma estratégia conveniente de análise é supor que cada observação é formada por duas situações uma previsível e outra aleatória. Logo uma observação pode ser representada por:

$$\text{Observação} = \text{previsível} + \text{aleatório} \quad (\text{modelo aditivo})$$

$$\text{Observação} = \text{previsível} \cdot \text{aleatório} \quad (\text{modelo multiplicativo})$$

Onde a parte previsível representa o conhecimento que o pesquisador tem sobre o fenômeno e é usualmente expressa por uma função matemática com parâmetros conhecidos. E a parte aleatória é representada por um modelo de probabilidade.

Assim, a estatística é aplicada para obter estimativas para os parâmetros desconhecidos, partindo-se de amostras observadas. Para tal, podemos aplicar modelos de regressão linear ou não-linear. Neste trabalho, devido às propriedades das amostras, utiliza-se o modelo de regressão não-linear.

Os modelos de regressão não-linear são aplicados aos problemas em situações que a variável resposta e as variáveis regressoras estão relacionadas por meio de uma função não-linear conhecida.

Seja o modelo de regressão não-linear

$$y_i = f(x_i, \theta^o) + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, n \quad (\text{I})$$

onde: y_i representa a observação da variável dependente;

x_i representa um vetor de observações em k variáveis regressoras ou exógenas;

$\theta^o = [\theta^o_1, \theta^o_2, \dots, \theta^o_p]'$ é um vetor de parâmetros p dimensional desconhecido;

$f(x, \theta)$ é a função esperança ou função resposta conhecida e

ε_i representa o erro experimental supondo-o normal independente e indefinido (NIID) com média zero e variância desconhecida σ^2 .

Escreve-se θ° para enfatizar que este é o valor verdadeiro, porém desconhecido, do vetor de parâmetros e θ é usado para denotar exemplos quando o vetor de parâmetros é tratado como uma variável (REGAZZI, 2003).

Em modelos de regressão não-linear, o número de variáveis exógenas não está diretamente relacionado ao número de parâmetros. Como pode ser observado no exemplo que se segue:

Seja a função resposta $f(x, \mathbf{J}) = \mathbf{J}_1 x_1 + \mathbf{J}_2 x_2 + \mathbf{J}_4 e^{\mathbf{J}_3 x_3}$

O vetor das variáveis exógenas é $x = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{bmatrix}$ e o vetor de parâmetros é $\mathbf{J} = \begin{bmatrix} \mathbf{J}_1 \\ \mathbf{J}_2 \\ \mathbf{J}_3 \\ \mathbf{J}_4 \end{bmatrix}$

Em modelos de regressão não-linear, pelo menos uma das derivadas da função resposta com respeito aos parâmetros depende de pelo menos um dos parâmetros. Por exemplo, considere o modelo de regressão não-linear abaixo:

$$y_i = f(x_i, \mathbf{J}) + \mathbf{e}_i$$

$$y_i = e^{-\mathbf{J}x_i} + \mathbf{e}_i$$

para o qual temos a seguinte derivada em função de \mathbf{J} :

$$\frac{\partial f(x_i, \mathbf{J})}{\partial \mathbf{J}} = -x_i e^{-\mathbf{J}x_i}$$

Considere um modelo de regressão não-linear na forma $y = f(\mathbf{J}^0) + \mathbf{e}$, onde y tem componentes y_i , $f(\mathbf{J}^0)$ tem componentes $f(x_i, \mathbf{J}^0)$ e \mathbf{e} tem componentes \mathbf{e}_i . A função de mínimos quadrados para um modelo não-linear é $SQR(\mathbf{J}) = \sum_{i=1}^n [y_i - f(x_i, \mathbf{J})]^2$ (II) ou em notação de vetor $SQR = \|y - f(\mathbf{J})\|^2 = [y - f(\mathbf{J})]' [y - f(\mathbf{J})]$, onde $\|y - f(\mathbf{J})\|$ é a norma euclidiana do vetor $y - f(\mathbf{J})$.

O estimador (\mathbf{J}) de mínimos quadrados de \mathbf{J}^0 é obtido mediante a pesquisa do mínimo (em Θ , $\mathbf{J}^0 \in \Theta$) da soma de quadrados residuais (SQR) dada por (II). Como estimador de \mathbf{s}^2 , toma-se $\mathbf{s}^2 = \frac{SQR(\mathbf{J})}{n - p}$, onde n refere-se ao número de observações e p

refere-se ao número total de parâmetros. Em regressão não-linear, não se pode fazer afirmações gerais sobre propriedades dos estimadores, exceto para grandes amostras (resultados assintóticos). Por exemplo, propriedades de não tendenciosidade e variância mínima são obtidas no limite quando o tamanho amostral for suficientemente grande. Apenas procedimentos aproximados para os testes estatísticos e intervalos de confiança são aplicados (SOUZA, 1998).

As equações nos estimadores de parâmetros são não-lineares e em geral não apresentam fórmulas explícitas, sendo as estimativas obtidas por meio de processos iterativos (REGAZZI, 2003).

Existem diversos procedimentos numéricos para solucionar problemas de mínimos quadrados não-lineares. Um método iterativo muito usado em algoritmos computacionais aplicando regressão não-linear é o método de Gauss-Newton. O argumento básico deste método é apresentado a seguir.

Suponha que temos conhecimento de uma aproximação inicial \mathbf{J}_0 para \mathbf{J} . As expressões obtidas usando série de Taylor

$$f(x_i, \mathbf{J}) = f(x_i, \mathbf{J}_0) + \frac{\partial f(x_i, \mathbf{J}_0)}{\partial \mathbf{J}'} (\mathbf{J} - \mathbf{J}_0) \quad (\text{III})$$

das componentes de $f(\mathbf{J})$ na vizinhança de \mathbf{J}_0 produzem a aproximação linear

$$f(\mathbf{J}) \cong f(\mathbf{J}_0) + F(\mathbf{J}_0)(\mathbf{J} - \mathbf{J}_0)$$

onde $F(\mathbf{J}_0) = \frac{\partial f(\mathbf{J})}{\partial \mathbf{J}'} \mathbf{M}_{\mathbf{J}_0}$

Assim, obtém-se uma analogia tomando-se o modelo linear aproximado

$$y - f(\mathbf{J}_0) + F(\mathbf{J}_0)\mathbf{J}_0 = F(\mathbf{J}_0)\mathbf{J} + u$$

Logo, o problema de minimizar

$$SQR(\mathbf{J}) = [y - f(\mathbf{J})]' [y - f(\mathbf{J})] = \|y - f(\mathbf{J})\|^2$$

passa a ser o de minimizar a função $SQR(\mathbf{J})$ associada ao modelo anterior, dada por

$$SQR(\mathbf{J}) = \|y - f(\mathbf{J}_0) - F(\mathbf{J}_0)(\mathbf{J} - \mathbf{J}_0)\|^2$$

fazendo-se $y - f(\mathbf{J}_0) = \mathbf{E}_0$ e $\mathbf{J} - \mathbf{J}_0 = \Delta\mathbf{J}_0$, temos que

$$SQR(\mathbf{J}) = \|\mathbf{E}_0 - F(\mathbf{J}_0)\Delta\mathbf{J}_0\|^2$$

$$\begin{aligned}
SQR(\mathbf{J}) &= [\mathbf{E}_0 - F(\mathbf{J}_0)\Delta\mathbf{J}_0]' [\mathbf{E}_0 - F(\mathbf{J}_0)\Delta\mathbf{J}_0] \\
SQR(\mathbf{J}) &= \mathbf{E}_0' \mathbf{E}_0 - \mathbf{E}_0' F(\mathbf{J}_0)\Delta\mathbf{J}_0 - \Delta\mathbf{J}_0' F'(\mathbf{J}_0)\mathbf{E}_0 + \Delta\mathbf{J}_0' F'(\mathbf{J}_0)F(\mathbf{J}_0)\Delta\mathbf{J}_0 = \\
&= \mathbf{E}_0' \mathbf{E}_0 - 2\Delta\mathbf{J}_0' F'(\mathbf{J}_0)\mathbf{E}_0 + \Delta\mathbf{J}_0' F'(\mathbf{J}_0)F(\mathbf{J}_0)\Delta\mathbf{J}_0
\end{aligned}$$

A derivada de $SQR(\mathbf{J})$ em relação a $\Delta\mathbf{J}_0$ é dada por

$$\frac{\partial SQR(\mathbf{J})}{\partial \Delta\mathbf{J}_0} = \mathbf{f}' - 2F'(\mathbf{J}_0)\mathbf{E}_0 + 2F'(\mathbf{J}_0)F(\mathbf{J}_0)\Delta\mathbf{J}_0 = 2[F'(\mathbf{J}_0)F(\mathbf{J}_0)\Delta\mathbf{J}_0 - F'(\mathbf{J}_0)\mathbf{E}_0]$$

Fazendo-se $\frac{\partial SQR(\mathbf{J})}{\partial \Delta\mathbf{J}_0} = \mathbf{f}'$, obtém-se o sistema de equações normais

$$F'(\mathbf{J}_0)F(\mathbf{J}_0)\Delta\mathbf{J}_0 = F'(\mathbf{J}_0)\mathbf{E}_0.$$

Se $F(\mathbf{J}_0)$ apresentar posto coluna completo, o valor de $\Delta\mathbf{J}_0$ que minimiza $SQR(\mathbf{J})$ é:

$$\Delta\mathbf{J}_0 = [F'(\mathbf{J}_0)F(\mathbf{J}_0)]^{-1} F'(\mathbf{J}_0)\mathbf{E}_0$$

Como $\mathbf{J} - \mathbf{J}_0 = \Delta\mathbf{J}_0$, então define-se um vetor $\mathbf{J}_1 = \mathbf{J}_0 + \Delta\mathbf{J}_0$ como estimativas atualizadas de \mathbf{J} . Substituindo as estimativas \mathbf{J}_1 em (III) obtém-se outro conjunto de estimativas atualizadas, por exemplo \mathbf{J}_2 , e assim por diante. Tendo para a k ésima iteração o seguinte vetor: $\mathbf{J}_{k+1} = \mathbf{J}_k + \Delta\mathbf{J}_k = \mathbf{J}_k + [F'(\mathbf{J}_k)F(\mathbf{J}_k)]^{-1} F'(\mathbf{J}_k)\mathbf{E}_k$ (IV)

Onde $F(\mathbf{J}_k) = \frac{\partial f(\mathbf{J})}{\partial \mathbf{J}} \Big|_{\mathbf{J}=\mathbf{J}_k}$; $\mathbf{E}_k = \mathbf{y} - f(\mathbf{J}_k)$ e $\mathbf{J}_k = [\mathbf{J}_{1k}, \mathbf{J}_{2k}, \dots, \mathbf{J}_{pk}]$.

Este processo iterativo continua até a convergência, isto é, $\left| \frac{(\mathbf{J}_{j,k+1} - \mathbf{J}_{j,k})}{\mathbf{J}_{j,k}} \right| < \mathbf{d}$, $j = 1, 2, \dots, p$

Onde \mathbf{d} é um número muito pequeno, por exemplo 0,00001.

A cada iteração a soma de quadrados residuais pode ser avaliada para garantir a obtenção de um valor menor. Quando o procedimento converge para um vetor final (\mathbf{J}) pode-se computar o quadrado médio residual (QMR) como estimativa de \mathbf{s}^2 :

$$\mathbf{s}^2 = QMR = \frac{\sum_{i=1}^n [y_i - f(x_i, \mathbf{J})]^2}{n - p} \quad (\text{V})$$

A estimativa da matriz de covariância assintótica de \mathbf{J} é dada por

$$\text{Cov}(\mathbf{J}) = [F'(\mathbf{J})F(\mathbf{J})]^{-1} \mathbf{s}^2 \quad (\text{VI})$$

Onde $F(\mathbf{J})$ é a matriz Jacobiana de $f(\mathbf{J})$, ou seja a matriz de derivadas parciais, avaliada na última iteração com as estimativas de mínimos quadrados \mathbf{J} .

Segundo REGAZZI (2003), o procedimento básico deste método sofreu algumas modificações para melhorar seu funcionamento como a sugerida por MARQUARDT (1963), que propõe computar um vetor de incrementos na k-ésima iteração de

$$[F'(\mathbf{J}_k)F\mathbf{J}_k) + \mathbf{I}I_p]\Delta\mathbf{J}_k = F'(\mathbf{J}_k)E_k \quad (\text{VII})$$

onde $I > 0$. Note que há uma similaridade com o estimador de regressão de cumeieira (“*ridge regression estimator*”). Uma vez que as variáveis regressoras são derivadas de uma mesma função, a função linearizada pode envolver multicolinearidade; portanto o procedimento como em (VII) é intuitivamente razoável. MARQUARDT (1963) usou um procedimento de busca para encontrar um valor de I que reduziria a soma de quadrados residuais a cada estágio. Cada programa computacional tem sua maneira de selecionar I . Tal procedimento envolve uma redução em I por um fator de 10 a cada iteração desde que $\text{SQR}(\mathbf{J}_{k+1}) < \text{SQR}(\mathbf{J}_k)$ seja satisfeita. A estratégia é obter I o menor possível de modo que a soma de quadrados residuais seja reduzida a cada iteração. Este procedimento geral é freqüentemente chamado de compromisso de Marquardt (“Marquardt compromise”), porque o vetor de incrementos produzido pelo seu método está entre o vetor de Gauss-Newton e a direção do método do gradiente (“steepest descent”). Existem entre outros o método de Gauss-Newton modificado que é um procedimento disponível no PROC NLIN do SAS, e encontra-se descrito em SOUZA (1998).

Outro método baseado no método de Newton é o método de Newton-Raphson que usa um processo iterativo para aproximar uma raiz de uma determinada função. A raiz específica que o processo determina depende do valor inicial, um valor escolhido arbitrariamente. Este método tem a seguinte equação geral,

$$x_{n+1} = x_n - \frac{f(x_n)}{f'(x_n)}$$

onde, x_n é o atual valor conhecido de x , $f(x_n)$ representa o valor da função de x_n , $f'(x_n)$ é a derivada de x_n e x_{n+1} representa o próximo valor de x a ser encontrado. Portanto, o

termo $\frac{f(x_n)}{f'(x_n)}$ representa o valor de dx_n (Δx_n),

$$\frac{f(x_n)}{f'(x_n)} = \frac{f(x_n)}{\frac{f(x_n)}{dx_n}} = dx_n = x_n - x_{n+1}$$

Considerando uma função simples como por exemplo $f(x) = x^2 - 4$, aplicando o método de Newton-Raphson primeiramente devem ser listados os valores necessários para iniciar o processo: $f(x) = x^2 - 4$, $f'(x) = 2x$ e $x_0 = 6$.

Teoricamente, deve-se fornecer um número expressivamente grande de iterações para que o processo encontre um valor ideal para a raiz da função. De qualquer modo, este é um método numérico que é usado para diminuir o trabalho de encontrar uma raiz. Portanto, o processo fornecerá um valor para a raiz quando for satisfeita a condição de precisão, que é um valor de delta (por exemplo, delta menor que 0,1), tal condição deve ser especificada a cada situação.

No quadro 2 abaixo, é apresentada a execução deste processo.

Quadro 2. Resultados obtidos pelo método de Newton-Raphson após 3 iterações.

N	x_n	$f(x_n)$	$F'(x_n)$	X_{n+1}	Dx
0	6	32	12	3,33	
1	3,33	7,09	6,66	2,27	1,06
2	2,27	1,15	4,54	2,01	0,26
3	2,01	0,04	4,02	2,00	0,01

Uma representação gráfica também pode ajudar muito. Na figura 3, observa-se um gráfico da mesma função e do mesmo processo citados anteriormente, onde se tem na primeira iteração, a linha vermelha que tangencia a curva de $x_0 = 6$. A inclinação desta tangente é a derivada do ponto a que tangencia (tal inclinação tem valor igual a 12). Dividindo-se o valor de $f(6) = 32$ pelo valor da inclinação, encontra-se o valor de $dx = 2,67$. Subtraindo-se do valor inicial de x tem-se o novo valor de x que é igual a 3,33. Este processo segue até que o valor obtido para dx seja menor que 0,1. A convergência ocorrerá quando o valor de $dx = 0,01$ e o valor de $x_{n+1} = 2,00$, o que ocorreu após 3 iterações.

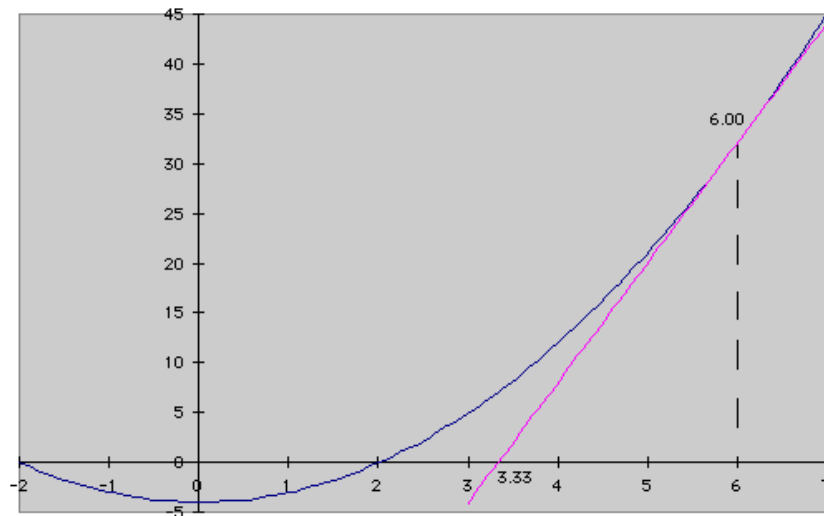


Figura 3. Gráfico do método de Newton-Raphson para a função $f(x) = x^2 - 4$ na primeira iteração.

Segundo REGAZZI (2003) o ajustamento de um modelo de regressão não-linear requer valores iniciais J_0 que estão próximos dos valores verdadeiros dos parâmetros, o que minimiza as dificuldades de convergência do modelo. As modificações no método de Gauss-Newton como o compromisso de Marquardt faz com que o procedimento seja menos sensível à escolha dos valores iniciais, mesmo assim é essencial selecionar J_0 cuidadosamente. Uma má escolha poderá causar uma convergência para um mínimo local da função, induzindo-se a uma falsa solução ótima. Na determinação de valores iniciais são necessárias algumas considerações como:

- i) Em algumas situações, usar estimativas de informações de experiências anteriores ou de análises semelhantes;
- ii) Em modelos de regressão não-linear, freqüentemente os parâmetros têm algum significado físico, podendo ser útil na obtenção destes valores. É útil também para construir a função resposta a partir de valores diferentes dos parâmetros, tornando-se familiar o comportamento do modelo e como tal comportamento é afetado pelas mudanças nos valores iniciais destes parâmetros.
- iii) Em muitas aplicações, a determinação dos valores iniciais é simplificada ao considerar o comportamento da função resposta quando alguns componentes de x

convergem para zero ou para o infinito. Assim é possível muitas vezes, determinar visualmente alguns dos parâmetros do modelo.

- iv) Verificar se o modelo de regressão não-linear utilizado pode ser transformado em regressão linear competitiva tornando-se possível obter os valores iniciais dos parâmetros, facilmente.
- v) Em modelos exponenciais é mais importante determinar corretamente o sinal destes parâmetros que sua magnitude.
- vi) É sempre possível o estudo da superfície SQR (J) num “grid” de valores de J . Estes estudos realizados com o uso intensivo do computador, podem indicar aspectos interessantes de SQR (J) como, por exemplo, a existência de mínimos locais. Como valor inicial pode-se utilizar o valor mínimo de SQR (J) no “grid”. Tal pesquisa pode ser feita no programa PROC NLIN do SAS.

REGAZZI (2003) ressalta a importância de analisar o uso do coeficiente de determinação (R^2) que representa a proporção da variação explicada pelo modelo. Em modelos de regressão linear com intercepto (β_0), o quadrado do coeficiente de correlação entre os valores observados e preditos é exatamente o valor de R^2 . Em modelos de regressão linear sem intercepto (o termo constante não está presente), o R^2 é redefinido conforme SEARLE (1971), deve-se tomar cuidado ao interpreta-lo, uma vez que seu valor não é mais igual ao quadrado do coeficiente de correlação entre valores observados e preditos. Pode ocorrer que o valor de R^2 , na versão sem intercepto, domine em muito o valor correspondente ao caso com intercepto, em modelos equivalentes.

SOUZA (1998) afirma que em modelos de regressão não-linear, a adequação do ajustamento pode ser medida pelo quadrado do coeficiente de correlação entre os valores observados e preditos. Pode-se calcular tal medida utilizando-se a seguinte fórmula:

$$R^2 = (r_{yy^{\wedge}})^2 = 1 - \frac{SQR(J)}{SQTotal_c}$$

onde $SQTotal_c$ é a soma de quadrados total corrigida pela média.

Segundo REGAZZI (2003), observa-se que na prática, existem maneiras diferentes de calcular o valor de R^2 . Alguns utilizam a fórmula citada acima, na qual divide-se pela $SQTotal_c$ e outros utilizam na divisão a $SQTotal_{nc}$ (soma de quadrados total não corrigida pela média). Então é importante especificar como foi calculado o R^2 e utilizá-lo como uma

estatística descritiva, tendo o devido cuidado na sua interpretação. Comparar os valores observados e preditos para observar se há muita discrepância, analisar a magnitude da variância residual para concluir se é suficientemente pequena e utilizar análise de resíduos, dentre outras técnicas de diagnóstico.

2.4. Linguagem Delphi

Ao longo das últimas décadas, com o desenvolvimento em praticamente todas as áreas do conhecimento humano, o papel dos profissionais que utilizam a informática como ferramenta auxiliar tem sofrido grandes transformações, de forma a ampliar sua gama de atuação profissional.

Ao longo desse processo evolutivo a informática tem se mostrado uma ferramenta diferencial possibilitando maior velocidade e precisão nos cálculos que possibilitam a simulação de fenômenos e processos.

As linguagens de programação constituem também uma ferramenta para o químico , e possibilitam a criação de programas para o auxílio em suas atividades profissionais.

As primeiras linguagens de programação apresentavam uma interface com o usuário bastante desconfortável, uma vez que se aproximavam da linguagem de máquina (linguagem de baixo nível) com inúmeras informações incompreensíveis para programadores iniciantes.

Tal característica permaneceu constante ao longo de muitos anos (linguagem Assembly, Fortran, entre outras), contudo gradativamente a necessidade de linguagens mais inteligíveis e que possibilitassem uma gama maior de aplicações tornou-se algo inegável e com isso surgiram as primeiras linguagens de alto nível, como exemplo o Basic, Pascal e C, que supriam em muito a demanda da época (década de 80), apresentando uma interface mais agradável, estruturação da linguagem com procedimentos e funções.

Apesar dessas linguagens apresentarem grandes vantagens em relação as anteriores ainda eram deficitárias quanto à facilidade de uso pelo usuário leigo acostumado aos recursos do ambiente Windows.

Nesse intuito com o desenvolvimento do conceito de programação orientada a objetos e eventos, as linguagens chamadas de linguagens visuais tais como Visual Basic, Borland Delphi, Visual Java++, dentre outras, passaram a receber uma atenção especial por

suas características diferenciais não somente gráficas, mas também funcionais. Tanto no desenvolvimento do programa, quanto na sua execução.

Nos últimos anos as linguagens de programação visuais têm se firmado como instrumento de grande importância para todos os profissionais que utilizam a informática como ferramenta auxiliar em suas atividades.

O Delphi é um programa de desenvolvimento que por utilizar o princípio de orientação a objetos diferencia-se de uma linguagem de programação procedimental. Na programação procedimental, a execução do aplicativo inicia na primeira linha do código e segue um fluxo determinado pelo próprio programa e devido a essa característica o usuário se vê amarrado à aplicação. Na programação orientada a eventos, ao contrário, as ações do usuário (denominadas eventos) é que determinam o fluxo de execução do programa, ou seja, qual procedimento/rotina será chamado. Isso significa que num programa desenvolvido com base nessa técnica, as chamadas rotinas/procedimentos dependem do que o usuário fará ou não.

Uma grande facilidade do Delphi é o fato de definirmos um evento como sendo uma ação reconhecida por um objeto presente num formulário. Tais objetos do Delphi (botões de comando, caixas de combinação, os próprios formulários, etc.) reconhecem e respondem a um conjunto predefinido de eventos. A resposta a um evento é a execução de um evento especial. Por exemplo, num programa podemos ter um botão (objeto) que quando pressionado (evento) ocasiona o aparecimento de uma mensagem de aviso (evento especial). Tal evento especial chamado também de gerenciador de evento é escrito em Object Pascal, a linguagem utilizada pelo Delphi bastante similar à empregada na linguagem Pascal tradicional.

Além dessa visível facilidade, o Delphi diferencia-se de outros programas de desenvolvimento por não utilizar um interpretador e sim um compilador através do qual é gerado um arquivo executável que não pode ser "lido" facilmente pelo usuário garantindo a segurança do programa gerado. A capacidade de compilação ainda torna a execução do programa muito mais rápida gerando um arquivo executável de menor tamanho, e utilizando conseqüentemente menor memória durante o desenvolvimento do programa.

Quando lançado em 1995 para a plataforma Windows, foi o primeiro a ser descrito como ambiente para Desenvolvimento Rápido de Aplicações (DRA). Em 2001 uma versão

para a plataforma Linux, conhecida como Kylix foi disponibilizada. Em 2002, dentre outras implementações, foi lançada uma nova versão compatível com o ambiente Linux.

2.6. Quimiometria

A quimiometria consiste essencialmente na aplicação de modelos matemáticos e técnicas estatísticas a problemas químicos, a fim de definir ou selecionar as condições de trabalho para obtenção do máximo de informações a partir da análise dos dados químicos (BRUNS & FAIGLE, 1985). Mais recentemente, o uso da palavra quimiometria está associado a métodos de cálculo da álgebra linear para a avaliação de medidas qualitativas e quantitativas de dados químicos (BRUNS et al., 2002).

A quimiometria possui três áreas de atuação:

- Reconhecimento de padrões, como o método PCA;
- Otimização, por exemplo, análise de superfície de resposta e planejamento experimental para misturas e;
- Calibração, aplicação de métodos como o PLS e Redes Neurais.

Em análise exploratória de dados multivariados que busca extrair o máximo de informação, o método quimiométrico mais utilizado é a análise das componentes principais. Na qual, as variáveis originais são representadas por novas variáveis não-correlacionadas, denominadas componentes principais (CP), que são combinações lineares das variáveis originais e explica a maior parte da variância, permitindo simplificação na visualização dos dados (GUIMARÃES, 2000).

Quando se objetiva a comparação e agrupamento dos indivíduos, deve-se calcular os valores de cada componente principal que se utilizará na análise para cada indivíduo. O que equivale a substituir a matriz de dados originais, cuja dimensão é $n \times p$, por uma matriz $n \times k$, em que k é o número de componentes principais escolhido (EGREJA-FILHO et al., 1999).

POPPI, apud GUIMARÃES (2000), é importante estabelecer o número de componentes principais a serem utilizadas, pois o emprego de um número menor que o necessário fornecerá resultados não satisfatórios, uma vez que não se estará utilizando toda a informação presente nos dados originais. Enquanto que a utilização de componentes principais maior que o necessário causa a modelação de ruídos, aumentando

desnecessariamente o número de variáveis e a complexidade do problema, fugindo-se do objetivo da análise das componentes principais que é simplificar o número de variáveis analisáveis.

2.6.1. Análise das Componentes Principais

A Análise das Componentes Principais (“PCA”, do inglês "Principal Component Analysis") (GELADI, 1986) é uma ferramenta quimiométrica que pode ser utilizada na visualização de propriedades de amostras. Comumente é empregada, para identificação de grupos distintos, na seleção de amostras e na construção de modelos para calibração multivariada. O objetivo da “PCA” é reduzir o número de variáveis envolvidas na modelagem, através de combinação linear estabelecida entre os dados (REIS et al., 1992; EGREJA-FILHO et al., 1999).

Segundo Bergner e Albano (1993), a análise das componentes principais é uma ferramenta útil e eficiente para mostrar variações em dados multivariados, permitindo muitas vezes a detecção de conjuntos de amostras ou conjunto de variáveis similares ambos de origem desconhecida. LIBERATO et al. (1995) afirmam que é um dos métodos mais freqüentemente utilizados na extração e interpretação de informação de dados multivariados. Foi originalmente descrita por Karl Pearson em 1901, e posteriormente consolidada por Hotelling em 1931 e 1936, com o propósito particular de analisar estruturas de correlações. Por volta de 30 anos depois, esta análise foi introduzida na química por Malinowski, com o nome de “Análise de fatores”, e a partir da década seguinte várias aplicações foram desenvolvidas.

Esta análise tem importantes aplicações em química tais como análise de misturas, reconhecimento de padrões e calibração multivariada. A primeira destas aplicações busca determinar o número de componentes presentes em uma amostra desconhecida. A aplicação desta técnica no reconhecimento de padrões faz uso dos autovetores ou pesos (“loadings”) e dos autovalores ou escores (“scores”) indexando diferenças entre classes. (REIS, 1997).

A “PCA” é um método em que os dados químicos multivariados podem ser arranjados na forma de uma matriz, onde objetos são dispostos em linhas e variáveis em colunas. Os objetos freqüentemente são compostos químicos, e as variáveis valores de concentrações, pH, picos cromatográficos entre outros. O conjunto de dados consiste de

muitas variáveis que podem ser absorvâncias a diferentes comprimentos de onda na região do UV/Visível ou infravermelho, ou quantidades de diferentes constituintes em amostras sob análise. Assim, os dados consistem em n medidas de diferentes propriedades (variáveis) executadas sobre m amostras (objetos), de modo que a matriz de dados D é formada por $m \times n$ elementos (m linhas correspondentes as amostras e n colunas correspondentes as variáveis):

$$D = \begin{bmatrix} d_{11} & d_{12} & \vdots & d_{1j} & \vdots & d_{1n} \\ d_{21} & d_{22} & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ d_{i1} & \vdots & \vdots & d_{ij} & \vdots & d_{in} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ d_{m1} & \vdots & \vdots & d_{mj} & \vdots & d_{mn} \end{bmatrix}$$

variáveis \longrightarrow
objetos
↓

A j -ésima variável é representada por um vetor coluna. O i -ésimo objeto, ou seja, uma amostra qualquer, é representado por um vetor linha chamado vetor resposta e pode ser descrito como um ponto no espaço n -dimensional.

A matriz pode ser representada graficamente tanto no espaço das linhas como no espaço das colunas. O espaço das linhas é formado com linhas da matriz como eixos. Para n colunas, o espaço das linhas consiste em colocar em gráfico n pontos (cada ponto correspondendo a uma coluna). A matriz no espaço das colunas é aquela no qual as colunas formam os eixos, e as linhas, os pontos tridimensionais.

A “PCA” é usualmente conduzida por um método conhecido como decomposição de valores singulares. Para uma matriz D , $m \times n$, a aplicação desta metodologia fornece,

$$D = U * S * V^T = R * C$$

onde U é a matriz $n \times m$, e S e V são matrizes $n \times n$ (S é a matriz diagonal). A matriz $R = U * S$ é chamada matriz $n \times m$ dos escores e a matriz $C = V^T$ é a matriz $n \times n$ dos pesos. 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 escores, e a orientação dos novos eixos no espaço dos eixos originais é dada pela matriz dos pesos.

A derivação das componentes principais é feita da seguinte maneira: considerando um conjunto de dados onde $\mathbf{x}_1, \mathbf{x}_2, \dots, \mathbf{x}_p$ são as p variáveis, a primeira Componente Principal é dada pela combinação linear de todas elas, com um peso \mathbf{a}_p a cada uma respectivamente, como abaixo:

$$\mathbf{CP}_1 = \mathbf{a}_1\mathbf{x}_1 + \mathbf{a}_2\mathbf{x}_2 + \dots + \mathbf{a}_p\mathbf{x}_p$$

A segunda Componente Principal é a combinação linear, ortogonal à primeira Componente Principal, sujeita à mesma restrição, dos escores não correlacionados com os escores 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 “PCA” consiste na aproximação de uma tabela de dados, uma matriz \mathbf{X} , em termos da soma de várias matrizes \mathbf{M}_i , que não podem mais ser expandidas. As matrizes \mathbf{M}_i constituem as chamadas Componentes Principais e são formadas pelo produto de dois vetores, \mathbf{t} (escores) e \mathbf{p} (pesos):

$$\begin{aligned}\mathbf{X} &= \mathbf{M}_1 + \mathbf{M}_2 + \dots + \mathbf{M}_a \\ \mathbf{X} &= \mathbf{t}_1\mathbf{p}_1^t + \mathbf{t}_2\mathbf{p}_2^t + \dots + \mathbf{t}_a\mathbf{p}_a^t \\ \mathbf{X} &= \mathbf{T} \mathbf{P}^t\end{aligned}$$

A dimensionalidade do espaço original é igual ao número de colunas em \mathbf{X} , ou seja, o número de variáveis originais. No novo modelo, a dimensionalidade é descrita pelo número de matrizes \mathbf{M}_i necessárias para descrever \mathbf{X} , o que corresponde ao número de colunas em \mathbf{T} , ou linhas em \mathbf{P} . Assim, se for possível descrever uma matriz \mathbf{X} , que tenha muitas variáveis, por um número pequeno dessas matrizes \mathbf{M}_i , haverá decréscimo na dimensionalidade, sem perda de informação.

Um operador deve ser encontrado que projete as colunas de \mathbf{X} em uma única dimensão (um vetor), fazendo com que cada uma das colunas passe a ser representada por um escalar. Também se faz necessário um operador que projete as linhas de \mathbf{X} em uma única dimensão e torne cada linha um escalar. Isso produz os pesos, no primeiro caso, e os escores, no segundo, como mostrado na figura 4.

Os vetores \mathbf{t} e \mathbf{p} são ortogonais entre si, ou seja,

$$\mathbf{p}_i^t \mathbf{p}_j = 0 \text{ e } \mathbf{t}_i^t \mathbf{t}_j = 0 \text{ para } i \neq j$$

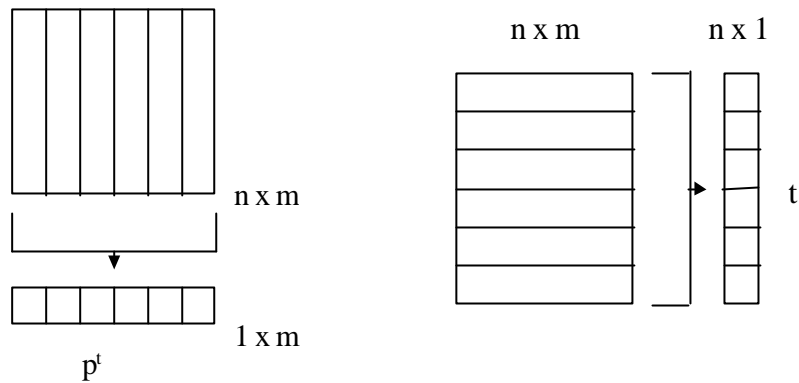


Figura 4. Escores (t) e pesos (p) obtidos pela projeção dos valores da matriz X em vetores. Pesos: cada coluna de X é projetada em um elemento de vetor \hat{p} . Escores: cada linha de X é projetada em um elemento de um vetor t (GUIMARÃES, 2000).

A “PCA” também pode ser usada para julgar a importância das próprias variáveis originais escolhidas, ou seja, as variáveis originais com maior peso na combinação linear das primeiras componentes principais são as mais importantes do ponto de vista estatístico. Uma melhor exemplificação pode ser vista na figura 5. Onde os vetores escores e pesos estão representados no plano de duas variáveis x_1 e x_2 . A figura 5 a) mostra uma componente principal que é a reta que aponta para a direção de maior variabilidade das amostras da figura 5 b), aqui numeradas de 1 a 6.

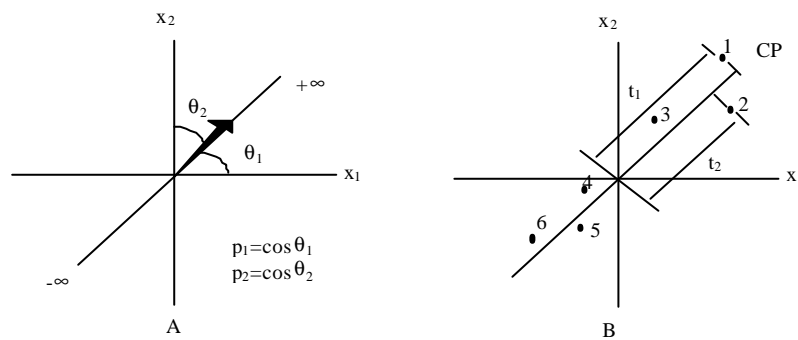


Figura 5. Representação de uma componente principal para as variáveis x_1 e x_2 : a) representação dos pesos (p_1 e p_2) e b) representação dos escores (t_1 e t_2) (FIDÊNCIO, 1998).

Na figura 5 a), estão representados os pesos (p_1 e p_2) que são os cossenos dos ângulos do vetor de direção, na figura 5 b) estão representados os escores (t_1 e t_2) que são as projeções das amostras na direção da componente principal.

A “PCA” consiste essencialmente em reescrever as coordenadas das amostras em outro sistema de eixo mais conveniente para a análise de dados. Ou seja, as n -variáveis originais geram, através de suas combinações lineares, n -componentes principais, cuja principal característica, além da ortogonalidade e independência entre si, é que são obtidas em ordem decrescente de máxima variância, ou seja, a primeira componente principal detém mais informação estatística que a segunda componente principal, que por sua vez tem mais informação estatística que a terceira componente principal e assim por diante.

Este método permite a redução da dimensionalidade dos pontos representativos das amostras pois, embora a informação estatística presente nas n -variáveis originais seja a mesma dos n -componentes principais, é comum obter em apenas 2 ou 3 das primeiras componentes principais mais que 90% desta informação. O gráfico da primeira componente principal *versus* a segunda componente principal fornece uma disposição dos dados (estatisticamente) para observação dos pontos no espaço n -dimensional.

Considerando a observação de duas variáveis num certo número de objetos, e a sua representação no plano onde a correlação entre x e y não seja completa, como na figura 6, podemos considerar uma mudança de eixos, e determinar as novas coordenadas dos pontos no novo eixo. Neste caso podemos constatar que a informação adicional, relativa ao eixo CP2 é diminuta relativamente a CP1. Ou seja, considerando apenas uma variável CP1, reduzimos a dimensão do espaço sem grande perda de informação.

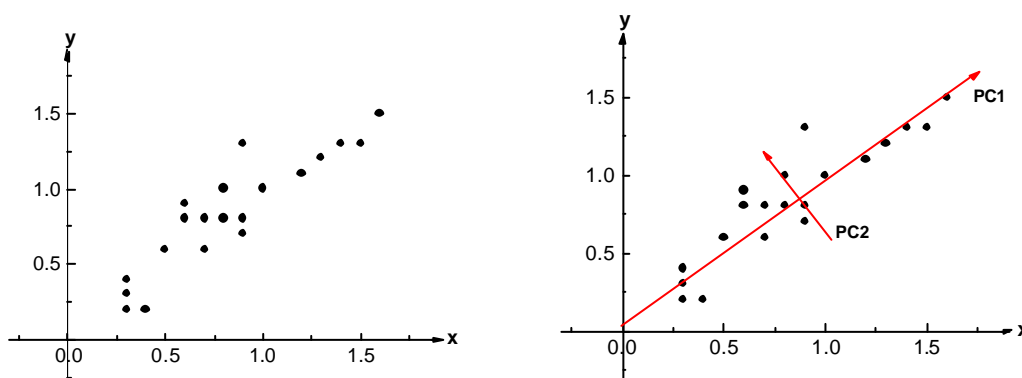


Figura 6. Transformação das variáveis originais em novos eixos ortogonais (GUIMARÃES, 2000).

A partir da posição espacial dos dados, podem ser calculadas as distâncias entre os mesmos e a partir destas, avaliadas as medidas de similaridade e dissimilaridade entre os pontos. Cada ponto pode assim, ser agrupado aos pontos de maior proximidade espacial, ou pode ser excluído de um determinado grupo, dado seu distanciamento. É possível ainda, em função da observação da direção de máximo espalhamento dos pontos, determinar quais são as variáveis, ou qual a composição de variáveis, que melhor explica a variância dos dados.

2.6.2. Ambiente MATLAB[®]

O MATLAB[®] é um ambiente de computação técnica de alto nível e grande importância, usado tanto na indústria quanto na pesquisa quando se trabalha com dados matemáticos diversos. Hoje, os computadores tornaram-se indispensáveis no trabalho científico e as instituições acadêmicas têm o conhecimento dessa importância e têm proporcionado um aprendizado computacional. Por se tratar de um programa de qualidade e baixo custo é possível integrá-lo no currículo das instituições, pois o MATLAB[®] engloba algoritmos de fácil aplicação utilizados para resolver problemas que envolvem álgebra linear, cálculo numérico e outros, sendo útil na simulação e análise gráfica dos resultados (MATWORKS, 1993).

O curso de Química busca solucionar problemas e para isso, utiliza-se o MATLAB[®], empregando-o em todas as áreas, dispensando a aplicação de uma técnica diferente para cada área. Trata-se de um programa interativo de alta eficiência que integra análise numérica, cálculo com matrizes, processamento de sinais e construção de gráficos em ambiente de uso fácil, executado dentro do ambiente Windows. Onde problemas e soluções são expressos somente como eles são escritos matematicamente, ao contrário da programação tradicional.

Sistema interativo cujo elemento básico de informação é uma matriz que não requer dimensionamento, que permite a resolução de muitos problemas numéricos em uma fração do tempo gasto para escrever um programa semelhante numa linguagem tradicional.

Ambiente de computação técnica que apresenta um conjunto de aplicações específicas denominado “caixa de ferramenta” (toolbox). Estas caixas de ferramentas são bibliotecas de funções do MATLAB[®] usadas para solucionar classes particulares de

problemas. Um dos aplicativos destas caixas é o PLS-Toolbox, que é muito usado por profissionais da Química. As funções do PLS-Toolbox podem ser usadas na obtenção de modelos de calibração para vários sistemas multivariados. Tais aplicativos foram originalmente desenvolvidos para uso no monitoramento e identificação de processos químicos.

3. MATERIAIS E METODOS

3.1. Descrição das amostras

As amostras utilizadas neste trabalho foram disponibilizadas pelo Pesquisador Vinicius de Melo Benites (de sua tese de doutorado), sendo descritas como amostras que foram coletadas em horizontes superficiais e em horizontes subsuperficiais, de forma a representar os principais solos de áreas de vegetação rupestre de altitude na Serra do Espinhaço e na Serra da Mantiqueira (Quadro 4). Todas as amostras foram obtidas em unidades de conservação entre parques nacionais (P.N.) e estaduais (P.E.), áreas de proteção ambiental (A.P.A.) e reservas particulares (R. P.) (Figura 7). Os solos dos quais foram obtidas as amostras foram classificados até o terceiro nível categórico, conforme o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (BENITES, 2001).

Quadro 4. Unidades de conservação, município sede, serra e bioma dominante da região nas quais foram obtidas as amostras de solo.

Código da Amostra	Nº no mapa	Unidade de conservação	Município	serra	Bioma dominante
CA	6	P.N.Caparaó	Alto Caparaó MG	Mantiqueira	Mata Atlântica
CD	1	P.N. Chapada Diamantina	Palmeiras BA	Espinhaço	Caatinga
CP	3	P.N. da Serra Do Cipó	Conceição do Mato Dentro MG	Espinhaço	Cerrado
DI	2	APA de Diamantina	Diamantina MG	Espinhaço	Cerrado
IB	9	P. E. do Ibitipoca	Lima Duarte MG	Mantiqueira	Cerrado/Mata Atlântica
IC	5	P. E. do Itacolomi	Ouro Preto MG	Espinhaço	Cerrado
IT	10	P. N. do Itatiaia	Itamonte MG	Mantiqueira	Mata Atlântica
LT	4	APA Sul	Belo Horizonte MG	Espinhaço	Cerrado
SB	7	P. E. da Serra do Brigadeiro	Fervedouro MG	Mantiqueira	Mata Atlântica
SV	8	RPPN da Mitra do Bispo	Bocaina de Minas MG	Mantiqueira	Mata Atlântica



Figura 7. Unidades de conservação ao longo do Espinhaço e da Mantiqueira com áreas de Complexos Rupestres de Altitude (índice no Quadro 4)

3.2. Preparo de soluções

- Solução de Ácido Clorídrico aproximadamente $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$
Solubilizou-se 5,844g de NaCl (MERCK) em aproximadamente 300 mL de água deionizada, em seguida adicionou-se 6,22 mL de HCl (VETEC) 36,5 % m/m e completou-se o volume para 1000 mL em balão volumétrico.
- Solução de Hidróxido de Sódio aproximadamente $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$
Solubilizou-se 4,0 g de NaOH (MERCK) em aproximadamente 200 mL de água deionizada, acrescentou-se 5,844 g de NaCl (MERCK) solubilizada em 200 mL de água deionizada e completou-se o volume para 1000 mL em balão volumétrico.
- Padronização da solução de NaOH com biftalato de potássio
Pesaram-se 0,250 g de $\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{K}$ (previamente seca em estufa a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ por uma hora) em balança analítica. A qual foi dissolvida em 25 mL de solução de $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Iniciou-se a titulação potenciométrica, adicionando a solução de NaOH de 0,2 em 0,2 mL até 25 mL. Registrando 126 valores de pH.
- Padronização da solução de HCl com carbonato de sódio
Pesaram-se 0,106 g de Na_2CO_3 (previamente seca em estufa a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ por uma hora) em balança analítica. Tal massa foi dissolvida em 25 mL de solução de $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Iniciou-se a titulação potenciométrica adicionando a solução de HCl de 0,3 em 0,3 mL até 30 mL. Registrando-se 100 valores de pH.

3.3. Aquisição dos dados amostrais

3.3.1. Titulação potenciométrica

Os ácidos húmicos foram analisados por titulação potenciométrica, a fim de distinguir diferentes grupos carboxílicos e fenólicos.

As titulações dos ácidos húmicos com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ em NaCl 0,1 mol L⁻¹ padronizada com solução de biftalato de potássio, em força iônica constante, foram executadas em um sistema potenciométrico, com eletrodos combinados de vidro e referência de Ag/AgCl, interfaceado a um microcomputador. O titulante foi adicionado por bombeamento peristáltico, sendo o volume do titulante e pH da solução medidos após cada adição (GUIMARÃES, 2000).

Pesaram-se 0,150 g de ácido húmico, o qual foi solubilizado em 4,0 mL de solução de NaOH 0,0959 mol L⁻¹ em NaCl 0,1 mol L⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio, em seguida elevou-se o volume para 24,0 mL com solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹, sob agitação magnética foi adicionado HCl 1 mol L⁻¹ e/ou HCl mais diluído até obtenção de pH próximo a 2,0. Ajustado o pH, iniciou-se a titulação com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ em NaCl 0,1 mol L⁻¹, adicionando-se o titulante com um incremento de 0,1 mL até 15,0 mL obtendo-se curvas de titulação com 151 pares de pontos.

O sistema de titulação potenciométrica (Figuras 8 e 9) desenvolvido no Laboratório de Instrumentação e Quimiometria do Departamento de Química da UFV, é baseado no potenciômetro da ORION, modelo 901, com a propulsão da solução titulante feita através de uma bomba peristáltica e o controle das injeções através de válvulas solenóides de teflon (GUIMARÃES, 2000).

Todo o sistema é controlado e os dados potenciométricos são adquiridos através de um programa desenvolvido em ambiente Windows, na linguagem Visual Basic 5.0 da Microsoft. As curvas de titulação foram preparadas no programa gráfico Microcal Origin 6.01 (MICROCAL, 1999).

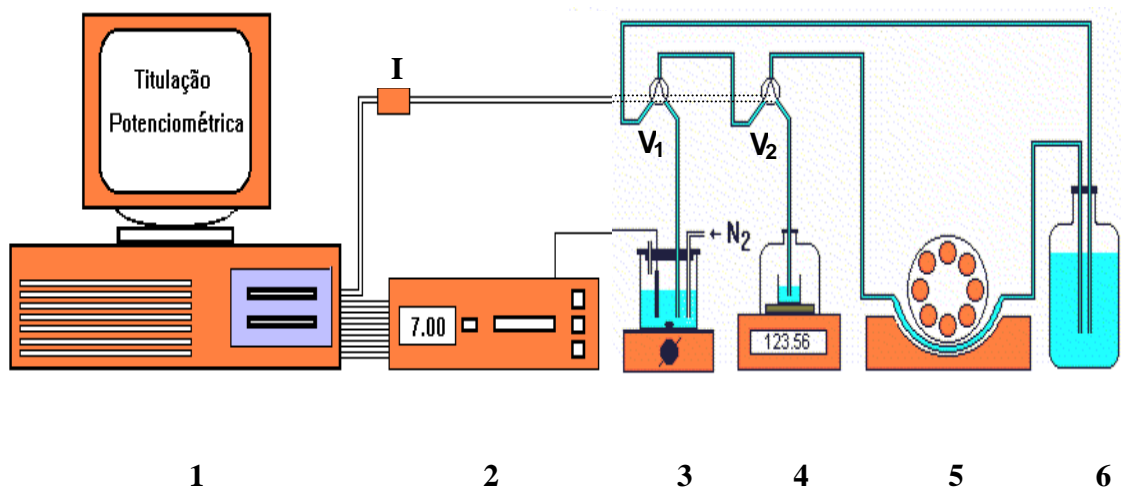


Figura 8. Esquema do instrumento potenciométrico: **1** – microcomputador PC-486; **2** – potenciômetro Orion 901; **3** – cela de titulação; **4** – balança eletrônica semi-analítica; **5** – bomba peristáltica; **6** – frasco de titulante; **V₁** e **V₂** – válvulas solenóides “three way”, de “teflon”; e **I** – interface potencializadora do sinal do microcomputador.



Figura 9. Sistema de titulação potenciométrica automatizado.

A operação deste programa gerenciador do sistema de titulação potenciométrica (figuras 8 e 9) desenvolvido por GONZAGA et al (1999) baseado no potenciômetro da ORION, modelo 901, se faz através de barras de menus, de janelas de entrada e saída de dados e caixas de diálogos, permitindo a visualização em tempo real dos dados

potenciométricos e da curva de titulação, bem como recuperação de dados armazenados para comparações posteriores, como mostram as seguintes telas do programa de titulação:

i) Tela de abertura: tela inicial do programa (Figura 10).



Figura 10. Tela de abertura.

ii) Tela principal: por esta tela são determinadas as funções como vazão, titulação, abrir arquivo ou saída do programa (figura 11).

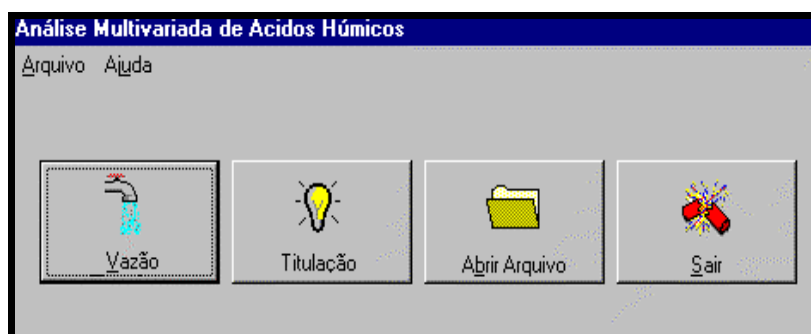


Figura 11. Tela Principal do programa.

iii) Determinação de vazão: tela pela qual determina-se a vazão através da abertura da válvula V_2 e definição do intervalo de tempo (figura 12).

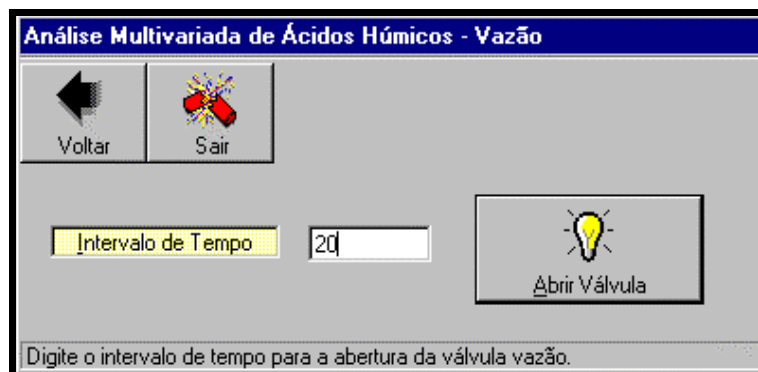


Figura 12. Determinação de vazão.

iv) Titulação: tela na qual determina-se o nome do arquivo para gravação dos dados; o volume máximo de titulante em mL; a vazão do titulante em mL/min; o incremento de volume em mL; a resolução para a leitura dos pontos; e o tipo de titulação (pH ou potencial) (figura 13).

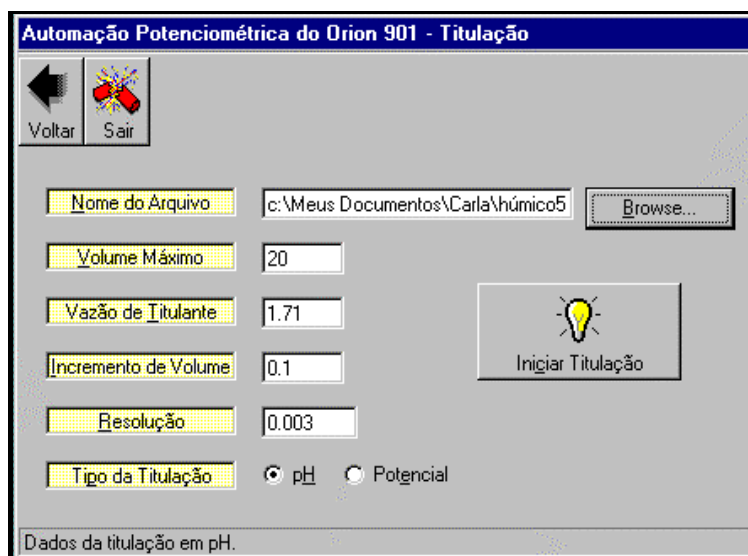


Figura 13. Tela de entrada dos parâmetros para obter a curva de titulação.

v) Aquisição de dados: tela para visualização da aquisição dos dados e construção da curva de titulação em tempo real (figura 14).

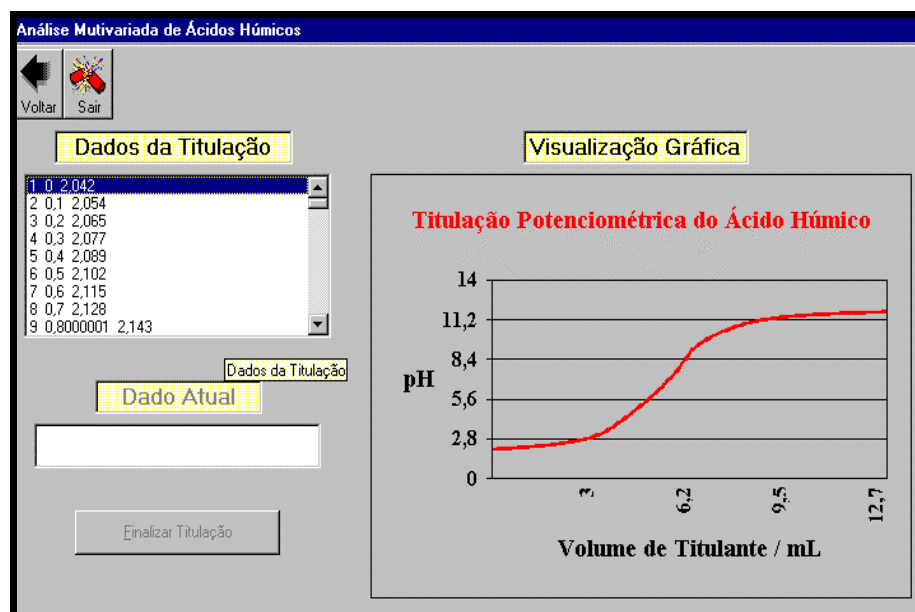


Figura 14. tela para visualização dos dados e da curva de titulação em tempo real.

vi) Gravação dos dados: tela para definir o local e o nome do arquivo para saída dos dados da análise. O arquivo é salvo no formato ASCII, sendo fácil sua abertura em outros programas (figura 15).

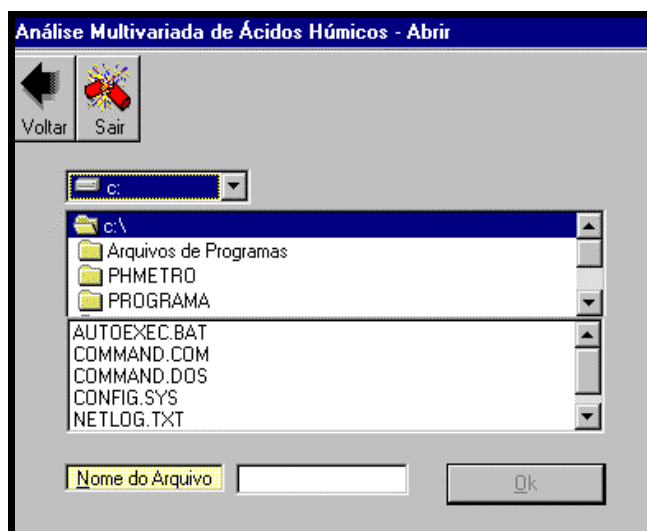


Figura 15. Tela para gravação dos dados.

O programa utilizado neste trabalho foi desenvolvido em Visual Basic, versão 5.0.

3.4. Tratamento dos dados

3.4.1. Análise por regressão multiparamétrica não-linear

Para o tratamento de dados potenciométricos, um programa de ajuste multiparamétrico baseado em regressão não-linear, modificado do original, utilizado por MASINI e colaboradores (1999), foi desenvolvido na linguagem DELPHI 4.0 (BORLAND, 1998).

3.4.2. Análise por métodos quimiométricos (PCA)

Foi utilizada a técnica estatística multivariada (Análise das componentes Principais – ‘PCA’) disponível no pacote ‘PLS-ToolBox’ que opera no ambiente MatLab para reconhecimento de padrões de semelhança entre os ácidos húmicos extraídos das amostras de solo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1.. Titulação Potenciométrica

As titulações das 72 amostras dos ácidos húmicos com solução de NaOH 0,0959 mol L⁻¹ em NaCl 0,1 mol L⁻¹, foram executadas em um sistema potenciométrico, com eletrodos combinados de vidro e referência de Ag/AgCl, interfaceado a um microcomputador. O titulante foi adicionado por bombeamento peristáltico, sendo o volume do titulante e pH da solução medidos após cada adição. Na figura 15 (a), tem-se a curva de titulação da amostra CD₃ com 151 pontos. O tempo necessário para obter a curva de titulação de cada amostra foi aproximadamente uma hora.

Os parâmetros utilizados nas titulações foram:

- Volume máximo: 15mL
- Vazão de titulante: 1,36 mL min⁻¹ (média)
- Incremento de volume: 0,1 mL
- Resolução: 0,01
- Tipo de titulação: E (para determinar o valor de K_w, enquanto que para as titulações dos ácidos húmicos foi utilizado pH)

Após a determinação da vazão, foi feita a determinação de K_w através da calibração dos eletrodos pela titulação de 25 mL de solução padrão de HCl 0,1046 mol L⁻¹, adicionando-se 50 mL de solução padrão de NaOH 0,1026 mol L⁻¹ de 0,5 em 0,5 mL, seguindo o procedimento proposto por PEHRSSON et al (1976). A concentração hidrogeniônica é determinada a 25° C pela equação:

$$E = E^{\circ} + 59,16 \cdot \log [H^{+}] + E_j \quad (1)$$

Com o potencial de junção, E_j, dado pela seguinte equação:

$$E_j = J_H \cdot [H^{+}] + J_{OH} \cdot [OH^{-}] \quad (2)$$

onde J_H e J_{OH} são constantes características do meio iônico, referindo-se às regiões ácidas e alcalinas da titulação, respectivamente.

Assim por combinação das equações (1) e (2), no lado ácido têm-se:

$$E = E_a^{\circ} + 59,16 \cdot \log [H^{+}] + J_H \cdot [H^{+}] \quad (3)$$

E da mesma forma no lado básico têm-se:

$$E = E_b^{\circ} - 59,16 \cdot \log [OH^{-}] + J_{OH} \cdot [OH^{-}] \quad (4)$$

Foi determinado o volume de equivalência ($V_e = 26,58 \text{ mL}$) da titulação usando-se o método de Gran. No lado ácido da titulação V_e foi determinado pelo gráfico da função $(V_o + V)10^{E/59,16}$ vs. V , através da interseção com o eixo V . Para os pontos localizados no lado alcalino da titulação o V_e é determinado pela interseção com o eixo V da reta resultante do gráfico da função $(V_o + V)10^{-E/59,16}$ vs. V . Nos dois casos foram efetuadas regressões lineares.

A concentração hidrogeniônica para os pontos localizados antes do V_e foi calculada pela equação:

$$[\text{H}^+] = \frac{(V_e - V) \cdot C_b}{V_o + V} \quad (5)$$

Tendo-se os valores de $[\text{H}^+]$, no lado ácido da curva de titulação, e os correspondentes valores de E medidos, pode-se determinar os parâmetros J_H e E_a^0 . Fazendo-se então o gráfico de $E - 59,16 \log [\text{H}^+]$ vs $[\text{H}^+]$, obtém-se uma curva caracterizada por uma região retilínea cuja extrapolação intercepta o eixo das ordenadas dando o valor de E_a^0 ($E_a^0 = 502,80$) e o valor de J_H ($J_H = -41,79$) corresponde à inclinação desta reta.

Da mesma forma procede-se para se calcular os parâmetros E_b^0 e J_{OH} no lado alcalino da titulação. A concentração de OH^- no lado alcalino é calculada pela equação:

$$[\text{OH}^-] = \frac{(V - V_e) \cdot C_b}{V_o + V} \quad (6)$$

Fazendo-se o gráfico de $E + 59,16 \log [\text{OH}^-]$ vs $[\text{OH}^-]$, obteve-se os valores de E_b^0 ($E_b^0 = -308,26$) e o valor de J_{OH} ($J_{OH} = 62,67$) da mesma maneira usada para se obter E_a^0 e J_H .

Finalmente, igualando-se as equações (3) e (4) obteve-se a equação (7) e tendo-se os valores de E_a^0 e E_b^0 , determina-se o valor de K_w :

$$-\log K_w = \frac{E_a^0 - E_b^0}{59,16} = \frac{502,80 - (-308,26)}{59,16} = 13,71 \quad (7)$$

$$K_w = 1,95 \times 10^{-14}$$

Este valor de K_w foi utilizado como um dos parâmetros do programa de ajuste por regressão não-linear.

4.1.1. Regressão multiparamétrica não-linear

Nas curvas de titulação obtidas é quase impossível verificar visualmente mais do que um ponto de inflexão, por se tratar de ácido com valores de pK_a próximos. Para facilitar tal visualização, os dados de titulações dos ácidos húmicos foram derivados e pelos gráficos destas derivadas estima-se os volumes parciais aproximados para neutralizar cada grupo carboxílico e fenólico (MANUNZA et al, 1992). Assim, é obtido primeiramente o gráfico de dpH/dV como função do pH e depois a segunda derivada (d^2pH/dV^2); o valor no qual a última tende a zero, fornece volumes de equivalência aproximados para cada grupo ácido. A figura 16 mostra a curva de titulação, sua primeira e segunda derivada para algumas amostras. O procedimento foi repetido para as 72 amostras.

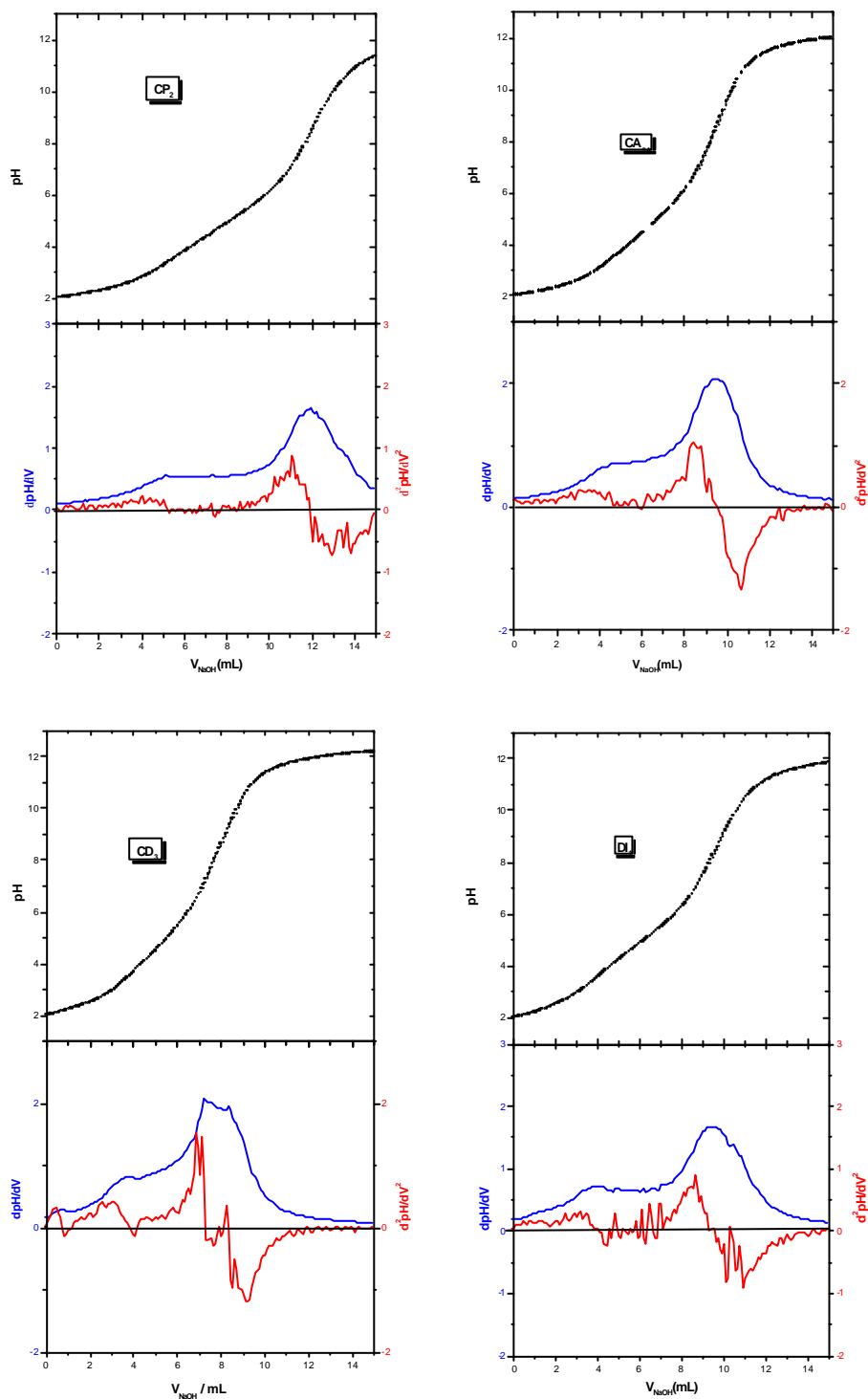


Figura 16. ____ curva de titulação potenciométrica, ____ curva da primeira derivada e ____ curva da segunda derivada.

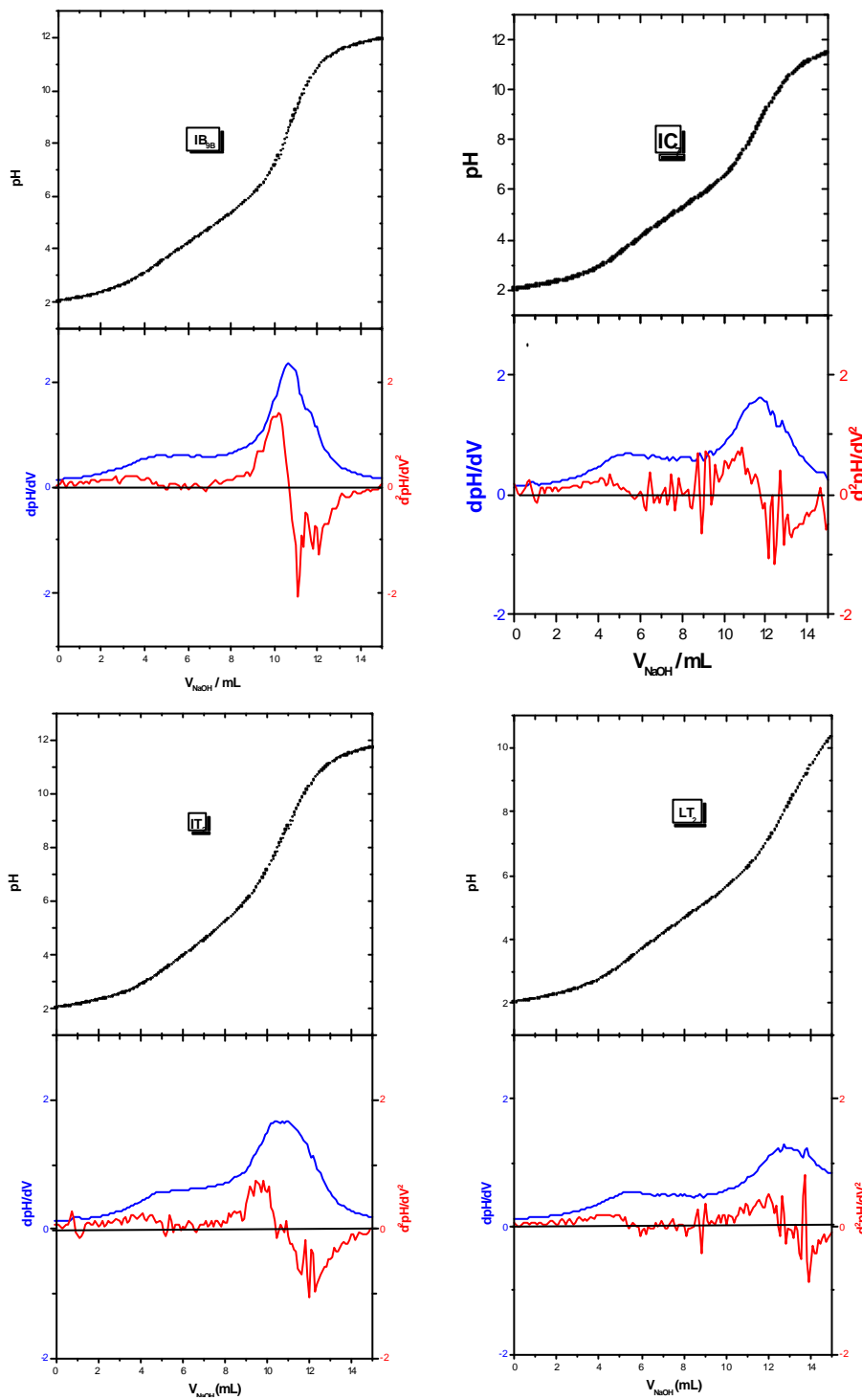


Figura 16 (continuação). ____ curva de titulação potenciométrica, ____ curva da primeira derivada e ____ curva da segunda derivada.

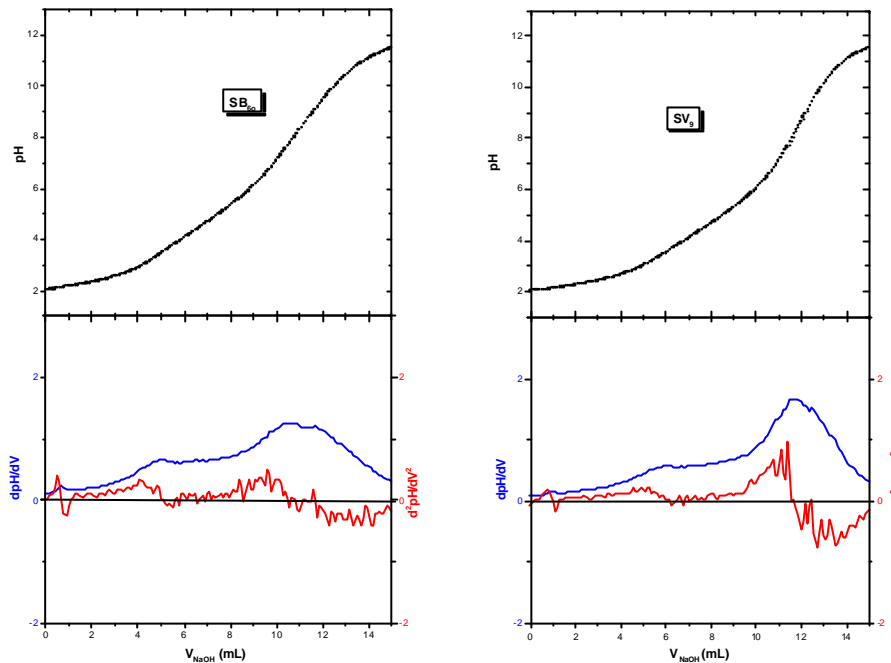


Figura 16 (continuação). _____ curva de titulação potenciométrica, _____ curva da primeira derivada e _____ curva da segunda derivada.

Na seqüência os dados aproximados são submetidos ao programa de regressão não-linear que usa a equação geral que descreve a titulação de uma mistura de um ácido forte e N ácidos fracos, com uma base forte:

$$f(V, [H^+]) = (V - V_{HA_0}) \cdot C_B + \left\{ [H^+] - \frac{K_W}{[H^+]} \right\} \cdot (V_o + V) - \sum_{N=1}^N \left\{ (V_{HA_0} - V_{HA_{n-1}}) \cdot A_n \cdot C_B \right\} \quad (8)$$

onde V é o volume do titulante, e V_o é o volume inicial presente na cela antes do início da titulação. V_{HA_0} e V_{HA_n} são respectivamente o volume de equivalência para o ácido forte e para o sítio ionizável HA_n . $[H^+]$ é a concentração do íon hidrogênio. K_W é o produto iônico da água determinado a 25 °C e em solução de força iônica constante ajustada com $NaNO_3$; C_B é a concentração do titulante NaOH ($mol L^{-1}$). O termo A_n na expressão (1) é definido por:

$$A_n = \frac{K_{HA_n}}{(K_{HA_n} + [H^+])} \quad (9)$$

onde K_{HA_n} é a constante de ionização do sítio HA_n . O logaritmo negativo de $[H^+]$, é adotado como a variável dependente (pH) e o volume de titulante, como variável independente (V). V_{HA_n} e K_{HA_n} são os parâmetros ajustáveis no cálculo, o qual é realizado minimizando-se o erro da soma S, de acordo com:

$$S = \sum_{j=1}^m [pH_j(\text{med}) - pH_j(\text{calc})]^2 \quad (10)$$

onde m é o total de pares de dados (V, pH) usado na análise de regressão; $pH_j(\text{med})$ refere se ao pH experimental, enquanto $pH_j(\text{calc})$ é o pH calculado.

Os valores de $pH_j(\text{calc})$ foram calculados usando uma subrotina iterativa baseada no método de Newton-Raphson.. Primeiramente, os valores de $[H^+]_{\text{calc}}$ são computados usando os valores iniciais estimados para V_{HA_n} e K_{HA_n} . Melhores aproximações para os valores de $[H^+]_{\text{calc}}$ no ponto experimental j são obtidos através de sucessivas iterações, k, de acordo com a equação:

$$[H^+]_{j,k+1} = [H^+]_{j,k} - \frac{f(V, [H^+]_{j,k})}{f'(V, [H^+]_{j,k})} \quad (11)$$

onde $f'(V, [H^+]_{j,k})$ é a primeira derivada da equação 1, dada pela seguinte expressão:

$$f'(V, H^+) = \left\{ 1 + \left(\frac{K_w}{[H^+]^2} \right) \right\} \cdot (V_0 + V) + \sum_{N=1}^n \left\{ (V_{HA_n} - V_{HA_{n-1}}) \cdot C_B \frac{K_{HA_n}}{(K_{HA_n} + [H^+])^2} \right\} \quad (12)$$

A equação 11 é usada repetidamente até que ocorra a convergência a um valor limite, previamente definido por:

$$\left\{ \frac{([H^+]_{j,k+1} - [H^+]_{j,k})}{[H^+]_{j,k}} \right\} < 0,00001 \quad (13)$$

Quando a condição definida pela equação 13 é atendida, o valor de $[H^+]_{j,k+1}$ é convertido em $pH_{j,k+1}$ e enviado para a sub-rotina de minimização para refinar os valores de V_{HA_n} e K_{HA_n} . Para a finalização dos cálculos, um comando restringindo $[H^+]_{calc} < 0$ foi introduzido no programa.

O número de classes de grupos tituláveis obtidos através de dados de titulações potenciométricas de polieletrólitos tratados por este método dependerá:

1. da presença de grupos ionizáveis de diferentes naturezas químicas (carboxílicos, fenólicos, amínicos, etc.).

2. de grupos de mesma natureza química que estejam sujeitos a interações intramoleculares (eletrostáticas, ligações de hidrogênio, ou proximidade de grupos com alta eletronegatividade, etc.) que têm seus valores de pK_a influenciados por tais interações.

3. da capacidade de resolução das misturas através do método numérico empregado. Tem-se demonstrado que quando dois grupos tituláveis com diferença nos valores de pK_a menor ou igual a 0,5 unidade estão presentes na mistura ou macromolécula, os métodos estudados determinam os dois grupos como uma única classe HA_n cuja concentração corresponde à soma das concentrações individuais destes grupos, enquanto o pK_a refere-se a um valor médio (MASINI et al., 1998; MASINI, 1999).

Os dados obtidos nas titulações potenciométricas através da derivada segunda e os valores sugeridos de pK_a foram submetidos a este programa de ajuste por regressão multiparamétrica, para a determinação dos valores de pK_a de cada grupo titulável, e dos valores parciais.

O programa de ajuste por regressão não-linear multiparamétrica foi desenvolvido na linguagem DELPHI a partir de uma versão desenvolvida em QuickBasic (GUIMARÃES, 2000). O objetivo deste desenvolvimento foi proporcionar uma interação mais amigável com o usuário. As figuras 17 a 25 apresentam as telas deste programa:

- i) Tela de abertura: tela inicial do programa (figura 17).



Figura 17. Tela de abertura do programa.

ii) Tela principal: por esta tela o usuário abre o arquivo ou sai do programa (figura 18).

Arquivo Ajuda

Regressão Multiparamétrica em Potenciometria

Figura 18. Tela principal do programa.

iii) Tela de dados: tela na qual fornecem-se os dados como número de parâmetros, número de iterações, concentração do titulante em mol L⁻¹, volume inicial em mL, produto iônico da água calculado anteriormente e escolhe se delta será único ou não para nova análise (figura 19).

A janela de diálogo "Nova Análise" possui um cabeçalho azul com o ícone de uma ampola e o título "Nova Análise". O corpo da janela contém os seguintes campos e controles:

- Número de Parâmetros: campo de entrada.
- Número de Iterações: campo de entrada.
- Concentração da Base: campo de entrada com a unidade "Mol/L" à direita.
- Volume inicial: campo de entrada com a unidade "mL" à direita.
- Produto Iônico da Água: campo de entrada.
- Delta Único?: opção com dois botões de rádio, "Sim" (selecionado) e "Não".
- Botões "Cancelar" e "OK" na base da janela.

Figura 19. Tela de dados para nova análise.

iv) Escolha do valor de delta: a) tela na qual fornece-se um único valor para delta e b) tela na qual fornece-se um valor de delta para cada parâmetro, onde o valor de delta é a variação permitida ou aceitável entre os dados fornecidos e os ajustados (figura 20).

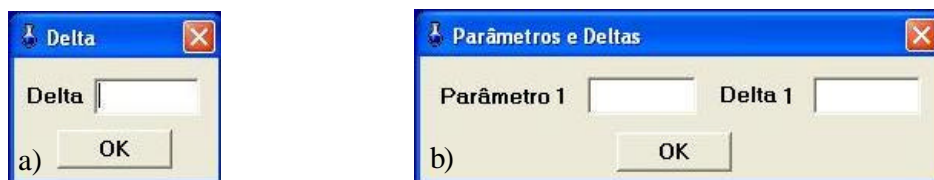


Figura 20. Escolha do valor de delta quando: a) delta único e b) delta diferente para cada parâmetro.

v) Seleção do arquivo de dados: tela pela qual seleciona-se o arquivo de dados da titulação obtido anteriormente pelo sistema de titulação potenciométrica automatizado (figura 21).

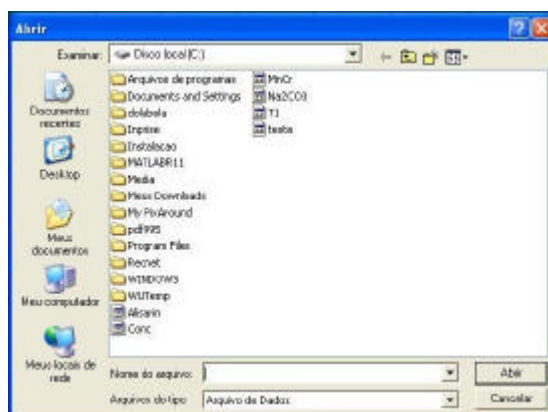


Figura 21. Tela para seleção do arquivo de dados.

vi) Abertura do arquivo de dados: tela para buscar o arquivo de dados da titulação que será ajustado (figura 22).

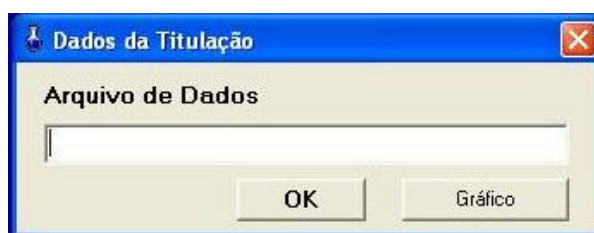


Figura 22. Tela de abertura do arquivo de dados da titulação.

vii) Finalização da regressão: tela que informa o fim da análise e o número de iterações necessárias para a convergência do modelo de regressão (figura 23)

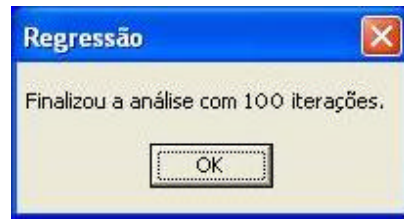


Figura 23. Tela que informa o fim da regressão.

viii) Aquisição de dados: tela para visualização dos dados fornecidos e ajustados (figura 24).

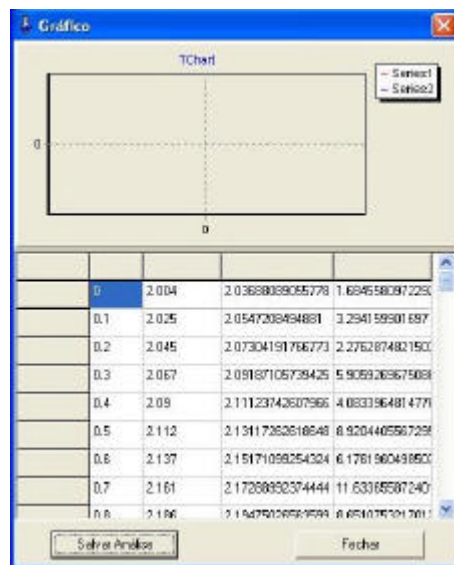


Figura 24. Tela de visualização dos dados originais e ajustados.

ix) Gravação dos dados: tela que permite salvar o arquivo de dados analisados com nome e no local desejados (figura 25).

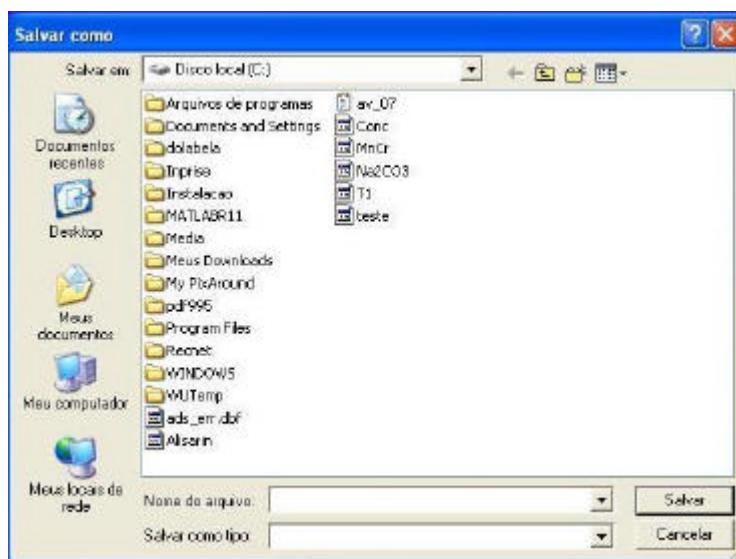


Figura 25. Tela para a gravação do arquivo de dados.

No caso de ácidos húmicos de solo foram considerados 11 parâmetros sendo um deles o volume utilizado para neutralizar o excesso de ácido forte, e os outros doze são referentes aos volumes de neutralização de cada um dos cinco grupamentos de ácidos fracos e seus respectivos pK_a .

Os valores atribuídos inicialmente aos parâmetros de volume são baseados no gráfico da segunda derivada como já adiantado (figura 16. b), a partir do qual é possível estabelecer um intervalo possível de existência de um grupo titulável e com a ajuda do programa de ajuste, refinar os valores até que estes possam convergir adequadamente. Os valores de pK_a , fornecidos inicialmente, foram baseados nos seis valores citados por ALEIXO et al (1992) para ácidos húmicos de solo.

O número de iterações (tabela 6) indica o número de vezes pelo qual o programa refinou o cálculo e passou pelo mesmo “loop”. Tais valores foram obtidos após fornecer um valor sempre superior àquele necessário para a convergência do mesmo, a fim de que o programa atingisse a convergência sem usar o valor exato do número de iterações fornecido.

Tabela 6. Parâmetros obtidos do ajuste por regressão multiparamétrica não-linear das curvas de titulação potenciométrica de ácido húmico de solo sob vegetação rupestre.

Nº	Amostra	iterações	V _{HCl}	V _{AH1}	pK _{a1}	V _{AH2}	pK _{a2}	V _{AH3}	pK _{a3}	V _{AH4}	pK _{a4}	V _{AH5}	pK _{a5}
01	CA ₁	553	1,33	4,28	2,06	6,61	4,20	8,30	5,77	9,19	7,62	10,16	9,50
02	CA _{2a}	971	1,38	4,35	2,06	6,51	3,99	8,24	5,42	9,15	6,94	10,09	8,73
03	CA ₃	136	2,42	3,99	2,56	5,87	4,29	7,35	5,89	8,17	7,59	9,21	9,36
04	CA ₄	141	2,59	3,97	3,43	5,99	4,62	7,21	5,83	7,94	7,19	8,90	8,86
05	CA ₅	812	0,34	5,72	2,07	8,57	4,35	10,57	5,99	11,74	7,85	13,23	9,73
06	CA ₆	197	2,49	4,09	3,22	5,80	4,39	7,41	5,58	8,29	7,05	9,24	8,83
07	CD ₁	122	2,69	4,04	3,57	6,20	4,88	7,34	6,07	8,13	7,42	9,26	9,04
08	CD ₂	113	2,09	3,96	2,26	6,19	4,27	7,71	5,88	8,64	7,75	9,71	9,56
09	CD ₃	727	2,39	3,91	2,82	5,84	4,37	7,18	5,96	8,01	7,83	8,90	9,47
10	CD ₄	536	2,43	4,07	3,70	5,63	5,01	6,71	6,41	7,63	8,11	8,80	9,76
11	CD ₅	758	1,62	4,10	2,35	6,10	4,14	7,85	5,49	8,81	6,95	9,86	8,80
12	CD ₆	775	2,26	3,82	2,38	5,53	3,96	7,20	5,17	8,27	6,18	9,05	7,38
13	CD ₇	157	0,99	5,02	2,07	7,75	4,27	9,68	5,91	10,84	7,84	12,33	9,72
14	CP ₁	257	1,68	3,64	2,06	5,49	4,04	6,93	5,47	7,71	6,92	8,66	8,66
15	CP ₂	624	2,03	5,36	2,41	8,29	4,26	7,04	5,76	8,16	7,45	9,40	9,32
16	CP ₄	483	1,58	4,42	2,13	6,60	4,19	8,24	5,68	9,16	7,35	10,32	9,06
17	CP ₆	2000	1,66	5,05	2,24	7,57	4,40	9,15	6,17	10,28	8,28	11,95	10,34
18	CP ₈	788	0,71	4,62	1,98	6,62	3,92	8,58	5,14	9,91	6,34	10,76	7,74

(continuação)

Nº	Amostra	iterações	V _{HCl}	V _{AH1}	pK _{a1}	V _{AH2}	pK _{a2}	V _{AH3}	pK _{a3}	V _{AH4}	pK _{a4}	V _{AH5}	pK _{a5}
19	CP ₉	4000	2,14	5,27	2,47	8,10	4,42	9,96	6,15	11,04	8,16	12,52	10,12
20	DI ₁	550	2,39	4,24	2,98	6,50	4,47	8,30	5,71	8,88	6,76	9,57	7,73
21	DI ₂	10000	2,21	4,84	2,60	7,64	4,47	9,40	6,10	10,55	8,16	11,90	10,07
22	DI _{3A}	588	1,84	2,67	2,93	5,51	3,93	8,28	4,94	9,62	9,32	10,96	7,05
23	IB ₂	390	1,75	4,12	2,00	6,07	4,08	7,67	5,53	8,53	7,07	9,58	8,79
24	IB ₃	420	1,32	4,92	2,29	7,70	4,23	9,91	5,78	10,92	7,62	12,00	9,49
25	IB ₄	411	0,88	4,29	2,02	5,89	3,75	7,73	4,81	9,28	5,98	10,18	7,41
26	IB ₅	456	1,52	4,65	2,26	7,28	4,29	9,29	5,86	10,38	7,74	11,57	9,59
27	IB ₆	262	1,05	4,40	2,05	6,20	3,93	7,95	5,11	11,06	6,19	9,86	7,50
28	IB ₇	441	1,48	4,58	2,32	6,73	4,30	8,52	5,87	9,47	7,79	10,50	9,54
29	IB _{8B}	15000	2,14	5,02	2,63	7,57	4,59	9,30	6,23	10,42	8,24	11,78	10,11
30	IB _{9A}	15000	1,75	5,25	2,35	7,91	4,38	9,56	6,09	10,57	8,21	11,76	10,27
31	IB _{9B}	472	2,28	4,61	2,52	7,22	4,16	9,47	5,52	10,43	6,99	11,25	8,84
32	IB _{10A}	436	0,86	4,53	2,06	6,57	3,90	8,32	5,09	9,31	6,19	10,00	7,40
33	IB _{12A}	566	1,51	4,78	2,25	7,24	4,26	8,94	5,84	9,88	7,73	10,87	9,52
34	IB _{12B}	609	1,21	4,51	2,19	6,89	4,23	8,65	5,80	9,68	7,70	10,77	9,52
35	IB _{13B}	542	1,70	4,11	2,35	6,92	4,26	8,51	5,84	9,46	7,69	10,54	9,50
36	IC _{2A}	147	1,55	4,41	2,23	6,70	4,14	8,35	5,58	9,22	7,15	10,22	8,92
37	IC _{2B}	359	1,60	4,57	2,28	7,00	4,14	8,92	5,62	9,93	7,38	10,98	9,22

(continuação)

Nº	Amostra	iterações	V _{HCl}	V _{AH1}	pK _{a1}	V _{AH2}	pK _{a2}	V _{AH3}	pK _{a3}	V _{AH4}	pK _{a4}	V _{AH5}	pK _{a5}
38	IC ₃	492	2,43	5,44	2,67	8,31	4,84	7,21	6,85	9,90	9,08	11,33	9,11
39	IC ₄	15000	1,18	4,90	2,17	7,47	4,39	9,11	6,09	10,20	8,18	11,54	10,19
40	IC ₆	15000	1,87	4,91	2,33	7,50	4,56	9,18	6,22	10,37	8,25	11,75	10,17
41	IC ₇	1697	1,63	5,17	2,36	7,95	4,41	10,66	5,98	11,84	7,88	13,25	9,82
42	IT ₁	15000	1,62	4,86	2,25	7,32	4,33	8,77	6,09	9,85	8,14	11,21	10,08
43	IT ₂	573	0,70	4,76	2,02	6,86	3,81	8,63	4,96	9,88	6,12	10,73	7,60
44	IT ₃	517	0,41	5,08	2,04	7,56	4,16	9,55	5,74	10,66	7,62	11,91	9,52
45	IT ₄	424	1,04	4,49	2,12	6,30	3,69	8,23	4,73	9,79	5,89	10,70	7,34
46	IT ₅	785	0,24	4,60	1,90	5,44	3,47	7,37	4,29	8,81	5,65	9,63	7,18
47	IT ₆	570	1,10	4,59	2,14	6,32	3,74	8,35	4,77	9,89	5,97	10,75	7,46
48	IT ₇	1181	0,42	4,63	1,96	6,90	3,74	9,06	4,91	10,52	6,11	11,46	7,61
49	IT ₈	1813	0,46	4,91	1,90	7,36	3,83	9,50	5,02	10,90	6,25	11,86	7,79
50	LT ₁	410	1,18	4,79	2,15	7,30	4,24	9,00	5,83	9,98	7,77	11,08	9,58
51	LT ₂	1407	0,17	5,18	1,96	7,81	3,94	10,67	5,16	12,28	6,51	13,51	8,13
52	LT ₃	880	0,05	4,86	1,93	5,56	3,41	7,81	4,29	9,57	5,72	10,59	7,40
53	LT ₄	440	0,85	4,58	2,09	6,90	4,29	8,43	5,91	9,33	7,82	10,40	9,61
54	LT ₅	532	1,91	4,65	2,39	7,05	4,33	8,59	5,91	9,55	7,83	10,57	9,61
55	LT ₆	777	0,89	4,59	2,06	6,35	4,06	7,76	5,31	8,92	6,33	9,71	7,58
56	LT ₇	800	0,62	4,71	2,05	6,71	4,12	8,25	5,29	9,37	6,38	10,18	7,70

(Continuação)

Nº	Amostra	iterações	V _{HCl}	V _{AH1}	pK _{a1}	V _{AH2}	pK _{a2}	V _{AH3}	pK _{a3}	V _{AH4}	pK _{a4}	V _{AH5}	pK _{a5}
57	LT ₈	378	1,52	4,16	2,15	5,89	3,98	7,40	5,00	8,57	6,13	9,41	7,55
58	SB ₁	688	0,57	5,39	2,10	8,37	4,36	10,46	6,01	11,52	7,91	12,84	9,70
59	SB ₂	368	1,44	3,10	1,90	4,38	2,89	6,53	4,32	8,08	5,77	9,03	7,36
60	SB ₃	253	1,98	3,89	2,34	5,71	3,83	7,18	4,87	8,45	6,06	9,41	7,54
61	SB ₅	492	0,48	4,69	2,02	6,58	4,00	8,53	5,22	9,78	6,45	10,68	7,82
62	SB ₆	1101	0,35	4,75	2,01	7,00	3,98	8,89	5,23	10,20	6,50	11,37	7,99
63	SB ₇	804	0,26	4,94	2,01	6,87	4,01	8,75	5,22	9,93	6,44	10,84	7,83
64	SB ₈	236	1,60	3,07	1,91	4,98	3,82	6,76	5,14	7,91	6,31	8,71	7,64
65	SB _{9A}	317	1,67	4,60	2,39	6,91	4,48	9,07	6,23	10,15	8,04	11,55	9,80
66	SB ₁₀	343	1,40	4,10	2,22	5,84	3,88	7,60	4,90	9,08	6,15	10,07	7,63
67	SB ₁₁	354	2,47	4,55	3,16	6,62	4,93	8,23	6,76	9,48	8,80	10,68	10,09
68	SV ₂	1003	0,70	4,64	2,14	6,94	3,86	9,22	5,07	10,83	6,35	11,89	7,91
69	SV ₅	1009	0,16	5,21	2,04	7,81	3,84	10,59	5,04	12,35	6,40	13,41	8,05
70	SV ₆	417	1,03	5,04	2,27	7,63	4,30	9,37	5,93	10,36	7,77	11,46	9,51
71	SV ₈	457	0,86	5,65	2,16	8,30	4,27	10,14	5,89	11,18	7,75	12,38	9,59
72	SV ₉	1610	0,76	5,48	1,90	7,48	3,79	9,31	4,81	10,84	5,99	11,79	7,50

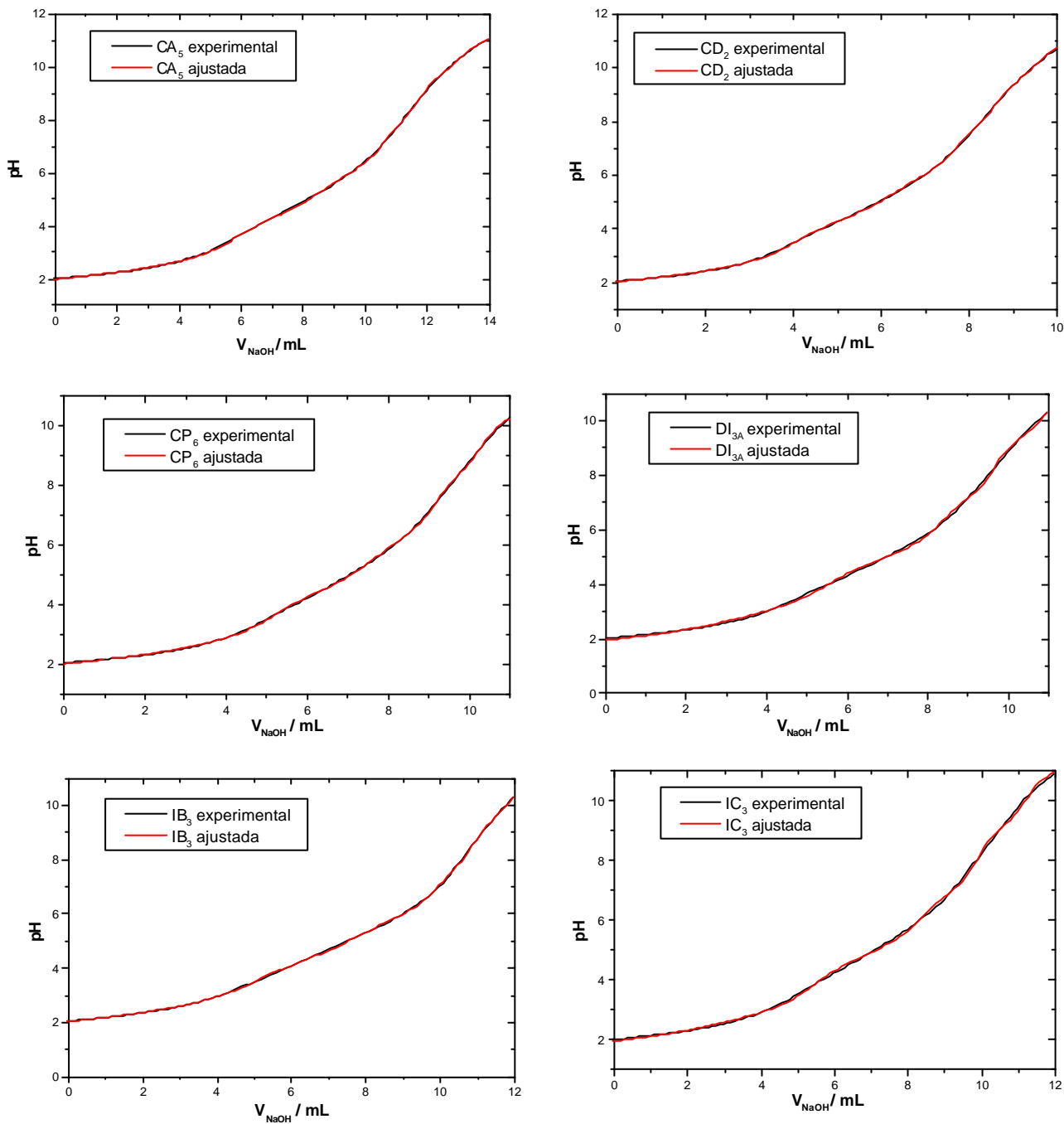


Figura 26. Curvas de titulação experimentais de ácidos húmicos com NaOH e ajustadas por regressão multiparamétrica não-linear das amostras CA_5 , CD_2 , CP_6 , $\text{DI}_{3\text{A}}$, IB_3 , IC_3 , das regiões 1, 6, 3, 2, 9 e 5, respectivamente.

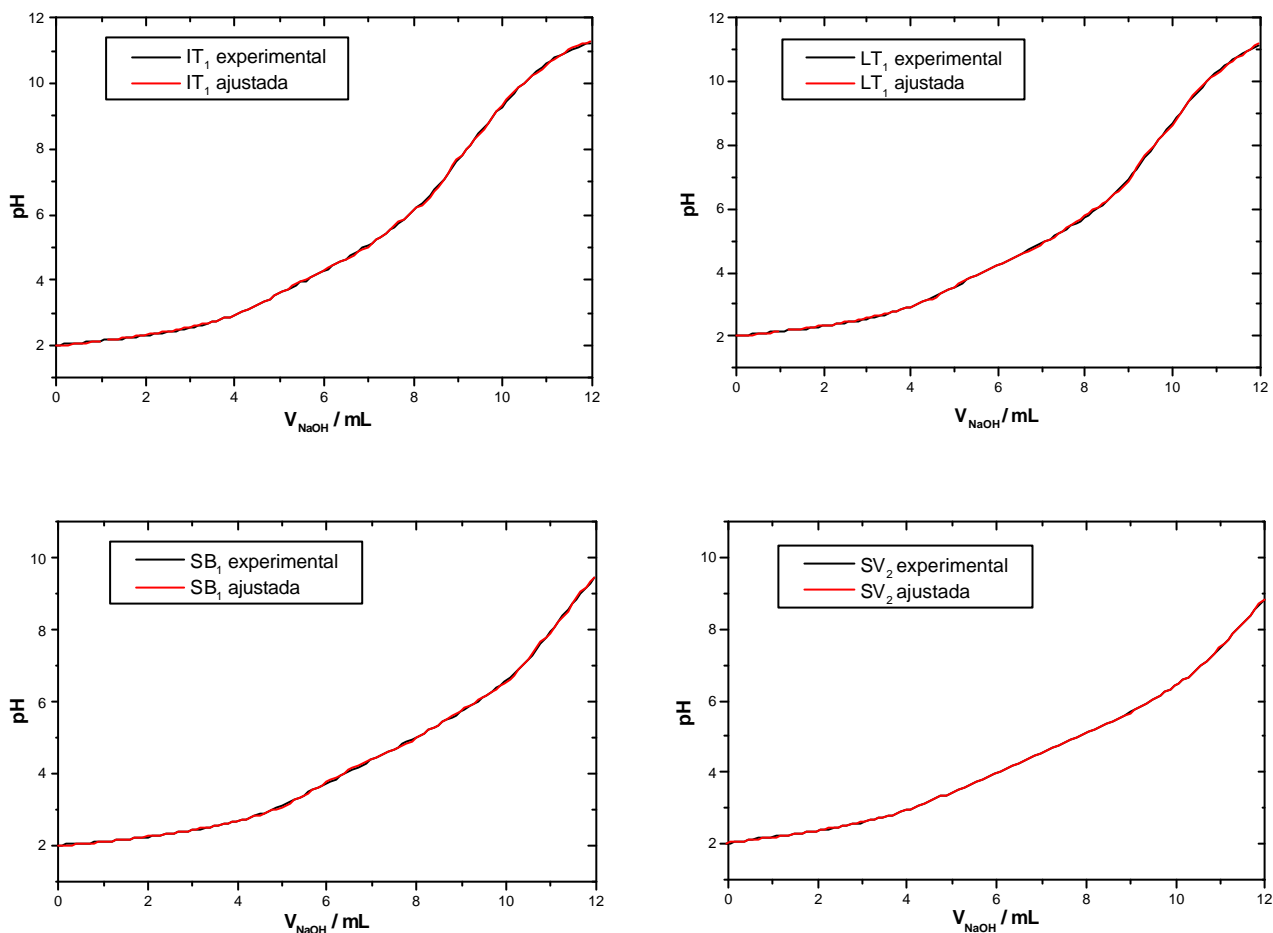


Figura 26 (continuação). Curvas de titulação experimentais de ácidos húmicos com NaOH e ajustadas por regressão multiparamétrica não-linear das amostras IT_1 , LT_1 , SB_1 e SV_2 das regiões 10, 4, 7 e 8, respectivamente.

As curvas de titulação apresentadas na figura 26 foram construídas com cerca de 111 pontos experimentais (V vs. pH) e apresentam resultados considerados satisfatórios quando se comparam as curvas de titulação experimentais com as curvas ajustadas pelo programa de regressão multiparamétrico não-linear, observando-se que a maior parte da curva gerada pelo programa coincide com a curva de titulação experimental.

Analisando os dados tratados pelo programa de regressão multiparamétrica foram determinados cinco grupos tituláveis, cujos volumes parciais obtidos a partir da tabela 6, estão dispostos na tabela 7.

Tabela 7. Valores de volumes parciais correspondentes aos cinco grupos tituláveis.

AH	V₁	V₂	V₃	V₄	V₅	AH	V₁	V₂	V₃	V₄	V₅
CA₁	2,99	2,33	1,69	0,89	0,97	IC_{2B}	2,97	2,43	1,92	1,01	1,05
CA_{2A}	2,97	1,86	2,03	0,91	0,94	IC₃	3,01	1,77	1,10	1,59	1,43
CA₃	1,57	1,88	1,48	0,82	1,04	IC₄	3,72	2,57	1,64	1,09	1,34
CA₄	1,38	2,02	1,22	0,73	0,96	IC₆	3,04	2,59	1,68	1,19	1,38
CA₅	5,38	2,85	2,00	1,17	1,49	IC₇	3,54	2,78	2,71	1,18	1,41
CA₆	1,60	1,71	1,61	0,88	0,95	IT₁	3,24	2,46	1,45	1,08	1,36
CD₁	1,35	2,16	1,14	0,79	1,13	IT₂	4,06	2,10	1,77	1,25	0,85
CD₂	1,87	2,23	1,52	0,93	1,07	IT₃	4,67	2,48	1,99	1,11	1,25
CD₃	1,52	1,93	1,34	0,83	0,89	IT₄	3,45	1,81	1,93	1,56	0,91
CD₄	1,64	1,56	1,08	0,92	1,17	IT₅	4,36	0,84	1,93	1,44	0,82
CD₅	2,48	2,00	1,75	0,96	1,05	IT₆	3,49	1,73	2,03	1,54	0,86
CD₆	1,56	1,71	1,67	1,07	0,78	IT₇	4,21	2,27	2,16	1,56	0,84
CD₇	4,03	2,73	1,93	1,16	1,49	IT₈	4,45	2,45	2,14	1,40	0,96
CP₁	1,96	1,85	1,44	0,78	0,95	LT₁	3,61	2,51	1,70	0,98	1,10
CP₂	3,33	2,93	~ 0	1,12	1,24	LT₂	5,01	2,63	2,86	1,61	1,23
CP₄	2,84	2,18	1,64	0,92	1,16	LT₃	4,81	0,70	2,25	1,76	1,02
CP₆	3,39	2,52	1,58	1,13	1,67	LT₄	3,73	2,32	1,53	0,90	1,07
CP₈	4,45	2,00	1,96	1,33	0,85	LT₅	2,74	2,40	1,54	0,96	1,02
CP₉	3,13	2,83	1,86	1,08	1,48	LT₆	3,70	1,76	1,41	1,16	0,79
DI₁	1,85	2,26	1,80	0,58	0,69	LT₇	4,09	2,00	1,54	1,12	0,81
DI₂	2,63	2,80	1,76	1,15	1,35	LT₈	2,64	1,73	1,51	1,17	0,84
DI_{3A}	0,83	2,84	2,77	1,34	1,34	SB₁	5,02	2,78	2,09	1,06	1,32
IB₂	2,37	1,95	1,60	0,86	1,05	SB₂	1,66	1,28	2,15	1,55	0,95
IB₃	3,60	2,78	2,21	1,01	1,08	SB₃	1,91	1,82	1,47	1,27	0,96
IB₄	3,41	1,60	1,84	1,55	0,90	SB₅	4,21	1,89	1,95	1,25	0,90
IB₅	3,13	2,63	2,01	1,09	1,19	SB₆	4,40	2,25	1,89	1,31	1,17
IB₆	3,35	1,80	1,75	1,11	0,80	SB₇	4,68	1,93	1,88	1,18	0,91
IB₇	2,80	2,15	1,79	0,95	1,03	SB₈	1,47	1,91	1,78	1,15	0,80

(Continuação)

AH	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	AH	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅
IB _{8B}	2,88	2,55	1,73	1,12	1,36	SB _{9A}	2,93	2,31	2,16	1,08	1,40
IB _{9A}	3,50	2,66	1,65	1,01	1,19	SB ₁₀	2,70	1,74	1,76	1,48	0,99
IB _{9B}	2,33	2,61	2,25	0,96	0,82	SB ₁₁	2,08	2,07	1,61	1,25	1,20
IB _{10A}	3,67	2,04	1,75	0,99	0,69	SV ₂	3,94	2,30	2,28	1,61	1,06
IB _{12A}	3,27	2,46	1,70	0,94	0,99	SV ₅	5,05	2,60	2,78	1,76	1,06
IB _{12B}	3,30	2,38	1,76	1,03	1,09	SV ₆	4,01	2,59	1,74	0,99	1,10
IB _{13B}	2,41	2,81	1,59	0,95	1,08	SV ₈	4,79	2,65	1,84	1,04	1,20
IC _{2A}	2,86	2,29	1,65	0,87	1,00	SV ₉	4,72	2,00	1,83	1,53	0,95

A partir dos valores de volumes parciais (tabela 7), foram calculados os percentuais de sítios ativos H⁺, em cmol_ckg⁻¹ (tabela 8), considerando que valores de pK_a < 7, são típicos de grupamentos carboxílicos e valores de pK_a > 7, são atribuídos a grupamentos fenólicos. Na tabela 8, os sítios 1, 2 e 3 referem-se a grupamentos carboxílicos com os respectivos valores de cmol_ckg⁻¹; o somatório desses sítios, bem como o percentual destes grupamentos estão disposto como grupo 1. Da mesma forma os sítios 4 e 5 referem-se a grupamentos fenólicos com os respectivos valores de cmol_ckg⁻¹; o somatório desses sítios, bem como o percentual destes grupamentos estão dispostos como grupo 2.

Tabela 8. Valores de sítios ativos H⁺, em cmol_ckg⁻¹, obtidos a partir da tabela dos volumes parciais dos ácidos húmicos extraídos de solo, especificando os grupos funcionais carboxílicos (GRUPO 1) e fenólicos (GRUPO 2) presentes na amostragem analisada.

Nº	AH	Sítios					Total	GRUPO 1		GRUPO 2	
		1	2	3	4	5		?	%	?	%
1	CA ₁	191,4	149,0	108,4	57,22	62,07	568,1	448,8	79,0	119,3	21,0
2	CA _{2A}	189,4	138,6	110,5	57,92	60,20	556,5	438,4	78,8	118,1	21,2
3	CA ₃	100,7	120,0	94,75	52,05	66,46	434,0	315,5	72,7	118,5	27,3
4	CA ₄	88,15	129,3	77,92	47,03	61,08	403,5	295,38	73,2	108,1	26,8
5	CA ₅	343,9	182,3	127,8	74,76	95,23	823,9	653,9	79,4	169,9	20,6
6	CA ₆	102,1	109,6	102,5	56,75	60,37	431,3	314,2	72,8	117,1	27,2
7	CD ₁	86,80	137,8	72,97	50,66	72,23	420,5	297,6	70,8	122,9	29,2
8	CD ₂	119,9	142,2	97,32	59,28	68,74	487,5	359,5	73,7	128,0	26,2
9	CD ₃	97,34	123,1	85,99	52,76	56,97	416,2	306,5	73,6	109,7	26,4
10	CD ₄	104,5	100,0	68,96	58,79	74,74	407,0	273,5	67,2	133,5	32,8
11	CD ₅	158,2	127,8	112,3	61,61	67,05	526,9	398,2	75,6	128,6	24,4

(Continuação)

Nº	AH	Sítios					Total	GRUPO 1		GRUPO 2	
		1	2	3	4	5		Valor	%	Valor	%
12	CD ₆	99,92	109,6	106,8	68,08	50,19	434,6	316,3	72,8	118,3	27,2
13	CD ₇	257,4	174,9	123,2	74,28	95,22	725,1	555,6	76,6	169,5	23,4
14	CP ₁	125,3	118,6	92,09	49,50	61,05	446,6	336,0	75,2	110,5	24,7
15	CP ₂	212,9	187,7	79,98	71,67	78,95	471,2	320,6	68,0	150,6	31,9
16	CP ₄	181,4	139,5	105,1	58,71	74,27	559,0	426,1	76,2	133,0	23,8
17	CP ₆	216,9	160,9	101,3	72,08	107,0	658,3	479,2	72,8	179,1	27,2
18	CP ₈	249,8	127,6	125,4	85,17	54,03	642,1	502,9	78,3	139,2	21,7
19	CP ₉	199,8	180,9	119,2	68,86	94,45	663,2	499,9	75,4	163,3	24,6
20	DI ₁	118,0	144,8	114,9	37,20	44,07	459,0	377,7	82,3	81,3	17,7
21	DI ₂	167,8	179,4	112,4	73,56	86,17	619,4	459,6	74,2	159,7	25,8
22	DI _{3A}	53,20	181,3	177,2	85,56	86,00	583,4	411,8	70,6	171,6	29,4
23	IB ₂	152,0	124,6	102,2	54,77	67,22	500,8	378,8	75,6	122,0	24,3
24	IB ₃	229,7	177,5	141,8	64,30	69,48	682,8	549,0	80,4	133,8	19,6
25	IB ₄	217,9	102,5	117,7	99,17	57,11	594,5	438,2	73,7	156,3	26,3
26	IB ₅	200,4	167,9	128,5	69,72	75,96	642,4	496,7	77,3	145,7	22,7
27	IB ₆	214,2	114,9	111,9	71,11	50,64	562,7	441,0	78,4	121,7	21,6
28	IB ₇	179,1	137,5	114,5	60,68	65,94	557,7	431,1	77,3	126,6	22,7
29	IB _{8B}	184,1	163,1	110,7	71,18	87,20	616,3	457,9	74,3	158,4	25,7
30	IB _{9A}	224,2	170,2	105,0	65,04	75,73	640,1	499,3	78,0	140,8	22,0
31	IB _{9B}	148,9	166,9	143,9	61,18	52,29	573,2	459,7	80,2	113,5	19,8
32	IB _{10A}	235,1	130,0	112,2	63,33	44,16	584,8	477,3	81,6	107,5	18,4
33	IB _{12A}	209,2	156,9	108,9	60,25	63,31	598,6	475,0	79,3	123,6	20,6
34	IB _{12B}	211,2	151,9	112,2	66,24	69,48	611,0	475,3	77,8	135,7	22,2
35	IB _{13B}	153,7	179,7	101,9	60,61	69,20	565,2	435,4	77,0	129,8	23,0
36	IC _{2A}	183,0	146,3	105,2	56,07	64,10	554,8	434,6	78,3	120,2	21,7
37	IC _{2B}	190,4	155,1	122,7	64,91	66,99	600,2	468,3	78,0	131,9	22,0
38	IC ₃	192,3	113,3	70,11	101,7	91,63	569,0	375,7	66,0	193,3	34,0
39	IC ₄	237,9	164,3	104,8	69,41	85,82	662,3	507,1	76,6	155,2	23,4
40	IC ₆	194,7	165,1	107,9	75,56	88,56	631,9	467,8	74,0	164,1	26,0
41	IC ₇	226,1	177,9	172,7	75,76	89,93	742,5	576,8	77,7	165,7	22,3
42	IT ₁	207,4	157,1	92,49	69,47	86,85	613,3	457,0	74,5	156,3	25,5
43	IT ₂	259,1	134,1	113,7	79,92	54,27	641,1	507,0	79,1	134,2	20,9
44	IT ₃	298,7	158,3	127,2	70,99	79,74	735,0	584,3	79,5	150,7	20,5
45	IT ₄	220,7	115,2	123,5	99,71	58,24	617,4	459,5	74,4	158,0	25,6
46	IT ₅	278,8	53,67	123,2	92,10	52,71	600,6	455,8	75,9	144,8	24,1
47	IT ₆	223,6	110,1	130,0	98,45	54,96	617,1	463,7	75,1	153,4	24,8
48	IT ₇	269,2	145,1	138,0	93,44	60,08	705,8	552,3	78,2	153,5	21,7
49	IT ₈	284,8	156,8	136,4	89,96	60,93	728,8	577,9	79,3	150,9	20,7
50	LT ₁	230,7	160,5	108,4	62,90	70,07	632,5	499,5	79,0	133,0	21,0
51	LT ₂	320,5	167,7	183,4	102,8	78,64	853,1	671,6	78,7	181,5	21,3
52	LT ₃	308,0	44,55	144,1	112,3	64,90	673,9	496,6	73,7	177,2	26,3
53	LT ₄	238,6	148,4	97,99	57,42	68,08	610,5	485,0	79,4	125,5	20,5
54	LT ₅	174,6	153,6	98,33	61,48	65,32	553,4	426,6	77,1	126,8	22,9

(Continuação)

N°	AH	Sítios					Total	GRUPO 1		GRUPO 2	
		1	2	3	4	5		Valor	%	Valor	%
55	LT ₆	236,8	112,3	89,90	74,56	50,43	563,9	438,9	77,8	125,0	22,2
56	LT ₇	261,2	127,9	98,48	71,94	51,53	611,1	487,6	79,8	123,5	20,2
57	LT ₈	168,9	110,9	96,53	74,42	53,82	504,6	376,3	74,6	128,2	25,4
58	SB ₁	321,5	177,2	133,9	67,87	84,07	784,5	632,6	80,6	151,9	19,4
59	SB ₂	106,2	82,01	137,3	98,88	60,90	485,3	325,5	67,1	159,8	32,9
60	SB ₃	121,8	116,4	94,32	80,66	61,64	474,8	332,5	70,0	142,3	30,0
61	SB ₅	269,3	120,8	124,3	80,39	57,04	651,8	514,4	78,9	137,4	21,1
62	SB ₆	281,1	144,1	120,9	83,45	74,93	704,5	546,2	77,5	158,4	22,5
63	SB ₇	299,4	123,0	120,4	75,20	58,51	676,5	542,8	80,2	133,7	19,8
64	SB ₈	93,88	122,0	114,0	73,48	51,13	454,5	329,9	72,6	124,6	27,4
65	SB _{9A}	187,4	147,3	138,1	69,46	89,11	631,4	472,8	74,9	158,6	25,1
66	SB ₁₀	172,7	111,4	112,3	94,33	63,69	554,4	396,3	71,5	158,0	28,5
67	SB ₁₁	133,0	132,3	103,0	80,36	76,25	524,8	368,2	70,2	156,6	29,8
68	SV ₂	252,1	147,0	145,7	103,2	67,83	715,8	544,8	76,1	171,0	23,9
69	SV ₅	322,8	165,8	178,1	112,5	67,52	846,7	666,7	78,7	180,0	21,2
70	SV ₆	256,8	165,1	111,3	63,54	70,12	666,9	533,3	79,9	133,7	20,0
71	SV ₈	306,2	169,8	117,4	66,54	76,78	736,6	593,3	80,5	143,3	19,4
72	SV ₉	301,5	127,9	117,2	97,78	60,38	704,8	546,7	77,6	158,2	22,4

Os resultados obtidos para os cinco grupos tituláveis dos ácidos húmicos são compatíveis com os resultados da literatura. A tabela 9 mostra os valores de pK_a médio de cada grupo titulável do ácido húmico, para as amostras analisadas, juntamente com valores de ALEIXO et. al (1992) em estudo de substâncias húmicas, onde seis grupos tituláveis foram obtidos.

Observa-se também, na tabela 9, que os valores de pK_a obtidos pelo programa de regressão multiparamétrica não-linear se dividem em duas regiões, sendo a que possui $pK_a < 7$, constituída por três classes de grupos tituláveis (AH_1 , AH_2 , e AH_3) cuja região de pH típica de grupamentos carboxílicos e uma outra que possui $pK_a > 7$, contendo uma classe de grupos tituláveis (AH_5), atribuídas a grupamentos fenólicos. Os valores do grupamento AH_4 ora se encaixa no grupo 1 ora no grupo 2. Enquanto, os dados obtidos por ALEIXO et. al (1992) se dividem igualmente em duas classes tituladas em uma região de pH típica para grupamentos carboxílicos (AH_1 , AH_2 e AH_3), sendo $pK_a < 7$, e as outras duas (AH_4 e AH_5) atribuídas a grupamentos fenólicos com $pK_a > 7$.

Tabela 9. Valores médios de pK_a obtidos pelo programa de ajuste por regressão multiparamétrica não-linear das curvas de titulação potenciométrica dos ácidos húmicos extraídos de solo sob vegetação rupestre de altitude, comparados aos valores obtidos por ALEIXO et. al. (1992).

	AH ₁	AH ₂	AH ₃	AH ₄	AH ₅
1) pK_a	2,29	4,09	5,48	7,07	8,64
2) pK_a	3,39	4,78	6,06	7,44	9,03

1) Dados deste trabalho e 2) ALEIXO et. al (1992).

4.2. Análise das componentes principais dos dados potenciométricos

Os dados potenciométricos (volumes parciais e valores de pK_a – variáveis) foram tratados no programa “PCA” no ambiente MatLab, usando uma matriz 72 x 10 (72 amostras e 10 variáveis), obtendo-se um modelo que explica 90,39% da variância total dos dados originais. Para este modelo os dados foram escalonados de maneira que o conjunto de dados apresentasse uma distribuição numérica centrada na média destes valores. Com os dados escalonados foi efetuada a análise das componentes principais verificando-se que as três primeiras componentes principais (CP) explicam quase toda a informação estatística do modelo.

O número de CP usado foi baseado no gráfico da figura 27, que trás informações suficientes para tomada de decisão sobre o número de componentes principais que deve ser utilizado na análise. O que é confirmado no gráfico da figura 28, onde se tem uma distribuição das variáveis em três regiões distintas, A, B e C, obtidas de acordo com a separação feita pela “PCA” explicando 84,01% da variância total. Pode-se concluir que as variáveis presentes numa determinada região carregam a “mesma” informação estatística do modelo.

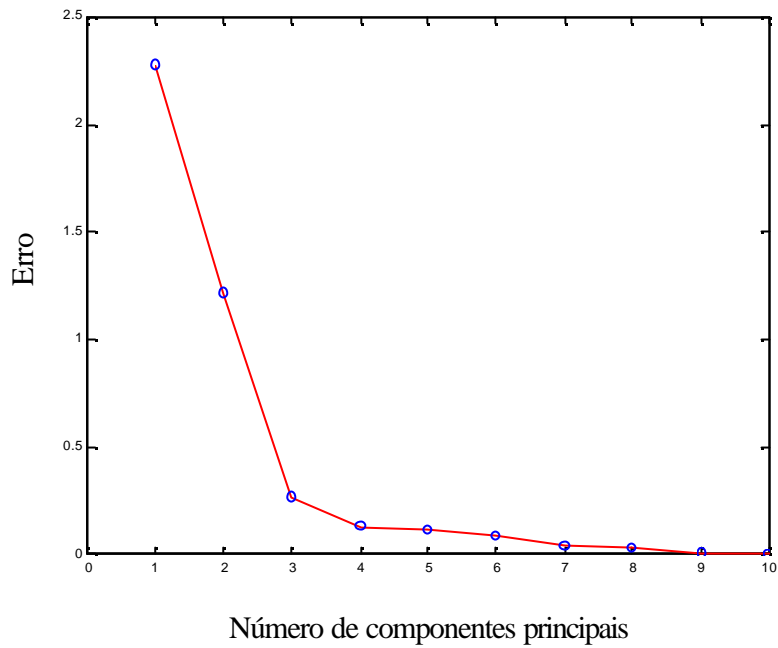


Figura 27. Gráfico do número de componentes principais para os dados potenciométricos das 72 amostras.

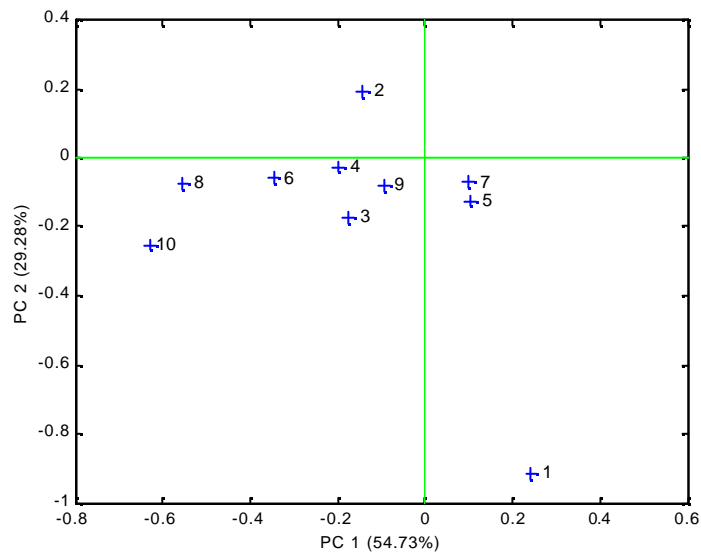


Figura 28. Gráfico da análise das componentes principais, PC1 vs PC2 para as variáveis do modelo.

Na figura 29, observa-se numa forma gráfica tridimensional a distribuição das amostras pelo modelo que explica 90,39% da variância total dos dados, sendo 54,73%

explicada pela componente principal 1 (PC1), 29,28% pela componente principal 2 (PC2) e 6,38% explicada pela componente principal 3 (PC3).

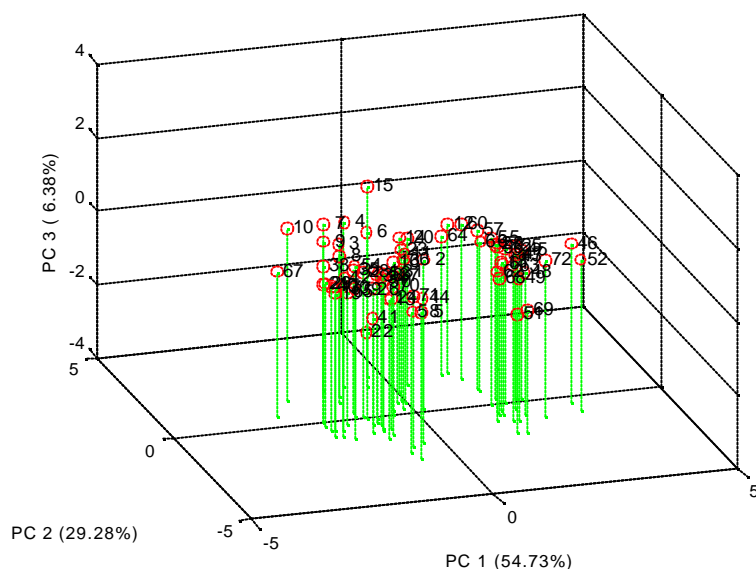


Figura 29. Gráfico da análise das componentes principais, PC1 vs PC2 vs PC3 para os dados potenciométricos das 72 amostras.

Para facilitar a interpretação e visualização da participação efetiva de cada componente principal na distribuição das amostras, foram traçados gráficos bidimensionais como se pode observar nas figuras 30 a 32.

Na figura 30, verifica-se uma separação relativa das amostras, em duas regiões pela componente principal 1, que explica 54,73% da variância. Esta aparente separação se deve aos diferentes percentuais de sítios ativos presentes nas amostras analisadas, devido às amostras terem sido coletadas em locais distintos e os ácidos húmicos não apresentarem estrutura química definida, como exposto na figura 7.

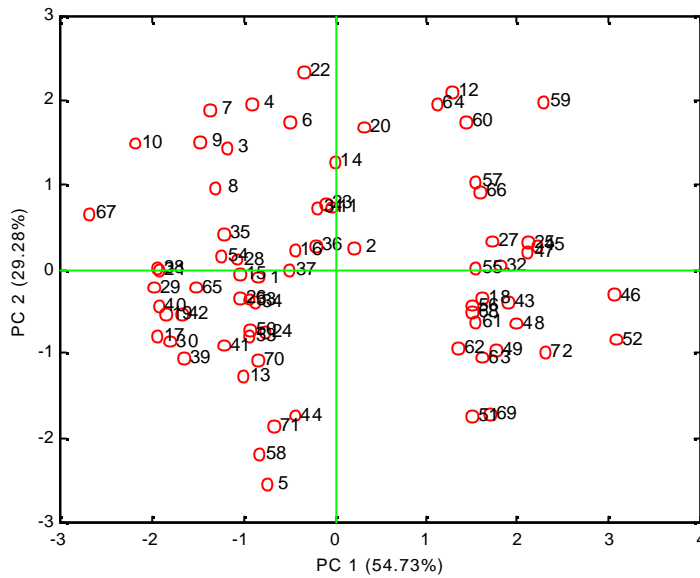


Figura 30. Gráfico da análise das componentes principais, PC1 vs PC2 para os dados potenciométricos das 72 amostras.

A existência dos dois agrupamentos citados anteriormente é confirmada quando observamos o gráfico da figura 31, que apresenta PC1 vs PC3. Neste gráfico nota-se que a PC1 é responsável por essa separação explicando 52,03% da variância.

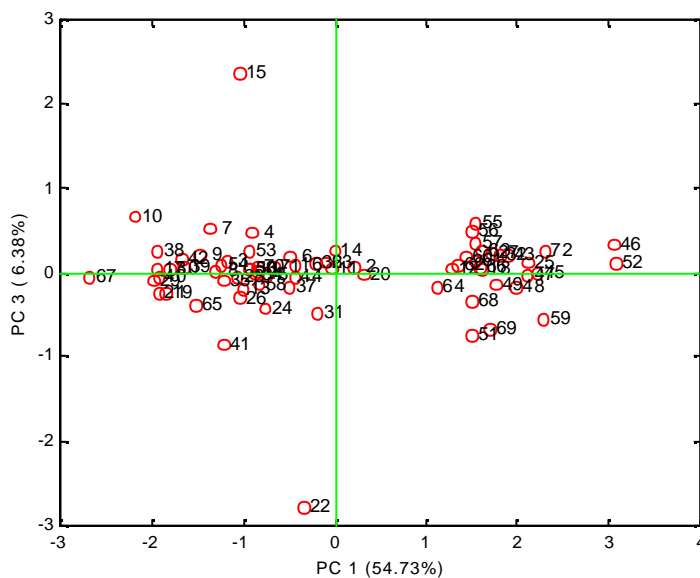


Figura 31. Gráfico da análise das componentes principais, PC1 vs PC3 para os dados potenciométricos das 72 amostras.

Por outro lado, na figura 32 tem-se o gráfico PC2 vs PC3, no qual pode-se observar a ocorrência de um único grupo, ou seja, não houve separação, o que era de se esperar, pois as contribuições destas componentes principais somadas é inferior ao valor da componente principal 1.

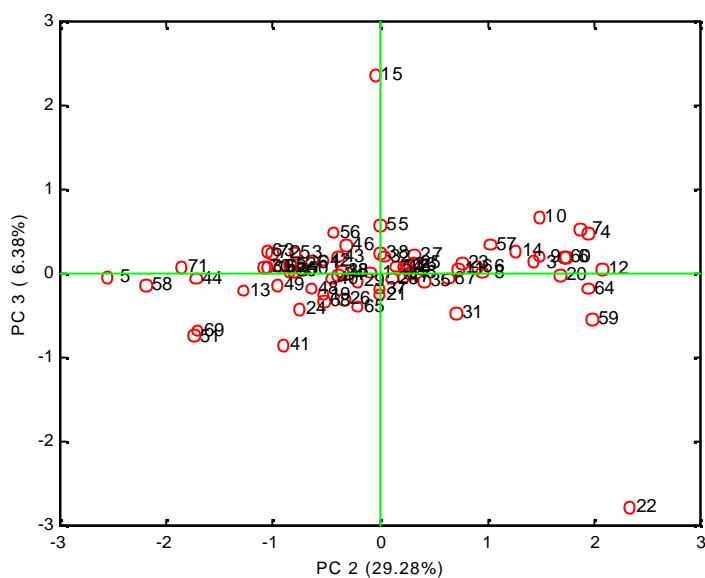


Figura 32. Gráfico da análise das componentes principais, PC2 vs PC3 para os dados potenciométricos das 72 amostras.

5. CONCLUSÕES

O programa de ajuste por regressão multiparamétrica não-linear, anteriormente desenvolvido na linguagem QuickBasic, versão 4.5, para ambiente DOS, foi modificado para a linguagem Delphi para ambiente gráfico Windows, possibilitando uma interação mais fácil e amigável com o usuário.

O algoritmo deste programa mostrou-se eficiente na determinação dos valores das constantes de ionização dos ácidos (pK_a), distinguindo cinco grupos tituláveis nos ácidos húmicos analisados. As curvas de titulação foram ajustadas de forma satisfatória, ocorrendo sobreposição quase total das curvas experimentais e curvas ajustadas.

A análise das componentes principais dos dados potenciométricos não evidenciou separação entre as amostras. Assim, as características dos ácidos húmicos evidenciadas por titulação potenciométrica refletem as condições nas quais foi formado, apesar de não possibilitar uma separação efetiva entre os grupos. Pois todas as amostras foram extraídas, fracionadas e purificadas, acarretando uma homogeneidade entre elas, não permitindo reconhecimento de padrões entre as mesmas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEIXO, L. M., GODINHO, O. E. S., COSTA, W. F. Potentiometric study of acid-base properties of humic acid using linear functions for treatment of titration data. **Analytica Chimica Acta**, v. 257, p. 35-39, 1992.
- BENITES, V. M. **Caracterização química e espectroscópica da matéria orgânica e suas relações com a gênese de solos da Serra do Brigadeiro, Zona da Mata Mineira**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 139p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- BENITES, V. M. **Caracterização de solos e de substâncias húmicas em áreas de vegetação rupestre de altitude**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 74p. Tese (Doutorado em Solos) - Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- BENITES, V. M.; MENDONÇA, E. S.; SCHAEFER, C. E. G.; NOVOTNY, E. H.; REIS, E. L.; KER, J. C. Properties of black soil humic acids from high altitude rocky complexes in Brazil. **Geoderma**, 126, 2005 (No prelo).
- BORLAND, **Delphi 4.0**, Borland, Scotts Valley, CA, 1998.
- BRINTON, W. F. J. The effect of different fertilizer treatments on humus quality. **Compost Science**, v. 5, p. 38-41, 1979.
- BRUNS, R. E.; NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2 ed. - Campinas: UNICAMP, 2002. 401p.
- BRUNS, R. E., FAIGLE, J. F. G. Quimiometria. **Química Nova** v. 8, p. 84-99, n. 2, 1985.
- CUNHA, I. B. S. **Manipulação gravimétrica automática de soluções**. Campinas, SP: UNICAMP, 1994. 77p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, 1994.
- EGREJA-FILHO, F. B.; REIS, E. L.; PEREIRA-NETO, J. T.; JORDÃO, C. P. Avaliação quimiométrica da distribuição de metais pesados em composto de lixo urbano domiciliar. **Química Nova**, v. 22, p. 324-328, n. 3, 1999.
- GONZAGA, F. B.; REIS, E. L.; GUIMARÃES, C. R.; REIS, C. Sistema de titulação potenciométrica automatizado gerenciado por "software" desenvolvido em visual basic. IN: 22^a Reunião Anual da SBQ, Poços de Caldas, MG. **Anais...** 1999.
- GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial Least Squares Regression: A Tutorial **Analytica. Chimica. Acta**, v. 185, p. 1-17, 1986.

GUIMARÃES, C. R., **Avaliação das características físico-químicas de ácidos húmicos em diferentes etapas da vermicompostagem, através de técnicas quimiométricas de reconhecimento de padrões**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 163p. Dissertação (mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

KLÖCKING, R. Humic substances in the global environment and implications on human health. In: SENESI, N., MIANO, T. M. **Elsevier Scienc B. V** [s. n. t.] p. 1242-1257, 1994.

LIBERATO, J. R., CRUZ, C. D., VALE, F. X. R., ZAMBOLIM, L. Técnicas estatísticas de análise multivariada aplicada à fitopatologia. I. Análise de componentes principais, análise canônica e “cluster análise”. **Revista Anual de Patologia de Plantas**, v. 3, 277-281, 1995.

LINDBERG, W.; KOWALSKI, B. Evaluation of potentiometric acid-base titration by partial-least-squares calibration. **Analytica Chimica Acta**, v. 206, p. 125-135, 1988.

MALCOLM, R. L. The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 232, p. 19-30, 1990.

MASINI, J. C.; ABATE G. & LIMA E. C. Comparison of methodologies for determination of carboxylic and phenolic groups in humic acids. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 364, p. 223-233, 1998.

MASINI, J. C. Caracterização Ácido-Base da Superfície de Espécies Mistas da Alga Spirulina Através de Titulação Potenciométrica e modelo de distribuição de sítios discretos. **Química Nova**, v. 22, p. 679-683, n. 5, 1999.

MANUNZA, B., GESSA, C., DEIANA, S., RAUSA, R. A normal distribution model for the titration curves of humic acids. **Journal of Soil Science**, v. 43, p. 127-131, 1992.

MARQUADT, D. W. An algorithm for least squares estimation of nonlinear parameters. *J. Soc. Ind. Appl. Maths.*, v. 2, p. 431-41, 1963. In: REGAZZI, A. J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Ceres**, 50 (287), p. 9-26, 2003.

MATH WORKS, Matlab, **MathWorks**, Natick, MA, 1993.

MENDHAM, J; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. Vogel – **Análise Química Quantitativa**. 6 ed. - Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2002. 462 p.

MICROCAL, Origin 6.01, **Microcal**, Northampton, MA, 1999.

PEHRSSON, L., INGMAN, F., JOHANSSON, A. Acid-base titrations by stepwise additions of equal volumes of titrant with special reference to automatic titrations. 1. theory, discussion of gran functions, hofstee method and 2 proposed methods for calculating equivalence volumes. **Talanta**, v. 23, p. 769-780, 1976.

REGAZZI, A. J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Ceres**, v. 50, p. 9-26, n. 287, 2003.

REIS, E. L.; EIRAS, S. P.; FARIA, L. C.; BATISTA, C. M.; BRUNS, R. E. Distribuição de Cu, Zn, Mn e B no Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*): aplicação de Métodos Estatísticos Multivariados. **Ceres**, v. 223, p. 195-207, n. 39, 1992.

REIS, B. F.; GODINHO, O. E. S.; COSTA, W. F.; ALEIXO, L. M. Desenvolvimento de um microcomputador dedicado para controle e aquisição de dados em titulação potenciométrica. **Química Nova**, v.10, p. 266-269, n. 4, 1987.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias Húmicas Aquáticas – Interação com Espécies Metálicas**. São Paulo: UNESP, 2003. 126p.

SANTISTEBAN, A. J.; SOUZA, S. M.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. Estudo das características físico-químicas do ácido húmico de vermicomposto e de vermicomposto. In: 2^o. ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, São Carlos, 1997. **Anais...** São Carlos: CNPDIA, p.129, 1997.

SCHULTEN, H. R., SCHNITZER, M. Chemical model structures for soil organic matter and soils. **Soil Science**, v. 162, p. 115-130, 1997.

SEALE, S. R. Linear models. New York, John Wiley & Sons, 1971. 532 p. In: REGAZZI, A. J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Ceres**, v. 50, p. 9-26, n. 287, 2003.

SKOOG, D. A.; LEARY, J. J. **Principles of Instrumental analysis**. Saunders College Publishing. 4 ed., 1992. 848 p.

SOUZA, G. S. Introdução aos modelos de regressão linear e não linear. Brasília, Embrapa – Serviço de Produção de Informação, 1998. 505p. In: REGAZZI, A. J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Ceres**, v. 50, p. 9-26, n. 287, 2003.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**. New York: Wiley, 1982. 443p.

TOLEDO, A. P. P. **Contribuição ao estudo físico-químico de ácido húmico extraído de sedimento**. São Paulo: USP, Instituto de Química, 1973. 155p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de São Paulo, 1973.