



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**TESE DE DOUTORADO**

**Um Espectrômetro Microcontrolado Baseado em  
LED Branco como Fonte de Radiação e Mídia  
de CD como Grade de Difração**

**José Germano Véras Neto**

*João Pessoa – PB - Brasil*

*Maio/2008*

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

## **TESE DE DOUTORADO**

**Um Espectrômetro Microcontrolado Baseado em  
LED Branco como Fonte de Radiação e Mídia  
de CD como Grade de Difração**

**José Germano Vêras Neto**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Química.

1º Orientador: **Edvan Cirino da Silva**

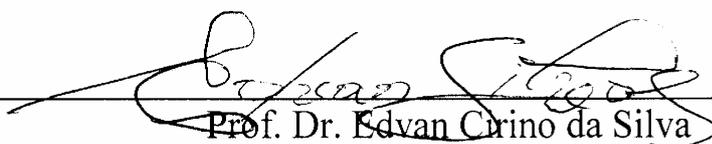
2º Orientador: **Sérgio Ricardo Bezerra dos Santos**

*João Pessoa – PB - Brasil*

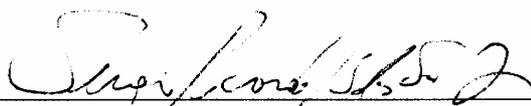
*Maio/2008*

# Um Espectrômetro Microcontrolado Baseado em LED Branco como Fonte de Radiação e Mídia de CD como Grade de Difração.

Aprovada pela banca examinadora:



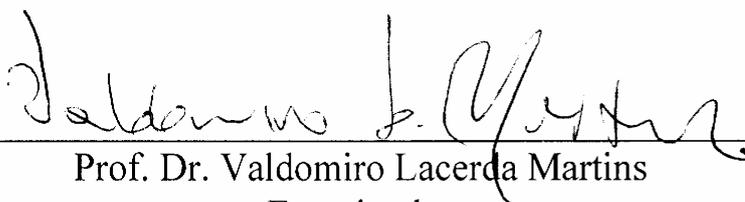
Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva  
Orientador/Presidente



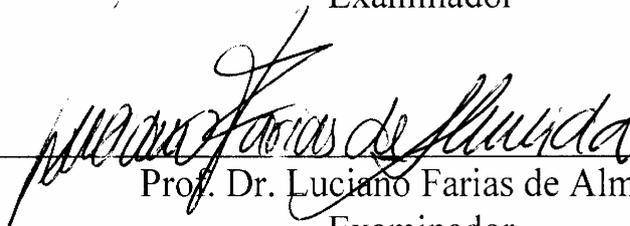
Prof. Dr. Sérgio Ricardo Bezerra dos Santos  
2º. Orientador



Prof.ª Dr.ª Ana Paula Silveira Paim  
Examinadora



Prof. Dr. Valdomiro Lacerda Martins  
Examinador



Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida  
Examinador



Prof. Dr. Everaldo Paulo de Medeiros  
Examinador

À minha filha, Mariana Medeiros  
Véras, que com ela aprendi a ser  
gente. Aprendi os ensinamentos do  
amor pleno, que nada pede e que  
tudo dá. DEDICO.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha esposa Ana Cláudia, pelo amor e compreensão incomensuráveis.

Aos meus pais, Helena e Anselmo, pelo amor dedicado.

Aos meus irmãos, Heloísa, Gerlane e Anselmo Jr., e aos meus sobrinhos pelo carinho.

Aos meus sogros, Ademar e Jandira, que me acolheram como filho.

A Valdomiro, Josenita, Luciano e Everaldo pela amizade.

A Sérgio, meu orientador, que acreditou em mim e me apoiou incessantemente.

A Edvan, meu orientador, que contribuiu para minha formação científica e para o desenvolvimento desta tese.

A Sófacles, Wellington e Thiago que muito me ajudaram a desenvolver este trabalho.

A todos que compõem o LAQA meu carinho e apreço. Não os cito nominalmente para não cometer omissões.

Ao professor Paulo César de Oliveira, coordenador do Laboratório de Óptica Não-Linear, pela disponibilização da infra-estrutura para a realização da calibração do espectrômetro proposto.

Ao professor Mário Ugulino, um agradecimento especial, pela orientação em minha iniciação científica e no mestrado, além de continuar contribuindo com minha formação através de seus ensinamentos.

Ao Departamento de Química da Universidade Estadual da Paraíba,  
que me permitiu doutorar, compondo minhas atividades acadêmicas de  
maneira a poder desenvolver as atividades de pesquisa.

“Não há ensino sem pesquisa e pesquisa sem ensino. Esses que-fazer-se encontram um no corpo do outro. Enquanto ensino continuo buscando, reprocurando. Ensino porque busco, porque indaguei, porque indago e me indago. Pesquiso para constatar, constatando, intervenho, intervindo, educo e me educo. Pesquiso para conhecer o que ainda não conheço e comunicar ou anunciar a novidade”.

Paulo Freire, *Pedagogia da Autonomia*

## SUMÁRIO

	Página
<b><u>RESUMO</u></b> .....	x
<b><u>ABSTRACT</u></b> .....	xi
<b><u>LISTA DE FIGURAS</u></b> .....	xii
<b><u>LISTA DE TABELAS</u></b> .....	xiv
<b><u>NOMENCLATURAS, ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS</u></b> .....	xvi
<b>1 - <u>INTRODUÇÃO</u></b> .....	01
<b>1.1 - Métodos Espectrométricos</b> .....	02
<b>1.2 - Instrumentação para EAM UV/Vis</b> .....	03
<b>1.2.1 - Fontes de radiação</b> .....	04
1.2.1.1 - Lâmpada com Filamento de Tungstênio.....	04
1.2.1.2 - Diodo Emissor de Luz.....	04
1.2.1.2.1 - Uso de LED em instrumentação analítica.....	05
1.2.1.2.2 - Uso de LED em medidas espectrométricas.....	07
1.2.1.2.3 - Uso de mais de um LED como fonte de radiação.....	07
1.2.1.2.4 - LED branco.....	11
1.2.1.2.5 - Uso do LED branco em instrumentação analítica.....	12
<b>1.2.2 - Sistema seletor de radiação</b> .....	13
<b>1.2.3 – Fototransdutor</b> .....	16
<b>1.3 – Apresentação e Objetivo do Trabalho</b> .....	19
<b>2 - <u>ESPECTRÔMETRO PROPOSTO</u></b> .....	20
<b>2.1 – Descrição do Espectrômetro</b> .....	21
<b>2.1.1 - Sistema óptico-mecânico</b> .....	22
2.1.1.1 - Lente Focalizadora.....	23
2.1.1.2 – Mídia de CD como Dispensor.....	23
2.1.1.3 - Motor de Passos com Redutores.....	23
<b>2.1.2 - Circuito eletrônico</b> .....	25
2.1.2.1 - Fonte de Alimentação.....	25

	Página
2.1.2.2 - Circuito Eletrônico do Microcontrolador e do Mostrador.....	26
2.1.2.3 - Circuito Eletrônico do Módulo da Fonte de Radiação.....	27
2.1.2.4 - Circuito Eletrônico do Módulo de Aquisição de Sinais.....	29
2.1.2.5 - Circuito Eletrônico do Módulo de Acionamento do Motor de Passos.....	34
2.1.2.6 - Circuito Eletrônico do Módulo do Detector de Início de Curso.....	34
2.1.2.7 - Circuito Eletrônico de Comunicação do Analista com o Instrumento.....	35
2.1.2.8 - Circuito Eletrônico de Leitura de Sinais Multivariados.....	37
<b>2.1.3 – Programa computacional</b> .....	<b>37</b>
2.1.3.1 - Ajuste do Ponto Inicial.....	38
2.1.3.2 - Seleção do Tipo de Análise.....	38
2.1.3.3 - Medida de Sinal.....	39
<b>3 - <u>MATERIAL E MÉTODOS</u></b> .....	<b>40</b>
<b>3.1 – Reagentes, Soluções e Amostras</b> .....	<b>41</b>
<b>3.2 – Material e Equipamentos</b> .....	<b>42</b>
<b>3.3 – Avaliação de Performance do Instrumento Proposto</b> .....	<b>43</b>
<b>3.3.1 – Calibração do instrumento</b> .....	<b>43</b>
3.3.1.1 - Estabilidade da Fonte.....	43
3.3.1.2 – Relação entre Número de Passos e Comprimento de Onda.	43
<b>3.3.2 – Calibração univariada</b> .....	<b>43</b>
3.3.2.1 - Figuras de Mérito para Análise Univariada.....	43
3.3.2.2 – Procedimento Adotado para Estimar as Figuras de Mérito...	45
3.3.2.3 – Teste de Recuperação.....	47
<b>3.3.3 – Calibração multivariada</b> .....	<b>47</b>
3.3.3.1 – Métodos para Calibração Multivariada.....	47
3.3.3.2 - Planejamento Experimental Brereton.....	50
3.3.3.3 - Preparação das Misturas de Corantes.....	53
3.3.3.4 – Tratamento dos Dados Multivariados.....	55

	Página
<b>4 - <u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u></b> .....	56
<b>4.1 – Performance do Instrumento Proposto</b> .....	57
<b>4.1.1 - Estabilidade da fonte</b> .....	57
<b>4.1.2 - Relação entre número de passos e comprimento de onda</b> .....	57
<b>4.2 – Aplicações Analíticas</b> .....	59
<b>4.2.1 – Calibração univariada</b> .....	59
4.2.1.1 - Determinação do Corante Vermelho-40.....	60
4.2.1.2 - Determinação do Corante Amarelo Crepúsculo.....	62
4.2.1.3 - Determinação do Corante Tartrazina.....	64
4.2.1.4 - Determinação do Corante Azul Brilhante.....	65
4.2.1.5 - Determinação de Fe <sup>2+</sup> em Polivitamínicos.....	69
4.2.1.6 – Teste de Recuperação.....	70
<b>4.2.2 – Calibração multivariada</b> .....	71
4.2.2.1 – Construção e Aplicação dos Modelos MLR.....	73
<b>5 – <u>CONCLUSÕES E PROPOSTAS FUTURAS</u></b> .....	75
<b>5.1 – Conclusões</b> .....	76
<b>5.2 – Propostas Futuras</b> .....	77
<b><u>REFERÊNCIAS</u></b> .....	78
<b><u>ANEXO</u></b> .....	88

## **RESUMO**

### **Um Espectrômetro Microcontrolado Baseado em LED Branco como Fonte de Radiação e Mídia de CD como Grade de Difração**

Autor: **José Germano Vêras Neto**

1º Orientador: **Edvan Cirino da Silva**

2º Orientador: **Sérgio Ricardo Bezerra dos Santos**

Um espectrômetro microcontrolado, portátil e de baixo custo é proposto neste trabalho. Este instrumento combina o uso de uma mídia de CD (do inglês "Compact Disc") como grade de difração e diodo emissor de luz (LED, do inglês "Light-Emitting Diode") branco como fonte de radiação. Além disso, emprega um fototransistor com sensibilidade espectral na região do visível como fototransdutor, bem como um microcontrolador PIC (do inglês "Programmable Interrupt Controller") como unidade de controle. Por este motivo, uma considerável autonomia é obtida pelo instrumento. Sua performance foi avaliada por meio de análises quantitativas envolvendo calibrações uni e multivariada. No primeiro caso, o instrumento foi aplicado para determinação de corantes alimentícios (tartrazina, amarelo crepúsculo, azul brilhante e vermelho-40) em amostras sintéticas e  $\text{Fe}^{2+}$  em amostras de soluções orais de polivitamínicos. Para fins de comparação, dois espectrômetros comerciais foram empregados. Para os resultados de concentração obtidos com os três instrumentos, não houve diferenças significativas aplicando o teste *t*-emparelhado ao nível de 95 % de confiança. Além disso, resultados precisos nas concentrações dos analitos foram obtidos usando o espectrômetro proposto. O Desvio Padrão Relativo (DPR) conjunto de cada analito foi menor que 1,0 %. Na calibração multivariada, o espectrômetro proposto foi aplicado para determinação de tartrazina, amarelo crepúsculo e vermelho-40 em misturas. Para isso, os modelos foram construídos por regressão linear múltipla (MLR, do inglês "Multiple Linear Regression") baseados em seleção de variáveis pelo algoritmo das projeções sucessivas (SPA, do inglês "Successive Projections Algorithm"). Nesta aplicação, os resultados foram similares àqueles obtidos usando um espectrômetro comercial. Além disso, o instrumento proposto oferece uma alternativa economicamente viável para análises químicas espectrométricas especialmente em laboratórios de pequenas rotinas, de pesquisa e/ou de ensino, porque seus componentes são baratos e de fácil aquisição.

Palavras-chave: LED branco; mídia de CD; microcontrolador; espectrômetro no visível; corantes alimentícios; ferro (II).

## **ABSTRACT**

### **A Microcontrolled Spectrometer Based on White LED as Radiation Source and CD Media as Diffraction Grid**

Author: **José Germano Vêras Neto**

1<sup>st</sup> Supervisor: **Edvan Cirino da Silva**

2<sup>nd</sup> Supervisor: **Sérgio Ricardo Bezerra dos Santos**

A portable, microcontrolled and low-cost spectrometer is proposed in this work. This instrument combines the use of a Compact Disc (CD) media as diffraction grid and a white Light-Emitting Diode (LED) as radiation source. Moreover, it employs a phototransistor with spectral sensitivity in visible region as phototransducer, as well as a Programmable Interrupt Controller (PIC) microcontroller as control unit. For this reason, a considerable autonomy is achieved by instrument. Its performance was evaluated by means of quantitative analyses involving univariate and multivariate calibrations. In the first case, it was applied to determine of food colorants (tartrazine, sunset-yellow, brilliant-blue and allura red) in synthetic samples and Fe<sup>2+</sup> in samples of restorative oral solutions. For comparison, two commercial spectrometers were employed. The application of the *t*-paired test at the 95% confidence level revealed that there are not significant differences between the concentration values estimated by the three instruments. Furthermore, a good precision in the analyte concentrations was obtained by using the proposed spectrometer. The overall Relative Standard Deviation (RSD) of each analyte was smaller than 1.0 %. In multivariate calibration, the proposed spectrometer was applied to determine of tartrazine, sunset-yellow, and allura red in mixtures, using models based on Multiple Linear Regression (MLR) and variable selection by the Successive Projections Algorithm (SPA). In this application, the results were similar to those obtained by using a commercial spectrometer. Therefore, the proposed instrument offers an economically viable alternative for spectrometric chemical analysis in small routine, research and/or teaching laboratories, because its components are inexpensive and of easy acquisition.

Keywords: White LED; CD media; microcontroller; visible spectrometer; food colorants; iron (II).

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1. Espectro de emissão de um LED branco.....	11
Figura 2.1. Vista superior da parte interna do espectrômetro proposto.....	21
Figura 2.2. Vista frontal do espectrômetro proposto.....	22
Figura 2.3. Vista da grade de difração e do motor de passos com redutores.....	23
Figura 2.4. Fonte de alimentação do espectrômetro proposto.....	25
Figura 2.5. Circuito do microcontrolador.....	27
Figura 2.6. Circuito da fonte de radiação.....	28
Figura 2.7. Circuito de conversão corrente-tensão.....	30
Figura 2.8. Circuito do filtro Butterworth de dois pólos.....	31
Figura 2.9. Circuito de ganho e retificação.....	31
Figura 2.10. Circuito de detecção e retenção de pico.....	32
Figura 2.11. Circuito de ganho variável.....	33
Figura 2.12. Circuito para acionamento do motor de passos.....	34
Figura 2.13. Circuito do detector de fim de curso.....	35
Figura 2.14. Circuito eletrônico de comunicação do analista com o instrumento.....	36
Figura 2.15. Circuito eletrônico de leitura serial para análises multivariadas.....	36
Figura 2.16. Fluxograma do programa computacional.....	37
Figura 2.17. Tela do instrumento proposto para ajuste do ponto inicial.....	38
Figura 2.18. Tela do instrumento proposto para escolha do tipo de análise.....	39
Figura 2.19. Tela do instrumento proposto apresentando o resultado da análise de uma amostra em absorvância..	39
Figura 4.1. Relação entre número de passos e comprimento de onda.....	58

	Página
Figura 4.2.	Diferença entre dois comprimentos de onda vizinhos... 59
Figura 4.3.	Gráfico dos resíduos dos modelos de calibração para o corante vermelho-40..... 61
Figura 4.4.	Gráfico dos resíduos dos modelos de calibração para o corante amarelo crepúsculo..... 63
Figura 4.5.	Gráfico dos resíduos dos modelos de calibração para o corante tartrazina..... 66
Figura 4.6.	Gráfico dos resíduos dos modelos de calibração para o corante azul brilhante..... 68
Figura 4.7.	Espectros de absorção dos corantes puros registrados com o instrumento HP..... 71
Figura 4.8.	Espectros das misturas dos corantes registrados com o instrumento proposto..... 72
Figura 4.9.	Espectros das misturas dos corantes registrados com o instrumento HP..... 72
Figura 4.10.	Valores preditos versus valores esperados de concentração dos corantes nas misturas do conjunto de predição..... 74

## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 2.1. Atuação das bobinas do motor de passos.....	24
Tabela 3.1. Análise de variância (ANOVA) para o ajuste de um modelo pelo MMQ.....	45
Tabela 3.2. Etapa inicial da construção da matriz de planejamento Brereton com 03 níveis e 03 fatores.....	51
Tabela 3.3. Segunda etapa da construção da matriz de planejamento Brereton com 03 níveis e 03 fatores.....	52
Tabela 3.4. Matriz de planejamento Brereton com 03 níveis e 03 fatores do Fator 1.....	52
Tabela 3.5. Matriz completa do planejamento Brereton com 03 níveis e 03 fatores.....	53
Tabela 3.6. Concentração dos corantes do conjunto de calibração [mg L <sup>-1</sup> ].....	54
Tabela 3.7. Matriz de planejamento das misturas para conjunto de calibração [mg L <sup>-1</sup> ].....	54
Tabela 3.8. Concentração dos corantes do conjunto de predição [mg L <sup>-1</sup> ].....	54
Tabela 3.9. Matriz de planejamento das misturas para conjunto de predição [mg L <sup>-1</sup> ].....	55
Tabela 4.1. Comparação dos resultados de LOD, LOQ e LOL para a determinação do corante vermelho-40 entre os espectrômetros comerciais e o proposto.....	60
Tabela 4.2. Valores médios (n = 3) de concentração de vermelho-40 e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras sintéticas.....	62
Tabela 4.3. Comparação dos resultados de LOD, LOQ e LOL para a determinação do corante amarelo crepúsculo entre os espectrômetros comerciais e o proposto.....	62

	Página
Tabela 4.4. Valores médios (n = 3) de concentração de amarelo crepúsculo e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras sintéticas.....	64
Tabela 4.5. Comparação dos resultados de LOD, LOQ e LOL para a determinação do corante tartrazina entre os espectrômetros comerciais e o proposto.....	65
Tabela 4.6. Valores médios (n = 3) de concentração de tartrazina e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras sintéticas.....	65
Tabela 4.7. Comparação dos resultados de LOD, LOQ e LOL para a determinação do corante azul brilhante entre os espectrômetros comerciais e o proposto.....	67
Tabela 4.8. Valores médios (n = 3) de concentração de azul brilhante e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras sintéticas.....	67
Tabela 4.9. Valores médios (n = 3) de concentração de Fe <sup>2+</sup> e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras de soluções orais de polivitamínicos.....	69
Tabela 4.10. Resultados dos testes de recuperação nas determinações de Fe <sup>2+</sup> das formulações dos seis fabricantes de soluções orais de polivitamínicos comerciais.....	70
Tabela 4.11. Valores de RMSEP e número de variáveis para os três corantes.....	73

## **NOMENCLATURAS, ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

EAM UV/VIS	Espectrometria de Absorção Molecular na Região Ultravioleta-Visível.
LED	Diodo emissor de luz (do inglês "Light-Emitting Diode").
CCD	Dispositivo de carga acoplada (do inglês "Charged Coupled Device").
CD	Disco compacto (do inglês "Compact Disc").
LCD	Mostrador de cristal líquido (do inglês "Liquid Cristal Display").
LOD	Limite de detecção (do inglês "Limit Of Detection").
LOQ	Limite de quantificação (do inglês "Limit Of Quantification").
LOL	Limite de linearidade (do inglês "Limit Of Linearity").
MMQ	Método dos Mínimos Quadrados.
ANOVA	Análise de variância (do inglês "Analysis of Variance").
MLR	Regressão linear múltipla (do inglês "Multiple Linear Regression").
PCR	Regressão em componentes principais (do inglês "Principal Component Regression").
PLS	Regressão por mínimos quadrados parciais (do inglês "Partial Least-Squares regression").
PSA	Algoritmo de projeções sucessivas (do inglês "Successive Projections Algorithm").
RMSECV	Raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada (do inglês "Root Mean Square Error of Cross-Validation").
LEB	Largura Efetiva de Banda.
DPRC	Desvio-Padrão Relativo Conjunto.
RMSEP	Raiz quadrada do erro médio quadrático de predição (do inglês "Root Mean Square Error of Prediction").

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUÇÃO**

## 1.1 - Métodos Espectrométricos

Os métodos espectrométricos<sup>[1]</sup> são baseados na interação da radiação eletromagnética com a matéria, sendo amplamente empregados em Química Analítica para determinação qualitativa e quantitativa de compostos inorgânicos, orgânicos e bioquímicos. Estes métodos podem ser classificados em quatro categorias principais, a saber:

- ✓ Emissão Atômica - que utiliza a radiação emitida por espécies atômicas do analito para medidas qualitativas e quantitativas e tem como método a Espectrometria de Emissão Atômica;
- ✓ Luminescência - que utiliza a emissão de radiação pelo analito quando excitado. Os métodos espectrométricos que empregam esse princípio são Quimiluminescência, Espectrometria de Fluorescência Molecular, Espectrometria de Fluorescência Atômica e Espectrometria de Fosforescência;
- ✓ Espalhamento - que utiliza o espalhamento da radiação como medida para quantificar um analito. Os métodos analíticos que empregam esse princípio são Espectrometria Raman, Turbidimetria e Nefelometria;
- ✓ Absorção - que utiliza a absorção da radiação para determinações qualitativas e quantitativas de um analito. Os métodos espectrométricos que empregam esse princípio são Espectrometria de Absorção Molecular e Espectrometria de Absorção Atômica.

Nesse contexto, destaca-se a Espectrometria de Absorção Molecular na Região Ultravioleta-Visível (EAM UV/Vis)<sup>[2]</sup> em virtude de suas características favoráveis:

- ✓ Vasto campo de aplicação - é largamente empregada em química, biologia, ciências forenses, engenharias, agricultura, análises clínicas, dentre outros, para determinação direta ou

indireta, qualitativa e/ou quantitativa, de espécies inorgânicas, orgânicas e bioquímicas;

- ✓ Alta relação sinal-ruído – os limites de detecção estão na faixa de  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, podendo chegar a  $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>;
- ✓ Seletividade moderada a alta – pode-se encontrar uma faixa do espectro eletromagnético que interaja especificamente com o analito, eliminando etapas de separação, que encarecem o custo da análise. Caso exista sobreposição espectral, é possível eliminá-la medindo o sinal do analito em outra(s) faixa(s), com menor absorvidade, mas sem interferentes;
- ✓ Aceitável grau de exatidão – os erros relativos estão na faixa de 1 a 5 % em termos de concentração;
- ✓ Facilidade de operação – as medidas são realizadas de forma fácil e rápida.

Na seção seguinte serão descritos os componentes básicos comumente empregados em instrumentação para medidas por EAM UV/Vis.

## **1.2 - Instrumentação para EAM UV/Vis**

No método de EAM UV/Vis, os equipamentos utilizados apresentam basicamente seis componentes, quais sejam: (1) fonte estável de energia radiante; (2) sistema seletor de radiação, um dispositivo que isola uma região do espectro eletromagnético; (3) cubeta, recipiente transparente para conter a amostra; (4) fototransdutor, que converte a energia radiante para um sinal elétrico; (5) processador de sinais; (6) dispositivo de saída, que converte o sinal processado para um domínio compreensível ao analista.

### 1.2.1 - Fontes de radiação

Para que uma fonte de radiação possa ser utilizada em instrumentos para medidas espectrométricas são necessários alguns requisitos, tais como:

- ✓ Fornecer um feixe com potência radiante capaz de permitir que sinais suficientemente altos cheguem ao detector;
- ✓ Ser estável o suficiente para que a potência radiante não seja alterada de modo significativo entre as medidas de soluções padrão e de amostras;
- ✓ Gerar radiação contínua na faixa espectral de interesse.

Dentre as fontes mais importantes para EAM UV/Vis podem ser destacadas a lâmpada com filamento de tungstênio e o diodo emissor de luz (LED, do inglês "Light-Emitting Diode").

#### 1.2.1.1 - Lâmpada com Filamento de Tungstênio

A fonte de radiação mais comumente encontrada em instrumentos para medidas por EAM UV/Vis é a lâmpada com filamento de tungstênio, que emite radiação na faixa de 320 a 2400 nm. Porém, quase toda a potência radiante está concentrada na região do infravermelho. Além disso, outros problemas existentes nesta lâmpada são: tempo de vida útil relativamente baixo (cerca de 2.000 horas no máximo); alto consumo de energia; flutuações da potência radiante decorrente de aquecimento ao operar entre 1000 e 3000 K.

#### 1.2.1.2 - Diodo Emissor de Luz

LED é um dispositivo semicondutor eletroluminescente, isto é, que emite radiação ao conduzir corrente elétrica. A eletroluminescência em material semicondutor começou a ser estudada no final do século XIX e início do século XX. O norte-americano Henry Joseph Round, em 1907, ao usar carbeto de silício (SiC), foi quem primeiro conseguiu produzir o fenômeno da eletroluminescência, dando início aos estudos do que hoje se

entende por LED<sup>[3]</sup>. Em 1923, o russo O. W. Lossey relatou eletroluminescência em cristais de carbeto de silício e, em 1937, E. Destriau observou esse fenômeno em pó de sulfeto de zinco (ZnS<sub>2</sub>).

Hall e colaboradores<sup>[4]</sup> desenvolveram, em 1962, o primeiro LED, com o material semicondutor arseneto de gálio (GaAs), emitindo radiação na região do infravermelho, em 840 nm. No mesmo ano, Holonyak e Bevacqua<sup>[5]</sup>, a partir do semicondutor Ga(As<sub>1-x</sub>P<sub>x</sub>), fosfeto e arseneto de gálio, conseguiram desenvolver um LED que emitia radiação na região de 710 nm, com largura efetiva de banda de 12,5 nm. Este trabalho confirmou os resultados obtidos por Hall e colaboradores de que era possível desenvolver um material semicondutor que emitisse radiação com intensidade proporcional à corrente fornecida a ele. Porém, nos dois trabalhos, os LEDs desenvolvidos possuíam baixa eficiência luminosa.

Apesar de estudos posteriores terem possibilitado a obtenção de materiais semicondutores com uma eficiência luminosa significativamente maior do que a apresentada pelos LEDs desenvolvidos nos dois primeiros trabalhos<sup>[4,5]</sup>, foi a partir da década de 60 que os LEDs tornaram-se disponíveis comercialmente<sup>[6]</sup>. Desde então, um progresso notável nas características e construção de novos LEDs foi possível devido ao desenvolvimento de novas tecnologias de produção de semicondutores, com o aumento da eficiência luminosa na região do visível de quase uma ordem de magnitude a cada 10 anos<sup>[7]</sup>, além de conseguir avanços significativos em outras regiões do espectro eletromagnético, tal como no infravermelho próximo (NIR, do inglês "near infrared").

#### 1.2.1.2.1 - Uso de LED em instrumentação analítica

Os LEDs, ao se tornarem acessíveis comercialmente, com a conseqüente diminuição de seus custos de produção e elevação dos níveis de eficiência luminosa, começaram a ser utilizados em instrumentação analítica, principalmente em instrumentos espectrométricos, como os fotômetros. Porém, o campo de aplicação dos LEDs não se limitou ao uso restrito em fotômetros, expandindo-se para outras técnicas como

eletroforese capilar, sistemas de extração líquido-líquido, fluorescência e eletroquímica, entre outras<sup>[6]</sup>. As principais características que permitiram que os LEDs alcançassem esse largo espectro de atuação foram<sup>[8]</sup>:

- ✓ Compactabilidade – podem ser encontrados comercialmente em diversos formatos e com dimensões da ordem de milímetros a poucos centímetros;
- ✓ Robustez – capacidade de utilização em diversas condições de uso e configurações dos circuitos eletrônicos;
- ✓ Tempo de vida elevado – na faixa de 20.000 a 100.000 horas, bem maior que o de lâmpadas incandescentes, que podem variar de 1000 a 2000 horas;
- ✓ Baixo consumo de energia – os LEDs convencionais consomem de 20 a 100 mA de corrente. Porém, existem LEDs de potência que podem consumir cerca de 700 mA, obtendo intensidade luminosa muito maior em relação aos convencionais, compensando o “alto” consumo de energia;
- ✓ Baixo custo – variando de centavos a poucos reais, de acordo com as características desejadas para o LED;
- ✓ Potência elevada – na faixa de 10 a 150 mW, que corresponde à cerca de cinco vezes a radiação de uma lâmpada de tungstênio de 40 W e a proveniente da fenda de saída de um monocromador em condições similares de banda passante<sup>[8]</sup>;
- ✓ Largura efetiva de banda estreita – na faixa de 20 a 30 nm, comparável aos filtros ópticos encontrados comercialmente;
- ✓ Ruído associado baixo – com o uso de baterias, da ordem de 0,002 % da intensidade total de emissão;
- ✓ Facilidade de aquisição – podem ser encontrados em empresas de comércio eletrônico, inclusive em cidades de porte intermediário.

Apesar das diferentes técnicas instrumentais em que os LEDs podem atuar como fonte de radiação, o uso desses dispositivos em

instrumentação para EAM UV/Vis ainda constitui o principal campo de aplicações.

#### 1.2.1.2.2 - Uso de LED em medidas espectrométricas

Um dos primeiros trabalhos em que foi relatado o uso de LED em medidas de absorvância foi de Flaschka e colaboradores<sup>[9]</sup>, em 1973, que desenvolveram um fotômetro usando LED como fonte de radiação e um fototransistor como fototransdutor. Três anos depois, Anfalt e colaboradores<sup>[10]</sup> descreveram um titulador fotométrico usando LED como fonte de radiação, para determinação de alcalinidade total em água do mar. Nesse trabalho, variações no fluxo proveniente da fonte de radiação provocada por alterações de temperatura foram contornadas por meio do uso da técnica de duplo feixe. Além disso, foi utilizado um sistema de modulação de sinal proveniente da fonte de radiação e de filtração, diminuindo a radiação espúria do ambiente. Todavia, o LED ainda apresentava baixa eficiência luminosa, ocasionando baixa sensibilidade do instrumento.

Nos trabalhos descritos acima, os instrumentos possuíam apenas um único LED como fonte de radiação, limitando sua aplicação a uma pequena região do espectro eletromagnético. Porém, com o crescente aumento da demanda de análises químicas, surgiu a necessidade de equipamentos com maior versatilidade e custo menor.

#### 1.2.1.2.3 - Uso de mais de um LED como fonte de radiação

Diversos trabalhos foram desenvolvidos usando equipamentos com mais de um LED como fonte de radiação.

Hooley e Dessy<sup>[11]</sup> desenvolveram um fotômetro simples e barato com quatro LEDs (565, 585, 630 e 660 nm) como fontes de radiação, para análise multicomponente de  $Zn^{2+}$  e  $Hg^{2+}$  com zincon como reagente cromogênico.

Pasquini e Raimundo<sup>[12]</sup> descreveram um instrumento simples, com LED bicolor como fonte de radiação, cuja seleção de comprimento de onda

é feita por uma chave de duas posições. O fotômetro foi aplicado para quantificação de  $\text{Cu}^{2+}$ , a 660 nm, e de  $\text{Cr}^{6+}$ , a 560 nm. Porém, a utilização de fotorresistor para controlar a intensidade luminosa do LED bicolor gerou uma relação não-linear entre a radiação proveniente do LED e a resistência do fotorresistor, obtendo assim um sinal também não linear com a concentração do analito de interesse.

Trojanowicz e Szpunar-Lobinska<sup>[13]</sup> propuseram um fotômetro a base de LED, controlado por microcomputador, para análises simultâneas de misturas binárias e ternárias de  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ , usando laranja de xilenol como reagente cromogênico. Foram utilizados um LED bicolor verde-amarelo com emissão nas regiões de 563 e 580 nm, respectivamente, e seis LEDs vermelhos (638 nm) dispostos simetricamente em um hexágono regular. A faixa de comprimento de onda era selecionada por uma tensão fornecida pelo microcomputador ao instrumento construído.

Hauser e colaboradores<sup>[14]</sup> propuseram um fotômetro composto de sete diferentes LEDs como fontes de radiação, na faixa espectral de 400 a 600 nm (azul, laranja, amarelo, verde, vermelho). Um LED infravermelho foi adicionado ao sistema, acoplado a um filtro óptico, para eliminar intensidades de emissão baixa. Como o LED azul apresentou uma baixíssima sensibilidade e uma largura efetiva de banda significativa (cerca de 70 nm), foi adicionado um outro LED azul para aumentar a intensidade de sinal. O instrumento foi testado na determinação de  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . Em outro trabalho, Hauser e Rupansinghe<sup>[15]</sup> aplicaram o instrumento construído, apresentado anteriormente<sup>[14]</sup>, na determinação dos íons metálicos  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$  e  $\text{Mn}^{7+}$  em misturas binárias.

Araújo e colaboradores<sup>[16]</sup> desenvolveram um fotômetro utilizando um LED bicolor (vermelho e verde) como fonte de radiação. O instrumento foi aplicado à determinação de proteínas totais, uréia, glicose, albumina, colesterol, e ácido úrico, em soro sanguíneo; e de hemoglobina em

sangue total, cujos resultados foram concordantes com aqueles obtidos em um fotômetro comercial.

Rocha e Reis<sup>[17]</sup> desenvolveram um fotômetro associando um LED bicolor (vermelho e verde) com um fotodiodo como fototransdutor. A cor do LED foi selecionada por um programa computacional. O instrumento foi aplicado na especiação de nitrogênio inorgânico ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NH}_4^+$ ) em águas de rio e sua velocidade analítica foi estimada em 60 determinações por hora.

Cantrell e colaboradores<sup>[18]</sup> desenvolveram um espectrômetro simples, de baixa potência, barato e microcontrolado (SLIM, do inglês "Simple, Lowpower, Inexpensive, Microcontroller-based"). Foram utilizados três LEDs (laranja, vermelho e azul) como fontes de radiação e um microcontrolador para gerenciar a aquisição de sinais. Não obstante as correntes fornecidas aos LEDs serem relativamente baixas (azul com 0,2 mA, amarelo com 10 mA e vermelho com 2 mA), foi observada uma alta variação do sinal em relação ao tempo (do inglês "drift").

Suzuki e colaboradores<sup>[19]</sup> desenvolveram um fotômetro com quatro LEDs (vermelho, amarelo, verde e azul) como fontes de radiação. O sistema foi aplicado na determinação de  $\text{Fe}^{2+}$ , pelo método da 1,10-fenantrolina, em amostras de água de rio. Entretanto, apenas duas amostras reais foram analisadas com uso de apenas dois LEDs simultaneamente.

Gros<sup>[20]</sup> desenvolveu um espectrômetro com câmara de microreação baseado em um LED tricolor como fonte de radiação, com comprimentos de onda máximos em 470, 565 e 660 nm, e um fotorresistor como fototransdutor. Os comprimentos de onda foram selecionados por meio de uma chave. O instrumento foi testado na determinação de  $\text{Ca}^{2+}$  em águas naturais usando o método da complexação com a o-cresolftaleína.

Fonseca e Raimundo<sup>[21]</sup> propuseram a construção de um fotômetro para análise multivariada a base de um arranjo de oito LEDs, os quais emitiam radiação nos comprimentos de onda 470, 500, 525, 562, 590, 612, 636 e 654 nm. O fotômetro, controlado por um microcomputador, foi

aplicado à determinação simultânea de  $Zn^{2+}$  e  $Cu^{2+}$  em formulações farmacêuticas e em ligas metálicas, usando o laranja de xilenol como reagente cromogênico.

Gaião e colaboradores<sup>[22]</sup> desenvolveram um fotômetro multi-LED barato, portátil e microcontrolado. O instrumento proposto é composto somente por componentes de baixo custo e de fácil aquisição. No fotômetro foram utilizados seis LEDs (430, 485, 560, 580, 600 e 660 nm) como fontes de radiação, montados em um suporte circular adaptado ao eixo de uma chave eletro-mecânica de seis posições que permite, ao mesmo tempo, ligar e posicionar o LED desejado em frente ao fototransdutor. O instrumento foi aplicado na determinação de  $Fe^{2+}$  em xaropes e de proteínas totais, albumina, glicose, cálcio, uréia, cloreto e hemoglobina em soro sanguíneo, porém alguns resultados apresentaram erros sistemáticos como nas determinações de  $Ca^{2+}$  e  $Cl^-$ .

Lau e colaboradores<sup>[23]</sup> desenvolveram um fotômetro baseado em um arranjo de sete LEDs (infravermelho, vermelho, laranja, amarelo, verde, azul e ultravioleta) de alto brilho, para determinação quantitativa dos componentes de misturas de soluções aquosas coloridas. Um LED infravermelho foi utilizado como um detector de luz ambiente. Foram feitas análises de misturas binárias e ternárias de vermelho de metila, púrpura de metacresol e azul de anilina. Entretanto, os resultados apresentaram erros significativos, principalmente quando estavam presentes as três soluções coloridas.

Yeh e Tseng<sup>[24]</sup> desenvolveram um espectrômetro a base de sete LEDs como fonte de radiação para determinação qualitativa de soluções coloridas. As soluções coloridas púrpura de bromocresol, verde de bromocresol, azul de timol e vermelho de fenol tiveram espectros semelhantes entre o espectrômetro desenvolvido e um comercial.

Vale salientar que nos trabalhos descritos nesta seção, os instrumentos desenvolvidos possuem LEDs bicolores, tricolores ou um arranjo de LEDs. Entretanto, as medidas espectrométricas devem ser conduzidas em cada um dos LEDs individualmente. Outro inconveniente se

deve ao fato de que cada LED é afetado por um “drift” diferente, precisando de correção quando da construção da faixa espectral de trabalho.

#### 1.2.1.2.4 - LED branco

O desenvolvimento de LEDs azuis e ultravioletas com alta eficiência luminosa tornou possível produzir LED branco que emite radiação cujo espectro é semelhante ao apresentado na Figura 1.1. Isto permitiu superar os inconvenientes do uso de diversos LEDs para trabalhar com uma determinada faixa de comprimentos de onda.

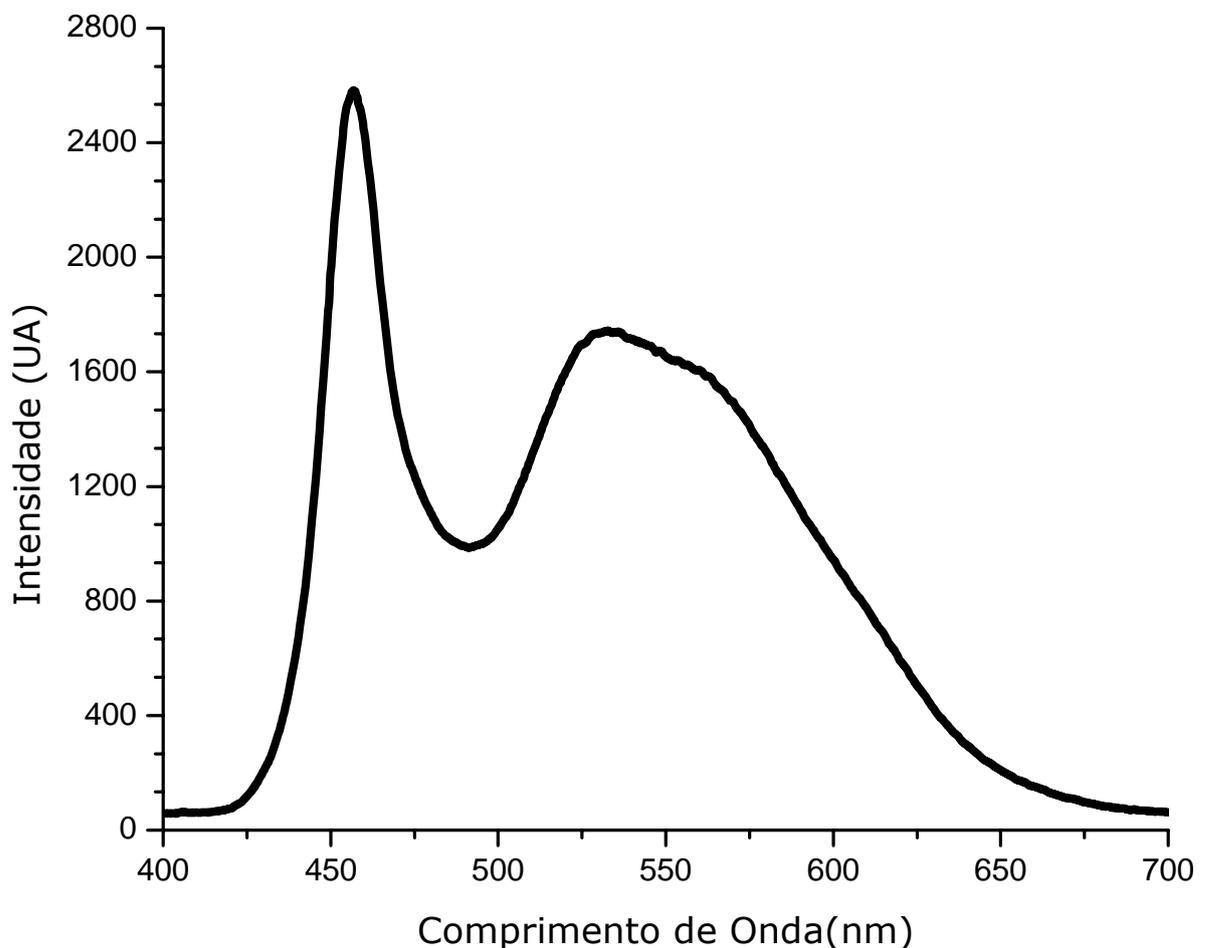


Figura 1.1. Espectro de emissão de um LED branco.

O trabalho pioneiro de desenvolvimento do LED branco foi descrito na literatura por Mukai e Nakamura<sup>[25]</sup>. Esse dispositivo é constituído por uma camada de material semicondutor composto de uma mistura de

nitreto de índio e de gálio ( $\text{In}_x\text{Ga}_{1-x}\text{N}$ ) que emite radiação azul e dopagem com uma camada fosforescente de Garnet de ítrio e alumínio (YAG, do inglês "Yttrium Aluminum Garnet"),  $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$ . Quando uma corrente circula através do LED, o semicondutor emite luz azul. Parte dessa radiação excita a camada fosforescente que emite radiação contínua do verde ao vermelho, produzindo assim luz branca. Desde então, diversos pesquisadores passaram a desenvolver novas tecnologias para obtenção de LED brancos com maior eficiência luminosa e durabilidade. Uma descrição detalhada da tecnologia de construção desses LEDs pode ser encontrada em vários trabalhos relatados na literatura<sup>[26-44]</sup>.

#### 1.2.1.2.5 - Uso do LED branco em instrumentação analítica

A aplicação de LEDs brancos no desenvolvimento de instrumentação para EAM UV/Vis pode ser considerada incipiente, fato constatado pelo baixo número de publicações relatadas na literatura<sup>[45-47]</sup>.

Shimazaki e colaboradores<sup>[45]</sup> foram os pioneiros no desenvolvimento de um espectrômetro usando um LED branco como fonte de radiação. Foram utilizados os seguintes componentes no espectrômetro: (1) gerador de corrente para o LED; (2) fonte de radiação baseada em um LED branco que emite um espectro contínuo na faixa de 440 a 640 nm; (3) lente focalizadora; (4) cubeta de vidro; (5) monocromador; (6) dispositivo de carga acoplada (CCD, do inglês "Charged Coupled Device"); (7) fonte de corrente para o CCD; (8) conversor analógico digital e (9) um microcomputador. Esse instrumento apresentou maior versatilidade do que os fotômetros que possuem LEDs monocromáticos. O instrumento desenvolvido foi utilizado na determinação de  $\text{Fe}^{2+}$  em água de rios pelo método da 1,10-fenantrolina. Porém, o instrumento construído era similar aos instrumentos convencionais, com exceção da fonte de radiação de tungstênio que foi substituída pelo LED branco. Além disso, não foram obtidos resultados quanto à utilização do espectrômetro para varredura de espectro, nem

tampouco usando outros comprimentos de onda na região do visível, característica notável dos espectrômetros.

Li et al<sup>[46]</sup> descreveram um instrumento multifuncional portátil para análise em fluxo e canal para medidas usando diferentes técnicas espectrométricas. Foram utilizados um detector fluorescente que é transversalmente iluminado por um arranjo de LEDs, um fototransdutor quimiluminescente, e um espectrômetro, com faixa espectral de 400 a 700 nm, usando LED branco como fonte de radiação. Foram determinados  $\text{Cr}^{6+}$  e  $\text{Al}^{3+}$ , usando difenilcarbazida e violeta de pirocatecol como cromógenos quelantes a fim de realizar medidas espectrométricas. No entanto, da mesma forma que no trabalho anterior, no qual as medidas espectrométricas foram realizadas em apenas um comprimento de onda, as potencialidades do LED branco como fonte de radiação para medidas em uma faixa espectral não foram exploradas.

Em outro campo de atuação, Ho e colaboradores<sup>[47]</sup> propuseram que o LED branco seja uma fonte de radiação viável para substituir as lâmpadas incandescentes comumente utilizadas em um instrumento para medidas por ressonância de plasma de superfície (SPR, do inglês "Surface Plasm Ressonance")<sup>[48]</sup>.

É notório que em nenhum dos trabalhos, descritos nesta seção, os autores fizeram uso das potencialidades do LED branco para instrumentos de varredura em medidas espectrométricas. Porém, para implementar a varredura na região do visível, é necessário que exista um sistema dispersor para separar ou resolver as radiações, isto é, selecionar os comprimentos de onda de interesse, denominados sistemas seletores nos espectrômetros.

### **1.2.2 - Sistema seletor de radiação**

Comercialmente, as radiações eletromagnéticas associadas ao espectro contínuo podem ser selecionadas utilizando filtros ópticos, para uso em fotômetros, ou monocromadores, em espectrômetros.

#### a) Filtros ópticos

Existem dois tipos de filtros ópticos: filtro de absorção e filtro de interferência. O filtro de absorção, como o próprio nome sugere, absorve preferencialmente radiações nos comprimentos de onda em uma região espectral, exceto aqueles isolados para a faixa de trabalho. A largura efetiva de banda, isto é, a faixa de comprimento de onda onde o sinal corresponde a 50 % do sinal máximo obtido, varia de 30 a 50 nm. A transmitância máxima desse filtro encontra-se na faixa de 5 a 30 %.

Quanto ao filtro de interferência, este se baseia no fenômeno das interferências, construtiva e destrutiva, que ocorrem durante a passagem de um feixe policromático pelo filtro. Comparado ao filtro de absorção, o filtro de interferência possui uma largura efetiva de banda mais estreita (valor nominal de 10 a 20 nm) e maior transmitância, variando de 35 a 75 %.

#### b) Monocromadores

Os monocromadores, presentes nos espectrômetros, consistem, na verdade, de um sistema óptico mais complexo do que os filtros, formado por diversos componentes, tais como:

- ✓ Fenda de entrada - que recebe a radiação contínua da fonte e fornece uma estreita imagem óptica;
- ✓ Lente colimadora - que colima (paraleliza) a radiação;
- ✓ Elemento de dispersão - que dispersa a radiação contínua;
- ✓ Lente focalizadora - para focalizar a radiação resolvida em uma fenda de saída;
- ✓ Fenda de saída - que isola a linha ou banda espectral de interesse.

O elemento dispersor pode ser de dois tipos: a base de prisma ou de rede de difração. O prisma, que dispersa a radiação em múltiplos comprimentos de onda, ao sofrer uma rotação em relação à fenda de saída, permite que um comprimento de onda seja selecionado. Já a rede

de difração é um componente óptico que contém uma série de ranhuras, muito próximas e eqüidistantes, traçadas sobre uma placa de vidro ou de metal polido. A resolução da rede de difração depende essencialmente do número de ranhuras por milímetro, mas é melhor do que os prismas. A seleção do comprimento de onda, da mesma forma que no prisma, é realizada mediante o deslocamento do elemento dispersor em relação à fenda de saída.

Os monocromadores são mais precisos que os filtros, porém são bastante caros, sendo cerca de 30% do valor de um espectrômetro. Por outro lado, os filtros podem ser mais facilmente atacados por fungos, além do que não permitem selecionar radiação com resolução comparável aos monocromadores.

Para contornar esses inconvenientes, podem ser utilizados outros dispositivos capazes de dispersar a radiação eletromagnética, tal como os discos compactos (CD, do inglês "Compact Disc"), que armazenam diversos tipos de informação em um formato binário. Esta informação é codificada ao longo de uma trilha espiralada que é de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  de largura. Em virtude das linhas terem afastamento regular, a mídia de CD pode atuar como uma grade de difração, o que permite resolver a radiação contínua.

Na literatura foram encontrados artigos científicos que fizeram uso de mídias de CD como dispersores de radiação<sup>[49-51]</sup>, porém sua aplicação se restringiu a modelos didáticos para explicar o fenômeno da dispersão da radiação eletromagnética para alunos de cursos de Física do Ensino Médio. Encontram-se, também, disponíveis em sítios na "Internet" que fazem uma abordagem qualitativa do seu uso como dispersores de radiação, envolvendo montagens de experimentos para observação do fenômeno de dispersão<sup>[52-54]</sup>. No entanto, em nenhum dos trabalhos da literatura foi descrito um instrumento para análises quantitativas por EAM UV/Vis, com figuras de mérito que permitissem seu uso comercial.

### 1.2.3 - Fototransdutor

Os fototransdutores convertem a energia radiante em sinal elétrico. As características principais desses dispositivos para medidas espectrométricas são:

- ✓ Responder à energia radiante na faixa espectral de interesse;
- ✓ Ser sensível para baixos níveis de potência radiante;
- ✓ Ter resposta muito rápida;
- ✓ Produzir um sinal elétrico que possa ser amplificado;
- ✓ Apresentar um ruído relativamente baixo;
- ✓ Possuir uma relação linear (função de transferência) entre a potência radiante incidente e o sinal elétrico produzido.

Os fototransdutores comercialmente encontrados são:

#### a) Células fotovoltaicas

Dispositivo que transforma a energia radiante em tensão na interface de um semicondutor com um metal. As células fotovoltaicas possuem um custo de aquisição baixo e não requerem fonte externa de energia elétrica para funcionar, mas sua fotocorrente não é facilmente amplificada, possui baixa sensibilidade e apresenta efeito de fadiga.

#### b) Células fotoelétricas

Dispositivo no qual a energia radiante é transformada em corrente elétrica pelo efeito fotoelétrico. Quando a superfície fotossensível do cátodo recebe energia radiante com uma frequência adequada, ocorre emissão de elétrons que são atraídos em direção ao ânodo, resultando em uma fotocorrente. Como inconvenientes tem-se que as células fotoelétricas são caras e necessitam de fonte externa de energia elétrica.

#### c) Tubos fotomultiplicadores

São células fotoelétricas em múltiplos estágios. Por isso, são usados, somente, com potências radiantes fracas, pois, mesmo níveis de radiação

moderados podem causar variações irreversíveis nas superfícies dos eletrodos.

#### d) Fotodiodo

Dispositivo semicondutor que gera corrente elétrica resultante da incidência de radiação na interface de dois semicondutores.

#### e) Arranjo de Fotodiodos

Nesse caso o princípio de transdução é o mesmo do fotodiodo, porém o feixe de radiação é disperso em direção a esse arranjo contendo, no mínimo, 300 fotodiodos. Dessa forma, cada fotodiodo responde pela recepção e transdução de apenas um dos comprimentos de onda. Entre os instrumentos comerciais, destacam-se os que utilizam este dispositivo, pois permitem fazer medidas espectrométricas em toda sua região de trabalho em um tempo curto. No entanto, apresentam alto custo de aquisição como característica desfavorável.

#### f) Fototransistor

Similarmente ao fotodiodo, trata-se de um dispositivo semicondutor que gera corrente elétrica com a incidência de radiação eletromagnética. Todavia, essa corrente é cerca de cem vezes maior do que o sinal de saída do fotodiodo. Além disso, é um dispositivo de baixo custo e muito utilizado em instrumentos que fazem uso de LEDs como fonte de radiação, por agregar as características favoráveis de ganho, sensibilidade e preço.

#### g) CCD

Bastante utilizado em leitores de código de barras e "scanners", o dispositivo de carga acoplada está estruturado em um arranjo bidimensional, em linhas e colunas, de transdutores individuais denominados "pixels". Cada transdutor, composto por três eletrodos, associa a radiação que alcança sua superfície a uma intensidade de sinal elétrico, que em seguida é amplificada e registrada. O conjunto desses

transdutores permite, portanto, obter simultaneamente um espectro bidimensional inteiro. Porém, possui como característica desfavorável uma faixa dinâmica menor e uma resposta mais lenta que o arranjo de fotodiodos<sup>[45]</sup>.

### **1.3 – Apresentação e Objetivo do Trabalho**

De acordo com a literatura<sup>[45-47]</sup>, os trabalhos desenvolvidos empregando LED branco, como fonte de radiação, não exploraram medidas de sinais em mais de um comprimento de onda. Além disso, não aproveitaram a característica mais destacada dos espectrômetros que é a possibilidade de realizar varredura espectral. De mesma forma, apesar do uso de mídias de CD como dispositivos dispersores, sua utilização restringe-se apenas a descrições qualitativas do fenômeno de separação da radiação eletromagnética em aulas de Física para o Ensino Médio.

Nessa linha de raciocínio e pelo aumento da demanda por análises químicas rápidas e de baixo custo, torna-se necessário desenvolver instrumentos que permitam realizar medidas multivariadas, rápidas e com a mesma confiabilidade proporcionada pelos instrumentos comerciais.

Face ao exposto, propõe-se, neste trabalho, o desenvolvimento de um espectrômetro microcontrolado e de baixo custo para medidas espectrométricas na região do visível para determinação univariada e multivariada. Dessa forma, pretende-se explorar as potencialidades do uso de LEDs brancos como fontes de radiação para medidas espectrométricas e de mídias de CD como dispersores de radiação eletromagnética.

O instrumento proposto consiste de LED branco, como fonte de radiação, e de fototransistor, como fototransdutor. A radiação contínua proveniente do LED é dispersa por uma mídia de CD e cada banda de radiação resultante da dispersão é focalizada no fototransdutor mediante um motor de passos. O controle do instrumento, a aquisição e o tratamento dos dados são realizados pelo circuito eletrônico construído baseado em microcontrolador.

## **CAPÍTULO 2**

### **ESPECTRÔMETRO PROPOSTO**

## 2.1 – Descrição do Espectrômetro

O espectrômetro microcontrolado baseado em LED branco como fonte de radiação e usando mídia de CD como grade de difração (elemento dispersor), proposto neste trabalho, permite realizar medidas espectrométricas em um ou em vários comprimentos de onda na região do visível. Esse instrumento também permite implementar determinações multicomponentes baseadas em calibração multivariada. Na Figura 2.1 é apresentada uma vista superior da parte interna do espectrômetro proposto.

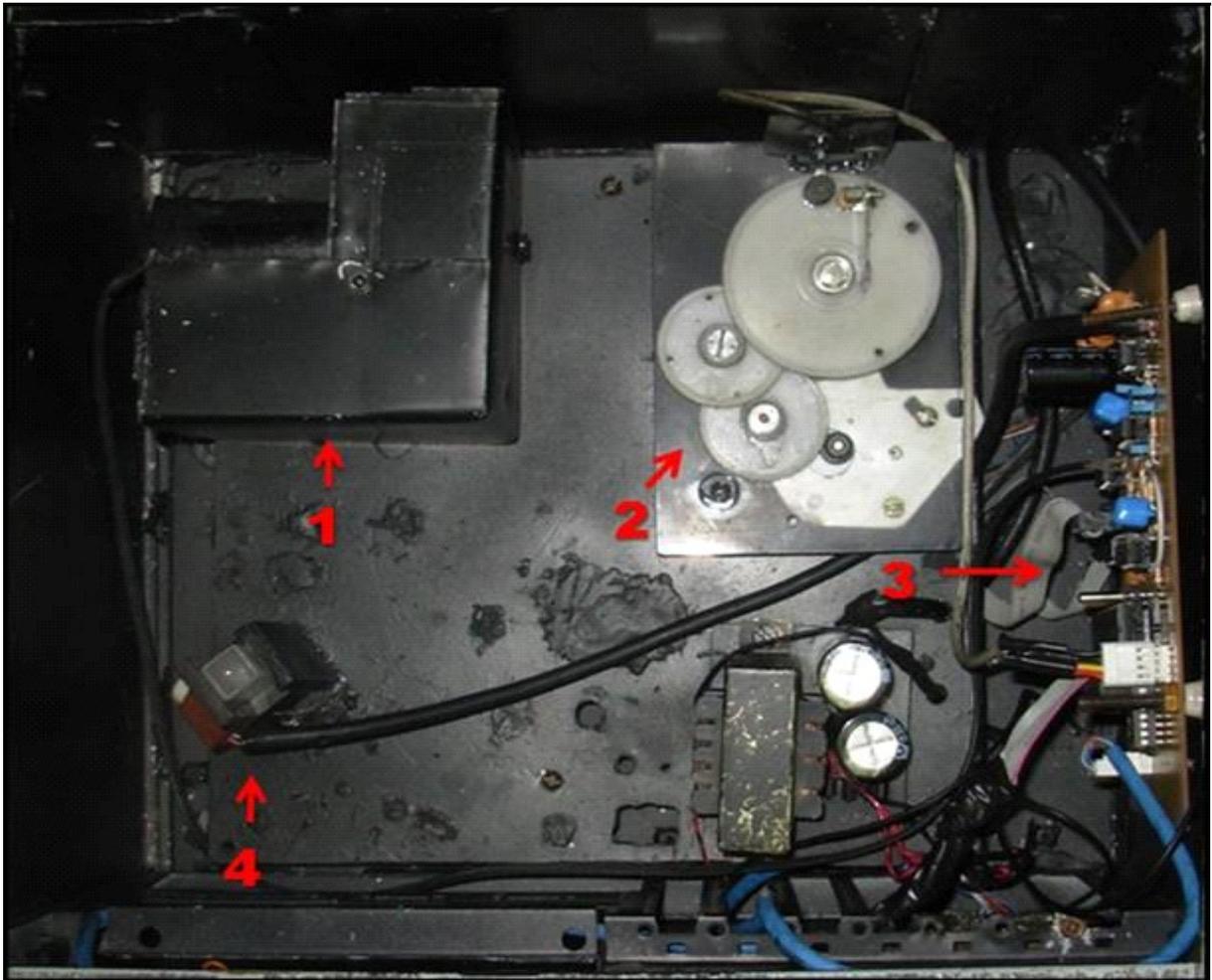


Figura 2.1. Vista superior da parte interna do espectrômetro proposto. (1) fonte de radiação; (2) sistema seletor de radiação; (3) circuito eletrônico; (4) cela de detecção e fototransdutor.

Na Figura 2.2 é apresentada uma vista frontal do espectrômetro proposto, que possui as dimensões 30 cm x 20 cm x 30 cm.



Figura 2.2. Vista frontal do espectrômetro proposto.

Didaticamente, o equipamento construído pode ser dividido em duas partes: o sistema óptico-mecânico e o circuito eletrônico, descritos em detalhes nas subseções seguintes.

### **2.1.1 - Sistema óptico-mecânico**

O sistema óptico-mecânico do equipamento proposto é composto pela lente focalizadora, pela grade de difração e pelo conjunto motor de passos com redutores.

#### 2.1.1.1 - Lente Focalizadora

Tem como finalidade focalizar o feixe de radiação na grade de difração. A lente possui um diâmetro de 3 cm e sua distância ao LED é de aproximadamente 5,3 cm. Em relação à grade de difração sua distância focal é de 13,5 cm, criando uma pequena imagem luminosa de cerca de 2 mm de diâmetro.

#### 2.1.1.2 – Mídia de CD como Dispensor

Tem como finalidade dispersar a radiação proveniente da fonte de radiação em direção ao fototransdutor. A grade de difração é apresentada na Figura 2.3 e tem a forma de um retângulo de 3 cm de largura e 2 cm de altura. Foi confeccionada de uma mídia de CD e encontra-se posicionada a uma distância de 21 cm em relação à cela de detecção.

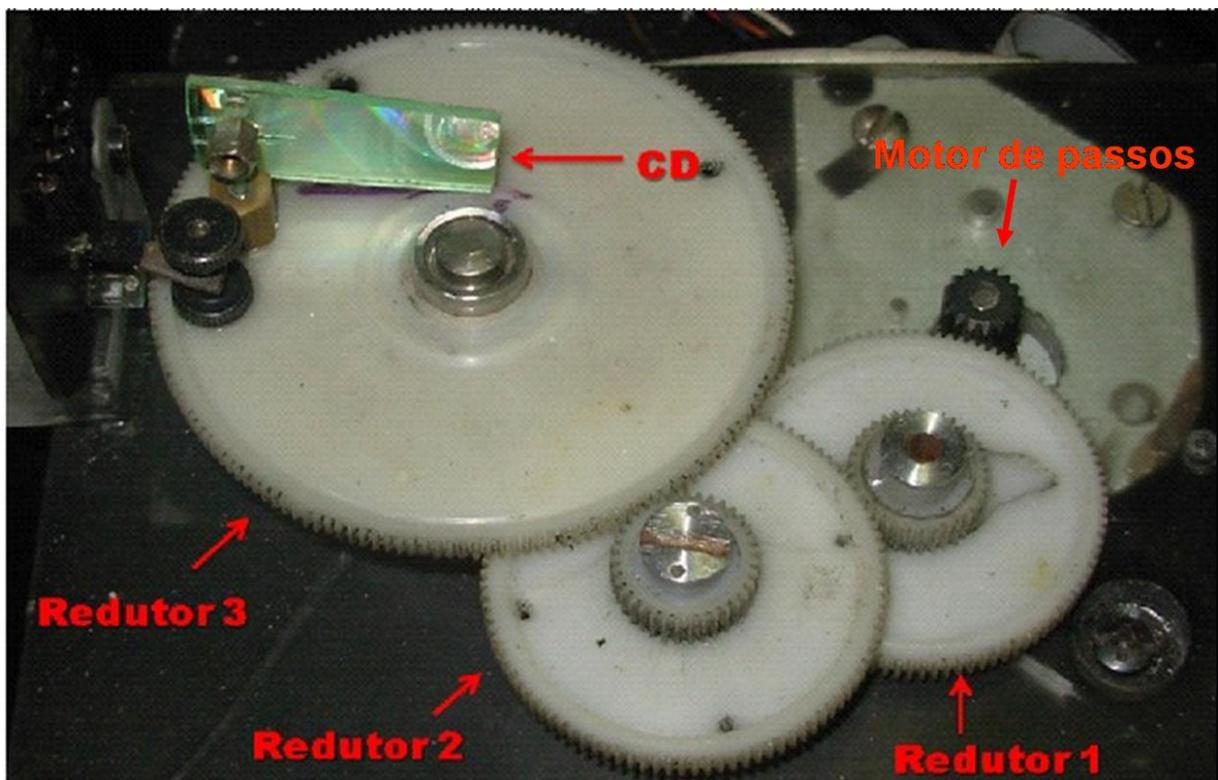


Figura 2.3. Vista da grade de difração e do motor de passos com redutores.

#### 2.1.1.3 - Motor de Passos com Redutores

Com a finalidade de deslocar a grade de difração em relação ao fototransdutor, para promover a varredura em toda a região espectral de

interesse, foram acoplados ao monocromador um motor de passos, proveniente de uma impressora matricial, e três engrenagens, Figura 2.3. Estas engrenagens são rodas dentadas denominadas de redutores.

O motor de passo é um transdutor de energia elétrica em energia mecânica, controlado por meio de pulsos de tensão aplicado às suas bobinas, o que possibilita o deslocamento por passo, em que o passo do motor é o menor deslocamento angular de seu eixo. O controle dos passos se dá por meio da aplicação de ciclos de ativação e desativação de suas bobinas em uma seqüência adequada.

A forma de operação do motor de passos foi com a atuação de duas bobinas simultaneamente, permitindo um maior torque no motor e com maior velocidade de mudança de passo. Pode ser vista na Tabela 2.1 a forma como as bobinas são atuadas. Caso seja necessária a alteração da direção do motor basta inverter a seqüência dos passos.

Tabela 2.1. Atuação das bobinas do motor de passos. 1: acionada; 0: não acionada.

Número de passo	Bobina 01	Bobina 02	Bobina 03	Bobina 04
01	1	0	0	1
02	1	1	0	0
03	0	1	1	0
04	0	0	1	1

Para completar uma volta em seu eixo, o motor de passos utilizado necessita de 48 passos, perfazendo  $7,5^\circ$  por passo. O primeiro redutor necessita de 320 passos para uma volta completa sobre seu eixo, isto é,  $1,125^\circ$  por passo. Já para o segundo redutor são necessários 900 passos para efetuar uma volta completa em seu eixo, isto é,  $0,40^\circ$  por passo. O ângulo de um passo com o último redutor é da ordem de  $0,083^\circ$ , o que possibilita a aplicação de 4350 passos em  $360^\circ$ . O dispersor foi montado sobre o último redutor do motor de passos para garantir que a variação dos passos efetuada pelo motor de passos seja a menor possível. Além disso, para que se alcance o máximo de resolução em relação à largura

efetiva de banda, isto é, para possibilitar bandas tão estreitas quanto possíveis em cada comprimento de onda.

Para melhorar a sensibilidade na separação dos comprimentos de onda, a posição do motor de passos foi ajustada para que o segundo sobretom da radiação dispersa incidisse no fototransdutor. Vale salientar que apesar do segundo sobretom apresentar uma intensidade luminosa menor que o primeiro (comumente utilizado em espectrômetros), a dispersão da radiação é mais pronunciada, provocando uma diminuição na largura efetiva de banda em cada comprimento de onda avaliado.

### 2.1.2 - Circuito eletrônico

O circuito eletrônico do espectrômetro desenvolvido é composto de oito módulos, quais sejam:

#### 2.1.2.1 - Fonte de Alimentação

Na Figura 2.4 é apresentado o circuito da fonte de alimentação do espectrômetro proposto, que fornece tensão contínua de +5 V e -5 V.

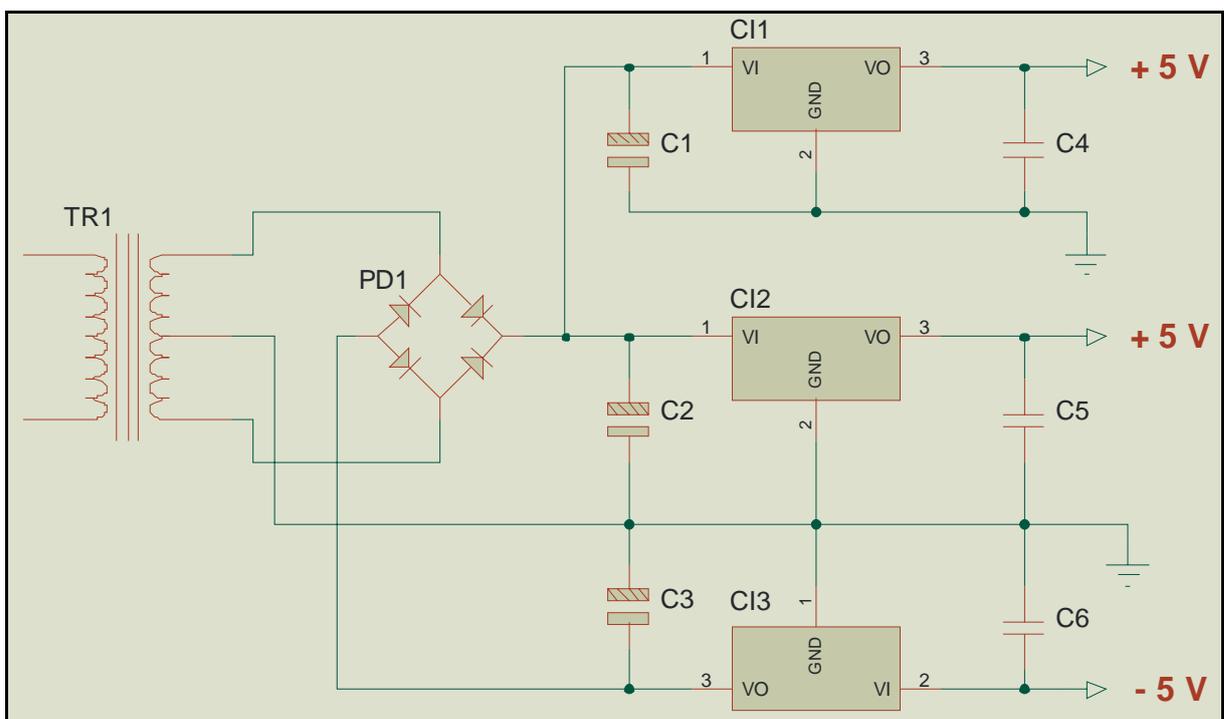


Figura 2.4. Fonte de alimentação do espectrômetro proposto. TR1 = transformador; PD1 = Ponte de diodos; C1 = C2 = C3 = 1000  $\mu$ F; C4 = C5 = C6 = 0,1  $\mu$ F; CI1 = CI2 = regulador de tensão 7805; CI3 = regulador de tensão 7905.

O transformador **TR1** pode fornecer uma corrente de trabalho de 1,0 A, suficiente para alimentar todo o circuito eletrônico e o motor de passos.

O primeiro regulador de tensão de +5 V, **CI1**, alimenta exclusivamente o motor de passos, visto que o mesmo consome uma corrente de 300 mA, o que pode provocar problemas no funcionamento dos componentes eletrônicos por subtensão, se forem também alimentados pelo mesmo regulador. Os reguladores **CI2** e **CI3** alimentam todo o restante do circuito eletrônico.

Os capacitores **C4**, **C5** e **C6** foram ligados próximos aos pinos dos circuitos integrados **CI1**, **CI2** e **CI3**, respectivamente, com a finalidade de reduzir ruídos, normalmente de alta frequência, produzidos ao longo dos condutores entre a fonte de alimentação e o circuito eletrônico.

#### 2.1.2.2 - Circuito Eletrônico do Microcontrolador e do Mostrador

O circuito integrado PIC 16F877, **CI4**, pertence à categoria dos microcontroladores, ou seja, um componente integrado que, em um único dispositivo, contém todos os circuitos necessários para realizar um sistema digital programável completo. Possui via de programação de 14 bits, um conversor Analógico/Digital de 10 bits, uma memória "flash" de 8 Kb, uma memória apenas de leitura programável eletricamente apagável (EEPROM, do inglês "Electrically-Erasable Programmable Read-Only Memory") de 256 bytes e uma memória de acesso aleatório (RAM, do inglês "Random Access Memory") de 368 bytes, 3 relógios, 33 portas lógicas que podem ser configuradas para aquisição de sinais, entre outros recursos importantes.

O PIC permite a utilização de filtros digitais e de periféricos de entrada e saída de dados como chaves e mostradores, além da redução drástica do número de componentes eletrônicos.

Na Figura 2.5 é apresentada a pinagem do PIC 16F877 e a ligação do oscilador de cristal **X1** com dois capacitores **C7** e **C8** com a finalidade de estabelecer a temporização do componente, isto é, definir a frequência

de trabalho do PIC. A tensão de referência do PIC é dada no pino 01, passando pelo resistor **R1**. Além disso, a ligação do PIC com o **LCD1**, mostrador de cristal líquido, (LCD, do inglês "Liquid Cristal Display"), para interface com o analista, é apresentada. O resistor **R2** é utilizado para ajustar a intensidade luminosa do LCD.

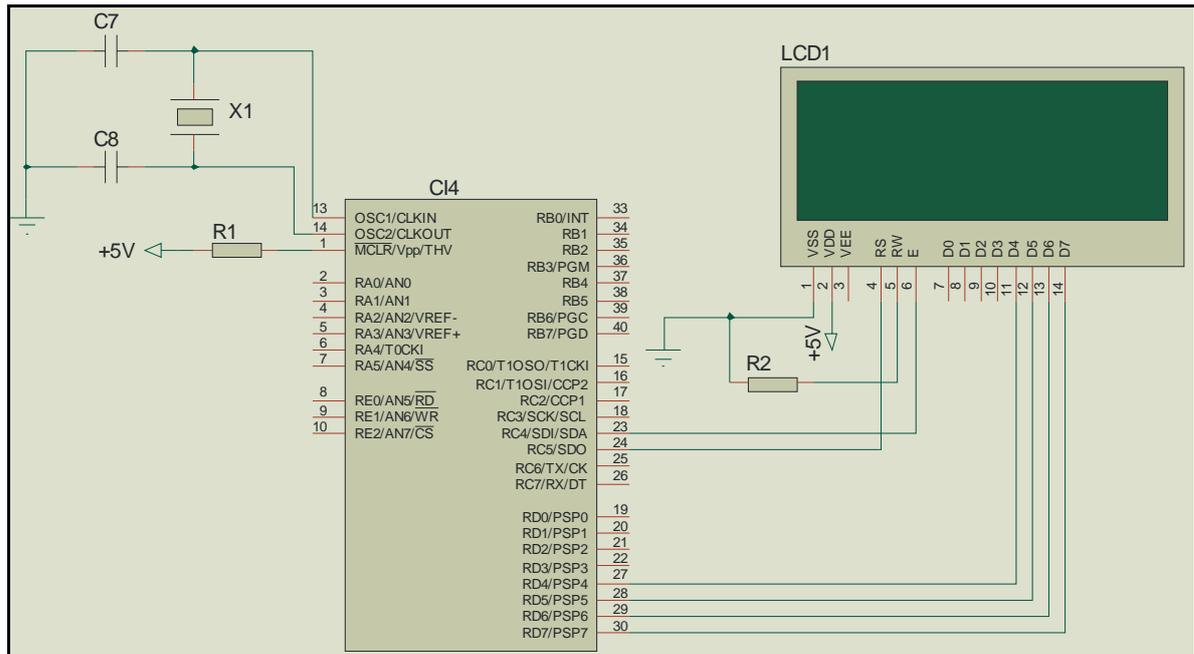


Figura 2.5. Circuito do microcontrolador. R1 = 10 k $\Omega$ ; R2 = 5 k $\Omega$ ; C7 = C8 = 10 pF; X1 = cristal de 4 MHz; CI4 = PIC 16F877; LCD1 = mostrador de cristal líquido LCD 0420.

O mostrador **LCD1** utilizado no espectrômetro é do modelo TECH2004D-FL-GBS-S, com quatro linhas e vinte colunas, o qual possui barramento de dados de 8 bits e barramento de controle de 3 bits. Neste trabalho, a comunicação entre o PIC e o mostrador foi sempre realizada empregando-se seis linhas, sendo duas de controle e quatro para transmissão de dados de 4 bits.

### 2.1.2.3 - Circuito Eletrônico do Módulo da Fonte de Radiação

O diagrama esquemático do circuito eletrônico do módulo de acionamento da fonte de radiação é apresentado na Figura 2.6.

O **LB** é alimentado por uma tensão de +5 V, fornecida pelo transistor **T1**, limitada por sua resistência interna e pelo resistor **R9** ligado

em série com **LB**. O capacitor **C10** foi utilizado para diminuir as oscilações de intensidade luminosa de **LB** no instante de seu acionamento. Para evitar a variação de corrente no tempo, "drift", **LB** foi pulsado a 6,9 Hz e sua corrente foi limitada a 20 mA, abaixo das especificações do fabricante. O resistor **R8** é utilizado para evitar que, quando o transistor **T1** esteja em corte, ocorra alguma corrente de fuga ao ligar **LB**.

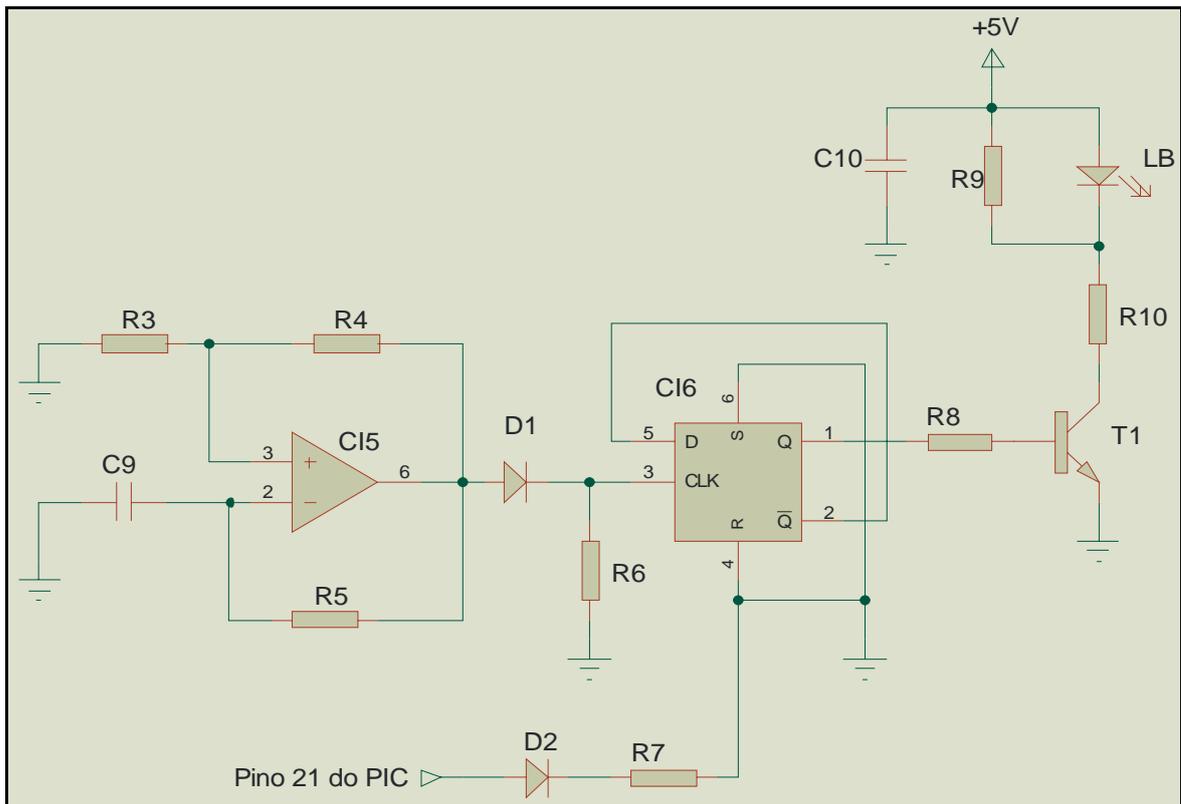


Figura 2.6. Circuito da fonte de radiação. R3 = R4 = 15 k $\Omega$ ; R5 = 18 k $\Omega$ ; R6 = 10 k $\Omega$ ; R7 = 4,7 k $\Omega$ ; R8 = 22 k $\Omega$ ; R9 = 1,5 k $\Omega$ ; R10 = 47 k $\Omega$ ; C9 = 120 nF; C10 = 2200 nF; D1 = D2 = diodo 1N4148; CI5 = amplificador operacional TIP 741; CI6 = flip-flop 4013; T1 = transistor BC 548; LB=LED branco.

Para pulsar a radiação do **LB** foi utilizado um modulador de freqüências baseado num oscilador de ondas quadradas, que faz com que o transistor **T1** trabalhe ora em corte, ora em saturação. Este modulador de freqüências é formado por um amplificador operacional **CI5**, com realimentação positiva por meio dos resistores **R3** e **R4**, funcionando como um oscilador astável, em que nenhum dos dois estados possíveis (nível alto e nível baixo) é estável, produzindo um trem de pulsos cuja

freqüência de oscilação é determinada pelo capacitor **C9** e pelo resistor **R5**. A freqüência de oscilação foi fixada em 14,0 Hz.

Como os pulsos gerados pelo oscilador astável não são simétricos, um flip-flop (**CI6**) é usado para corrigir esta distorção. Para tanto, ele é configurado de modo que as suas saídas variem apenas em bordas de subida dos pulsos recebidos em sua entrada fornecidos pelo oscilador astável. Devido a isto, a saída do **CI6** fornece um sinal com metade da freqüência do sinal gerado pelo oscilador astável, ou seja, pulsos cuja freqüência é de 7,0 Hz.

O resistor **R6** e o diodo de sinal **D1** foram ligados na saída do oscilador astável para limitar a amplitude dos pulsos que chegam à entrada do flip-flop. Como o oscilador astável fornece pulsos de tensão de +5 V a -5 V, que prejudicam o flip-flop devido às tensões negativas, foi ligado no circuito um diodo de proteção que, ao receber uma tensão inferior a 0,6 V entrará em corte e não conduzirá corrente para o flip-flop. Assim, uma tensão de 0 V (zero Volt) surgirá na entrada do **CI6** por esta se encontrar ligada ao resistor de **R6**, aterrado. Deste modo, a faixa de tensões na entrada no **CI6** fica limitada de 0 a 5 V, adequada ao seu uso.

**LB** pode ser desligado acionando o pino 21 do microcontrolador. O diodo **D2** e o resistor **R7** têm a função de não permitir que sinais espúrios, provenientes do microcontrolador, atinjam **CI6**.

#### 2.1.2.4 - Circuito Eletrônico do Módulo de Aquisição de Sinais

O circuito eletrônico do módulo de aquisição de sinais do espectrômetro proposto pode ser dividido em: conversor corrente-tensão; filtro Butterworth; circuito de ganho e retificação; detector e retentor de pico; circuito de ganho variável.

##### a) Conversor corrente-tensão

O fototransistor **FT** transforma a potência radiante que atinge sua superfície fotossensível em corrente. Esta fotocorrente é, então, convertida em tensão, **sinal A**, com auxílio de um amplificador

operacional **CI7**, apresentado na Figura 2.7, com um ganho regulado pelo resistor **R11**.

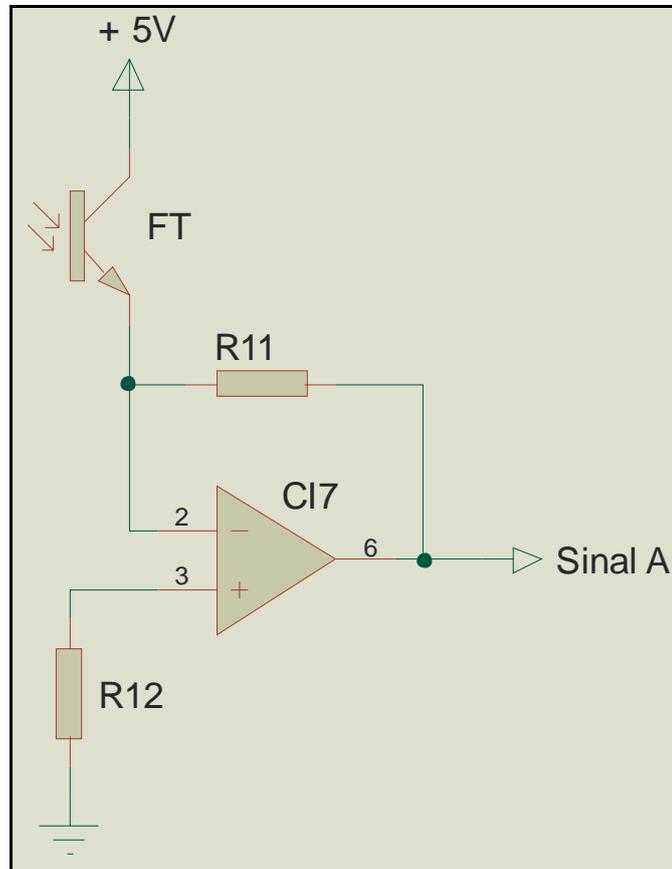


Figura 2.7. Circuito de conversão corrente-tensão.  $R11 = R12 = 1,5 \text{ M}\Omega$ ; FT = fototransistor; CI7 = amplificador operacional 741.

#### b) Filtro Butterworth

O **sinal A** passa por um circuito para filtrar ruídos de baixa frequência, apresentado na Figura 2.8. Este circuito é conhecido como filtro Butterworth de segunda ordem. A frequência de corte (definida por **C11**, **C12**, **R13**, **R14** e **CI8:A**) é aproximadamente 7,4 Hz, isto quer dizer que o ruído da rede externa de alimentação (60 Hz) decresce aproximadamente 40 dB (100 vezes o seu sinal). Por outro lado, o sinal analítico por apresentar frequência próxima à de corte, sofre uma atenuação da ordem de 30 %. Porém, como o ganho do circuito é da ordem de 1,57 vezes (definido por **R14**, **R15** e **CI8:A**), o **sinal B** é o **sinal A** filtrado, sem tensões espúrias e com intensidade de sinal 10 % maior.

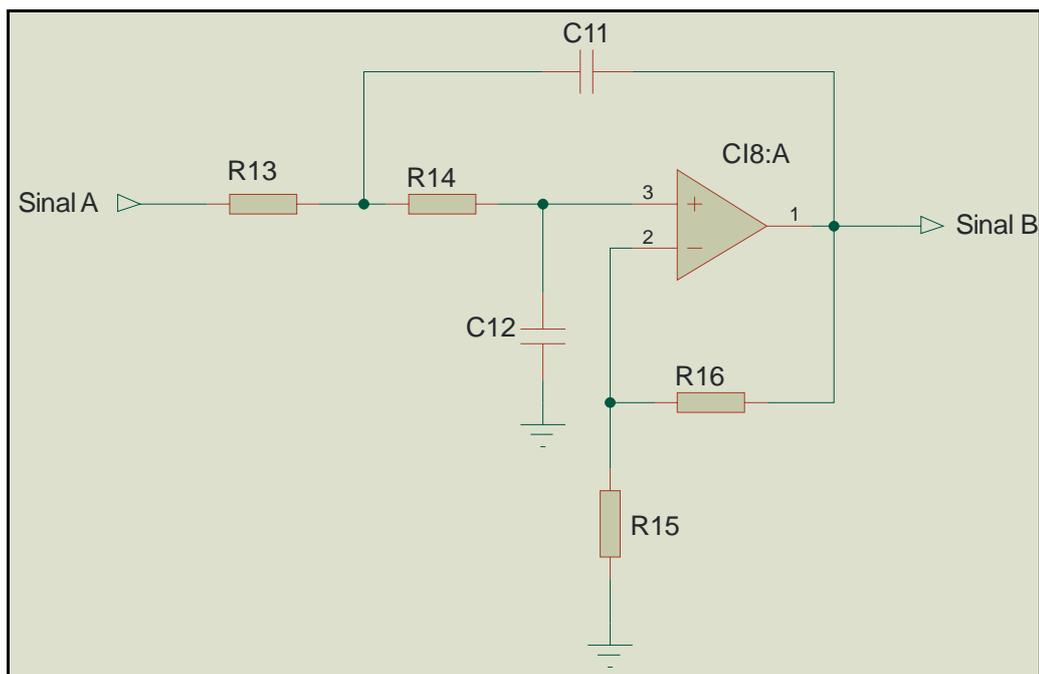


Figura 2.8. Circuito do filtro Butterworth de dois pólos.  $R13 = R14 = 180 \text{ k}\Omega$ ;  $R15 = 10 \text{ k}\Omega$ ;  $R16 = 5,7 \text{ k}\Omega$ ;  $C11 = C12 = 120 \text{ nF}$ ; CI8 = amplificador operacional TL084.

### c) Circuito de ganho e retificação

O circuito de ganho e retificação, apresentado na Figura 2.9, inicialmente amplifica o **sinal B** em 38,3 vezes. Este ganho é definido pelos resistores **R17** e **R18** e pelo amplificador operacional **CI8:B**.

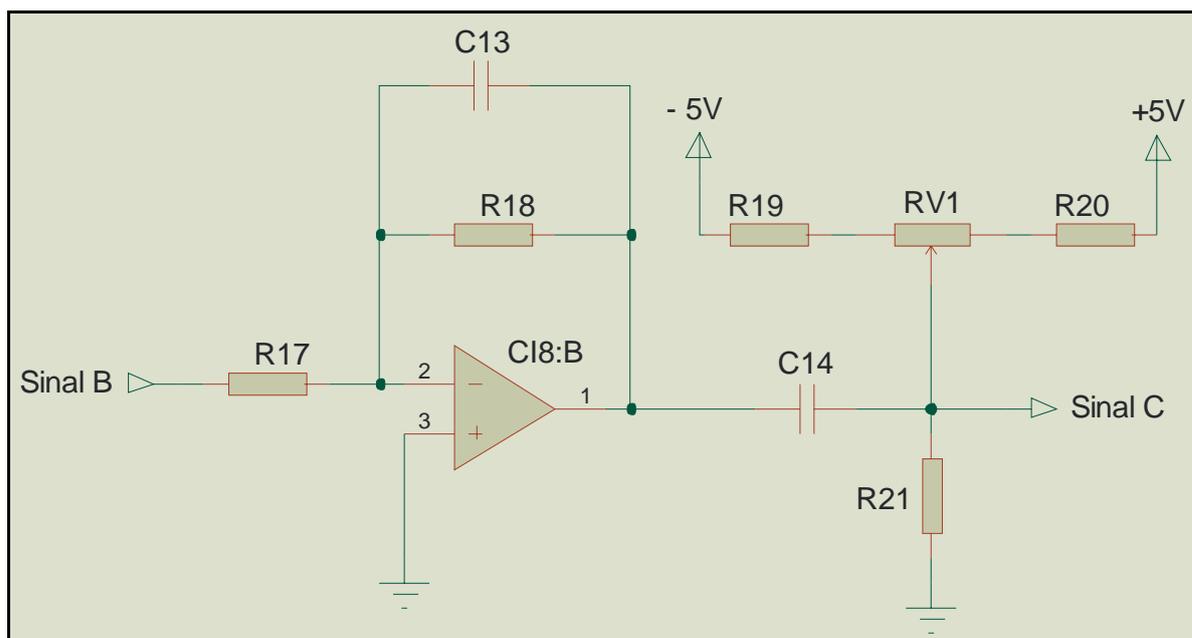


Figura 2.9. Circuito de ganho e retificação.  $R17 = 4,7 \text{ k}\Omega$ ;  $R18 = 180 \text{ k}\Omega$ ;  $R19 = R20 = 560 \text{ k}\Omega$ ;  $R21 = 330 \text{ k}\Omega$ ;  $RV1 = 5,7 \text{ k}\Omega$ ;  $C13 = 120 \text{ nF}$ ;  $C14 = 1 \text{ }\mu\text{F}$ ; CI8:B = amplificador operacional TL084.

Nesse circuito um outro filtro de ruídos de baixa frequência em 7,4 Hz, definido por **C13** e **R18**, foi utilizado. Na saída do **CI8:B** o sinal sofre um corte em frequências mais altas que 0,48 Hz, definido por **C14** e **R21**. Isto quer dizer que apenas sinais contínuos passarão por este filtro.

A tensão residual (do inglês "off-set"), existente nos amplificadores operacionais, é eliminada por meio de um divisor de tensão entre os resistores **R19** e **R20** e o resistor variável **RV1**, permitindo que o sinal de fundo, ou da linha de base, se aproxime de zero.

#### d) Circuito de detecção e retenção de pico

O circuito eletrônico de detecção e retenção de pico, mostrado na Figura 2.10, está baseado na idéia de que o capacitor **C15**, ao ser carregado, pode perder essa carga em um tempo controlado pela impedância existente no circuito.

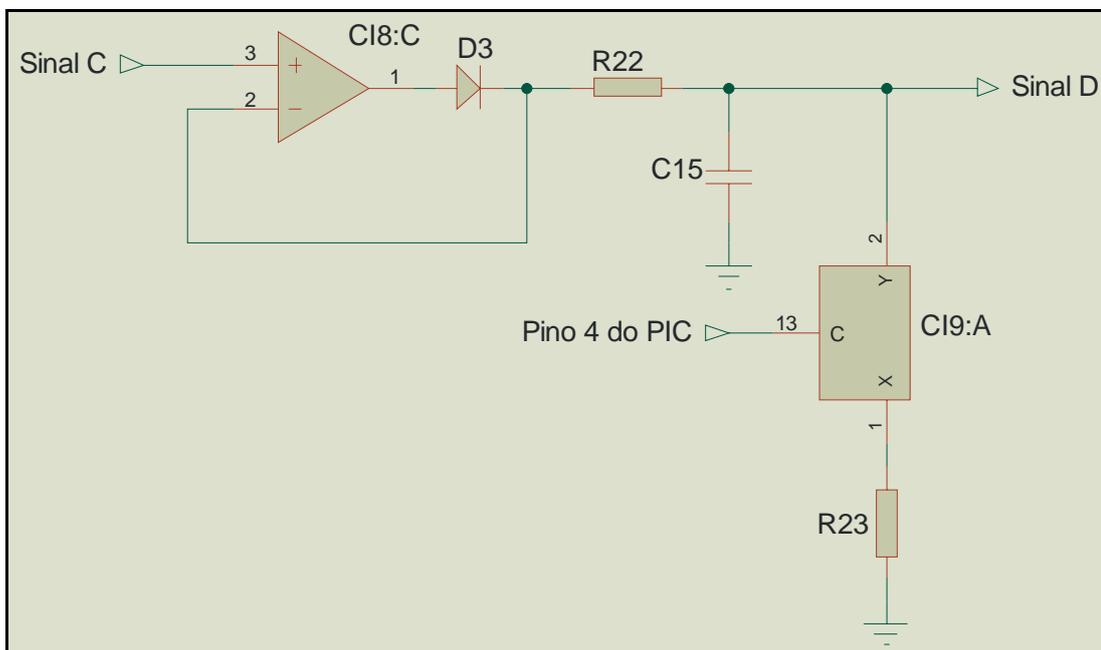


Figura 2.10. Circuito de detecção e retenção de pico.  $R22 = R23 = 4,7 \text{ k}\Omega$ ;  $C15 = 1 \text{ }\mu\text{F}$ ; **D3** = diodo 1N4148; **CI8:C** = amplificador operacional TL084; **CI9:A** = chave bilateral HEF4066.

O **sinal C**, proveniente do circuito de ganho e amplificação, alcança a entrada não-inversora do amplificador operacional **CI8:C**, servindo como um seguidor de tensão. O diodo **D3** tem a finalidade de impedir que

qualquer sinal negativo passe pelo circuito. O retentor de pico propriamente dito é obtido pelo resistor **R23**, pelo capacitor **C15** e pela chave **CI9:A**. O tempo de carga do capacitor é controlado pelo resistor **R22** e pelo capacitor **C15**. Por outro lado, o tempo de descarga do capacitor é controlado por **C15** e por **R23**. O capacitor **C15** apenas descarregará quando um pulso for enviado do PIC, através do pino 04, para o **CI9:A**, que atua como uma chave de controle da descarga do capacitor.

#### e) Circuito de ganho variável

O circuito de ganho variável, apresentado na Figura 2.11, possibilita selecionar uma das três ampliações de sinal distintas de acordo com o acionamento das chaves **CI9:B** (4,13 vezes), **CI9:C** (6,73 vezes) ou **CI9:D** (13,05 vezes). Isto permite que, para comprimentos de onda em que os sinais sejam menos intensos, a faixa de tensões de trabalho seja ampliada aumentando a relação sinal-ruído.

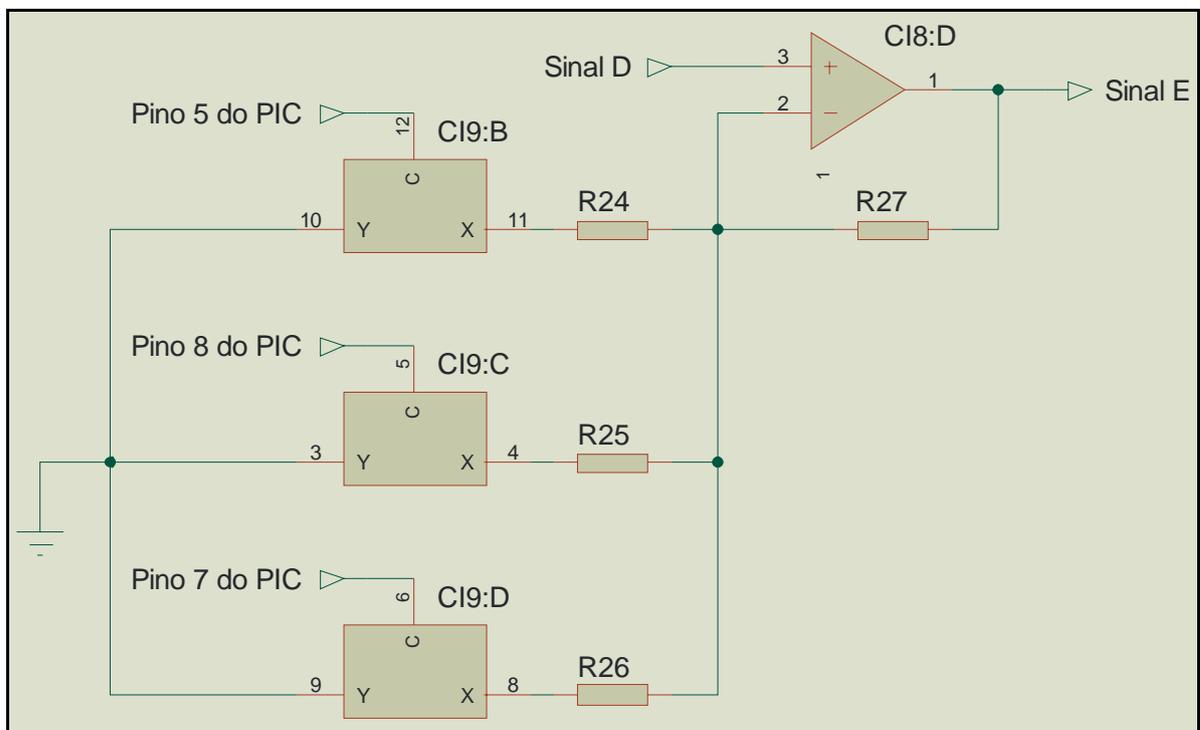


Figura 2.11. Circuito de ganho variável.  $R24 = 15 \text{ k}\Omega$ ;  $R25 = 8,2 \text{ k}\Omega$ ;  $R26 = 3,9 \text{ k}\Omega$ ;  $R27 = 47 \text{ k}\Omega$ ; CI8:D = amplificador operacional TL084; CI9:B = CI9:C = CI9:D = chave bilateral HEF4066.

O **signal E** é conduzido ao microcontrolador, pelo pino 03, para que o programa computacional faça o tratamento matemático e o resultado seja apresentado no LCD.

#### 2.1.2.5 - Circuito Eletrônico do Módulo de Acionamento do Motor de Passos

O circuito eletrônico do módulo de acionamento do motor de passos é mostrado na Figura 2.12. O motor de passos, composto pelas bobinas **L1** a **L4**, é proveniente de uma impressora matricial. É alimentado com uma tensão de +5 V e uma corrente de cerca de 300 mA, fornecida por **CI10**, CI gerador de corrente (do inglês "driver"). Como visto na seção 2.1.1.3, a atuação do motor de passos é controlada pelo acionamento adequado de suas bobinas, através dos pinos 17 a 20 do microcontrolador.

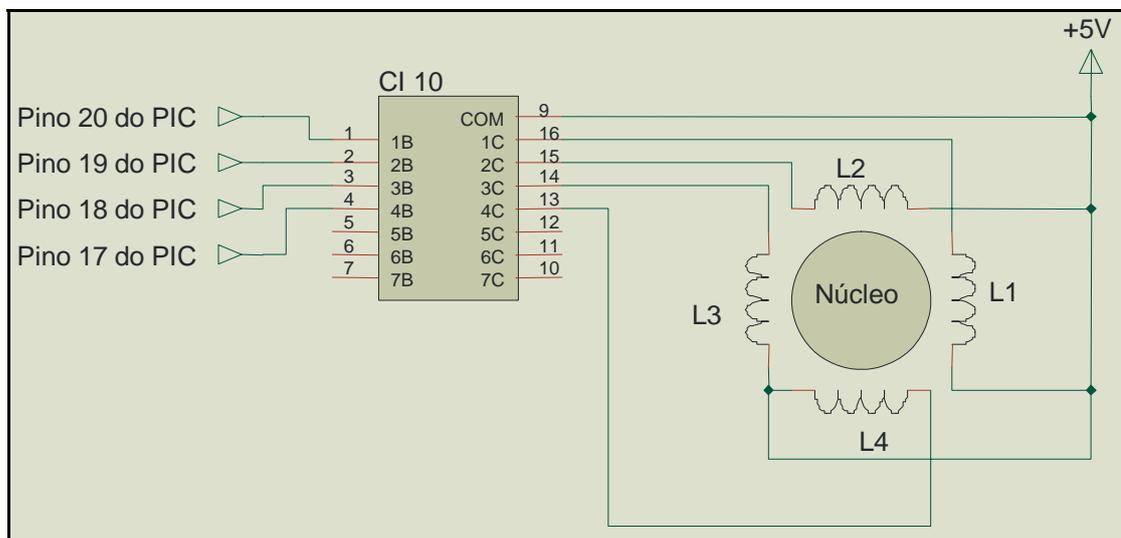


Figura 2.12. Circuito para acionamento do motor de passos. CI10 = "driver" de corrente ULN 2003; L1 = L2 = L3 = L4 = bobinas do motor de passos.

#### 2.1.2.6 - Circuito Eletrônico do Módulo do Detector de Início de Curso

O circuito eletrônico do módulo do detector de início de curso é mostrado na Figura 2.13. O circuito utiliza um LED que emite radiação na região do ultravioleta, **LED**. Este LED é alimentado por uma tensão de +5 V e sua corrente limitada pelo resistor **R28** ligado em série. Os fototransistores **FT2** e **FT3** geram correntes elétricas que, ao passar pelos

resistores **R29** e **R31** e entre **R30** e **R32**, respectivamente, produzem uma diferença de potencial, suficiente para acionar, respectivamente, os pinos 40 e 39 do microcontrolador.

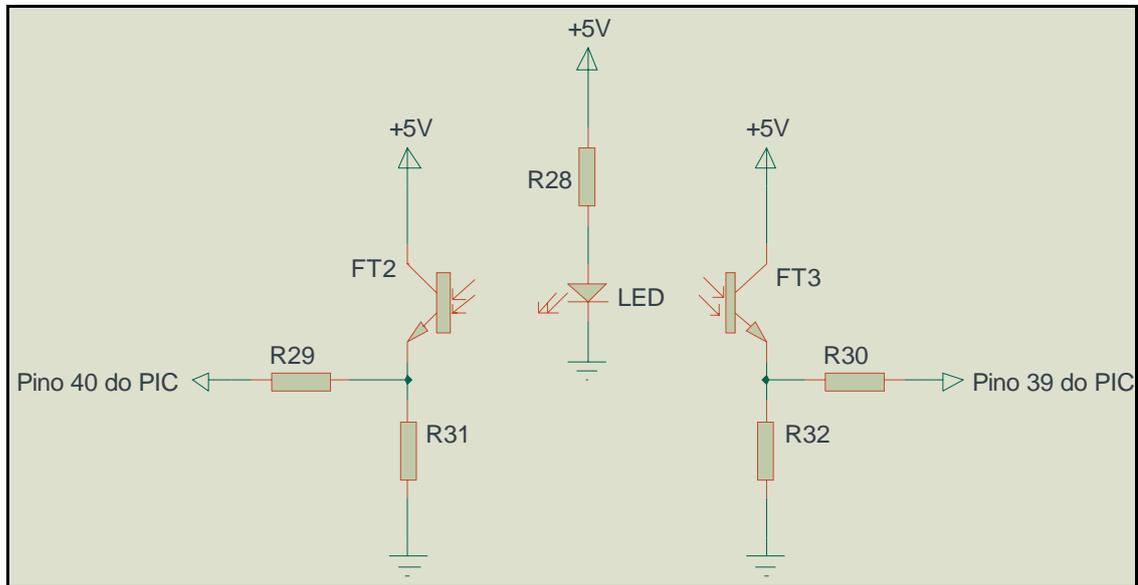


Figura 2.13. Circuito do detector de fim de curso.  $R28 = 2,2 \text{ k}\Omega$ ;  $R29 = R30 = 100 \text{ k}\Omega$ ;  $R31 = R32 = 56 \text{ k}\Omega$ ;  $FT2 = FT3 =$  fototransistor;  $LED = LED$ .

A indicação do início de curso é dada por uma pequena placa de metal, que impede que o sinal proveniente do **LED** alcance os fototransistores **FT2** e **FT3**. A barra de metal foi acoplada ao terceiro redutor do motor de passos com a finalidade de obter uma maior precisão na detecção do passo inicial.

#### 2.1.2.7 - Circuito Eletrônico de Comunicação do Analista com o Instrumento

Este circuito, apresentado na Figura 2.14, é responsável pela comunicação do analista com o espectrômetro, por meio de cinco botões de pressão que acionam os pinos 33 a 37 do microcontrolador. Os resistores **R33** a **R42** têm a finalidade de minimizar os ruídos gerados quando os botões são pressionados. Neste circuito, as portas do PIC estarão sempre sendo alimentadas por +5 V até que um botão seja acionado, levando o respectivo pino de **CI11** a nível lógico alto (+5 V) e sua saída fica em zero Volt, acionando a porta do PIC.

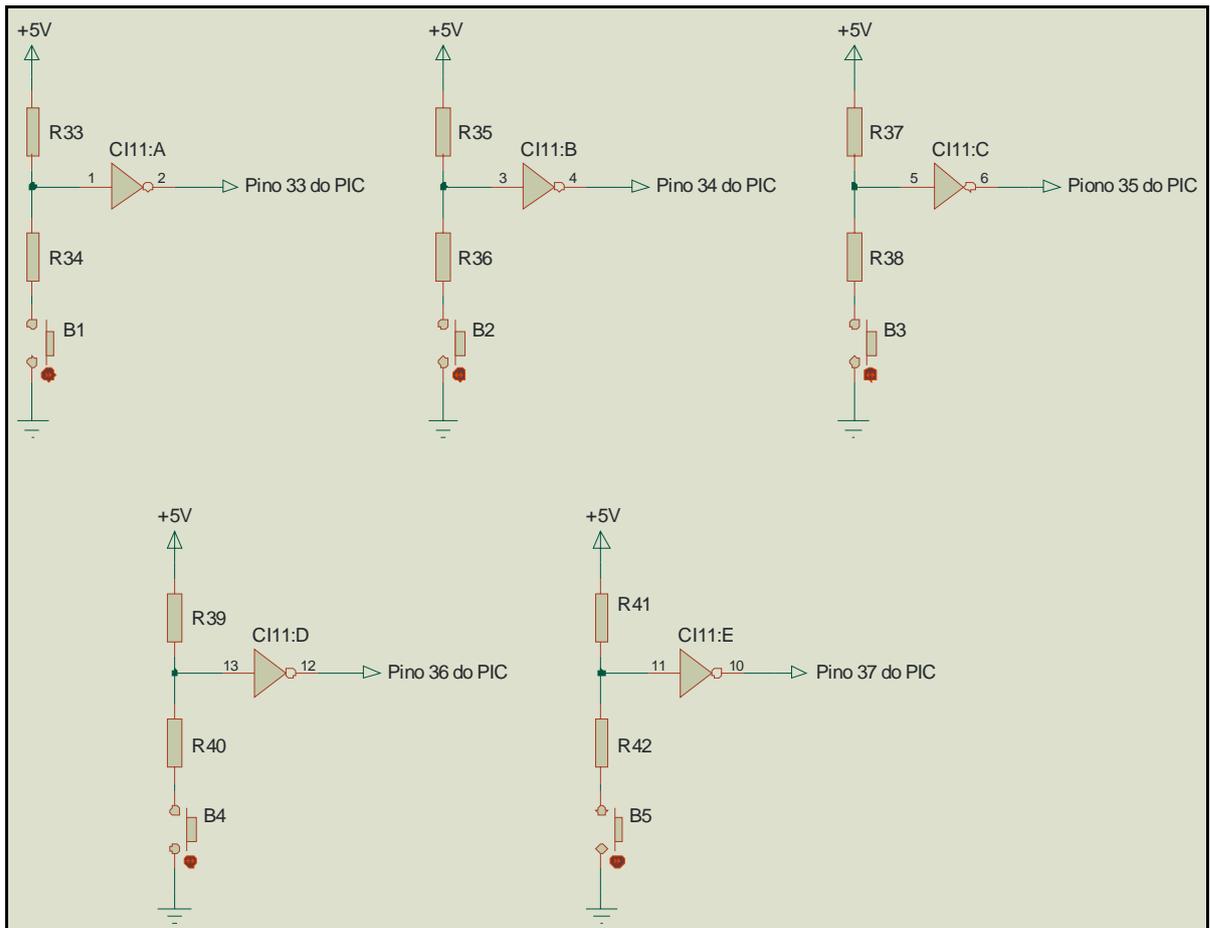


Figura 2.14. Circuito eletrônico de comunicação do analista com o instrumento. R33 = R35 = R37 = R39 = R41 = 10 k $\Omega$ ; R34 = R36 = R38 = R40 = R42 = 100 k $\Omega$ ; CI11 = circuito integrado inversor HEF40106B; B1 = B2 = B3 = B4 = B5 = chaves liga-desliga.

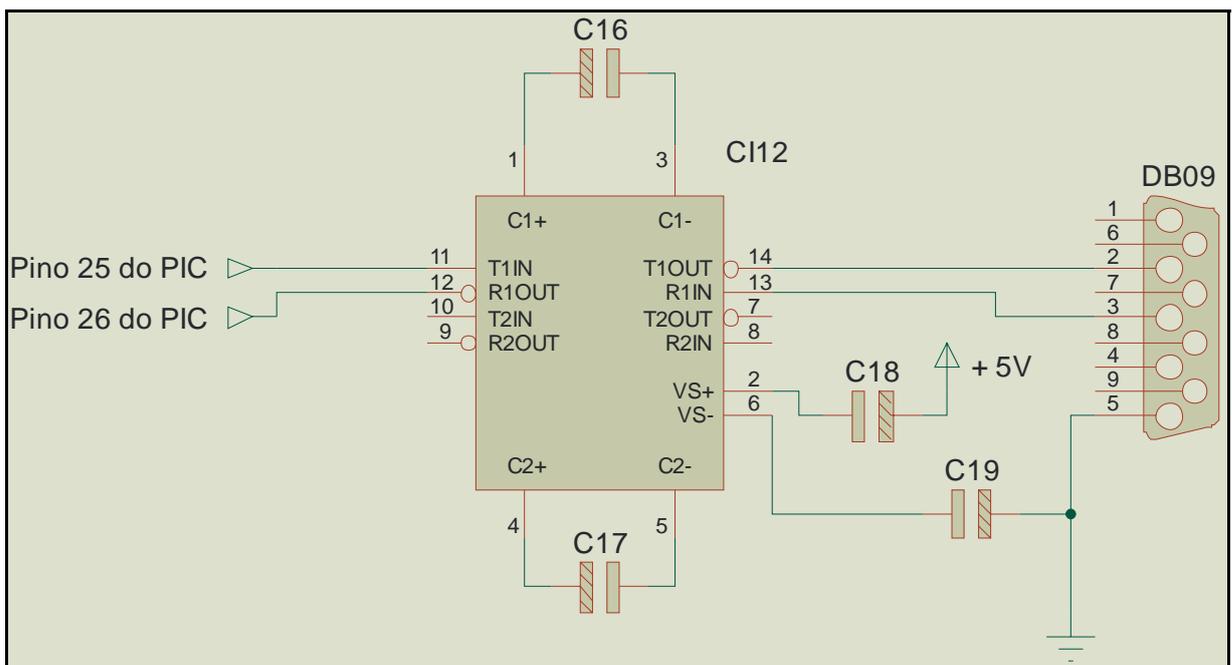


Figura 2.15. Circuito eletrônico de leitura serial para análises multivariadas. C16 = C17 = C18 = C19 = 10 nF; CI12 = conversor TTL-RS232 MAX232.

### 2.1.2.8 - Circuito de Leitura de Sinais Multivariados

Este circuito, apresentado na Figura 2.15, é responsável pelo envio dos sinais do instrumento proposto ao microcomputador quando análises multivariadas são requeridas. Este circuito é necessário pois o PIC não possui memória suficiente para armazenar os sinais de cada um dos comprimentos de onda em análise de varredura.

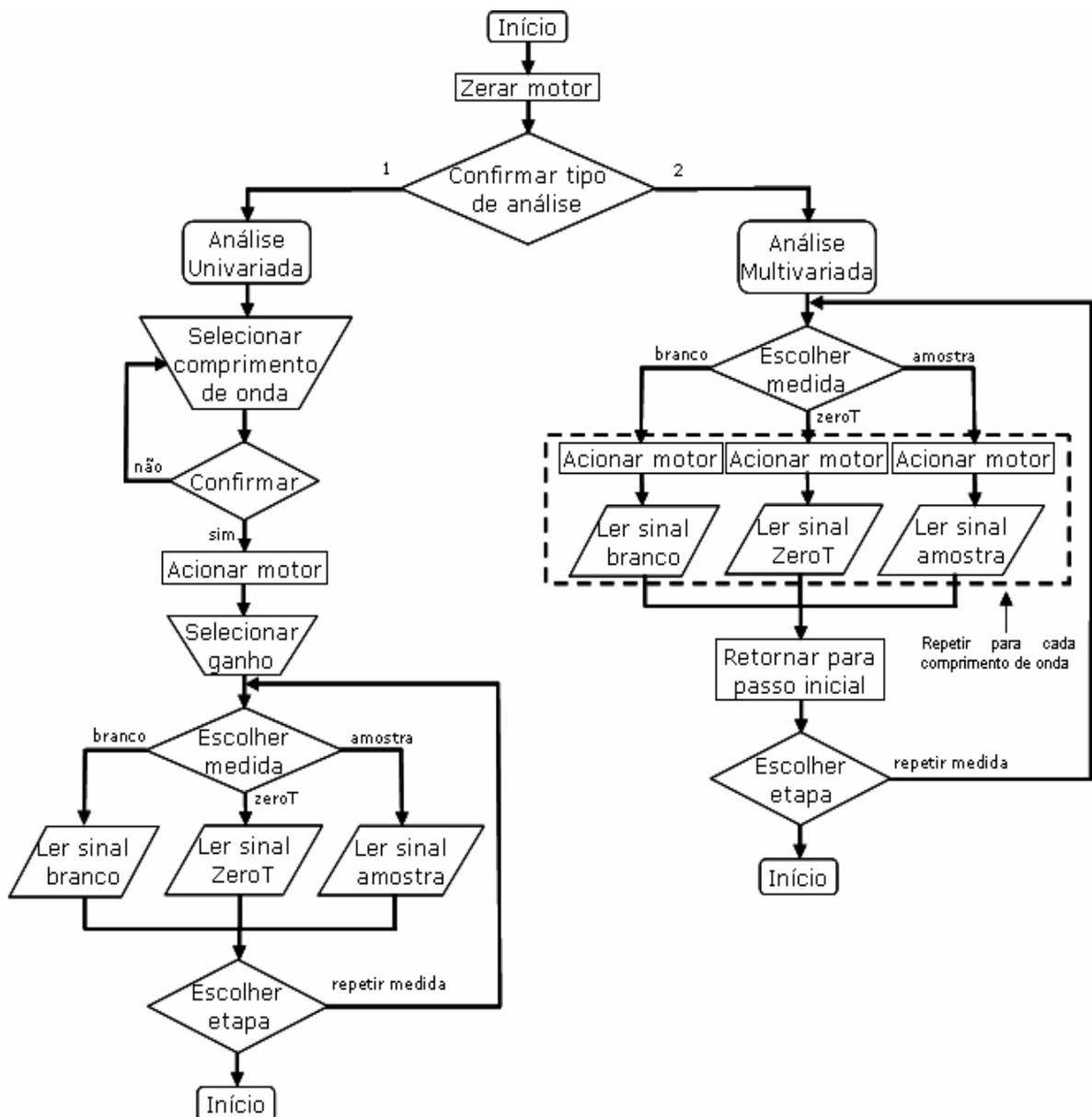


Figura 2.16. Fluxograma do programa computacional.

### 2.1.3 – Programa computacional

O programa computacional, responsável pelo controle das operações de deslocamento da posição do dispersor e pelos aquisição e tratamento

dos dados, foi escrito em linguagem C, vide **Apêndice**. Este programa foi desenvolvido para aquisição de dados para análises univariada e multivariada. Na Figura 2.16 é mostrado um fluxograma do programa utilizado.

Didaticamente, o programa computacional pode ser dividido em três etapas: Ajuste do ponto inicial; Seleção do tipo de análise; Medida de sinal.

#### 2.1.3.1 - Ajuste do Ponto Inicial

Inicialmente, quando o instrumento é ligado, o motor de passos é atuado até o ponto em que o dispersor esteja em sua posição inicial, Figura 2.17. Neste momento, o programa computacional promove a parada imediata do motor de passos.

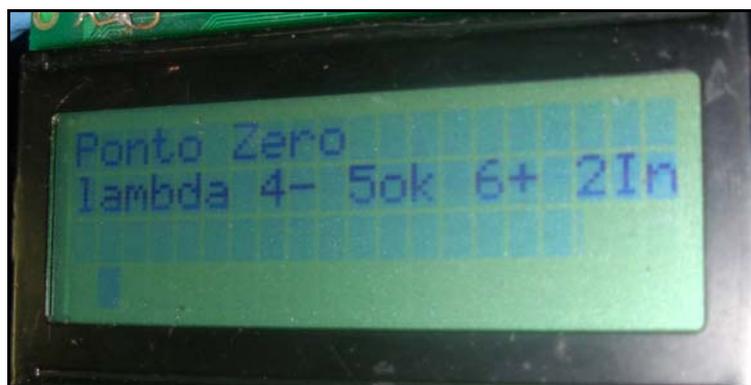


Figura 2.17. Tela do instrumento proposto para ajuste do ponto inicial.

#### 2.1.3.2 - Seleção do Tipo de Análise

Na seqüência, o programa computacional solicita, via LCD, que o analista selecione o tipo de análise de interesse, univariada ou multivariada. Escolhido o tipo de análise, é solicitado que se digite o comprimento de onda para a análise univariada, conforme apresentado na Figura 2.18. Escolhido e confirmado o comprimento de onda, o microcontrolador aciona o motor de passos até o comprimento de onda inicial. Para a análise multivariada serão feitas automaticamente medidas de todos os comprimentos de onda de trabalho.

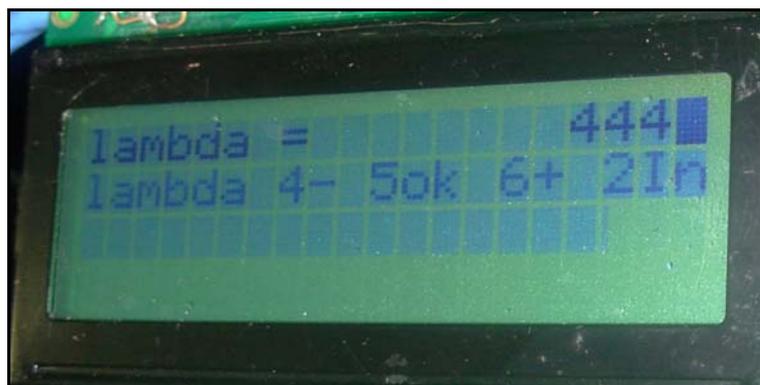


Figura 2.18. Tela do instrumento proposto para escolha do tipo de análise.

### 2.1.3.3 - Medida de Sinal

Para a análise univariada, o motor, não acionado, permanece no comprimento de onda escolhido e as medidas de ZeroT (zero de transmitância), branco e amostras vão sendo feitas, de acordo com o interesse do analista. O resultado da medida de uma amostra é apresentado na Figura 2.19. Na análise multivariada, faz-se medidas de ZeroT em cada comprimento de onda e depois o motor retorna para o comprimento de onda inicial. Em seguida, faz-se medidas de branco da mesma forma. Por fim, cada amostra é analisada, da mesma forma das medidas de ZeroT.



Figura 2.19. Tela do instrumento proposto apresentando o resultado da análise de uma amostra em absorbância.

Caso o analista queira alterar o tipo de análise ou os comprimentos de onda selecionados basta acionar um botão que permite que se retorne para o ponto inicial do programa computacional.

**CAPÍTULO 3**  
**MATERIAL E MÉTODOS**

### 3.1 – Reagentes, Soluções e Amostras

Os padrões dos corantes orgânicos artificiais tartrazina (E-102), amarelo crepúsculo (E-110), vermelho-40 (E-129) e azul brilhante (E-133) foram produzidos pela Indústria Sigma-Aldrich. As soluções-estoque dos corantes com  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  foram preparadas dissolvendo-se quantidades suficientes de cada corante em solução tampão pH 7,00. As soluções-padrão de trabalho e das amostras sintéticas dos corantes, usadas nas etapas de avaliação de performance do instrumento construído e de medidas analíticas, foram preparadas por adequadas diluições das respectivas soluções-estoque.

As soluções-padrão de misturas de corantes foram preparadas com base no planejamento experimental Brereton<sup>[55]</sup>, com três fatores (corantes) e três níveis de concentração, dentro da faixa dinâmica de trabalho de cada corante. Os corantes tartrazina (E-102), amarelo crepúsculo (E-110) e vermelho-40 (E-129) foram selecionados para a calibração multivariada por apresentarem forte sobreposição espectral.

Uma solução tampão fosfato<sup>[56]</sup> com pH 7,00 foi utilizada na preparação de todas as soluções-padrão dos corantes e das amostras. Esta solução é obtida pela mistura na proporção de 50 mL da solução  $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Labsynth) com 29,63 mL de  $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$  (Labsynth).

Uma solução-estoque de  $\text{Fe}^{2+}$   $1000 \text{ mg L}^{-1}$  foi preparada dissolvendo-se 0,49 g de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (VETEC) em 10 mL de HCl (Qhemis)  $6,0 \text{ mol L}^{-1}$  e diluindo com água para 100 mL. As soluções-padrão de trabalho de  $\text{Fe}^{2+}$ , usadas nas etapas de avaliação de performance do instrumento construído, foram preparadas por adequadas diluições da respectiva solução-estoque. Uma solução de  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{NaCH}_3\text{COO}$  (F. Maia) foi preparada para ajustar as soluções de  $\text{Fe}^{2+}$  a pH 3,5. Uma solução 0,25 % (m/v) de 1,10-fenantrolina (Labsynth) foi preparada como reagente cromogênico do  $\text{Fe}^{2+}$ .

Para determinação de  $\text{Fe}^{2+}$  pelo método da 1,10-fenantrolina<sup>[57]</sup> foram utilizadas seis amostras de soluções orais de polivitamínicos, de fabricantes diferentes, adquiridos no comércio de João Pessoa. Essas formulações farmacêuticas foram apenas diluídas como etapa de pré-processamento das amostras, com a finalidade de que as concentrações de  $\text{Fe}^{2+}$  estivessem dentro da faixa de trabalho da curva analítica (2,0 a 10,0 mg L<sup>-1</sup>).

A água utilizada em todas as soluções desse trabalho foi sempre recém-destilada.

### **3.2 – Material e Equipamentos**

Para fins de comparação, o instrumento proposto teve seu desempenho avaliado em relação a um espectrômetro com arranjo de fotodiodos da HP, modelo 8453, e a um espectrômetro da Micronal, modelo B34211.

As medidas espectrométricas foram realizadas nos comprimentos de onda referentes à máxima absorção dos corantes: 486 nm (amarelo crepúsculo), 500 nm (vermelho-40) e 582 nm (azul brilhante). Todavia, para o corante tartrazina foram realizadas medidas em 441 nm em virtude de sua baixa sensibilidade a 426 nm, comprimento de onda referente à máxima absorção, no instrumento proposto. A determinação de  $\text{Fe}^{2+}$  foi realizada a 515 nm.

As balanças utilizadas foram da Scientech, modelos SA 120 e SL 1000. Com a finalidade de medir o pH da solução tampão foi utilizado um pHmetro da marca Quimis, modelo Q-400A.

Para calibração do instrumento construído foi utilizado um espectrômetro da Ocean Optics, modelo USB450, com fibra óptica.

### **3.3 – Avaliação de Performance do Instrumento Proposto**

#### **3.3.1 – Calibração do instrumento**

##### 3.3.1.1 - Estabilidade da Fonte

Medidas indiretas da intensidade luminosa da fonte de radiação foram realizadas por intermédio da corrente gerada quando a radiação do LED branco incidia no fototransdutor. O período de monitoração da estabilidade da fonte foi de 08 (oito) horas, com intervalos de medição de 05 (cinco) minutos. O resultado é apresentado na Seção 4.1.1.

##### 3.3.1.2 – Relação entre Número de Passos e Comprimento de Onda

Para a calibração do instrumento proposto, foi analisada a correlação entre o número de passos e os comprimentos de onda da máxima emissão no fototransistor, para cada passo. A relação entre o número de passos e comprimento de onda do instrumento proposto foi realizada substituindo-se o fototransdutor por um espectrômetro da Ocean Optics. As medidas foram realizadas com cinco repetições autênticas. Os resultados foram empregados para obtenção da relação entre o número de passos dado e o comprimento de onda da radiação selecionada. Com esses resultados foi possível calcular também a largura efetiva de banda (LEB) em cada comprimento de onda avaliado. Os resultados são apresentados na Seção 4.1.2.

#### **3.3.2 – Calibração univariada**

##### 3.3.2.1 - Figuras de Mérito para Análise Univariada

As figuras de mérito<sup>[58]</sup> de interesse para análise univariada utilizando os equipamentos são descritas a seguir.

##### a) Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O sinal de branco foi medido no comprimento de onda de interesse para cada analito nos três instrumentos. Com este procedimento foi possível calcular os limites de detecção (LOD, do inglês "Limit Of

Detection”) e de quantificação (LOQ, do inglês “Limit Of Quantification”), para cada um dos analitos. O valor do LOD, Equação (1) na Seção 3.3.2.2h, representa a menor concentração do analito que pode ser detectada ao nível de 95% de confiança estatística. Para isso, foram utilizados os parâmetros da curva analítica construída para cada analito e a estimativa do desvio-padrão de 20 medições do sinal do branco. O valor estimado para o LOQ, Equação (2) na Seção 3.3.2.2h, corresponde a 3,33 vezes o valor do LOD.

#### b) Linearidade

Para cada analito foram obtidas as faixas lineares de trabalho, que correspondem às concentrações do analito que fornecem uma resposta analítica diretamente proporcional a estas concentrações. A concentração de uma dada solução em que começa a existir uma falta de linearidade em sua resposta é denominada de limite de linearidade (LOL, do inglês “Limit Of Linearity”).

#### c) Precisão (repetitividade)

Foram realizadas medidas, com 03 repetições autênticas, das soluções-padrão para cada analito a fim de estimar o desvio-padrão. Esta figura de mérito representa a dispersão das medidas (ou resultados) entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra sob condições definidas.

#### d) Exatidão

Foram realizadas medidas das amostras, seqüencialmente, com o instrumento proposto e os dois equipamentos comerciais para avaliação da concordância existente entre os valores de concentrações obtidos nos três espectrômetros.

O procedimento descrito na Seção 3.3.2.2 foi adotado para a obtenção das figuras de mérito dos métodos univariados implementados.

### 3.3.2.2 – Procedimento Adotado para Estimar as Figuras de Mérito

As etapas seguintes foram utilizadas a fim de estimar os valores das figuras de mérito dos métodos para quantificação de cada analito empregando o instrumento proposto e os equipamentos comerciais.

a) Medida dos sinais do branco.

b) Medida dos sinais das soluções-padrão.

c) Regressão linear, pelo Método dos Mínimos Quadrados (MMQ), para obtenção da relação absorvância–concentração.

d) Análise de Variância (ANOVA)<sup>[59]</sup>, Tabela 3.1, utilizando o teste F com 95 % de confiança para ajuste do modelo linear.

Tabela 3.1. Análise de variância (ANOVA) para o ajuste de um modelo pelo MMQ.

Fonte	Soma Quadrática	GL	Média Quadrática
Modelo	$SQ_{reg} = \sum n_i [(y_e)_i - y_m]^2$	p-1	$SQ_{reg}/(p-1)$
Residual	$SQ_r = \sum \sum [y_{ij} - (y_e)_i]^2$	n-p	$SQ_r/(n-p)$
Falta de Ajuste	$SQ_{faj} = \sum n_i [(y_e)_i - y_{im}]^2$	m-p	$SQ_{faj}/(m-p)$
Erro Puro	$SQ_{ep} = \sum \sum (y_{ij} - y_{im})^2$	n-m	$SQ_{ep}/(n-m)$
Total	$SQ_t = \sum \sum (y_{ij} - y_m)^2$	n-1	

Onde: GL – número de graus de liberdade;

$n_i$  = número de repetições no nível  $i$ ;

$m$  = número de níveis distintos da variável  $x$ ;

$n = \sum n_i$  = número total de medidas;

$p$  = número de parâmetros do modelo.

O índice  $i$  indica o nível da variável  $x$ .

O índice  $j$  refere-se às medidas repetidas da variável  $y$  em um dado nível de  $x$ .

O segundo somatório das expressões para  $SQ_r$ ,  $SQ_{ep}$ ,  $SQ_t$  vai de  $j = 1$  até  $j = n_i$ . Os outros somatórios vão de  $i = 1$  até  $i = m$ .

$y_m$  é a média de todos os valores de  $y$ .

$y_{im}$  é a média das determinações repetidas no nível  $i$ .

Se a relação absorvância-concentração não se encontra ajustada adequadamente a um modelo linear de acordo com a ANOVA, o limite superior da faixa de concentração é eliminado. Neste caso, as etapas **c** e **d** serão executadas novamente, até que a faixa dinâmica de trabalho seja determinada.

*e) Análise do gráfico dos resíduos para efeito de confirmação do resultado obtido para a faixa dinâmica de trabalho.*

*f) Seleção da faixa de concentrações para construção das curvas analíticas para cada um dos analitos de forma que as absorvâncias variem de 0,2 a 0,8 A.*

*g) Medida dos sinais das soluções-padrão para construção da curva analítica pelo MMQ.*

*h) Estimativa dos valores de LOD e de LOQ, empregando as equações<sup>[60]</sup>*

$$\text{LOD} = 3 s / S \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 10 s / S \quad (2)$$

onde:  $s$  é o desvio-padrão do branco (Item a).

$S$  é a inclinação da curva analítica.

A estimativa dos valores das figuras de mérito dos métodos para quantificação de cada analito empregando o instrumento proposto e os equipamentos comerciais são apresentados na Seção 4.2.1.

### 3.3.2.3 – Teste de Recuperação

Um estudo de recuperação<sup>[60]</sup> foi aplicado como método para determinar níveis de interferência e para verificar a exatidão do método, empregado na quantificação de Fe<sup>2+</sup> em polivitamínicos. A taxa de recuperação (R) é calculada empregando a expressão abaixo.

$$R(\%) = 100 (C_1 - C_2) / C_3 \quad (3)$$

onde C<sub>1</sub> é a concentração total do analito na amostra após adição de uma quantidade conhecida do mesmo analito; C<sub>2</sub> é a concentração original do analito determinada na amostra; C<sub>3</sub> é a concentração do analito adicionado na amostra.

As taxas de recuperação de Fe<sup>2+</sup> em amostras fortificadas são apresentadas na Seção 4.2.1.6.

### 3.3.3 – Calibração multivariada

Calibração multivariada é o processo de construção de modelos matemáticos que correlacionem respostas múltiplas (por exemplo, medidas em dois ou mais comprimentos de onda) com uma ou várias propriedades (concentração de um ou mais analitos) em uma dada amostra.

#### 3.3.3.1 – Métodos para Calibração Multivariada

Diversas técnicas de regressão podem ser utilizadas para construção desses modelos matemáticos, dentre os quais podem ser citados: a regressão linear múltipla (MLR, do inglês "Multiple Linear Regression"), a regressão em componentes principais (PCR, do inglês "Principal Component Regression"), a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês "Partial Least-Squares Regression")<sup>[61,62]</sup>. Em seguida, o modelo necessita ser validado para estimar o(s) parâmetro(s) de interesse de amostras desconhecidas (futuras).

a) MLR<sup>[61,62]</sup> – assume-se que o(s) parâmetro(s) de interesse (matriz **Y**) relacionam-se linearmente com as respostas instrumentais (matriz **X**) segundo a Equação (4).

$$Y = XB + E \quad (4)$$

em que,

- ✓ **X** - matriz dos sinais de "n" amostras, medidos em "p" variáveis;
- ✓ **Y** - matriz dos "q" parâmetros de "n" amostras;
- ✓ **B** - matriz dos coeficientes lineares de regressão;
- ✓ **E** - matriz dos resíduos que representa a parte não descrita pelo modelo.

A matriz **B** pode ser obtida pelo Método dos Mínimos Quadrados (MMQ) utilizando a Equação (5).

$$B = (X_{cal}^T X_{cal})^{-1} X_{cal}^T Y_{cal} \quad (5)$$

Todavia, a obtenção da matriz **B** pela Equação (5) pode-se apresentar os seguintes problemas:

- ✓ Infinitas soluções que se manifesta quando  $p > n$ ;
- ✓ Multicolinearidade que ocorre quando existem altas correlações entre duas ou mais variáveis de **X**, ou seja, quando as colunas de  $X_{cal}$  são colineares (por exemplo,  $x_1$  ou  $x_2$  porta informação redundante).

Com o intuito de resolver eventuais problemas de colinearidade, pode-se recorrer às técnicas PCR e PLS que realizam uma transformação nos dados da matriz **X** conforme descrição a seguir.

b) PCR e PLS - Na modelagem PCR<sup>[61,62]</sup>, a matriz **X** é inicialmente descrita em termos de componentes principais – PC's (novos eixos ortogonais entre si) de acordo com a Equação (6).

$$Y = TP^T + E \quad (6)$$

onde **T** é a matriz do escores (novas coordenadas de cada amostra no espaço das PC's) e **P** é a matriz dos pesos (grau de influência da variável para uma dada PC).

Depois, utiliza-se a MLR para relacionar a matriz dos dados originais **Y** com a matriz dos escores **T** mediante expressões semelhantes às Equações 4 e 5, ou seja,  $Y = TB + E$  e

$$B = \left( T_{cal}^T T_{cal} \right)^{-1} T_{cal}^T Y_{cal} \quad (7)$$

Note que a regressão, apresentada na Equação (5), é efetuada na matriz dos escores, isto é, no domínio dos dados transformados. Isso favorece a realização do cálculo  $(T^T T)^{-1}$  devido à ortogonalidade mútua entre os escores, resolvendo-se o problema de colinearidade da MLR clássica.

Na modelagem PLS, ambas as matrizes **X** e **Y** são decompostas em termos de escores e pesos. O modelo resultante relaciona linearmente os escores de **X** com os escores de **Y**.

Uma vez que os métodos PCR e PLS efetuam a regressão no domínio dos dados transformados, torna-se difícil realizar a interpretação direta do comportamento físico-químico do sistema analítico. Por outro lado, a calibração MLR é menos afetada por essa inconveniência dado que a regressão é realizada no domínio dos dados originais. No entanto, essa técnica de regressão é mais susceptível a problema de multicolinearidade entre as variáveis. Conseqüentemente, a matriz **X**<sub>cal</sub> torna-se mal-

condicionada para a regressão multilinear, o que pode ocasionar a propagação de erros. Para contornar essa limitação, pode-se recorrer a técnicas de seleção de variáveis, a exemplo do algoritmo das projeções sucessivas (SPA, do inglês, "Successive Projections Algorithm")<sup>[62]</sup>, que não requerem transformação dos dados.

A técnica SPA foi originalmente desenvolvida para seleção de variáveis em MLR, minimizando problemas de multicolinearidade. O algoritmo SPA utiliza simples operações em um espaço vetorial, envolvendo projeções ortogonais dos vetores associados às variáveis. A seleção inicia a partir de cada vetor (por exemplo, comprimento de onda) da matriz  $\mathbf{X}_{cal}$  e incorpora seqüencialmente, a cada ciclo ou iteração, o que apresenta a maior projeção no plano ortogonal em relação ao escolhido no ciclo anterior. Assim, o algoritmo gera subconjuntos cujo número máximo de variáveis incorporadas não ultrapasse o número de amostras de calibração. Em seguida o SPA seleciona, entre os subconjuntos (ou cadeias), aquele que produz o menor valor da raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada (RMSECV, do inglês "Root Mean Square Error of Cross-Validation")<sup>[63]</sup>. Finalmente, constrói-se o modelo MLR, a partir das variáveis do subconjunto selecionado pelo SPA, o qual é utilizado para estimar a(s) propriedades(s) de interesse nas amostras do conjunto de predição.

### 3.3.3.2 – Planejamento Experimental Brereton

O Planejamento de experimentos desenvolvido por Brereton<sup>[55]</sup> e utilizado neste trabalho é um planejamento ortogonal, isto é, cada fator possui coeficiente de correlação zero em relação aos demais fatores. Assim sendo, o número de experimentos deve ser múltiplo do número de níveis (1) elevado ao quadrado,  $N = k * l^2$ , onde K é o número de repetições em uma dada mistura. Portanto, em um planejamento de três níveis devem ser conduzidos nove (09) experimentos.

Para o desenvolvimento do planejamento Brereton de três níveis e três fatores, escolhido para este trabalho, algumas etapas são requeridas.

Os três níveis são codificados por -1, 0 e 1. O primeiro passo é escolher o “nível de repetição”, que pode ser 0. o vetor diferença será {0 1}. O próximo passo é produzir um ciclo gerador para os dois níveis remanescentes. Um gerador possível é da forma -1 → 1. Nestes dois primeiros passos a idéia é gerar a primeira coluna da matriz de planejamento, após a qual todas as outras colunas serão geradas.

Para efeito da construção da matriz de planejamento, o nível repetidor (0) deve ser posto no Experimento 01 em todos os fatores, como pode ser visto na Tabela 3.2.

Tabela 3.2. Etapa inicial da construção da matriz de planejamento Brereton com 03 níveis e 03 fatores.

Experimento	Fator 01	Fator 02	Fator 03
01	0	0	0
02	0		
03		← Bloco 01	
04			
05			
06	0		
07		← Bloco 02	
08			
09			

No Fator 01 o nível repetidor deve ser posto na seqüência  $[2 + j(1 + 1)]$ , em que j representa o número de blocos formados com a quantidade de níveis de planejamento. A quantidade de blocos é dada por  $(1 - 1)$ . Neste caso tem-se  $(3 - 1 = 2)$  blocos com 3 níveis e  $j = 0, 1$  (j inicia com 0). Portanto, o nível de repetição será distribuído no Fator 1 e Experimentos  $[2 + 0(3 + 1) = 2]$  e  $[2 + 1(3 + 1) = 6]$ , apresentado na Tabela 3.2.

Para o Fator 1, Experimento 3, escolhe-se o nível -1, que inicia o ciclo gerador do planejamento, Figura 3.3. O Experimento 4 é preenchido de acordo com o ciclo de permutação (-1 → 1) e o vetor diferença {0, 1}.

O valor -1 do Experimento 3 é repetido o número de vezes do primeiro elemento do vetor diferença (0), portanto -1 é posto no Experimento 4, como pode ser visto na Tabela 3.3. Para o Experimento 05 o ciclo de permutação obtido será 1, Tabela 3.3.

Tabela 3.3. Segunda etapa da construção da matriz de planejamento Brereton com 03 níveis e 03 fatores.

Experimento	Fator 01	Fator 02	Fator 03
01	0	0	0
02	0		
03	-1		
04	-1		
05	1		
06	0		
07			
08			
09			

O Bloco 2 é construído com o deslocamento dos valores do Bloco 1, como pode ser visto na Tabela 3.4. Portanto, os Experimentos 7, 8 e 9 serão construídos de acordo com o deslocamento no ciclo de permutação dos Experimentos 3, 4 e 5, respectivamente.

Tabela 3.4. Matriz de planejamento Brereton com 03 níveis e 03 fatores do Fator 1.

Experimento	Fator 01	Fator 02	Fator 03
01	0	0	0
02	0		
03	-1		
04	-1		
05	1		
06	0		
07	1		
08	1		
09	-1		

Experimento 3 → 7: (-1 → 1)

Experimento 4 → 8: (-1 → 1)

Experimento 5 → 9: (1 → -1)

O preenchimento dos demais fatores ocorre pelo deslocamento diagonal do Fator 1, como pode ser visto na Tabela 3.5.

Tabela 3.5. Matriz completa do planejamento Brereton com 03 níveis e 03 fatores.

Experimento	Fator 01	Fator 02	Fator 03
01	0	0	0
02	0	-1	-1
03	-1	-1	1
04	-1	1	0
05	1	0	1
06	0	1	1
07	1	1	-1
08	1	-1	0
09	-1	0	-1

### 3.3.3.3 - Preparação das Misturas de Corantes

As misturas de calibração e de predição foram preparadas de acordo com o planejamento Brereton (Seção 3.3.3.2) baseado em 3 níveis e 3 fatores. O conjunto de calibração tem a finalidade de modelar a relação entre as concentrações dos analitos com as respostas instrumentais. Por outro lado, o modelo matemático construído é aplicado às respostas instrumentais do conjunto de predição, com a finalidade de estimar as concentrações dos analitos. Na Tabela 3.6 são apresentados os valores de concentração para cada um dos níveis adotados para os três corantes considerados no conjunto de calibração.

Na Tabela 3.7 é apresentada a matriz de planejamento ilustrando as nove diferentes composições das misturas dos três corantes. Foram preparadas três misturas autênticas para cada composição e realizadas medidas em triplicata para cada uma das 27 misturas.

Tabela 3.6. Concentração dos corantes do conjunto de calibração [mg L<sup>-1</sup>].

Corante	Níveis		
	-1	0	1
Tartrazina	2,0	5,0	8,0
Vermelho 40	2,0	5,0	8,0
Amarelo crepúsculo	2,0	5,0	8,0

Tabela 3.7. Matriz de planejamento das misturas para conjunto de calibração [mg L<sup>-1</sup>].

Composição	Tartrazina	Amarelo Crepúsculo	Vermelho-40
1	5,0	5,0	5,0
2	5,0	2,0	2,0
3	2,0	2,0	8,0
4	2,0	8,0	5,0
5	8,0	5,0	8,0
6	5,0	8,0	8,0
7	8,0	8,0	2,0
8	8,0	2,0	5,0
9	2,0	5,0	2,0

Na Tabela 3.8 são apresentados os valores de concentração correspondentes a cada um dos níveis definidos para os três corantes usados nas misturas do conjunto de predição.

Tabela 3.8. Concentração dos corantes do conjunto de predição [mg L<sup>-1</sup>].

Corante	Níveis		
	-1	0	1
Tartrazina	4,0	5,5	7,0
Vermelho 40	4,0	5,5	7,0
Amarelo crepúsculo	4,0	5,5	7,0

Na Tabela 3.9 é ilustrada a matriz de planejamento contendo as diferentes composições das misturas dos corantes para o conjunto de

predição. Medidas em triplicata foram realizadas para cada uma das misturas resultantes.

Tabela 3.9. Matriz de planejamento das misturas para conjunto de predição [mg L<sup>-1</sup>].

Composição	Tartrazina	Amarelo Crepúsculo	Vermelho-40
1	5,5	5,5	5,5
2	5,5	4,0	4,0
3	4,0	4,0	7,0
4	4,0	7,0	5,5
5	5,5	5,5	7,0
6	5,5	7,0	7,0
7	7,0	7,0	4,0
8	7,0	4,0	5,5
9	4,0	5,5	4,0

#### 3.3.3.4 – Tratamento dos Dados Multivariados

Os espectros obtidos com o espectrômetro proposto e o HP (usado para comparação) foram pré-processados suavizando-os pela técnica de média móvel<sup>[1]</sup> usando uma janela com sete pontos. Esta técnica consiste na substituição do valor central de uma janela com sete pontos pela média desse conjunto de pontos. O procedimento é repetido movendo-se a janela ao longo do espectro.

O método SPA<sup>[63]</sup> foi utilizado para selecionar nos espectros das misturas dos corantes, obtidos com ambos os instrumentos, os comprimentos de onda com menor multicolinearidade e redundância. Em seguida, os comprimentos de onda selecionados foram empregados para a construção dos modelos MLR empregando as misturas do conjunto de calibração. Por fim, os modelos foram utilizados para estimar a concentração de cada corante nas amostras do conjunto de predição a partir dos espectros obtidos com o instrumento proposto e com o HP.

A seleção de variáveis via SPA, as calibrações MLR e as estimativas das concentrações dos corantes nas misturas de predição foram realizadas empregando um programa computacional escrito em Matlab, versão 6.5.

## **CAPÍTULO 4**

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## **4.1 – Performance do Instrumento Proposto**

### **4.1.1 - Estabilidade da fonte**

O sinal de intensidade luminosa do LED branco (fonte de radiação) foi monitorado durante um período de 08 (oito) horas, com intervalo de medição de 05 (cinco) minutos. Constatou-se uma pequena variação do sinal como se pode atestar pelo desvio-padrão relativo de apenas 0,61 %. Com este resultado infere-se que o instrumento proposto possui, em sua fonte de radiação, estabilidade suficiente para ser utilizado em análises químicas rotineiras envolvendo jornadas habituais de trabalho.

### **4.1.2 - Relação entre número de passos e comprimento de onda**

O espectro médio de emissão do LED branco (cujo perfil é mostrado na Figura 1.1) foi obtido a partir de sinais de cinco repetições, correspondente a cada um dos passos executados pelo motor de passos. O desvio-padrão relativo conjunto dos sinais foi 2,0 %, que representa a variação dos sinais no comprimento de onda do máximo de absorção da banda passante. Este resultado indica uma grande repetitividade dos sinais. Além disso, observa-se que a faixa de 436 a 646 nm é abrangida pelo instrumento proposto, tornando possível a exploração de praticamente toda a região do visível.

Na Figura 4.1 é mostrada a variação do comprimento de onda em função do número de passos. Observa-se que os comprimentos de onda apresentam uma variação relativamente uniforme dentro da região espectral de interesse.

A correlação entre o comprimento de onda e o número de passos é descrita pela Equação (9), a qual foi obtida por regressão linear pelo método dos mínimos quadrados.

$$\text{PASSO} = 0,504 * \text{COMPRIMENTO DE ONDA} - 215,5818 \quad (9)$$

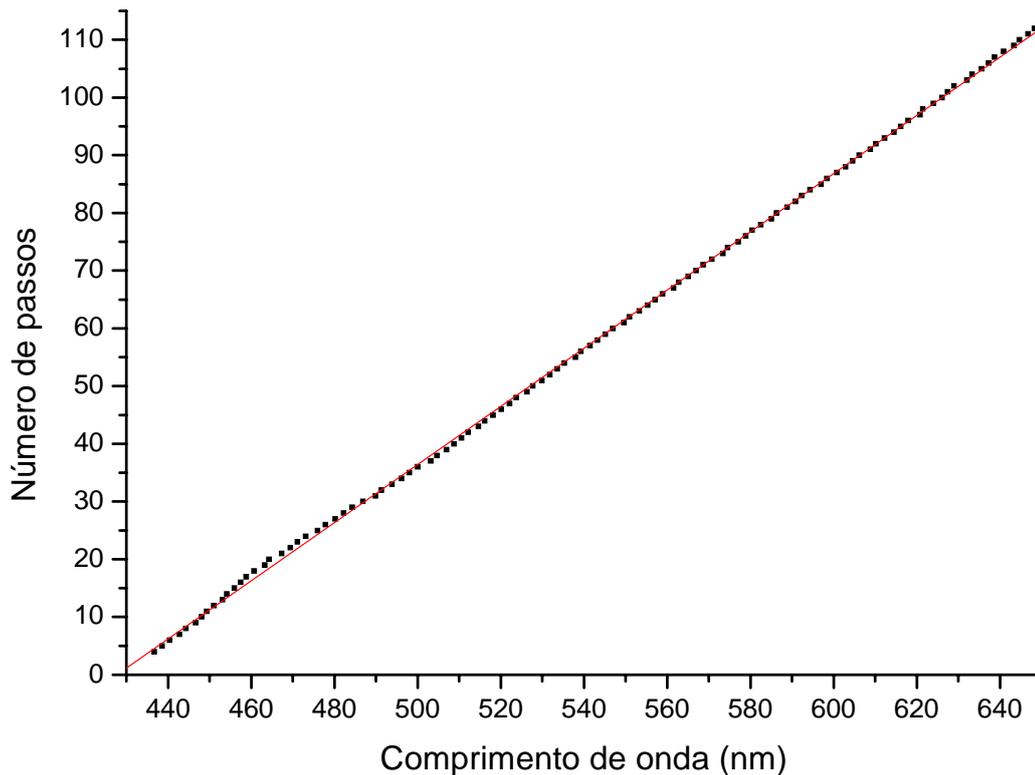


Figura 4.1. Relação entre número de passos e comprimento de onda.

O coeficiente de correlação da reta foi estimado como 0,99985 e o desvio-padrão do comprimento de onda para o número de passos foi de 0,3 nm. Os valores desses parâmetros da regressão indicam uma boa correlação linear entre o número de passos e o comprimento de onda associado.

Para corroborar com a idéia da distribuição uniforme, em intervalos regulares, dos comprimentos de onda máximos dentro da região espectral de interesse em relação ao número de passos, na Figura 4.2 são apresentadas as diferenças entre os comprimentos de onda de máxima absorção em números de passos vizinhos. A média para cinco medidas foi de 1,95 nm e o desvio-padrão foi de 0,58 nm. Esses resultados permitem concluir que a resolução do instrumento é satisfatória para fins de análises espectrométricas quantitativas.

É importante frisar que os espectrômetros simultâneos<sup>[62]</sup>, que possuem vários fototransdutores para detecção simultânea de radiações de diferentes comprimentos de onda (a exemplo do HP usado neste

trabalho), podem apresentar LEB de 1 nm ou menor. Todavia, o instrumento proposto possui LEB igual a 13,4 nm sendo comparável ao dos equipamentos comerciais de mesma categoria, denominados espectrômetros seqüenciais<sup>[62]</sup>. Nesses instrumentos, a detecção de radiações de diferentes comprimentos de onda é realizada uma após a outra no tempo.

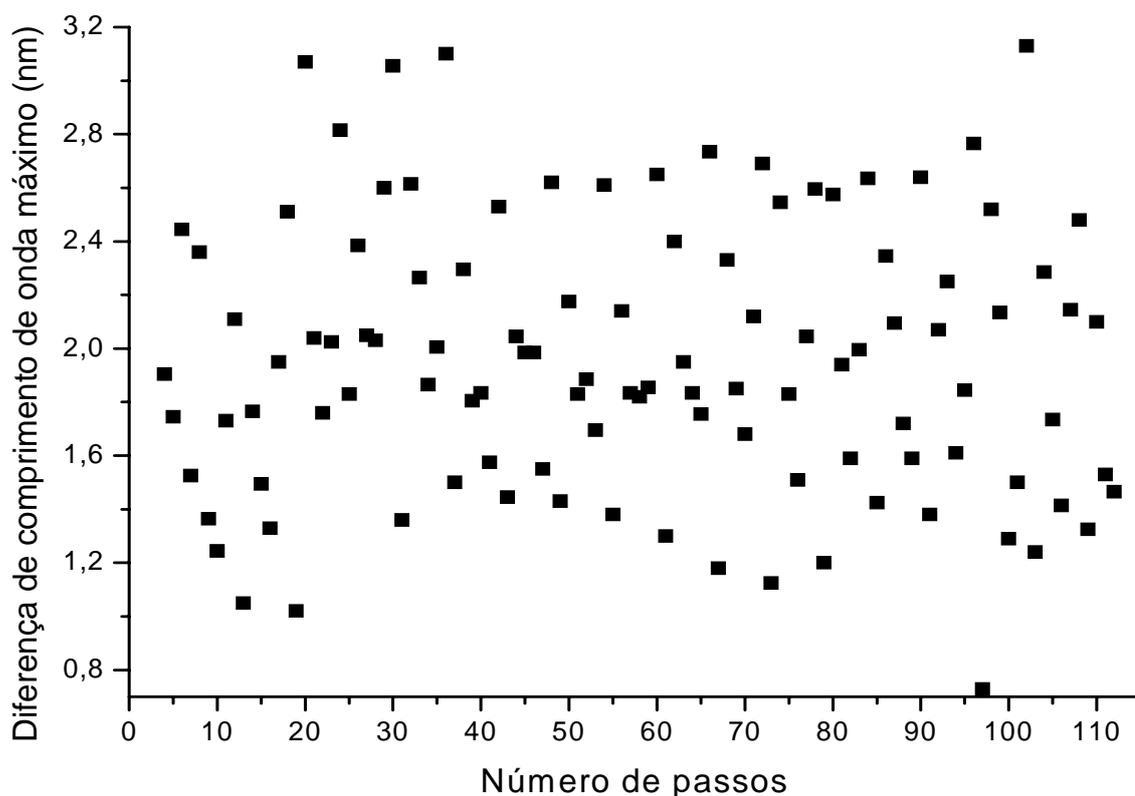


Figura 4.2. Diferença entre dois comprimentos de onda vizinhos.

## 4.2 – Aplicações Analíticas

Os resultados da avaliação da performance do instrumento proposto, nas análises envolvendo calibração univariada e multivariada, são apresentados nas seções subseqüentes.

### 4.2.1 - Calibração univariada

Inicialmente, realizou-se uma investigação da faixa dinâmica (envolvendo os valores de LOD, LOQ e LOL) para a determinação de cada

um dos corantes, usando o equipamento proposto e os instrumentos comerciais (HP e Micronal). Uma ANOVA foi realizada para validar os modelos lineares baseados no MMQ. Em seguida, as curvas analíticas foram construídas e os testes *F* para falta de ajuste e de significância estatística da regressão foram aplicados aos modelos lineares com base nos resultados da ANOVA. Os resultados são discutidos nas seções subseqüentes.

#### 4.2.1.1 - Determinação do Corante Vermelho-40

Os resultados da investigação da faixa dinâmica para a determinação do corante vermelho-40 são apresentados na Tabela 4.1. Para isso, foram preparadas soluções desse corante, em triplicatas autênticas, com concentrações na faixa de 2,0 a 26,0 mg L<sup>-1</sup>.

Tabela 4.1. Comparação dos resultados de LOD, LOQ e LOL para a determinação do corante vermelho-40 entre os espectrômetros comerciais e o proposto.

<b>Instrumento</b>	<b>LOD</b> (× 10 <sup>-2</sup> mg L <sup>-1</sup> )	<b>LOQ</b> (× 10 <sup>-2</sup> mg L <sup>-1</sup> )	<b>LOL</b> (mg L <sup>-1</sup> )
Micronal	3,1	9,4	14,0
HP	0,7	2,2	14,0
Proposto	0,1	0,2	12,0

Pode-se observar na Tabela 4.1 que o instrumento proposto apresenta uma faixa linear comparável e valores de LOD e LOQ menores do que os dois equipamentos comerciais (Micronal e HP). Os resíduos deixados pelos modelos de calibração são exibidos na Figura 4.3. Observa-se uma variância praticamente constante ao longo da faixa de concentrações investigada, indicando um comportamento homocedástico dos dados para os três equipamentos.

As curvas analíticas foram então construídas com base nos valores 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; e 12,0 mg L<sup>-1</sup> e utilizadas para estimar as concentrações de vermelho-40 nas soluções de amostras sintéticas, usando os três instrumentos. Os resultados são mostrados na Tabela 4.2.

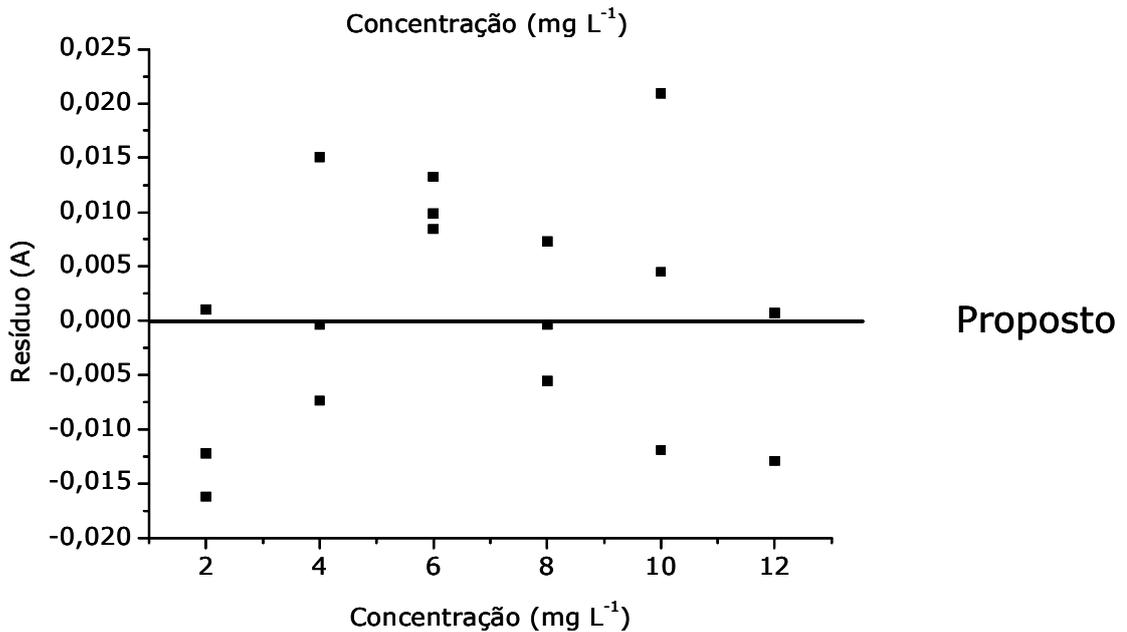
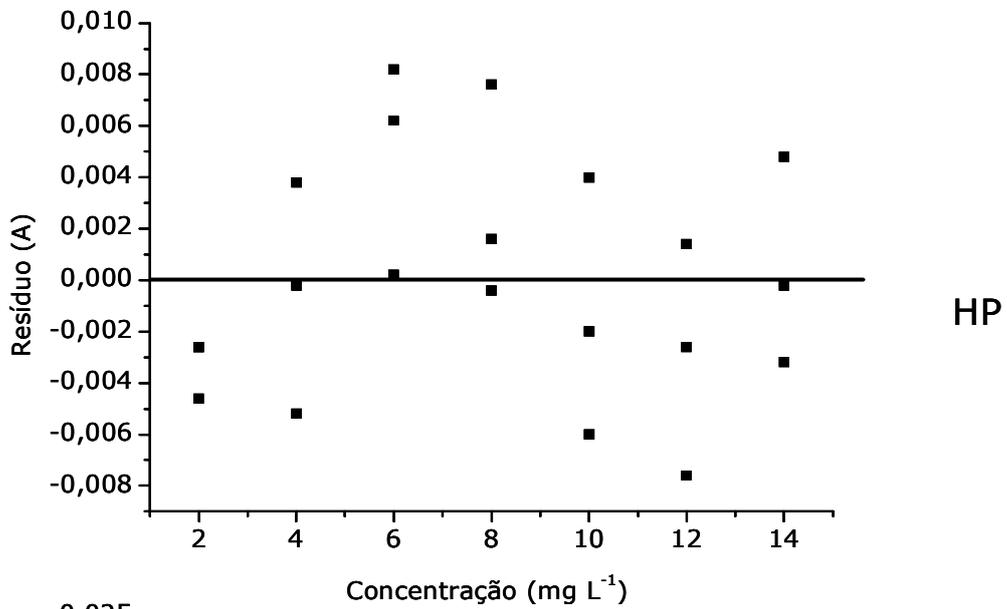
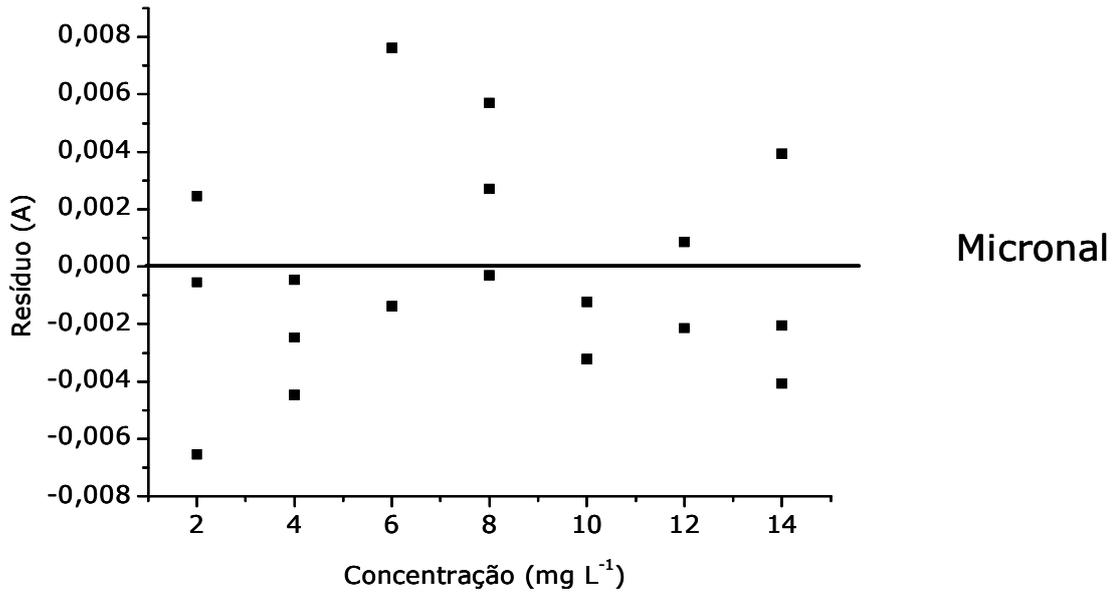


Figura 4.3. Gráfico dos resíduos dos modelos de calibração para o corante vermelho-40.

Tabela 4.2. Valores médios (n = 3) de concentração de vermelho-40 e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras sintéticas.

Amostras	Valor Esperado (mg L <sup>-1</sup> )	Valor Predito (mg L <sup>-1</sup> )		
		Micronal	HP	Proposto
Am1	3,0	2,9 ± 0,1	2,9 ± 0,2	2,9 ± 0,1
Am2	5,0	4,7 ± 0,0	4,8 ± 0,1	4,7 ± 0,2
Am3	7,0	6,9 ± 0,1	7,0 ± 0,2	7,0 ± 0,3
Am4	9,0	8,9 ± 0,0	8,7 ± 0,1	8,9 ± 0,1
Am5	11,0	11,0 ± 0,1	11,0 ± 0,2	11,0 ± 0,4
	DPRC*	0,6 %	1,2 %	1,1 %

\* DPRC – Desvio-padrão relativo conjunto.

A aplicação do teste *t*-emparelhado revelou que não existe diferença significativa entre os resultados da Tabela 4.2 ao nível de 95% de confiança estatística. Além disso, observa-se uma satisfatória precisão dos resultados para os três instrumentos, como observado pelos valores dos intervalos de confiança e de DPRC.

#### 4.2.1.2 - Determinação do Corante Amarelo Crepúsculo

A faixa dinâmica investigada para o corante amarelo crepúsculo abrangeu o intervalo de 2,0 a 26,0 mg L<sup>-1</sup>, no qual as soluções foram preparadas em triplicatas autênticas. Na Tabela 4.3 são apresentados os resultados dessa investigação usando os instrumentos utilizados.

Tabela 4.3. Comparação dos resultados de LOD, LOQ e LOL para a determinação do corante amarelo crepúsculo entre os espectrômetros comerciais e o proposto.

Instrumento	LOD (× 10 <sup>-2</sup> mg L <sup>-1</sup> )	LOQ (× 10 <sup>-2</sup> mg L <sup>-1</sup> )	LOL (mg L <sup>-1</sup> )
Micronal	3,2	9,7	18,0
HP	0,7	2,1	18,0
Proposto	13,0	39,4	18,0

Na Tabela 4.3 pode-se observar que o instrumento proposto apresenta uma faixa linear semelhante e valores de LOD e LOQ maiores que os obtidos com os dois equipamentos comerciais (Micronal e HP). Os

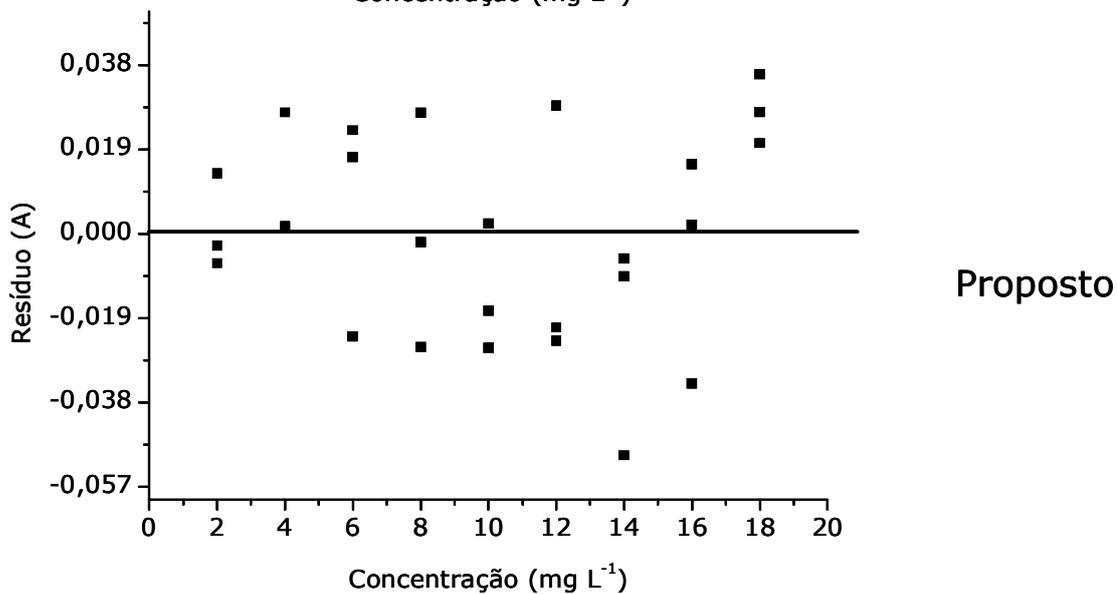
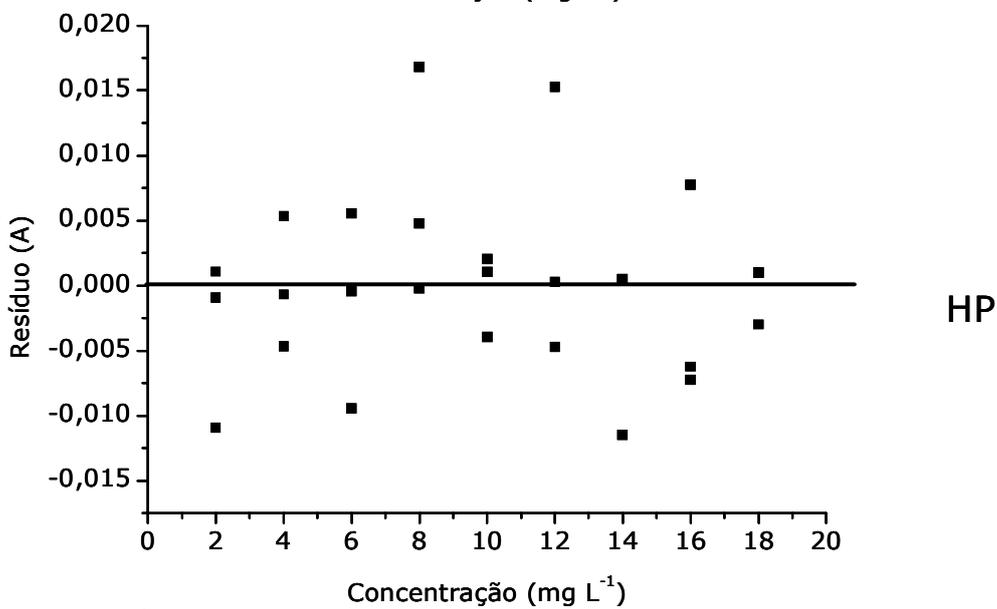
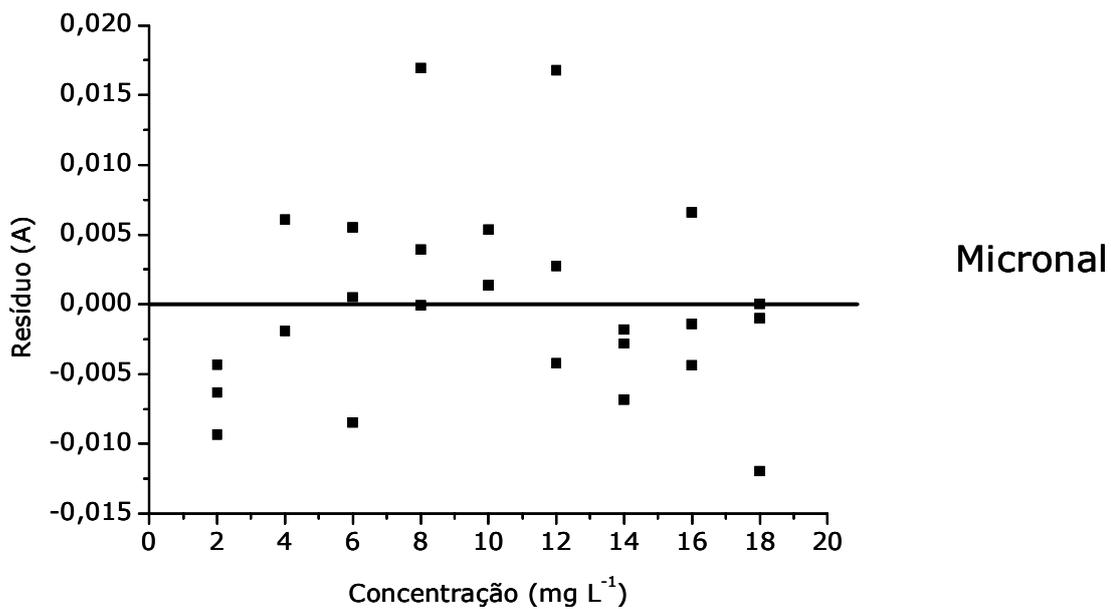


Figura 4.4. Gráfico dos resíduos dos modelos de calibração para o corante amarelo crepúsculo.

modelos de calibração apresentaram resíduos com variância constante como observado no gráfico da Figura 4.4. Isto mostra um comportamento homocedástico dos dados para os três equipamentos.

As curvas analíticas foram então construídas adotando os níveis de concentração distribuídos segundo os valores 3,0; 6,0; 9,0; 12,0; 15,0; e 18,0 mg L<sup>-1</sup>. Os modelos assim obtidos foram utilizados para estimar as concentrações de amarelo crepúsculo nas soluções de amostras sintéticas. Os resultados são mostrados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4. Valores médios (n = 3) de concentração de amarelo crepúsculo e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras sintéticas.

Amostras	Valor Esperado (mg L <sup>-1</sup> )	Valor Predito (mg L <sup>-1</sup> )		
		Micronal	HP	Proposto
Am1	4,0	4,0 ± 0,0	4,1 ± 0,1	4,1 ± 0,2
Am2	8,0	7,8 ± 0,1	7,8 ± 0,1	7,9 ± 0,2
Am3	10,0	10,1 ± 0,1	10,0 ± 0,1	10,0 ± 0,3
Am4	14,0	13,9 ± 0,1	13,9 ± 0,1	13,8 ± 0,5
Am5	16,0	15,9 ± 0,1	15,8 ± 0,1	15,6 ± 0,2
	DPRC*	0,4 %	0,4 %	1,1 %

\* DPRC – Desvio-padrão relativo conjunto.

O teste *t*-emparelhado, aplicado no nível de 95% de confiança estatística, mostrou que não existe diferença significativa entre os resultados. A Tabela 4.4 revela também uma boa precisão dos resultados, o que é atestado pelos valores dos intervalos de confiança e de DPRC estimados para os três instrumentos.

#### 4.2.1.3 - Determinação do Corante Tartrazina

Para investigar a faixa dinâmica para o corante tartrazina, as soluções foram preparadas em triplicatas autênticas com concentrações no intervalo de 2,0 a 26,0 mg L<sup>-1</sup>. A Tabela 4.5 apresenta as faixas dinâmicas de trabalho para cada um dos instrumentos utilizados. Observa-se que o instrumento proposto permitiu obter uma faixa dinâmica comparável e valores de LOD e LOQ maiores que os obtidos empregando

os equipamentos comerciais. Os modelos de calibração apresentaram resíduos que evidenciam um comportamento homocedástico dos dados para os três equipamentos (Figura 4.5).

Tabela 4.5. Comparação dos resultados de LOD, LOQ e LOL para a determinação do corante tartrazina entre os espectrômetros comerciais e o proposto.

<b>Instrumento</b>	<b>LOD</b> ( $\times 10^{-2}$ mg L <sup>-1</sup> )	<b>LOQ</b> ( $\times 10^{-2}$ mg L <sup>-1</sup> )	<b>LOL</b> (mg L <sup>-1</sup> )
Micronal	2,6	7,8	18,0
HP	0,8	3,6	18,0
Proposto	8,1	24,7	18,0

Os valores de concentração 3,0; 6,0; 9,0; 12,0; 15,0; e 18,0 mg L<sup>-1</sup> foram adotados na construção das curvas analíticas usadas nas análises das amostras sintéticas (Tabela 4.6). Nenhuma diferença significativa entre os resultados é observada ao aplicar o teste *t*-emparelhado no nível de 95% de confiança. Em relação à precisão dos resultados, pode-se considerá-la satisfatória tendo em vista os valores dos intervalos de confiança e de DPRC para os três instrumentos.

Tabela 4.6. Valores médios (n = 3) de concentração de tartrazina e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras sintéticas.

Amostras	Valor Esperado (mg L <sup>-1</sup> )	Valor Predito (mg L <sup>-1</sup> )		
		Micronal	HP	Proposto
Am1	4,0	4,0 ± 0,1	3,9 ± 0,1	4,1 ± 0,1
Am2	8,0	8,0 ± 0,1	7,9 ± 0,1	7,7 ± 0,1
Am3	10,0	10,2 ± 0,5	10,2 ± 0,1	10,2 ± 0,2
Am4	14,0	13,9 ± 0,5	13,9 ± 0,1	14,0 ± 0,6
Am5	16,0	15,7 ± 0,0	15,8 ± 0,0	15,8 ± 0,1
	DPRC*	1,0 %	0,5 %	0,8 %

\* DPRC – Desvio-padrão relativo conjunto.

#### 4.2.1.4 - Determinação do Corante Azul Brilhante

Inicialmente, a faixa dinâmica para o corante azul brilhante foi investigada no intervalo de 2,0 a 26,0 mg L<sup>-1</sup>, cujas soluções foram

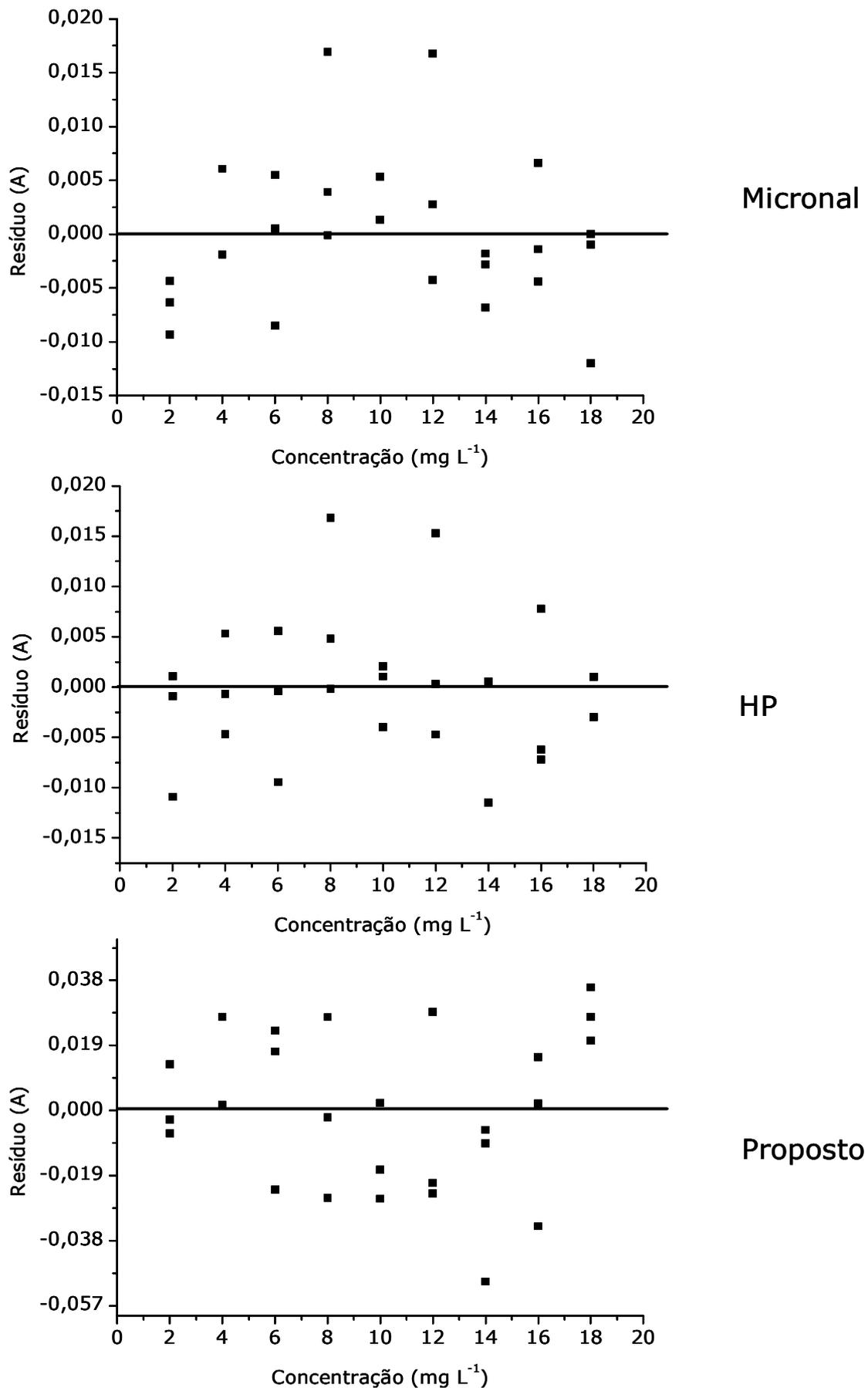


Figura 4.5. Gráfico dos resíduos dos modelos de calibração para o corante tartrazina.

preparadas em triplicatas autênticas. A Tabela 4.7 apresenta os resultados obtidos empregando os instrumentos utilizados.

Tabela 4.7. Comparação dos resultados de LOD, LOQ e LOL para a determinação do corante azul brilhante entre os espectrômetros comerciais e o proposto.

<b>Instrumento</b>	<b>LOD</b> ( $\times 10^{-2}$ mg L <sup>-1</sup> )	<b>LOQ</b> ( $\times 10^{-2}$ mg L <sup>-1</sup> )	<b>LOL</b> (mg L <sup>-1</sup> )
Micronal	5,5	16,6	18,0
HP	7,8	23,8	18,0
Proposto	3,1	9,3	18,0

Pode-se observar que o instrumento proposto apresenta uma faixa linear comparável e valores de LOD e LOQ menores que os dois equipamentos comerciais (Micronal e HP). Os resíduos deixados pelos modelos lineares exibem uma variância praticamente constante ao longo de toda faixa estudada, conforme revela o gráfico da Figura 4.6. Novamente, os resultados dessa avaliação evidenciam comportamento homocedástico dos dados para os três equipamentos.

Tabela 4.8. Valores médios (n = 3) de concentração de azul brilhante e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras sintéticas.

Amostras	Valor Esperado (mg L <sup>-1</sup> )	Valor Predito (mg L <sup>-1</sup> )		
		Micronal	HP	Proposto
Am1	4,0	4,1 ± 0,1	4,3 ± 0,1	4,2 ± 0,0
Am2	8,0	8,0 ± 0,0	7,8 ± 0,1	8,0 ± 0,0
Am3	10,0	9,9 ± 0,0	9,9 ± 0,1	10,1 ± 0,1
Am4	14,0	13,9 ± 0,1	13,7 ± 0,1	13,8 ± 0,1
Am5	16,0	15,9 ± 0,1	15,8 ± 0,1	15,9 ± 0,1
DPRC*		0,3 %	0,6 %	0,2 %

\* DPRC – Desvio-padrão relativo conjunto.

Em relação às curvas analíticas, estas foram construídas adotando-se os níveis de concentração distribuídos de acordo com os valores 3,0; 6,0; 9,0; 12,0; 15,0; e 18,0 mg L<sup>-1</sup>. Os modelos lineares resultantes foram utilizados para estimar as concentrações de azul brilhante nas amostras sintéticas (Tabela 4.8). Novamente, não se observa diferença

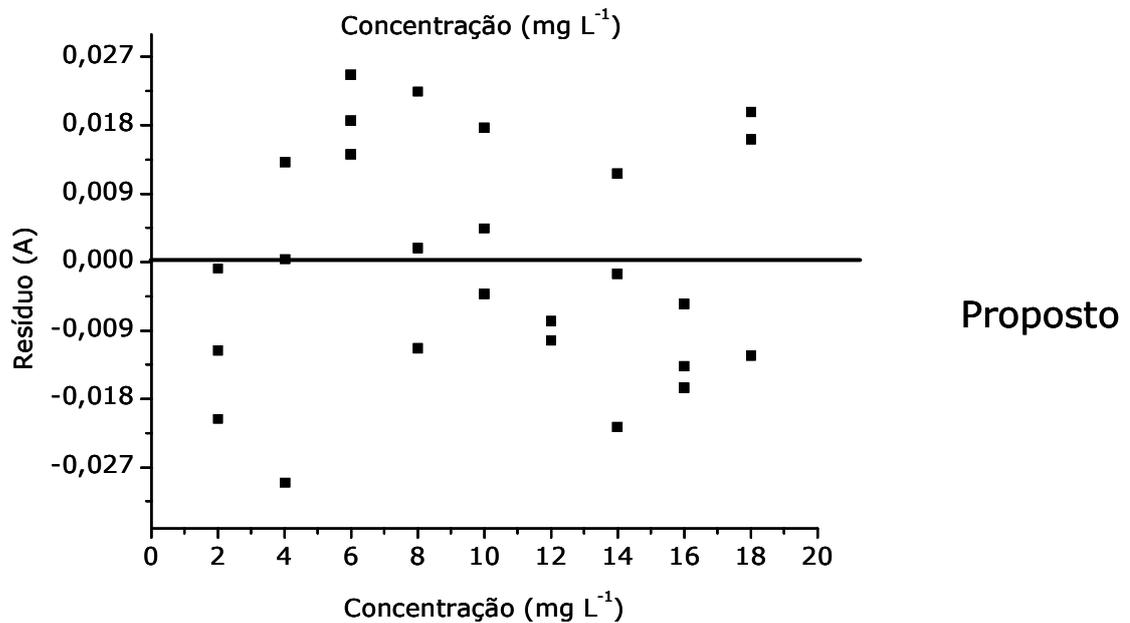
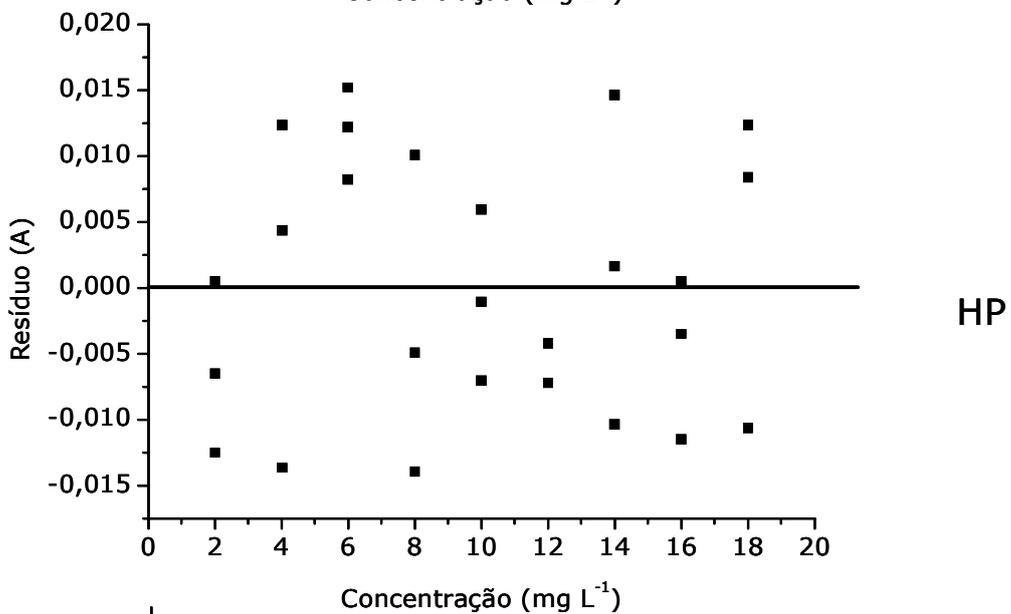
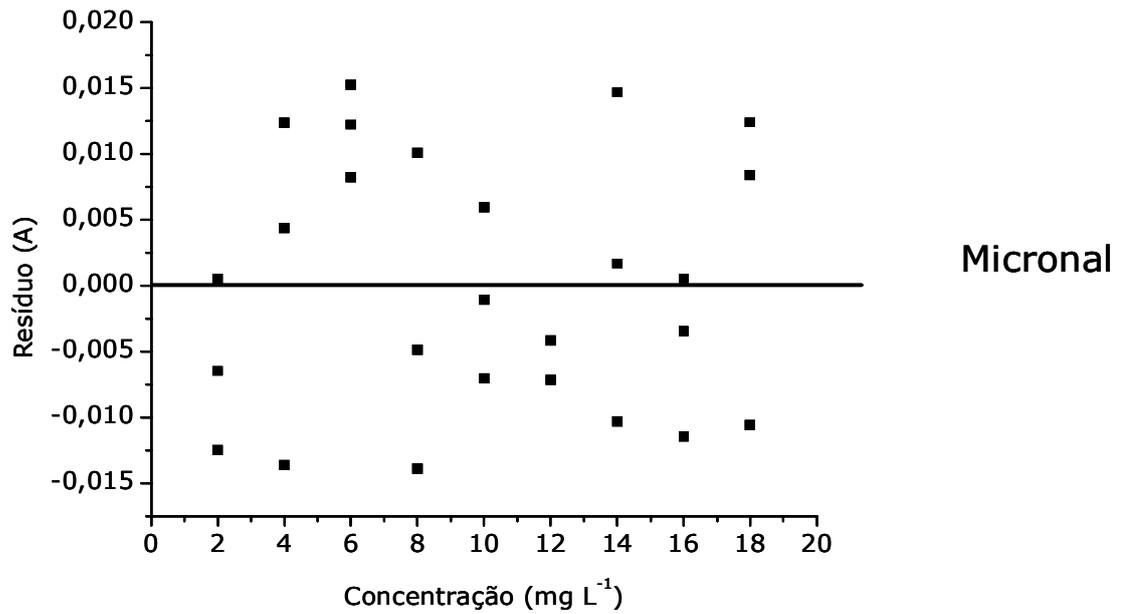


Figura 4.6. Gráfico dos resíduos dos modelos de calibração para o corante azul brilhante.

significativa entre os resultados quando o teste *t*-emparelhado é aplicado ao nível de 95% de confiança. Além disso, pode-se verificar na Tabela 4.8 uma boa precisão associada aos resultados dos três instrumentos, de acordo com os valores dos intervalos de confiança e de DPRC.

#### 4.2.1.5 - Determinação de Fe<sup>2+</sup> em Polivitamínicos

Para a determinação de Fe<sup>2+</sup> em, amostras de polivitamínicos foi construída uma curva analítica nas concentrações de 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10,0 mg L<sup>-1</sup> para cada um dos três instrumentos. Amostras reais de seis fabricantes diferentes de soluções orais de polivitamínicos foram analisadas usando o instrumento proposto e os dois comerciais (HP e Micronal). As curvas analíticas foram construídas com base no MMQ e validadas por meio de testes *F* de falta de ajuste e de significância estatística da regressão baseados nos resultados de ANOVA.

Tabela 4.9. Valores médios (n = 3) de concentração de Fe<sup>2+</sup> e intervalos de confiança obtidos nas análises de amostras de soluções orais de polivitamínicos.

Amostras	Valor Predito (mg L <sup>-1</sup> )		
	Micronal	HP	Proposto
Am1	4,9 ± 0,1	4,9 ± 0,0	4,9 ± 0,1
Am2	5,8 ± 0,1	5,7 ± 0,0	5,8 ± 0,1
Am3	4,2 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,3 ± 0,1
Am4	6,3 ± 0,1	6,3 ± 0,1	6,2 ± 0,1
Am5	4,5 ± 0,0	4,4 ± 0,0	4,5 ± 0,0
Am6	9,0 ± 0,1	8,9 ± 0,1	8,9 ± 0,0
DPRC*	0,8 %	0,5 %	0,7 %

\* DPRC – Desvio-padrão relativo conjunto.

Os resultados da aplicação das curvas analíticas para estimar a concentração de Fe<sup>2+</sup> nas soluções de amostras de polivitamínicos são apresentados na Tabela 4.9. Observa-se que os resultados são bastante concordantes entre si quando os três instrumentos foram utilizados. De fato, com aplicação do teste *t*-emparelhado observou-se que não existe

diferença significativa entre os resultados no nível de 95% de confiança estatística. Além disso, a precisão dos resultados da aplicação dos três instrumentos pode ser considerada muito boa tendo em vista os valores dos intervalos de confiança e de DPRC.

#### 4.2.1.6 – Teste de Recuperação

Para avaliar a exatidão do método aplicado na determinação de  $\text{Fe}^{2+}$  em soluções orais de polivitamínicos diante da presença de possíveis interferentes nas formulações farmacêuticas, foram realizados testes de recuperação conforme descrito na Seção 3.3.2.3. Os valores da taxa de recuperação obtidos são apresentados na Tabela 4.10.

Tabela 4.10. Resultados dos testes de recuperação nas determinações de  $\text{Fe}^{2+}$  das formulações dos seis fabricantes de soluções orais de polivitamínicos comerciais.

Amostras	$\text{Fe}^{2+}$ adicionado ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Teor Recuperado (%)		
		Micronal	HP	Proposto
Am1	3,0	99,3	100,3	97,2
	5,0	98,9	100,2	100,6
	7,0	99,0	98,0	96,4
Am2	3,0	99,6	100,0	97,2
	5,0	98,7	99,2	98,0
	7,0	96,8	97,3	97,2
Am3	3,0	96,2	94,6	93,8
	5,0	96,0	98,5	99,9
	7,0	98,6	99,3	99,0
Am4	3,0	101,4	98,3	98,7
	5,0	99,6	100,2	105,3
	7,0	99,3	98,3	98,1
Am5	3,0	104,5	103,7	97,7
	5,0	97,9	99,0	97,5
	7,0	99,4	101,7	100,8
Am6	3,0	104,5	95,6	103,8
	5,0	97,9	97,9	94,2
	7,0	99,4	99,4	97,7

Observa-se na Tabela 4.10 que valores próximos a 100 % foram obtidos nos testes de recuperação. Isto indica que o método proposto é confiável para a quantificação de  $\text{Fe}^{2+}$  em soluções orais de polivitamínicos e que os ingredientes presentes nas formulações farmacêuticas não interferem nas análises.

#### 4.2.2 - Calibração multivariada

Antes de apresentar os resultados da calibração multivariada envolvendo a determinação dos três corantes, é importante observar os espectros dos corantes puros registrados com o HP (Figura 4.7) e das misturas usando ambos os espectrômetros (Figuras 4.8 e 4.9).

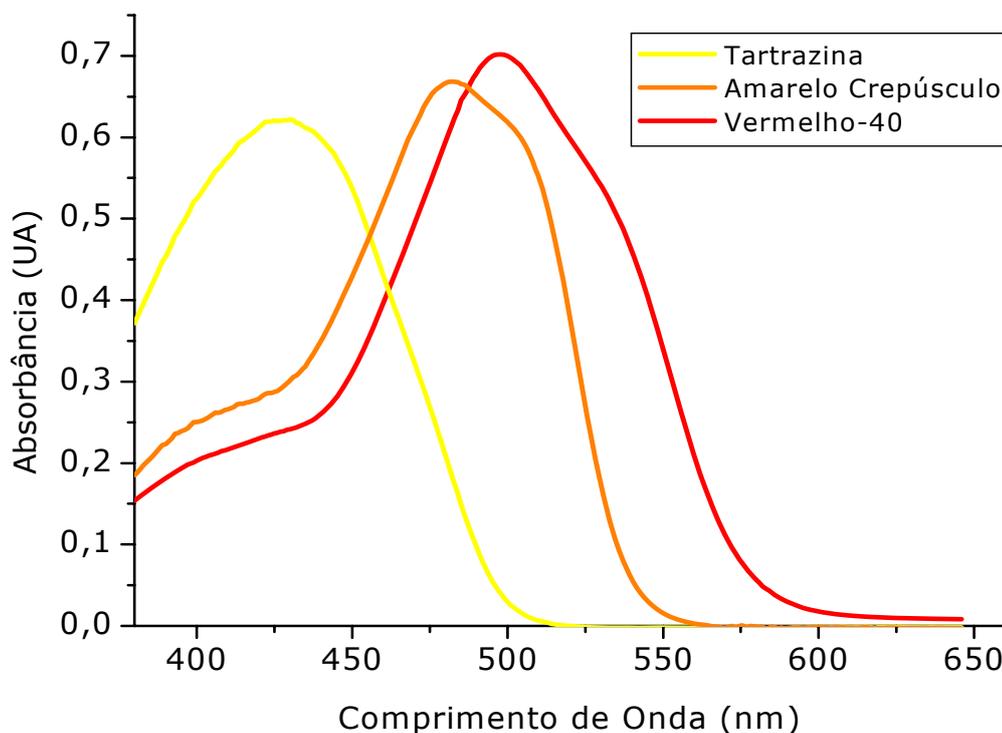


Figura 4.7. Espectros de absorção dos corantes puros registrados com o instrumento HP.

Na Figura 4.7 percebe-se uma acentuada sobreposição dos espectros dos corantes puros, o que pode provocar problemas de multicolinearidade entre as variáveis nos espectros das misturas. De fato, isso pode ser observado nos espectros das misturas obtidos com o espectrômetro proposto (Figura 4.8) e com o instrumento HP (Figura 4.9). Esse inconveniente pode dificultar a determinação da concentração dos três analitos utilizando o método MLR sem um procedimento adequado

para seleção de variáveis. Assim sendo, foi realizada uma seleção de variáveis via SPA após a realização do pré-processamento dos dados.

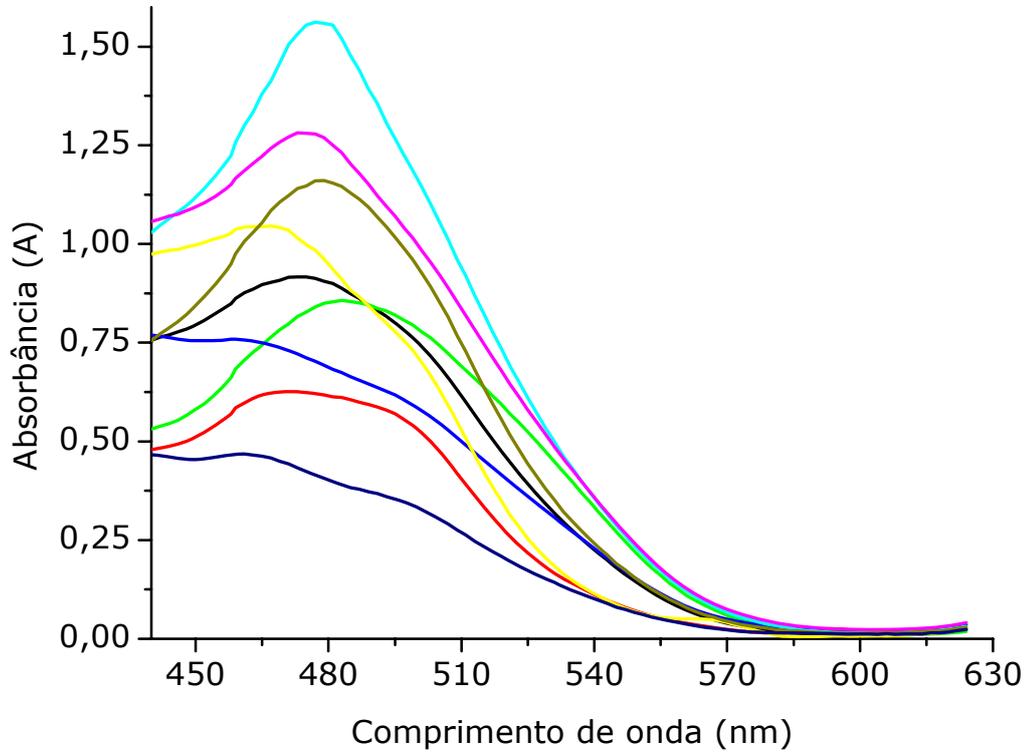


Figura 4.8. Espectros das misturas dos corantes registrados com o instrumento proposto.

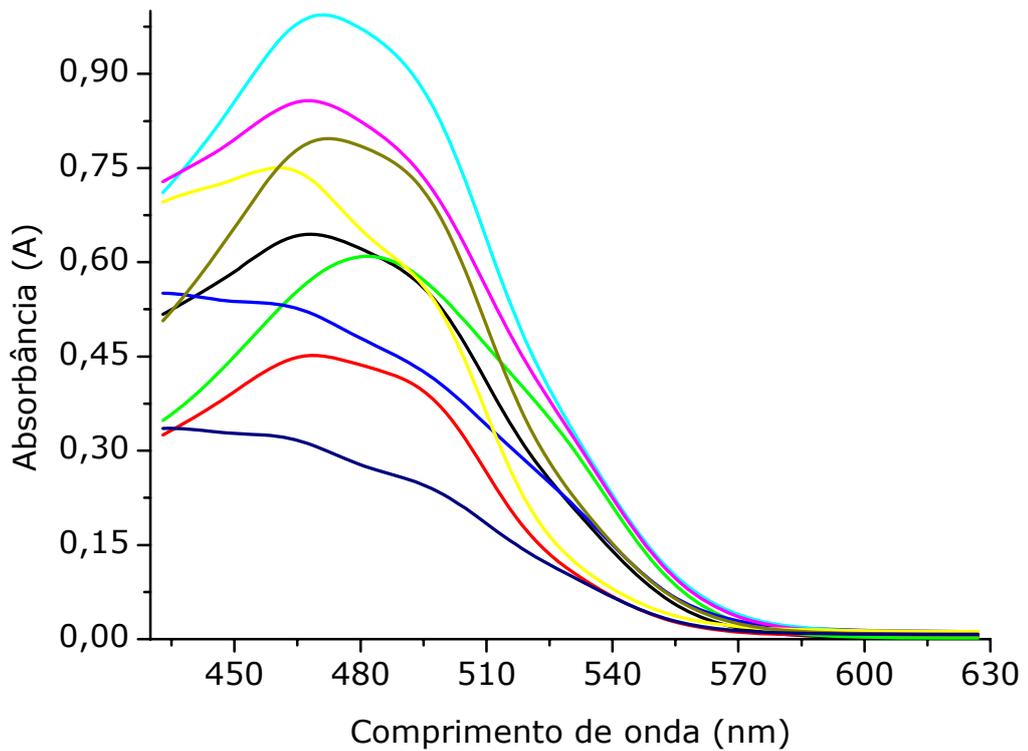


Figura 4.9. Espectros das misturas dos corantes registrados com o instrumento HP.

Vale salientar que os espectros das misturas dos corantes, apresentados nas Figuras 4.8 e 4.9, resultam da suavização dos originais empregando o método da média móvel com uma janela de sete pontos.

#### 4.2.2.1 – Construção e Aplicação dos Modelos MLR

A Tabela 4.11 apresenta os resultados da aplicação dos modelos MLR, obtidos com o instrumento proposto e o HP, na estimativa da concentração dos três corantes nas misturas do conjunto de predição. Esses modelos foram construídos com base nos comprimentos de onda selecionados pelo SPA. Os resultados são expressos em termos da Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Predição (RMSEP, do inglês “Root Mean Square Error of Prediction”) e do número de variáveis selecionadas.

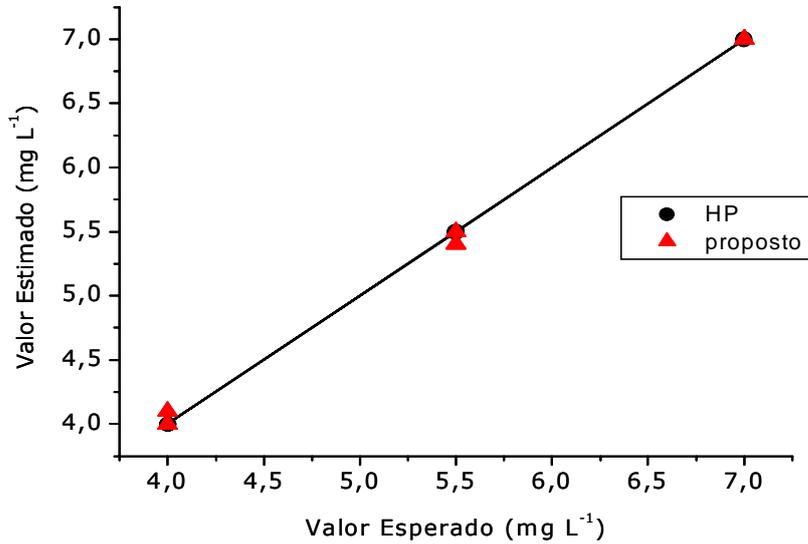
Tabela 4.11. Valores de RMSEP e número de variáveis para os três corantes.

<b>Corante</b>	<b>Instrumento</b>	<b>RMSEP (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Número de variáveis</b>
Vermelho-40	HP	0,0	7
	Proposto	0,1	18
Amarelo crepúsculo	HP	0,0	9
	Proposto	0,2	22
Tartrazina	HP	0,0	8
	Proposto	0,1	7

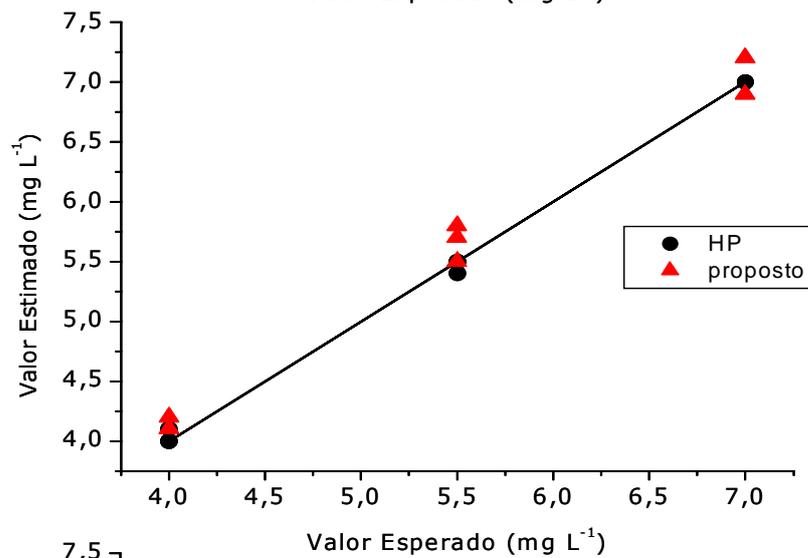
Os valores de RMSEP obtidos nas estimativas dos modelos MLR, usando ambos os instrumentos, podem ser considerados comparáveis entre si. De fato, essa inferência pode ser respaldada levando em conta que na preparação das misturas dos corantes a incerteza na concentração é de  $\pm 0,1$  mg L<sup>-1</sup>. Por outro lado, o SPA selecionou um menor número de variáveis quando o instrumento HP foi utilizado, com exceção do caso da tartrazina.

Na Figura 4.10 são apresentados os gráficos relacionando os valores esperados de concentração dos corantes com os estimados pelos modelos MLR utilizando os dois espectrômetros. Pode-se observar que, de modo

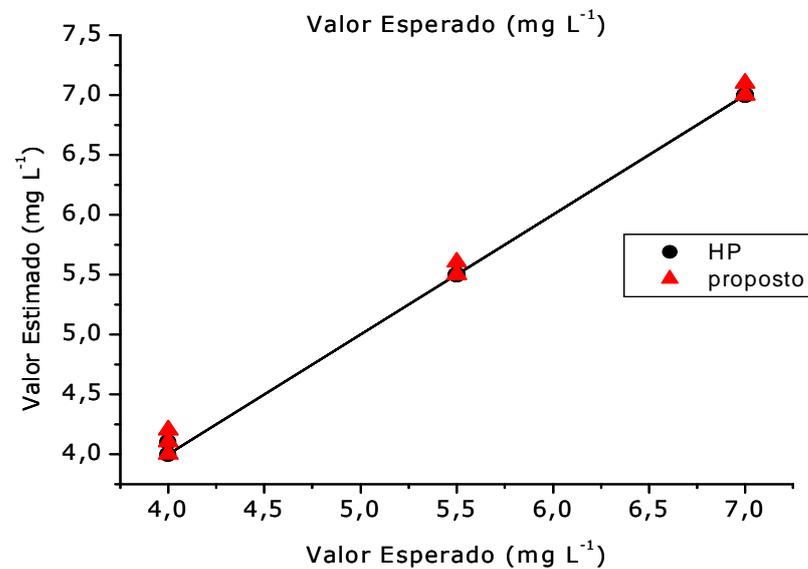
geral, os pontos se distribuem próximos à bissetriz evidenciando uma provável inexistência de erros sistemáticos.



Vermelho-40



Amarelo  
Crepúsculo



Tartrazina

Figura 4.10. Valores preditos versus valores esperados de concentração dos corantes nas misturas do conjunto de predição.

## **CAPÍTULO 5**

### **CONCLUSÕES E PROPOSTAS FUTURAS**

## 5.1 - Conclusões

Neste trabalho foi desenvolvido um espectrômetro microcontrolado, portátil e de baixo custo para medidas espectrométricas na região do visível. Essas características vantajosas foram agregadas ao instrumento devido à incorporação de uma mídia de CD como grade de difração e um LED branco como fonte de radiação. A utilização do microcontrolador PIC como unidade de controle proporcionou uma considerável autonomia ao espectrômetro. Além disso, um fototransistor com sensibilidade espectral na região do visível foi usado como fototransdutor.

A calibração do instrumento proposto foi avaliada em termos de repetitividade dos sinais medidos, faixa de comprimentos de onda de trabalho, resolução espectral e largura efetiva de banda. Os resultados dessa avaliação indicam que o espectrômetro desenvolvido possui características comparáveis aos instrumentos comerciais.

A avaliação da performance do instrumento proposto foi realizada por meio de análises baseadas em calibração uni e multivariada. No primeiro caso, foram realizadas determinações de corantes alimentícios (amarelo crepúsculo, tartrazina, vermelho-40 e azul brilhante) em amostras sintéticas e de  $\text{Fe}^{2+}$  em soluções orais de polivitamínicos. Na calibração multivariada, o espectrômetro foi aplicado à determinação de amarelo crepúsculo, vermelho-40 e tartrazina em misturas, usando modelos MLR baseados nas variáveis espectrais selecionadas pelo SPA. O instrumento proposto permitiu a obtenção de resultados similares aos obtidos por instrumentos comerciais.

Tendo em vista sua performance e potencial analítico, o instrumento proposto pode ser uma alternativa economicamente viável para análises espectrométricas, especialmente em laboratórios de pequenas rotinas, de pesquisa e/ou de ensino.

## 5.2 - Propostas Futuras

Como propostas de trabalhos que poderão ser desenvolvidos, destacam-se as seguintes possibilidades:

- ◆ Aplicação do espectrômetro desenvolvido a determinações analíticas na região do visível, explorando outros comprimentos de onda;
- ◆ Utilização de um motor de passos com uma maior resolução (isto é, um menor deslocamento angular por passo) com o intuito de diminuir o número de redutores e, conseqüentemente, possíveis problemas mecânicos;
- ◆ Substituição do LED branco usado no espectrômetro por um de alta potência, aumentando a relação sinal-ruído e a possibilidade da realização de medidas no terceiro sobretom a fim de melhorar a resolução espectral;
- ◆ Incorporação de uma memória auxiliar no instrumento para expandir a capacidade de armazenamento e processamento de sinais;
- ◆ Incorporação de um LCD gráfico ao espectrômetro proposto possibilitando a exibição de gráficos (por exemplo, curvas analíticas) relacionados às análises químicas.

## **REFERÊNCIAS**

- 1) SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. *Princípios de análise instrumental*. 5. ed. Porto Alegre: Bookman Editora, 2002.
- 2) SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. *Fundamentos de química analítica*. 8. ed. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006.
- 3) GURNETT, K.W. The light emitting diode (LED) and its application. *Microelectronics Journal*, **27**: 37, 1996.
- 4) HALL, R.N.; FENNER, G.E.; KINGSLEY, J.D.; SOLTYS, T.J.; CARLSON, R.O. Coherent light emission from GaAs junctions. *Physical Review Letters*, **9**: 366, 1962.
- 5) HOLONYAK, N.; BEVACQUA, S.F. Coherent (visible) light emission from Ga(As<sub>1-x</sub>P<sub>x</sub>) junctions. *Applied Physics Letters*, **1**: 82, 1962.
- 6) DASGUPTA, P.K.; EOM, I.Y.; MORRIS, K.J.; LI, J. Light emitting diode-based detectors absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell. *Analytica Chimica Acta*, **500**: 337, 2003.
- 7) YAM, F.K.; HASSAN, Z. Innovative advances in LED technology. *Microelectronics Journal*, **36**: 129, 2005.
- 8) SANTOS, S.R.B. *Um sensor a base de led e fototransistor adaptado no injetor proporcional para detecção multilocalizada em FIA*, João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, 1998. Dissertação de Mestrado, 114p.

- 9) FLASCHKA, H.; MCKEITHAN, C.; BARNES, R. Light emitting diodes and phototransistors in photometric modules. *Analytical Letters*, **6**: 585, 1973.
- 10) ANFALT, T.; GRANALI, A.; STRANDBERG, M. Probe photometer based on optoelectronic components for the determination of total alkalinity in seawater. *Analytical Chemistry*, **48**: 357, 1976.
- 11) HOOLEY, D.J.; DESSY, R.E. Continuous flow kinetic techniques in flow injection analysis. *Analytical Chemistry*, **55**: 313, 1983.
- 12) PASQUINI, C.; RAIMUNDO, I.M. Um fotômetro simples para análise por injeção em fluxo. *Química Nova*, **7**: 24, 1984.
- 13) TROJANOWICZ, M.; SZPUNAR-LOBINSKA, J.; MICHALSKI, Z. Multicomponent analysis with a computerized flow injection system using led photometric detection. *Mikrochimica Acta*, **1**: 159, 1991.
- 14) HAUSER, P.C.; RUPASINGHE, T.W.T.; CATES, N.E. A multi-wavelength photometer based on light-emitting diodes. *Talanta*, **42**: 605, 1995.
- 15) HAUSER, P.C.; RUPASINGHE, T.W.T. Simultaneous determination of metal ion concentrations in binary mixtures with a multi-led photometer. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, **357**: 1056, 1997.
- 16) ARAÚJO, M.C.U.; SILVA, E.A.; SANTOS, S.R.B.; VÉRAS, G.; LIMA, J.L.F.C.; LAPA, R.A.S. Um fotômetro de fluxo para análises clínicas a base de um diodo emissor de luz bicolor. *Química Nova*, **20**: 137, 1997.

- 17) ROCHA, F.R.P.; REIS, B.F. A flow system exploiting multicommutation for speciation of inorganic nitrogen in waters. *Analytica Chimica Acta*, **409**: 227, 2000.
- 18) CANTRELL, K.M., INGLE Jr., J.D. The slim spectrometer. *Analytical Chemistry*, **75**: 27, 2003.
- 19) SUZUKI, Y.; HORI, H.; IWATSUKI, M.; YAMANE, T. A four-wavelength channel absorbance detector with a light emitting diode-fiber optics assembly for simplifying the flow-injection analysis system. *Analytical Sciences*, **19**: 1025, 2003.
- 20) GROS, N. Spectrometer with microreaction chamber and tri-colour light emitting diode as a light source. *Talanta*, **62**: 143, 2004.
- 21) FONSECA, A.; RAIMUNDO Jr., I.M. A multichannel photometer based on an array of light emitting diodes for use in multivariate calibration. *Analytica Chimica Acta*, **522**: 223, 2004.
- 22) GAIÃO, E.N.; MEDEIROS, E.P.; LYRA, W.S.; MOREIRA, P.N.T.; VASCONCELOS, P.C.; SILVA, E.C.; ARAÚJO, M.C.U. Um fotômetro multi-led microcontrolado, portátil e de baixo custo. *Química Nova*, **28**: 1102, 2005.
- 23) LAU, K.T.; YERAZUNIS, W.S.; SHEPHERD, R.L.; DIAMOND, D. Quantitative colorimetric analysis of dye mixtures using an optical photometer based on led array. *Sensors and Actuators B*, **114**: 819, 2006.
- 24) YEH, T.S.; TSENG, S.S. A low cost led based spectrometer. *Journal of the Chinese Chemical Society*, **53**: 1067, 2006.

- 25) MUKAI, T.; NAKAMURA, S. White and UV LEDs. *Oyo Buturi*, **68**: 152, 1999.
- 26) SCHLOTTER, P.; BAUR, J.; HIELSCHER, C.; KUNZER, M.; OBLOH, H.; SCHMIDT, R.; SCHNEIDER, J. Fabrication and characterization of GaN:InGaN:AlGaIn double heterostructure LEDs and their application in luminescence conversion LEDs. *Materials Science and Engineering*, **B59**: 390, 1999.
- 27) KATAYAMA, K.; MATSUBARA, H.; NAKANISHI, F.; NAKAMURA, T.; DOI, H.; SAEGUSA, A.; MITSUI, T.; MATSUOKA, T.; IRIKURA, M.; TAKEBE, T.; NISHINE, S.; SHIRAKAWA, T. ZnSe-based white LEDs. *Journal of Crystal Growth*, **214-215**: 1064, 2000.
- 28) KO, C.W.; TAO, Y.T. Bright white organic light-emitting diode. *Applied Physics Letters*, **79**: 4234, 2001.
- 29) MAZZEO, M.; THOMPSON, J.; BLYTH, R.I.R.; ANNI, M.; GIGLI, G.; CINGOLANI, R. White-light from blue: white emitting organic LEDs based on spin coated blends of blue-emitting molecules. *Physica E*, **13**: 1243, 2002.
- 30) PARK, J.K.; LIM, M.A.; KIM, C.H.; PARK, H.D.; PARK, J.T.; CHOI, S.Y. White light-emitting diodes of GaN based Sr<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub>:Eu and the luminescent properties. *Applied Physics Letters*, **82**: 683, 2003.
- 31) CHANG, S.J.; WU, W.; SU, Y.K.; KUO, C.H.; LAI, W.C.; HSU, Y.P.; SHEU, J.K.; CHEN, J.F.; TSAI, J.M. Si and Zn co-doped InGaIn-GaN: white light-emitting diodes. *IEEE Transactions on Electron-Devices*, **50**: 519, 2003.

- 32) NARENDRAM, N.; GU, Y.; FREYSSINIER, J.P.; YU, H.; DENG, L. Solid-state lighting: failure analysis of white LEDs. *Journal of Crystal Growth*, **268**: 449, 2004.
- 33) YAMADA, M.; NARUKAWA, Y.; TAMAKI, H.; MURAZAKI, Y.; MUKAI, T. A methodological study of the best solution for generating white light using nitride-based light-emitting diodes. *IEICE Transactions on Electronics*, **E88-C**: 1860, 2005.
- 34) HU, Y.; ZHUANG, W.; YE, H.; WANG, D. A novel red phosphor for white light emitting diodes. *Journal of Alloys and Compounds*, **390**: 226, 2005.
- 35) RODRIGUES, S.C.P.; D'EURYDICE, M.N.; SIPAHI, G.M.; SILVA, E.F. Design of InGaN/AlInGaN superlattices for white-light device applications. *Microelectronics Journal*, **36**: 1002, 2005.
- 36) PARK, J.K.; CHOI, K.J.; KIM, K.N.; KIM, C.H. Investigation of strontium silicate yellow phosphors for white light emitting diodes from a combinatory chemistry. *Applied Physics Letters*, **87**: 031108, 2005.
- 37) HU, Y.; ZHUANG, W.; YE, H.; ZHANG, S.; FANG, Y.; HUANG, X. Preparation and luminescent properties of  $(\text{Ca}_{1-x}\text{Sr}_x)\text{S}:\text{Eu}^{2+}$  red-emitting phosphor for white LED. *Journal of Luminescence*, **111**: 139, 2005.
- 38) SAKUMA, K.; HIROSAKI, N.; KIMURA, N.; OHASHI, M.; XIE, R.J.; YAMAMOTO, Y.; SUEHIRO, T.; ASANO, K.; TANAKA, D. White light-emitting diode lamps using oxynitride and nitride phosphor materials. *IEICE Transactions on Electronics*, **E88-C**: 2057, 2005.

- 39) PARK, J.K.; CHOI, K.J.; YEON, J.H.; LEE, S.J.; KIM, C.H. Embodiment of the warm white-light-emitting diodes by using a Ba<sup>2+</sup> codoped Sr<sub>3</sub>SiO<sub>5</sub>:Eu phosphor. *Applied Physics Letters*, **88**: 043511, 2006.
- 40) XIE, R.J.; HIROSAKI, N.; MITOMO, M.; TAKAHASHI, K.; SAKUMA, K. Highly efficient white-light-emitting diodes fabricated with short-wavelength yellow oxynitride phosphors. *Applied Physics Letters*, **88**: 101104, 2006.
- 41) HELIOTIS, G.; GU, E.; GRIFFIN, C.; JEON, C.W.; STAVRINO, P.N.; DAWSON, M.D.; BRADLEY, D.D.C. Wavelength-tunable and white-light emission from polymer-converted micropixelated InGaN ultraviolet light-emitting diodes. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, **8**: S445, 2006.
- 42) PARK, S.; KIM, Y.W.; LEE, D.H.; PARK, S.N. Preparation of a standard light-emitting diode (LED) for photometric measurements by functional seasoning micropixelated InGaN ultraviolet light-emitting diodes. *Metrologia*, **43**: 299, 2006.
- 43) SOHN, K.S.; PARK, D.H.; CHO, S.H.; KWAK, J.S.; KIM, J.S. Computational evolutionary optimization of red phosphor for use in tricolor white LEDs. *Chemistry of Materials*, **18**: 1768, 2006.
- 44) LEE, H.; JOHNSON, A.R.; KANICKI, J. White LED based on polyfluorene co-polymers blend on plastic substrate. *IEEE Transactions on Electron-Devices*, **53**: 427, 2006.
- 45) SHIMAZAKI, Y.; WATANABE, S.; TAKAHASHI, M.; IWATSUKI, M. A portable spectrophotometer using a white-color light-emitting diode and a charge-coupled device and its application to on-site determination of iron. *Analytical Sciences*, **16**: 1091, 2000.

- 46) LI, Q.; MORRIS, K.J.; DASGUPTA, P.K.; RAIMUNDO Jr.; I.M., TEMKIN, H. Portable flow-injection analyzer with liquid-core waveguide based fluorescence, luminescence, and long path length absorbance detector. *Analytica Chimica Acta*, **479**: 151, 2003.
- 47) HO, H.P.; WU, S.Y.; YANG, M.; CHEUNG, A.C. Application of white light-emitting diode to surface plasmon resonance sensor. *Sensors and Actuators B*, **80**: 89, 2001.
- 48) CARVALHO, R.M.; RATH, S.; KUBOTA, L.T. SPR – uma nova ferramenta para biossensores. *Química Nova*, **26**: 97, 2003.
- 49) CAVALCANTE, M.A.; TAVOLARO, C.R.C. Uma caixinha para estudo de espectros. *Física na Escola*, **3**: 40, 2002.
- 50) CAVALCANTE, M.A.; BENEDETTO, A. Instrumentação em física moderna para o ensino médio: uma nova técnica para a análise quantitativa de espectros. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, **21**: 437, 1999.
- 51) CAVALCANTE, M.A.; TAVOLARO, C.R.C.; HAAG, R. Experiências em física moderna. *Física na Escola*, **6**: 75, 2005.
- 52) UFC, Seara da Ciência. Sugestões para feira de ciências. Disponível em <<http://www.searadaciencia.ufc.br/sugestoes/fisica/oti11.htm>>. Acessado em: 18 abril 2008.
- 53) USP, CDCC, Experimentoteca. Ótica física. Disponível em: <[http://educar.sc.usp.br/experimentoteca/fisica/kit6\\_otica\\_fisica/exp\\_5\\_otica\\_fisica.pdf](http://educar.sc.usp.br/experimentoteca/fisica/kit6_otica_fisica/exp_5_otica_fisica.pdf)>. Acessado em: 18 abril 2008.

- 54) ZHU, J.X. A cd spectrometer. Disponível em: <<http://www.cs.cmu.edu/~zhuxj/astro/html/spectrometer.html>>. Acessado em: 18 abril 2008.
- 55) BRERETON, R.G. Multilevel multifactor designs for multivariate calibration. *Analyst*, **122**: 1521, 1997.
- 56) MORITA, T. *Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação com indicadores de segurança e de descarte de produtos químicos*. 2. ed. São Paulo: Blücher, 2007.
- 57) Mendham, J.; DENNEY, R.C.; BARNES, J.D.; THOMAS, M.J.K. *Vogel Análise química quantitativa*. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.
- 58) CHAN, C.C.; LEE, Y.C.; LAM, H.; ZHANG, X.M. *Analytical method validation and instrument performance validation*. New Jersey: Wiley, 2004.
- 59) NETO, B.B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. *Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*. 2. ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 2003.
- 60) DOQ-CGCRE-008. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. INMETRO, 2003.
- 61) FERREIRA, M.M.C.; ANTUNES, A.M.; MELGO, M.S.; VOLPE, P.L.O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial, *Química Nova*, **22**: 724, 1999.
- 62) BEEBE, K. R.; PELL, R.J.; SEASHOLTZ, B. *Chemometrics – a practical guide*. New York: Wiley, 1998.

63) GALVÃO, R.K.H.; ARAÚJO. M.C.U., ARAÚJO; SILVA, E.C.; JOSÉ, G.E.; SOARES, S.F.C.; PAIVA, H.M. Cross-validation for the selection of spectral variables using the successive projections algorithm, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **8**: 1580, 2007.

64) IUPAC. *Compendium of analytical nomenclature: the orange book*. 3. ed. Disponível em: <[http://old.iupac.org/publications/analytical\\_compendium/](http://old.iupac.org/publications/analytical_compendium/)>. Acessado em: 18 abril 2008.

## **ANEXO**

## PROGRAMA COMPUTACIONAL

```
#include <16F877.h>
#device adc=10
#include <REGS_16F87x.h>
#include <stdlib.h>
#fuses XT,NOLVP,NOWDT,PUT,BROWNOUT,NOPROTECT
#use DELAY(CLOCK = 4000000)
#use rs232(baud=19200, parity=N, bits=8, xmit=PIN_c6, rcv=PIN_c7)
#include <math.h>
```

```
#define CS_LCD PIN_c4
#define RS_LCD PIN_c5
#define D4_LCD PIN_d6
#define D5_LCD PIN_d7
#define D6_LCD PIN_d4
#define D7_LCD PIN_d5
#define reset_led pin_d2
#define sensor1 pin_b7
#define sensor2 pin_b6
#define botao4 pin_b1
#define botao6 pin_b5
#define botao2 pin_b2
#define botao8 pin_b3
#define botao5 pin_b4
#define n4 pin_d1
#define n3 pin_d0
#define n2 pin_c3
#define n1 pin_c2
#define capacitor pin_a2
#define ganho1 pin_a3
#define ganho2 pin_e0
#define ganho3 pin_a5
```

```
#include <LCD_0420_Lib.c>
```

```
int16 round(float x)
{
    return floor(x+0.5);
}
```

```
int n_passo;
int1 cap;
int16 sinal, lambda;
```

```

medida()
{
    int ciclo;
    output_high(capacitor);
    if (cap==0)
        delay_ms(1000);
    if (cap==1)
    {
        delay_ms(500);
        output_low(capacitor);
        delay_ms(1000);
    }

    sinal = 0;
    for(ciclo=0; ciclo<=80; ciclo++)
        sinal = read_adc() + sinal;
}

```

```

bobina0()
{
    output_low(n1);
    output_low(n2);
    output_low(n3);
    output_low(n4);
    delay_ms(60);
}

```

```

bobina1()
{
    output_low(n1);
    output_high(n2);
    output_high(n3);
    output_low(n4);
    delay_ms(60);
    n_passo = 1;
}

```

```

bobina2()
{
    output_low(n1);
    output_low(n2);
    output_high(n3);
    output_high(n4);
    delay_ms(60);
    n_passo = 2;
}

```

```

bobina3()
{
    output_high(n1);
    output_low(n2);
    output_low(n3);
    output_high(n4);
    delay_ms(60);
    n_passo = 3;
}

bobina4()
{
    output_high(n1);
    output_high(n2);
    output_low(n3);
    output_low(n4);
    delay_ms(60);
    n_passo = 4;
}

main ()
{
    int16 n_passos;
    setup_adc_ports (RA0_analog);
    setup_adc(ADC_clock_internal);
    set_adc_channel(1);
    ini_lcd_0420();
    delay_ms(80);
    iniciar_posicao:
    {
        output_low(reset_led);
        output_low(capacitor);
        output_low(n1);
        output_low(n2);
        output_low(n3);
        output_low(n4);
        output_low(ganho1);
        output_low(ganho2);
        output_low(ganho3);
        cap = 0;
        printf(tela, "\f\1iniciar\2posicionamento");
        delay_ms(40);
        bobina1();          /* quatro passos para frente */
        bobina2();
        bobina3();
        bobina4();
    }
}

```

```

while (TRUE)
{
    if(n_passo==4 && !input(sensor1) && !input(sensor2))
        goto escolha_analise;
    else
        bobina3();
    if(n_passo==3 && !input(sensor1) && !input(sensor2))
        goto escolha_analise;
    else
        bobina2();
    if(n_passo==2 && !input(sensor1) && !input(sensor2))
        goto escolha_analise;
    else
        bobina1();
    if(n_passo==1 && !input(sensor1) && !input(sensor2))
        goto escolha_analise;
    else
        bobina4();
}

```

```

escolha_analise:
    {
        bobina0();
        printf(tela, "\f\1Ponto Zero");
        delay_ms(1000);
        printf(tela, "\2uni 4 ou multi 6");
        while (true)
        {
            if (input(botao6))
            {
                delay_ms(200);
                printf(tela, "\f\1escolhido multi");
                deLay_ms(500);
                goto multi;
            }

            if (input(botao4))
            {
                delay_ms(200);
                printf(tela, "\f\1escolhido univariada");
                deLay_ms(500);
                goto uni;
            }
        }
    }
}

```

```

uni:
{
float absorbancia;
int16 zeroT, branco, amostra;

lambda = 430;
bobina0();
delay_ms(1000);
printf(tela, "\2lambda 4- 5ok 6+ 2In");

while (true)
{
if (input(botao6))
{
delay_ms(200);
lambda++;
}

if (input(botao4))
{
delay_ms(200);
lambda--;
}
printf(tela, "\1lambda =      %03Lu", lambda);

if (input(botao2))
{
delay_ms(200);
goto iniciar_posicao;
}

if(input(botao5))
{
delay_ms(100);
n_passos = round((0.504*lambda) - 215.5818);
while (TRUE)
{
switch (n_passo)
{
case 1:
n_passos--;
bobina2();
if (n_passos==0)
goto escolha_ganho;
break;
}
}
}
}

```

```
case 2:
    n_passos--;
    bobina3();
    if (n_passos==0)
        goto escolha_ganho;
    break;
```

```
case 3:
    n_passos--;
    bobina4();
    if (n_passos==0)
        goto escolha_ganho;
    break;
```

```
case 4:
    n_passos--;
    bobina1();
    if (n_passos==0)
        goto escolha_ganho;
    break;
```

```
    }
}
}
```

```
escolha_ganho:
{
    int16 ganho;

    bobina0();
    cap = 1;
    delay_ms(200);
    medida();
    ganho = sinal;
    if (ganho < 4400)
        output_high(ganho3);
    else
    {
        if (ganho > 8800)
            output_high(ganho1);
        else
            output_high(ganho2);
    }
}
```

```

medida_ad:
{
printf(tela, "\f\1Br-4 Am-6 ZT-8 Co-2");
while (true)
{
if (input(botao8))
{
delay_ms(200);
printf(tela, "\f\1ZeroT Retire cubeta\2 tecle (ok)");
While (true)
{
if (input(botao5))
{
delay_ms(200);
cap = 0;
output_high(reset_led);
delay_ms(10);
medida();
delay_ms(20);
output_low(reset_led);
output_low(capacitor);
zeroT = sinal;
printf(tela, "\f\1zeroT = %05Lu", zeroT);
printf(tela, "\2 aperte botao 5");
while(true)
{
if (input(botao5))
goto medida_ad;
}
}
}
}

if (input(botao2))
{
delay_ms(200);
goto iniciar_posicao;
}

if (input(botao4))
{
delay_ms(200);
printf(tela, "\f\1Branco ponha cubeta\2 tecle (ok)");
While (true)
{
if (input(botao5))

```



```

multi:
{
  bobina0();
  delay_ms(1000);
  output_high(ganho1);
  printf(tela,"\2Br-4 Am-6 ZT-8 Co-2");
  while (true)
  {
    if (input(botao2))
    {
      delay_ms(200);
      goto iniciar_posicao;
    }

    if (input(botao8))
    {
      delay_ms(200);
      printf(tela,"\f\1ZeroT Retire cubeta\2 tecle (ok)");
      While (true)
      {
        if (input(botao5))
        {
          delay_ms(200);
          printf(tela,"\f\1medindo sinal zeroT");
          output_high(reset_led);
          delay_ms(10);
          cap = 0;
          goto medida_multi;
        }
      }
    }
    if (input(botao4))
    {
      delay_ms(200);
      printf(tela,"\f\1Branco ponha cubeta\2 tecle (ok)");
      While (true)
      {
        if (input(botao5))
        {
          delay_ms(200);
          printf(tela,"\f\1medindo sinal branco");
          cap = 1;
          goto medida_multi;
        }
      }
    }
  }
}

```

```

if (input(botao6))
{
    delay_ms(200);
    printf(tela, "\f\1Amostra ponha cubeta\2 tecle (ok)");
    While (true)
    {
        if (input(botao5))
        {
            delay_ms(200);
            printf(tela, "\f\1medindo sinal Am");
            cap = 1;
            goto medida_multi;
        }
    }
}
}
}
}
}

```

medida\_multi:

```

{
    for(n_passos=1; n_passos<=110; n_passos++)
    {
        switch (n_passo)
        {
            case 1:
                bobina2();
                break;
            case 2:
                bobina3();
                break;
            case 3:
                bobina4();
                break;
            case 4:
                bobina1();
                break;
        }

        bobina0();
        medida();
        lambda = round((n_passos + 215.5818)/0.504);
        printf(tela, "\3%3Lu %05Lu", lambda, sinal);
        printf("%3Lu %05Lu\r\n", lambda, sinal);
    }
}

```

```
if (cap==0)
{
    delay_ms(20);
    output_low(reset_led);
    output_low(capacitor);
}

while (TRUE)
{
    if(n_passo==4 && !input(sensor1) && !input(sensor2))
        goto multi;
    else
        bobina3();

    if(n_passo==3 && !input(sensor1) && !input(sensor2))
        goto multi;
    else
        bobina2();

    if(n_passo==2 && !input(sensor1) && !input(sensor2))
        goto multi;
    else
        bobina1();

    if(n_passo==1 && !input(sensor1) && !input(sensor2))
        goto multi;
    else
        bobina4();
}
}
```

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)