

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

AMANDA BARBOSA KONDRATOVICH

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ALTERNATIVA ATRAVÉS
DA ESPECTROSCOPIA ALIADA A MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS NA
QUANTIFICAÇÃO DE FÓSFORO E NITROGÊNIO EM ÁGUAS
SUPERFICIAIS PARA ABASTECIMENTO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2015

AMANDA BARBOSA KONDRATOVICH

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ALTERNATIVA ATRAVÉS
DA ESPECTROSCOPIA ALIADA A MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS NA
QUANTIFICAÇÃO DE FÓSFORO E NITROGÊNIO EM ÁGUAS
SUPERFICIAIS PARA ABASTECIMENTO**

Projeto de pesquisa apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2 (TCC 2), do curso de Engenharia Ambiental, do Departamento Acadêmico de Ambiental (DAAMB), do Câmpus Campo Mourão, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Valderrama

Co-orientadora: Profa. Dra. Flávia Vieira da Silva Medeiros

CAMPO MOURÃO

2015



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Diretoria de Graduação e Educação Profissional
Departamento Acadêmico de Ambiental - DAAMB
Curso de Engenharia Ambiental



TERMO DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ALTERNATIVA ATRAVÉS DA ESPECTROSCOPIA ALIADA A MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS NA QUANTIFICAÇÃO DE FÓSFORO E NITROGÊNIO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS PARA ABASTECIMENTO

por

AMANDA BARBOSA KONDRATOVICH

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 07 de julho de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof^a. Dra. Patrícia Valderrama

Prof^a. Dra. Flávia Vieira da Silva Medeiros

Prof. Dr. Paulo Henrique Março

Prof. Dr. Nelson Consolin Filho

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por toda a força e luz que me foi proporcionada nessa etapa da minha vida. Seu amor e bondade me levaram a nunca desistir e sempre me manter erguida perante aos desafios enfrentados.

Agradeço aos meus pais, Ricardo e Keila, que me apoiaram, me amaram, choraram comigo, sentiram saudades, nunca me deixaram faltar nada e me deram todo o suporte necessário para que esse sonho fosse realizado. Vocês são minha vida, meu amor por vocês é imensurável e dedico essa realização a vocês. Aos meus irmãos e eternos companheiros e amigos, Marina e Lucas, por todo o apoio, todos os desabaços e todas as risadas que são nossas, e apenas nossas. A toda minha família, Barbosa e Kondratovich, por todo o apoio e o amor que sempre me deram. Amo todos vocês com todo meu coração.

Aos meus amigos, aos que deixei em Santo André e que sempre torceram por mim e me esperaram nesses anos todos. E aos que fiz durante essa jornada, pessoas incríveis que me ensinaram muito, me abraçaram quando chorei, me ergueram quando precisei, compartilharam momentos que levarei comigo a vida toda e o mais importante, que me fizeram rir e muito. Amo vocês.

A minha orientadora Patrícia Valderrama, por toda a paciência, por todo o conhecimento repassado, pelos conselhos e por ter sido também uma grande amiga. A minha co-orientadora Flávia Vieira por toda a força, paciência, risadas nas aulas e por tudo o que me ensinou. A vocês duas lindas e divas, o meu muito obrigada.

Agradeço também a Sanepar por ter aberto suas portas e ao funcionário Cristovam, que esteve presente conosco em todos os dias de coleta nos auxiliando no que fosse preciso.

A todos os professores, servidores, demais funcionários da UTF e a todos que de alguma forma contribuíram para que isso fosse possível, muito obrigada.

RESUMO

KONDRATOVICH, Amanda B. **Desenvolvimento de metodologia alternativa através da espectroscopia aliada a métodos quimiométricos na quantificação de fósforo e nitrogênio em águas superficiais para abastecimento**. 2015. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

O desenvolvimento de uma metodologia alternativa foi conduzido para a determinação de fósforo e nitrogênio em águas de abastecimento urbano, com o objetivo de promover a utilização da técnica da espectrofotometria na região do UV-Vis (Ultravioleta e Visível), descartando assim o uso de reagentes e geração de resíduos e viabilizando análises mais rápidas. Criou-se um modelo, com o auxílio do software MatLab e do método PLS (Partial Least Squares), que conduz uma regressão entre os espectros UV-Vis das amostras de água com os valores de concentração de fósforo e nitrogênio obtidos através do método de referência, que no presente trabalho foi a colorimetria. Para a obtenção de um modelo mais robusto, ferramentas para identificação de amostras anômalas foram empregadas. Os valores do erro médio quadrático da calibração (RMSEC) e validação (RMSEP), bem como o coeficiente de correlação (R), foram avaliados como indicadores de exatidão dos modelos desenvolvidos. No modelo para a determinação do fósforo os resultados do RMSEC, RMSEP e R foram 1,4107; 1,5850 e 0,7511, enquanto que no modelo para a determinação de nitrogênio os valores foram 0,5322; 0,6960 e 0,8017, respectivamente. Os resultados foram também avaliados através de uma elipse de confiança, onde foi possível afirmar que não houve diferença significativa entre ambos os métodos com 95% de confiança. A linearidade do modelo foi avaliada através do gráfico de resíduos de Student, que apresentou uma distribuição normal. E através do vetor de coeficientes de regressão para ambos os modelos é possível afirmar que todos os comprimentos de ondas utilizados foram importantes para o desempenho dos modelos multivariados. Com isso, os resultados alcançados sugerem que a espectroscopia UV-Vis aliada à calibração multivariada através do método PLS são promissoras na determinação de fósforo e nitrogênio em águas de abastecimento.

Palavras-chave: nitrogênio, fósforo, UV-Vis, PLS, calibração multivariada.

ABSTRACT

KONDRATOVICH, Amanda B. **Development of an alternative methodology through spectroscopy allied to chemometric methods in quantification of phosphorus and nitrogen in surface waters to supply**. 2015. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

An alternative methodology was developed aiming the determination of phosphorus and nitrogen in urban water supply. The objective of this study was to promote the use of the spectrophotometric technique in the region of UV-Vis (Ultraviolet and Visible), in order to decrease the use of reagents, waste production and enabling faster analysis. It was created a model by using the software Matlab and PLS method (Partial Least Squares), which performs a regression between the UV-Vis spectro of the water samples and values of phosphorus and nitrogen concentration obtained by the reference method, which in this study was the colorimetry. To obtain a robust model, some tools for identifying anomalous samples were used. The values of the Root Mean Square Error of Calibration (RMSEC) and Validation (RMSEP), and the Correlation Coefficient (R), were evaluated as indicators of accuracy of the developed models. In the model built for phosphorus determination the values RMSEC, RMSEP and R were 1.4107; 1.5850 and 0.7511, while to nitrogen the values were 0.5322; 0.6960 and 0.8017, respectively. The results were also evaluated through a confidence ellipse, where it was possible to say that there was no significant difference between both methods with 95% of confidence. The linearity of the model was evaluated by the Student residues chart, which showed a normal distribution. Through the regression coefficient in both models is possible to say that all wavelengths used were important to the performance of multivariate models. Thus, the results obtained suggest that the UV-Vis spectroscopy combined with multivariate calibration through PLS method are promising in determining phosphorus and total nitrogen in water from supply.

Keywords: nitrogen, phosphorus, UV-Vis, PLS, multivariate calibration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Construção da matriz X e correlação com o método de referência.....	17
Figura 2 - Decomposição em variáveis latentes das matrizes X e do vetor y para o modelo PLS. Fonte: Otto, 1999. p. 197	17
Figura 3 - Espectros UV-Vis para as amostras de água de abastecimento	21
Figura 4 - Ajuste do modelo multivariado para determinação de fósforo (A) e nitrogênio total (B). (●) amostras de calibração (*) amostras de validação	23
Figura 5 - Elipse de confiança para a determinação do fósforo (A) e do nitrogênio total (B).....	23
Figura 6 - Resíduos de Student para os modelos multivariados na determinação de fósforo (A) e nitrogênio total (B)	24
Figura 7 - Coeficientes de correlação dos modelos para determinação do fósforo (A) e nitrogênio total (B)	24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
4 MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1 MATERIAL	15
4.2 MÉTODO DE REFERÊNCIA.....	15
4.3 MODELO MULTIVARIADO	16
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
6 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

Nos centros urbanos, o abastecimento de água torna-se cada vez mais centrado na qualidade do produto a ser distribuído à população. Em contrapartida, a qualidade da água bruta está piorando e exige uma maior concentração de produtos químicos aplicados no seu tratamento. O tratamento de água é feito a partir da água doce encontrada na natureza que contém, além de resíduos orgânicos, sais dissolvidos, metais pesados, partículas em suspensão e microrganismos. Por essa razão a água é levada do manancial para a Estação de Tratamento de Água (ETA), onde o tratamento ocorre em várias etapas sendo eles a coagulação, a floculação, a decantação, a filtração, a desinfecção, a fluoretação e, por fim, a correção do pH, para armazenamento e futura distribuição dessa água. Cada etapa possui uma função no tratamento, e nelas são observados parâmetros que determinam a qualidade da água. Tais parâmetros podem ser encontrados na Portaria nº 1469, de 29 de dezembro de 2000 (MS, 2000), e entre eles estão o pH, dureza, cloretos e sulfatos, nitrogênio, oxigênio dissolvido, compostos orgânicos e fósforo.

O nitrogênio aparece em forma de nitrato, nitrito e nitrogênio amoniacal que são uma das maiores fontes de íons naturais da água, sendo também indicadores de poluição. Para se monitorar o nitrogênio presente na água, os métodos convencionais são “Método de Kjeldahl”, que trata-se de uma oxidação úmida e o “Método de Dumas”, via oxidação seca (KEENEY; BREMNER 1967).

O fósforo é observado na água como indicador chave da eutrofização, então é preciso uma melhor atenção em sua ciclagem assim como sua liberação nos corpos d’água (KOSKI-VAHAL; HARTIKAINEN, 2001). A determinação do fósforo total pode ser realizada pelo método de digestão ácida, com ácido sulfúrico e nítrico, e a oxidação com persulfato (APHA, 2005).

Na determinação do nitrogênio e do fósforo, além das metodologias já citadas acima, é possível a utilização da colorimetria (APHA, 2005), que consiste em empregar uma reação química para transformar o constituinte de interesse em um composto colorido cuja intensidade de cor possa ser determinada na região do visível. Entretanto, apesar de ser um método simples e relativamente rápido de análise, o custo operacional é elevado, podendo ocorrer erros, em sua maioria devido ao preparo da amostra, o uso de vidrarias sem calibração, pela impregnação dos analitos ou reagentes na vidraria, em etapas de diluições, dentre outros. Assim,

a espectroscopia, aliada a métodos de calibração multivariada, pode proporcionar alternativas viáveis por apresentarem vantagens como rapidez, possibilidade de um menor custo pela não necessidade de preparo de amostra, a ausência de reagentes e solventes e, conseqüentemente, a não geração de resíduos tóxicos, o que vai de encontro com os requisitos da química verde.

A química verde pode ser definida como a criação, desenvolvimento e aplicação de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias tóxicas (TUNDO et al. 2000). De acordo com essa definição, enquadra-se o desenvolvimento de metodologias de análises mais limpas, que não utilizam reagentes e não geram resíduos tóxicos, objetivo deste trabalho de conclusão de curso.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Empregar a espectroscopia aliada à calibração multivariada como alternativa para a análise do fósforo e nitrogênio no tratamento de águas de abastecimento.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as concentrações de fósforo e nitrogênio (nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal) em amostras de água de abastecimento através do método colorimétrico.
- Utilizar o método quimiométrico de mínimos quadrados parciais (PLS) para construção de modelos de calibração multivariada a partir de espectros na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) das amostras de água.
- Otimizar os conjuntos de calibração e validação avaliando amostras anômalas.
- Avaliar os parâmetros de qualidade do modelo multivariado desenvolvido: exatidão, ajuste e linearidade.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A qualidade da água é resultado de fenômenos naturais e também da atuação antrópica, sendo, portanto determinada por suas condições naturais e pelo tipo de uso do solo em sua bacia hidrográfica proveniente da interferência humana (SPERLING, 2005).

No município de Campo Mourão, 70% do abastecimento é proveniente do Rio do Campo, onde uma área equivalente a 80 km² é drenada da sua nascente até o ponto de captação para as ETAs. Os processos químicos estão envolvidos em todas as etapas de tratamento da água, e os reagentes utilizados são o sulfato de alumínio (Al₂(SO₄)₃), cloreto de polialumínio (PAC), polímero (catiônico, aniônico, ou neutro), cloro (Cl), ácido fluossilícico (H₂SiF₆) e a cal hidratada (Ca(OH)₂) (CESAN, 2013). Tais reagentes são utilizados para que a água a ser distribuída se enquadre nos padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde (MS) na portaria nº 2914/2011 (MS, 2011). Nessa portaria, a definição de água para uso humano é dada pela água potável em que possa haver ingestão, produção e preparação de alimentos e uso para higiene pessoal. Alguns padrões estabelecidos para potabilidade definem quantidades mínimas de elementos como sendo chumbo (0,01 mg/L), cobre (2 mg/L), nitrato (10 mg/L), nitrito (1 mg/L), benzeno (5 µg/L) (MS, 2000) e o fósforo (0,1 mg/L) (CONSELHO NACIONAL..., 2005).

Componentes nitrogenados como o nitrato e o nitrito, quando em altas concentrações, são prejudiciais à saúde humana. O nitrato ocorre em baixos teores em águas superficiais podendo atingir grandes taxas em águas mais profundas, e seu consumo está associado a efeitos adversos a saúde, como à metahemoglobinemia, especialmente em crianças, e a formação potencial de nitrosaminas e nitrosamidas carcinogênicas (ALABURDA; NISHIHARA, 1998).

O fósforo é um elemento escasso na biosfera, porém essencial para o desenvolvimento aquático, sendo um fator limitante de produtividade e o maior responsável pela eutrofização de rios e lagos (GBUREK; SHARPLEY, 1998). A eutrofização é efeito do crescimento excessivo das plantas aquáticas, que quando em níveis muito altos, acabam causando interferência para o uso da água (THOMANN; MUELLER, 1987).

Para se avaliar nutrientes como o fósforo e o nitrogênio, as análises das alíquotas das amostras não podem ter sofrido filtração (PARANHOS, 1996), e seus resultados possuem grande importância, já que os dados obtidos nas análises destes nutrientes, em conjunto com outras variáveis, podem ser utilizados na determinação de diversos índices de estado trófico.

Na determinação desses parâmetros podem ser empregados métodos baseados em colorimetria (APHA, 2005). Tais métodos são relativamente rápidos mas que emprega uma série de reagentes, necessita de preparo de amostras e gera resíduos tóxicos que precisam ser destinados adequadamente.

Com o avanço computacional e da instrumentação utilizada nas análises químicas, uma quantidade cada vez maior de informações vem sendo obtida e em diversos níveis de complexidade. Ainda, as facilidades existentes atualmente para o acoplamento entre os equipamentos de medida e os microcomputadores, associadas à capacidade de estocagem de grandes quantidades de dados, possibilitam maior rapidez nas medidas (VALDERRAMA, 2010). Isso vem requerendo e possibilitando o desenvolvimento de novos procedimentos para a análise de dados analíticos através da quimiometria.

A quimiometria é definida como a pesquisa e utilização de métodos matemáticos e estatísticos para o tratamento de dados químicos de forma a extrair uma maior quantidade de informações e observar melhores resultados analíticos (OTTO, 1999). Desde o seu surgimento até os dias de hoje, foram desenvolvidos muitos métodos alternativos de análise, nas mais diversas áreas do conhecimento, especialmente aliadas à espectroscopia na região do UV-Vis (VALDERRAMA et al., 2010; RITTER et al., 2013; SANTOS et al., 2015; MORAIS et al., 2015).

A espectroscopia UV-Vis é uma ferramenta analítica consolidada, de aplicação simples, custo baixo e sensibilidade compatível com as necessidades de diversas indústrias (ZAMORA et al., 2008). Entretanto, a baixa seletividade torna sua aplicação comprometida quanto a análises de sistemas com composição complexa.

Alguns ânions inorgânicos exibem bandas de absorção na região do ultravioleta que resultam de elétrons não ligantes excitados, como por exemplo, os íons nitrato (313 nm) e nitrito (360 – 280 nm) (HOLLER et al., 2009), além dos íons fosfatos. Entretanto, as águas de abastecimento são amostras complexas e a determinação direta desses ânions através da espectroscopia UV-Vis seria impossível devido à falta de seletividade da técnica. Dessa forma, para contornar o

problema da falta de seletividade, métodos matemáticos têm sido utilizados como ferramentas analíticas complementares e, dentre os diferentes métodos matemáticos, encontra-se a calibração multivariada que estabelece uma relação entre os resultados proporcionados por um instrumento analítico (por exemplo, o espectrofotômetro que opera na região do UV-Vis) e os valores correspondentes a grandezas estabelecidas através de metodologias de referência (colorimetria, nesse caso). Diferente do modelo univariado, na calibração multivariada é possível utilizar toda a informação medida disponível e tem como principal vantagem a possibilidade de realizar a calibração na presença de interferentes, desde que estes estejam presentes na etapa de calibração (BOOKSH e KOWALSKI, 1994)

Dentre os métodos de calibração multivariada existentes, o de mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês *Partial Least Squares*) tem se tornado uma ferramenta extremamente útil e importante em muitos campos da química, como a físico-química, a química analítica, a química medicinal, ambiental e ainda no controle de inúmeros processos industriais (FERREIRA et al., 1999). Para sua implementação, diversos softwares quimiométricos e ambientes computacionais estão disponíveis no mercado, dentre eles pode-se destacar o Matlab, considerado um ambiente computacional interativo de alto desempenho, esse software é voltado para o cálculo numérico, cujo elemento básico de informação é uma matriz, sendo largamente empregado no desenvolvimento de métodos quimiométricos (SOUZA; POPPI, 2012).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Foram utilizados kits marca HACH, para determinações de nitrito, nitrato, nitrogênio amoniacal e fósforo. Um total de 32 amostras de água de abastecimento foram fornecidas pela Companhia Paranaense de Saneamento (SANEPAR). Foram empregados os equipamentos de espectroscopia de varredura marca Ocean Optics equipado com cubeta de quartzo de 10mm e um espectrofotômetro digital da marca HACH, modelo DR5000. Também foram utilizados um turbidímetro (HACH 2100 Q) e um banho ultrassônico (Cristófoli ULTRON 2). Para o tratamento dos dados foi empregado o software Matlab R2007b com as ferramentas do pacote PLS-Toolbox 5.2.

4.2 MÉTODO DE REFERÊNCIA

As coletas das amostras foram realizadas na Sanepar no município de Campo Mourão entre os dias 07 e 22 do mês de abril no ano de 2015. A turbidez para essas amostras foi aferida através de um turbidímetro. Os parâmetros nitrogênio (nas formas de nitrito, nitrato e amoniacal) e fósforo (na forma de fosfato) foram determinados por meio de colorimetria (APHA, 2005).

Para a reação colorimétrica na determinação do nitrogênio amoniacal, 5mL de amostra foram misturados ao conteúdo líquido do kit comercial. O conteúdo sólido do primeiro sachê de reagente, constituído por salicilato de amônia, foi adicionado e esperou-se 3 minutos, após isso foi adicionado um segundo sachê, contendo também reagente sólido nesse caso hidróxido de lítio, e a mistura foi levada a um agitador ultrassônico por 15 minutos para o desenvolvimento completo da cor. A concentração de nitrogênio amoniacal foi determinada no comprimento de onda de 655 nm.

Para determinação de nitrato, nitrito e fósforo a metodologia foi semelhante. Foram adicionados o conteúdo de cada um dos kits comerciais, contendo o reagente sólido, a 10 mL da amostra de água de abastecimento. Agitou-se manualmente e o tempo para o desenvolvimento da cor foi de 3 minutos. As medidas foram realizadas nos comprimentos de onda 507, 410 e 420 nm, respectivamente, para nitrito, nitrato e fósforo.

Na reação colorimétrica do fósforo, ocorre a conversão dos compostos contendo fósforo para a forma de orto fosfato (PO_4^{3-}) dissolvidos. Em meio ácido, o molibdato de amônia juntamente com o antimônio tartarato de potássio reagem com o orto fosfato formando o composto ácido fosfomolibdico, o qual é reduzido, pelo ácido ascórbico, ao pigmento azul de molibdênio (MANUAL DE PROCEDIMENTOS..., 2004).

O método de determinação colorimétrica do nitrito é baseado na sua reação, em meio ácido (pH 2,0 a 2,5), com sulfanilamida. O composto formado reage com bicloridrato de (1-naftil)etilenodiamina e forma um outro composto nitrogenado, colorido (FORESTI, 2005). A reação colorimétrica para a determinação do nitrato é realizada empregando ácido salicílico (MANTOVANI et al, 2005). No caso do nitrogênio amoniacal, a amônia livre reage com o cianureto de amônia para formar monocloramina. A monocloramina reage com o salicilato de amônia, na presença de nitro-ferricianeto de sódio, para formar 5-aminossalilato, um complexo colorido (KROM, 1980).

Nesse trabalho utilizou-se o somatório do resultado da determinação de nitrito, nitrato e nitrogênio amoniacal como sendo a quantidade de nitrogênio total.

4.3 MODELO MULTIVARIADO

Para cada uma das amostras de água de abastecimento foi coletado um espectro na região do ultravioleta e visível (UV-Vis). Esses espectros foram organizados no formato de uma matriz \mathbf{X} que foi, então, correlacionada matematicamente com um vetor \mathbf{y} , contendo os valores de referência obtidos pelo método colorimétrico (Figura 1).

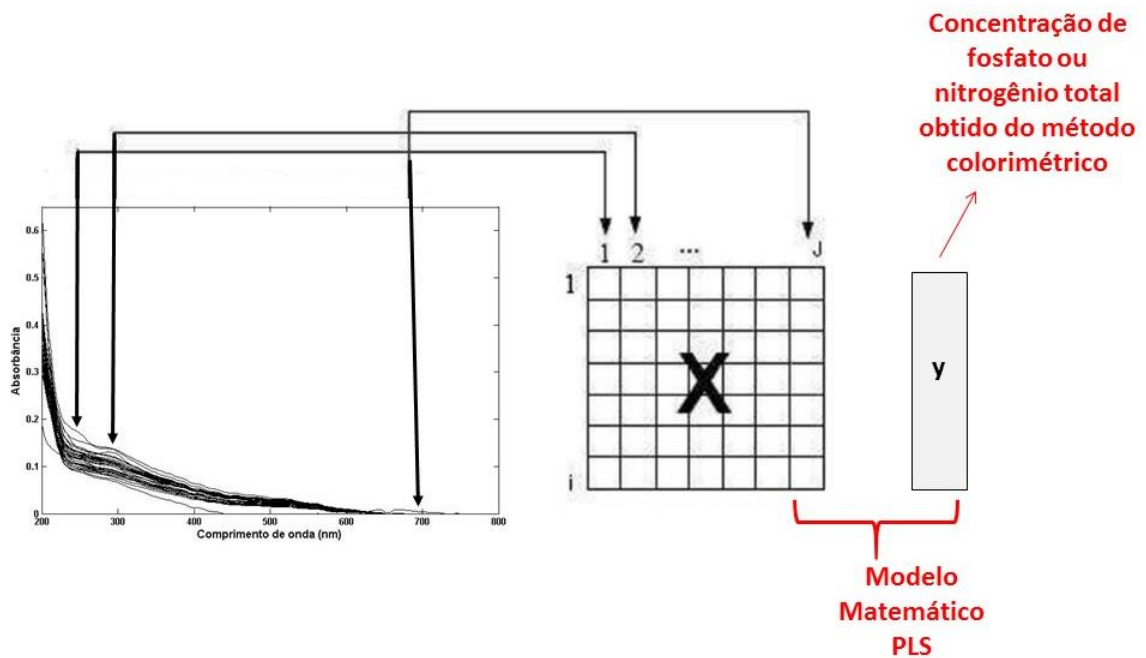


Figura 1 - Construção da matriz **X** e correlação com o método de referência

A correlação matemática entre a matriz **X**, de respostas instrumentais, e o vetor **y**, contendo os valores do método de referência foi realizada através do método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). Neste método a matriz **X** e o vetor **y** são decompostos em um produto de duas matrizes, denominadas de *scores* e *loadings* (Figura 2) (OTTO, 1999). A decomposição pode ser realizada através de diversos algoritmos que procedem a referida decomposição por passos diferentes chegando ao final em resultados praticamente iguais. Um desses algoritmos é o NIPALS (do inglês, *Nonlinear Iterative Partial Least Squares*) (GELADI; KOWALSKI, 1986).

$$\begin{array}{c}
 \begin{array}{c} m \\ \boxed{X} \\ n \end{array} = \begin{array}{c} 1 \\ \boxed{t_1} \\ n \end{array} \begin{array}{c} 1 \\ \boxed{p_1^T} \\ m \end{array} + \dots + \begin{array}{c} 1 \\ \boxed{t_A} \\ n \end{array} \begin{array}{c} 1 \\ \boxed{p_A^T} \\ m \end{array} + \begin{array}{c} m \\ \boxed{E_x} \\ n \end{array} \\
 \\
 \begin{array}{c} z \\ \boxed{Y} \\ n \end{array} = \begin{array}{c} 1 \\ \boxed{u_1} \\ n \end{array} \begin{array}{c} 1 \\ \boxed{q_1^T} \\ z \end{array} + \dots + \begin{array}{c} 1 \\ \boxed{u_A} \\ n \end{array} \begin{array}{c} 1 \\ \boxed{q_A^T} \\ z \end{array} + \begin{array}{c} z \\ \boxed{E_y} \\ n \end{array}
 \end{array}$$

Figura 2 - Decomposição em variáveis latentes das matrizes **X** e do vetor **y** para o modelo PLS. Fonte: Otto, 1999. p. 197

Entre os *scores* e *loadings* de \mathbf{X} e os *scores* de \mathbf{y} , uma relação linear é, então, estabelecida (OTTO, 1999) para determinar os valores de coeficientes de regressão do modelo (b). Foram construídos dois modelos, um para determinação de fósforo e outro para determinação de nitrogênio total (somatório do nitrogênio amoniacal, nitrato e nitrito).

Na etapa de desenvolvimento dos modelos um procedimento de avaliação de amostras anômalas, conhecidas como *outliers*, foi aplicado conforme Valderrama et al. (2007a). O desempenho dos modelos desenvolvidos foi avaliado através da determinação da exatidão, ajuste e linearidade (VALDERRAMA, et al., 2009). A exatidão expressa o grau de concordância entre o valor estimado pelo modelo multivariado e o valor tido como verdadeiro obtido pelo método de referência. Esse parâmetro é expresso através da Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração (RMSEC) e de Previsão (RMSEP) (VALDERRAMA et al., 2009):

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{nv} (y_i - \hat{y}_i)^2}{nv}} \quad (1)$$

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{nc} (y_i - \hat{y}_i)^2}{nc - nVL + 1}} \quad (2)$$

em que: y_i é o valor de referência, \hat{y}_i é o valor previsto pelo modelo multivariado, nv é o número de amostras na validação, nc é o número de amostras na calibração, nVL é o número de variáveis latentes.

O ajuste é um parâmetro do modelo multivariado que é estimado a partir da correlação entre os valores tidos como referência e os valores estimados pelo modelo de calibração multivariada. Então determina-se por mínimos quadrados, a reta que melhor se ajusta aos valores de referência e aos valores estimados pelo modelo, para as amostras de calibração. O coeficiente de correlação do ajuste também pode ser considerado como um indicador de exatidão, bem como, a consideração da elipse de confiança (VALDERRAMA et al. 2009).

No caso da linearidade, sua avaliação é um problema em calibração multivariada, pois as variáveis são decompostas em *scores* e *loadings*. Qualitativamente, o gráfico dos resíduos para as amostras de calibração e validação pode indicar se os dados se ajustam a um modelo linear se a distribuição dos

resíduos for aleatória (VALDERRAMA et al., 2009) ou ainda se os resíduos de *Student* apresentarem uma distribuição normal (VALDERRAMA et al. 2007b).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através método colorimétrico, tido como método de referência, (Tabela 1) foram correlacionados com os espectros na região UV-Vis (Figura 3) através da construção de modelos de calibração multivariada a partir do método de regressão PLS.

Tabela 1 - Valores obtidos pelo método colorimétrico.

Amostra	Data	Fósforo (mg/L)	Ntotal (mg/L)	Turbidez (UT)
1		3,0	2,410	
2	07/abr	1,6	2,316	39,3
3		2,5	3,309	
4	08/abr	1,7	0,827	
5		1,7	0,820	38,8
6		0,4	2,212	
7	09/abr	4,4	0,003	39,5
8		0,7	0,605	
9		7,0	1,701	
10	10/abr	7,0	0,034	36,3
11		7,0	0,810	
12	12/abr	2,8	1,320	31,2
13		6,9	1,017	
14		0,5	1,516	
15	13/abr	9,2	0,030	48,4
16		1,5	1,710	
17	14/abr	5,0	1,317	41
18		4,1	0,014	
19	15/abr	6,5	1,520	35,9
20		13,3	0,802	
21	16/abr	5,8	1,516	41
22		7,0	0,210	
23	17/abr	14,7	1,311	35
24	18/abr	5,1	1,415	39,6
25		4,6	0,203	
26	19/abr	10,5	2,914	39
27	20/abr	5,5	2,909	38,2
28		1,5	0,008	
29	21/abr	7,1	3,610	33
30		3,5	0,012	
31	22/abr	5,2	1,933	40
32		2,3	1,201	

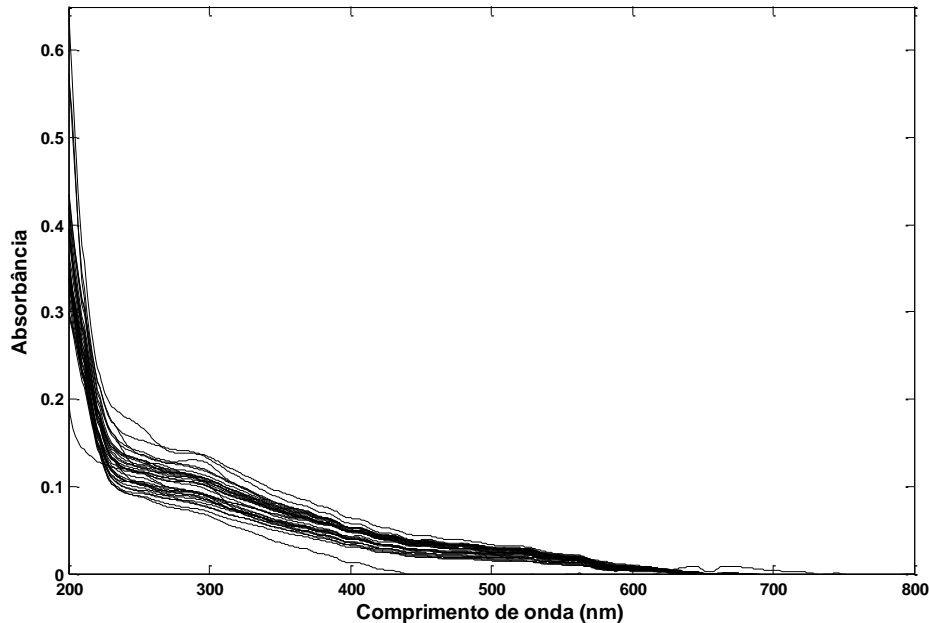


Figura 3 - Espectros UV-Vis para as amostras de água de abastecimento

Os espectros UV-Vis das amostras de água de abastecimento passaram por uma correção de linha de base com auxílio do algoritmo '*baseline*' e uma suavização através do algoritmo de '*savgol*' (SAVITZKY; GOLAY, 1969).

As amostras foram posteriormente separadas em dois conjuntos de dados (amostras de validação e calibração), com auxílio do algoritmo de '*Kenston*' (KENNARD; STONE, 1969). A função desse algoritmo é selecionar as amostras levando em consideração suas distâncias, aonde a primeira amostra é selecionada a partir da maior distância entre ela e a amostra média, a próxima amostra é selecionada pela maior distância entre ela e a amostra anterior e assim sucessivamente (KENNARD; STONE, 1969). Dessa forma foram selecionadas para o conjunto de calibração 22 amostras, restando um total de 10 amostras para o conjunto de validação.

Para se escolher um número adequado de variáveis latentes, empregou-se o procedimento de validação cruzada (*Cross Validation*) (BRERETON, 2000). A validação utilizada foi a conhecida por "*leave-one-out*", onde uma amostra é retirada do processo de construção do modelo e em seguida a mesma é prevista pelo modelo obtido, isso ocorre até que todas as amostras tenham sido previstas. Com isso o número de variáveis latentes foi obtido através dos resultados da raiz

quadrada do erro quadrático médio da validação cruzada (RMSECV), e para o modelo de quantificação de fósforo e nitrogênio foram apontadas 7 variáveis latentes.

Os modelos desenvolvidos foram avaliados para identificação de possíveis *outliers* nos conjuntos de calibração e validação. Nos conjuntos de calibração foram removidos uma amostra para o modelo na determinação de nitrogênio total e 4 amostras para o modelo na determinação do fósforo. Na validação, 3 amostras foram identificadas como *outliers* e eliminadas do modelo para determinação de nitrogênio total. Para o modelo empregado na determinação do fósforo 4 amostras foram eliminadas por terem sido consideradas *outliers* na validação, de acordo com os testes realizados. Assim, um total de 28 e 31 amostras foram empregadas na construção dos modelos de calibração na determinação de fósforo e nitrogênio total, respectivamente.

Nos modelos construídos foram observados os valores do RMSEC e RMSEP que são considerados indicadores de exatidão (Tabela 2). Entretanto esses parâmetros incorporam erros sistemáticos e aleatórios. Assim, outra maneira de avaliar a exatidão seria através do coeficiente de correlação para o ajuste entre os valores de referência e os valores previstos pelo modelo PLS, além da consideração da elipse de confiança (VALDERRAMA et al. 2009).

Tabela 2 – Parâmetros de exatidão dos modelos PLS.

Modelo	RMSEC	RMSEP	Coefficiente de correlação
Fósforo	1,4107	1,5850	0,7511
Nitrogênio	0,5322	0,6960	0,8017

De acordo com os resultados de RMSEC e RMSEP observou-se que os erros da calibração e da validação dos modelos estão muito próximos, indicando que a escolha do número de variáveis latentes foi apropriada. Os coeficientes de correlação para os ajustes (Figura 4) apresentaram resultados satisfatórios e, apesar de parecerem valores baixos, coeficientes de correlação dessa ordem de grandeza já foram reportados antes na literatura para calibração multivariada de amostras de origem natural (amostras reais) (VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2007a; VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2007b; FERREIRA; PALLONE; POPPI, 2013).

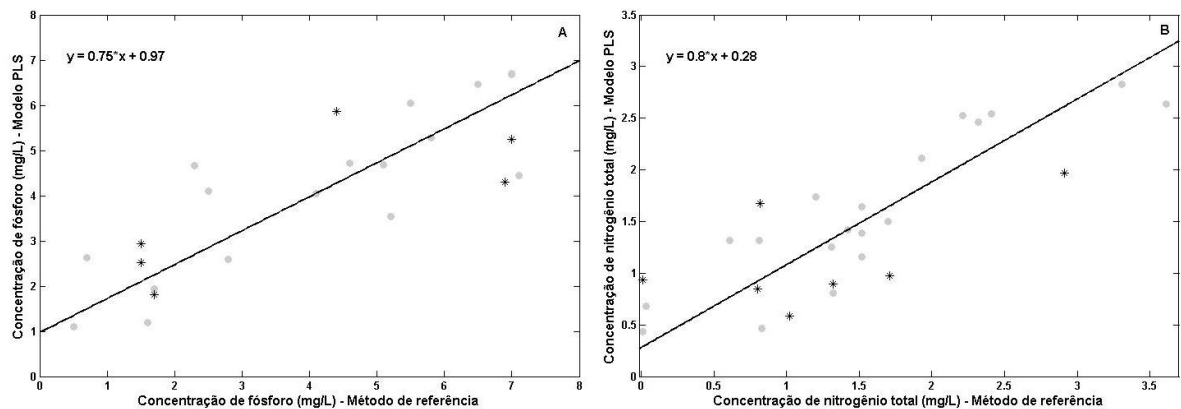


Figura 4 - Ajuste do modelo multivariado para determinação de fósforo (A) e nitrogênio total (B). (●) amostras de calibração (*) amostras de validação

Os resultados obtidos através do método colorimétrico e do modelo PLS, foram também avaliados através de uma elipse de confiança (Figura 5). De acordo com as elipses (ambas contém o ponto ideal 1 e zero para inclinação e intercepto, respectivamente) é possível afirmar os resultados provenientes de ambos os métodos não apresentaram diferença significativa com 95% de confiança.

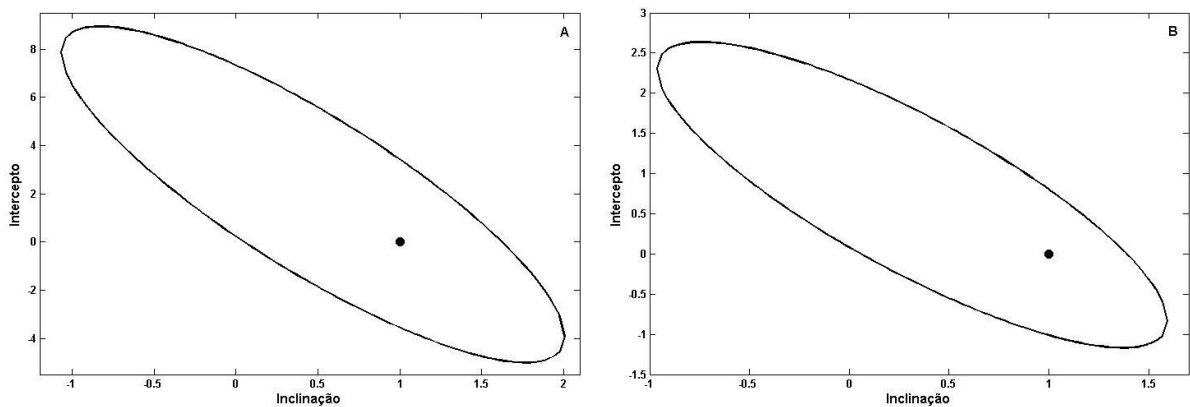


Figura 5 - Elipse de confiança para a determinação do fósforo (A) e do nitrogênio total (B)

A linearidade dos modelos PLS foram avaliadas através do gráfico de resíduos de *Student* (Figura 6). De acordo com os resultados é possível afirmar que os dados parecem se ajustar a um modelo linear pois a distribuição dos resíduos se assemelha a uma distribuição normal.

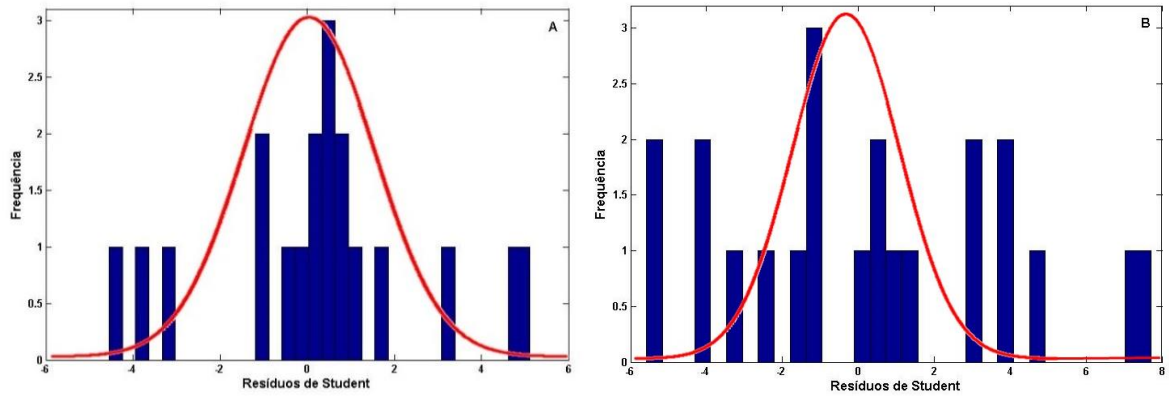


Figura 6 - Resíduos de Student para os modelos multivariados na determinação de fósforo (A) e nitrogênio total (B)

Avaliando o gráfico dos coeficientes de regressão dos modelos desenvolvidos (Figura 7), verifica-se que todos os comprimentos de onda parecem contribuir para o desempenho do modelo multivariado.

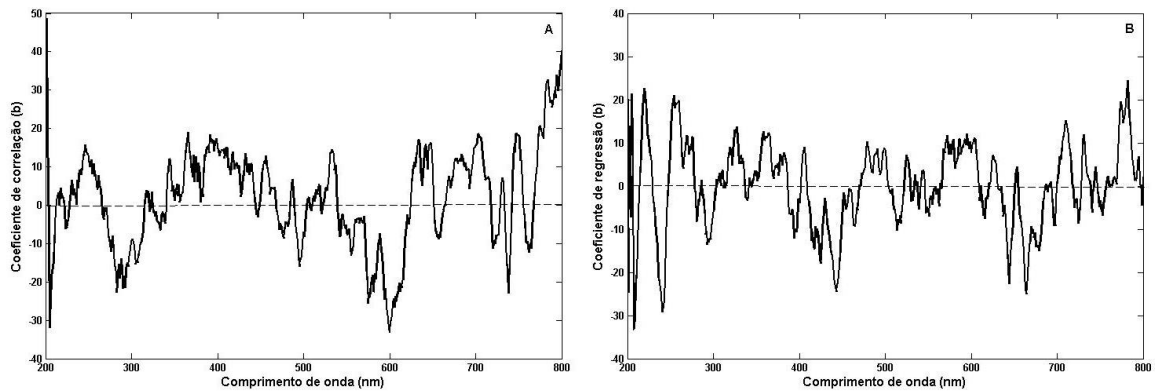


Figura 7 - Coeficientes de correlação dos modelos para determinação do fósforo (A) e nitrogênio total (B)

Os resultados alcançados sugerem que a espectroscopia UV-Vis aliada à calibração multivariada através do método PLS são promissores na determinação de fósforo e nitrogênio total em águas de abastecimento.

6 CONCLUSÃO

Os resultados alcançados com o desenvolvimento dos modelos propostos nesse trabalho apresentaram resultados promissores e a exatidão dos modelos foi confirmada através da elipse de confiança.

Assim a utilização da espectroscopia UV-Vis aliada a quimiometria pode ser uma nova alternativa para determinação de fósforo e nitrogênio total em águas.

Além disso, o método proposto é rápido, não necessita de preparo de amostra (como o método colorimétrico) e não emprega reagentes, portanto, também não gera resíduos tóxicos estando de acordo com os requisitos da química verde.

REFERÊNCIAS

ALABURDA, Janete; NISHIHARA, Linda. Presença de composto de nitrogênio em águas de poços. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 32, n. 2, abr. 1998. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsp/v32n2/p160-165.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2014.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington: APHA, 2005.

BOOKSH, Karl S.; KOWALSKI, Bruce R. Theory in analytical chemistry. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 15, p. 782A-7791A, 1994.

BRERETON, Richard G. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. Bristol: **Analyst**, v. 125, n. 11, p. 2125-2154, 2000.

CESAN – Companhia Espírito Santense de Saneamento. Apostila: **Tratamento de água**. Espírito Santo, 2013. Disponível em: <http://www.cesan.com.br/wp-content/uploads/2013/08/APOSTILA_DE_TRATAMENTO_DE_AGUA-.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2014.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357/05. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília – DF, mar. 2005.

FERREIRA, Daniela S.; PALLONE, Juliana A.L.; POPPI, Ronei J. Fourier transform near infrared spectroscopy (FT – NIRS) application to estimate Brazilian soybean [Glycine max (L.) Merrill] composition. **Food Research International**, v. 51, n 1, p. 53-58, abr. 2013.

FERREIRA, Márcia M.C. et al. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n 5, p. 724-731, set. 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421999000500016&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 31 maio 2015.

FORESTI, Eugenio et al. **Métodos de Análises Físico-Químicas de Rotina de Águas Residuárias Tratadas Biologicamente**. São Paulo, 2005. 91 p.

GELADI, Paul; KOWALSKI, Bruce R. Partial least squares regression: a tutorial. **Analytical Chimica Acta**, v. 185, p. 1-17, 1986.

GBUREK, William J.; SHARPLEY, Andrew N. Hydrologic controls on phosphorus loss from upland agricultural watersheds. **Environmental Quality**, v. 27, p. 267-277, 1998.

HOLLER, James F.; SKOOG, Douglas, A.; CROUCH, Stanley R. Princípios de análise instrumental. **Editora Bookman**: Porto Alegre, 6 ed., 2009, p. 384.

KEENEY, D. R.; BREMNER, J.M. Use of the Coleman model 29: An analyser for total nitrogen analysis of soils. **Soil Science**, v. 104, n. 5, p. 358-363, 1967.

KENNARD, R.W; STONE, L.A. Computer aided desing of experiments. **Technometrics**, v. 11, n. 1, p. 137-148, 1969.

KOSKI-VAHALA, J.; HARTIKAINEN, H. Assessment of the risk of phosphorus loading due to resuspended sediment. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, p. 960-966, 2001.

KROM, Michael D. Determination of ammonia: A study of a modified Berthelot reduction using salicylate and dichloroisocyanurate. **The Analyst**, v. 105, p. 305-316, 1980.

MANTOVANI, Ricardo J.; CRUZ, Mara P.; FERREIRA, Manoel E.; BARBOSA, José C. Comparação de procedimento de quantificação de nitrato em tecido vegetal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 1, p. 53-59, jan. 2005.

MORAIS, Cristiane da S. et al. Aplicação de calibração multivariada em dados de espectroscopia UV-Visível para previsão de acidez total em vinhos. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, n. 1, p. 70-79, 2015.

MS – **Ministério da Saúde**. Portaria nº1469 de 29 de dezembro de 2000. Disponível em: <http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/Portaria_MS_1469-00.pdf> Acesso em: 19 nov. 2014.

OTTO, Matthias. **Chemometrics, Statistics and Computer Applications in Analytical Chemistry**. 1 ed. Weinheim: Wiley, 1999.

PARANHOS, Rodolfo. **Alguns métodos para análise da água**. Rio de Janeiro: Cadernos didáticos – UFRJ, 1996.

RITTER, Cíntia M; CURTI, Suzana M.M.; VALDERRAMA, Patrícia. Monitoramento mensal da presença de detergentes não biodegradáveis e resíduos de óleos comestíveis nas estações de tratamento de esgoto da cidade de Campo Mourão, Paraná. **Tópos**, v. 7, n 1, p. 51-57 , 2013.

SANTOS, Dayane A. dos et al. Espectroscopia UV e calibração multivariada multiproduto na determinação da acidez total em néctar de frutas. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2015.

SAVITSKY, Abraham; GOLAY, Marcel J.E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. **Analytical Chemistry**, v. 36, p. 1627-1639, 1964.

SÃO PAULO (Estado). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química e Sanitária. Laboratório de Saneamento “Profº Lucas Nogueira Garcez”. **Manual de Procedimentos e Técnicas Laboratoriais Voltado para Análises de Águas e Esgotos Sanitário e Industrial**. São Paulo, 2004. 113 p.

SOUZA, André M. de; POPPI, Ronei J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. **Química Nova**, São Paulo, v 35, n 1, p. 223-229, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000100039&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 31 maio 2015.

THOMANN, Robert V.; MUELLER, John A. **Principles of Surface Water Quality Modeling and Control**. Prentice Hall, 1 ed. 656 p. 1997.

TUNDO, Pietro; ANASTAS, Paul; BLACK, David S.; BREEN, Joseph; COLLINS, Terrence; MEMOLI, Sofia; MIYAMOTO, Junshi; POLYAKOFF, Martyn; TUMAS, William. ; **Synthetic pathways and processes in green chemistry. Introductory overview**, v 72, n. 7, p. 1207-1228, 2000.

VALDERRAMA, Patrícia; BRAGA, Jez W.B.; POPPI, Ronei J. Variable Selection, Outlier Detection, and Figures of Merit Estimation in a Partial Least-Squares Regression Multivariate Calibration Model. A Case Study for the Determination of Quality Parameters in the Alcohol Industry by Near-Infrared Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p. 8331-8338, 2007a.

VALDERRAMA, Patrícia; BRAGA, Jez W.B.; POPPI, Ronei J. Validation of Multivariate Calibration Models in the Determination of Sugar Cane Quality Parameters by Near Infrared Spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n 2, p. 259-266, 2007b.

VALDERRAMA, Patrícia; BRAGA, Jez W.B.; POPPI, Ronei J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**. São Paulo, v. 32, n. 5, maio 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n5/v32n5a34.pdf>>. Acesso em: 27 nov. 2014.

VALDERRAMA, Patrícia et al. Quantification of chlorpheniramine maleate enantiomers by ultravioleta spectroscopy and chemometric methods. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. Germany, v. 397, p. 181-188, maio 2010.

VON SPERLING, Marcos. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotps. Volume 1: Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. 3 ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 2005.

ZAMORA, Patrício G.P. et al. Determinação simultânea de paracetamol e cafeína por espectrometria UV-Vis associada a ferramentas matemáticas. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 1, p. 39-43, 2008.