



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

Deangelis Damasceno

CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGUAS POTÁVEIS UTILIZANDO
ANÁLISE MULTIVARIADA DE IMAGENS

Goiânia
2015

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☐ Dissertação ☒ Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Deangelis Damasceno		
E-mail:	dianguimico@yahoo.com.br		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? <input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Vínculo empregatício do autor	Funcionário Público		
Agência de fomento:		Sigla:	
País:	UF:	CNPJ:	
Título:	Controle de Qualidade de Águas Potáveis Utilizando Análise Multivariada de Imagens		
Palavras-chave:	Água potável; controle de qualidade; análise de imagens; calibração multivariada; PLS		
Título em outra língua:	Water quality control of potable water using multivariate image analysis		
Palavras-chave em outra língua:	Potability of water; Physical chemical parameters; PLS		
Área de concentração:	Química		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	15/12/2015		
Programa de Pós-Graduação:	Programa de Pós-Graduação em Química		
Orientador (a):	Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira		
E-mail:	elcana@quimica.ufg.br		
Co-orientador (a):*	Prof. Dr. Sérgio Botelho de Oliveira		
E-mail:	dr_botelho@yahoo.com.br		

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO^a

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Data: 01/03/2016

Assinatura do (a) autor (a)

^a Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Deangelis Damasceno

CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGUAS POTÁVEIS UTILIZANDO ANÁLISE MULTIVARIADA DE IMAGENS

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Goiás, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira
Co-Orientador: Prof. Dr. Sérgio Botelho de Oliveira

Goiânia
2015

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

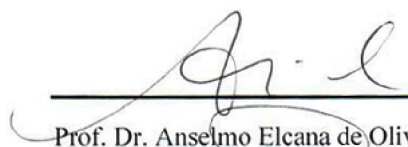
Damasceno, Deangelis
Controle de Qualidade de Águas Potáveis Utilizando Análise
Multivariada de Imagens [manuscrito] / Deangelis Damasceno. - 2015.
CLI, 150 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira; co-orientador Dr.
Sérgio Botelho de Oliveira.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de
Química (IQ), Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2015.
Bibliografia. Anexos.
Inclui siglas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de
tabelas.

1. Água potável. 2. Controle de qualidade. 3. Análise de imagens.
4. Calibração multivariada. 5. PLS. I. Elcana de Oliveira, Anselmo,
orient. II. Botelho de Oliveira, Sérgio, co-orient. III. Título.

Folha de Aprovação

Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado em Química, apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás pelo discente Deangelis Damasceno, em 15/12/2015:



Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira (UFG)



Prof. Dr. Clarimar José Coelho (PUC-GO)



Prof. Dr. Anderson da Silva Soares (UFG)



Prof. Dra. Andréa Rodrigues Chaves (UFG)



Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro (UFG)

À minha esposa Rosangela e ao meu filho
Rafael pelo apoio e pela motivação.

*A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo
que a imaginação abrange o mundo inteiro.*

Albert Einstein
(in Cosmic Religion: With Other Opinions and Aphorisms)

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira, e ao grupo de pesquisa do Laboratório de Química Teórica e Computacional (LQTC), pelas orientações, apoio, amizade, paciência, confiança depositadas no início do ano de 2007 e que se seguem até hoje.
- Ao Prof. Dr. Sérgio Botelho de Oliveira pelas orientações no desenvolvimento nas conclusões desse trabalho.
- Ao Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro, e ao Grupo de Métodos Eletroforéticos (GME), pelo espaço físico, orientações e pela recepção em seu grupo de pesquisa.
- Ao Sr. Cassiano P. da Silva, químico e sócio proprietário da empresa AQUALIT, pelas orientações nos ajustes realizados nos modelos desenvolvidos.
- Ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás pela oportunidade de aprendizado fornecida nos programas de Mestrado e Doutorado.
- À minha querida esposa, Rosangela, e meu garotinho, Rafael, que direta e indiretamente me motivam e me inspiram para superar as adversidades.
- Aos meus pais, Abadio Anselmo Damasceno e Leda Márcia Damasceno, pelos exemplos de honestidade, dedicação, superação e por sempre me proporcionar, ao longo da minha vida, todas as condições necessárias para minha formação pessoal e profissional.
- Aos meus irmãos Wendel Damasceno e Henrique Damasceno, pelas opiniões sinceras.
- À minha grande amiga, Mariana da Silva Godinho, fiel companheira de graduação, de pós-graduação, de sala de aula, de profissão, de grupo de pesquisa, de congressos, de discussões quimiométricas, de experimentos malsucedidos e divertidos de laboratório, ...
- Aos meus amigos Maycon Lemes e Thiago Toledo pela amizade, discussões e pelas horas de trabalho no laboratório.

RESUMO

CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGUAS POTÁVEIS UTILIZANDO ANÁLISE MULTIVARIADA DE IMAGENS

Autor: Deangelis Damasceno

Orientador: Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira

Co-Orientador: Prof. Dr. Sérgio Botelho de Oliveira

Novas metodologias analíticas são propostas nesta Tese para a determinação físico-química de pH, Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Cálcio, Dureza Magnésio, Cloreto, Fluoreto e Ferro Total de águas potáveis utilizando Análise Multivariada de Imagens (MIA) associada à Regressão Multivariada por Mínimos Quadrados Parciais (PLS). Imagens digitais de amostras obtidas por um *scanner* de mesa foram empregadas para construir modelos de calibração multivariada. Amostras foram preparadas em laboratório para cada parâmetro investigado. Os modelos PLS foram obtidos de imagens digitais nos espaços RGB, HSI, XYZ e YCbCr, com 300 dpi de resolução e formato de arquivo BMP. As análises foram realizadas em micro-volumes amostrais, sendo necessários 200,0 µL de amostras por análise. O modelo PLS para determinação do pH forneceu RMSEP = 0,16. Já para Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Cálcio, Dureza Magnésio, Cloreto, Fluoreto e Ferro Total os valores de RMSEP foram iguais a 0,03, 1,20, 2,01, 0,07, 0,04 e 0,06 mg L⁻¹, respectivamente. Todos os modelos foram avaliados utilizando Figuras de Mérito (FOM) buscando contemplar os parâmetros nacionais de validação de novos métodos analíticos. Para o modelo PLS desenvolvido para determinação de pH, apresentou média dos erros relativos obtidos da diferença entre os valores previstos e os valores de referência, sendo igual a 0,20%. Para Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Cálcio e Dureza Magnésio, foram encontrados valores das médias dos erros relativos iguais a 0,85, 9,46 e 9,44%, respectivamente. Já os modelos desenvolvidos para Cloretos, Fluoretos e Ferro, apresentaram valores menores, com médias dos erros relativos iguais a 1,01, 5,15 e 1,33%. Os modelos desenvolvidos foram validados utilizando amostras reais, além de comparados com métodos de referência através de testes de exatidão e de precisão. Todos os métodos desenvolvidos apresentaram exatidão estatisticamente equivalentes aos valores obtidos pelos métodos convencionais ($t_{cal} < t_{crítico}$, $P = 0,05$). Todos os modelos desenvolvidos, com exceção dos modelos de Dureza Total, Dureza Cálcio e Dureza Magnésio, apresentaram previsão estatisticamente equivalentes aos métodos convencionais ($F_{cal} > F_{crítico}$, $P = 0,05$). Dessa forma, as metodologias analíticas desenvolvidas nesta Tese são alternativas aos métodos analíticos convencionais, apresentando vantagens como menor quantidade de amostras (200,0 µL), menor quantidade de reagentes (40,0 µL), menor quantidade de solução indicadora (4,0 µL), menor quantidade de resíduos por amostra (400,0 µL), além da mobilidade dos métodos, não necessitando de laboratórios específicos para análise das amostras.

Palavras-chaves: água potável; controle de qualidade; análise de imagens; calibração multivariada; PLS.

ABSTRACT

WATER QUALITY CONTROL OF POTABLE WATER USING MULTIVARIATE IMAGE ANALYSIS

Author: Deangelis Damasceno

Adviser: Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira

Co-Adviser: Prof. Dr. Sérgio Botelho de Oliveira

New digital image based-analytical methodologies are proposed to measure pH, alkalinity, total hardness, calcium hardness, magnesium hardness, chloride, fluorine, and total iron of potable water samples. Multivariate image analysis and partial least-squares regression were applied to BMP digital images acquired from a CCD-scanner. RGB, HIS, XYZ and YCbCr color spaces and 300 dpi images of 200 μL water samples were employed. This micro volume per sample yielded micro volumes of analytical waste per sample (400.0 μL). PLS root mean square error of prediction (RMSEP) for pH analyses was 0.16. RMSEP values for alkalinity, total hardness, calcium hardness, magnesium hardness, chloride, fluorine, and total iron were 0.03, 1.20, 2.01, 0.07, 0.04, and 0.06 mg L^{-1} , respectively. Analytical figures of merit were computed for all PLS proposed methods. Mean relative errors ranging from 0.20% to 1.33 were found. The proposed methods were validated against standard analytical procedures for water quality control. There were no statistical differences between mean PLS value and the one found using the respective standard procedure (t_{test} , $P = 0.05$). Precision was found statistically equivalent for pH, alkalinity, chloride, fluoride, and total iron when compared to the related reference method (F_{test} , $P = 0.05$). Therefore, the new PLS analytical methods proposed for water control quality can be employed as an alternative to standard methods.

Keywords: Potability of water; Physical chemical parameters; PLS.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	5
2.1. Metas	5
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
4. METODOLOGIA.....	12
4.1. IMAGENS	12
4.2. CORES DAS IMAGENS	14
4.2.1. Sistema RGB.....	15
4.2.2. Sistema HSI.....	17
4.2.3. Sistema XYZ.....	18
4.2.4. Sistema YCbCr	21
4.3. ARMAZENAMENTO E FORMATO DE IMAGENS	22
4.4. ANÁLISE DE IMAGENS	23
4.5. FILTRO DE IMAGENS.....	24
4.5.1. Ajuste de Intensidade.....	27
4.6. SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS.....	28
4.7. HISTOGRAMAS DE IMAGENS	29
4.7.1. Extração dos histogramas	31
4.8. TIPOS DE DADOS	32
4.9. PRÉ-PROCESSAMENTO.....	33
4.9.1. Centrar dados na média.....	34
4.9.2. Correção Ortogonal de Sinal	35
4.10. SELEÇÃO DE VARIÁVEIS	36
4.10.1. Algoritmos Genéticos	36
4.10.2. Operações de Subtrações de Imagens.....	39
4.11. CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA.....	40
4.11.1. PLS	41
4.12. VALIDAÇÃO ANALÍTICA MULTIVARIADA.....	42
4.12.1. Sinal Analítico Líquido	43
4.12.2. Figuras de Mérito.....	45
4.12.2.1. Exatidão	45
4.12.1.2. Precisão	46
4.12.1.3. Ajuste de Curva e Linearidade	47

4.12.1.4.	Seletividade e Sensibilidade Analítica.....	48
4.12.1.5.	Limite de Detecção e Limite de Quantificação.....	50
4.12.1.6.	Viés (<i>bias</i>).....	51
4.12.1.7.	Desvio Residual de Previsão.....	51
4.13.	PARÂMETROS QUÍMICOS DE ÁGUAS POTÁVEIS ANALISADOS COM IMAGENS	52
4.13.1.	pH.....	52
4.13.2.	Alcalinidade e Dureza.....	54
4.13.3.	Íons Cloretos, Fluoretos e Ferro Totais.....	55
5.	PARTE EXPERIMENTAL.....	60
5.1.	DETERMINAÇÃO DO pH	60
5.1.1.	Amostras e padrões.....	60
5.1.2.	Coloração das amostras.....	60
5.1.3.	Obtenção e processamento das imagens digitais	61
5.2.	DETERMINAÇÃO DE ALCALINIDADE, DUREZA TOTAL, DUREZA Ca e DUREZA Mg 63	63
5.2.1.	Reagentes.....	63
5.2.2.	Amostras e padrões.....	63
5.2.3.	Obtenção e processamento das imagens digitais	65
5.2.4.	Métodos de referência.....	68
5.3.	DETERMINAÇÃO DE CLORETOS, FLUORETOS E FERRO.....	68
5.3.1.	Reagentes.....	68
5.3.2.	Amostras e padrões.....	69
5.3.3.	Obtenção e processamento das imagens digitais	71
5.3.4.	Métodos de referência.....	76
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
6.1.	MODELO PARA DETERMINAÇÃO DE pH.....	79
6.1.1.	Validação analítica do modelo PLS para pH	82
6.2.	MODELOS PARA DETERMINAÇÃO DE ALCALINIDADE, DUREZA TOTAL, DUREZA Ca E DUREZA Mg	88
6.2.1.	Modelo para determinação de Alcalinidade	89
6.2.2.	Modelo de Dureza Total, Ca(II) e Mg(II)	91
6.2.3.	Validação Analítica.....	94
6.3.	MODELOS PARA DETERMINAÇÃO DE CLORETOS, FLUORETOS E FERRO TOTAL	101

6.3.1.	Modelo para determinação de Cloretos	101
6.3.2.	Modelo para determinação de Fluoretos	104
6.3.3.	Modelo para determinação de Ferro Total.....	109
6.3.4.	Validação Analítica.....	111
6.4.	VALIDAÇÃO EXTERNA DOS MODELOS	119
6.4.1.	Avaliação do desempenho dos modelos desenvolvidos	121
6.4.2.	Avaliações Finais	124
7.	CONCLUSÕES.....	126
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	129
	ANEXOS	148

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação dimensional de (a) imagem 2D e (b) imagem 3D.....	13
Figura 2. Combinação de feixes de luz, na formação da cor perceptível: (a) Mistura Aditiva; (b) Mistura Subtrativa.....	15
Figura 3. Cubo tridimensional representativo do espaço de cores RGB e da escala de cinza.....	16
Figura 4. Decomposição da imagem RGB nos canais R, G e B. Cada canal representa a variação monocromática da cor em escala de cinza.....	16
Figura 5. Representação das coordenadas do sistema HSI: (a) formato bicônico; (b) corte horizontal.....	18
Figura 6. Funções de onda: (a) valores para RGB; (b) Valores para XYZ.....	20
Figura 7. Representação das coordenadas: (a) do sistema XYZ; (b) localização das cores RGB com as coordenadas XYZ (ELECTRONICS-BASE, 2015).	20
Figura 8. Cubo cor RGB, inserido no espaço de cor YCbCr (INTEL, 2015).	22
Figura 9. Definição a matriz 3x3 correspondente à vizinhança do ponto referencial (x, y)	26
Figura 10. Amostras preparadas para determinação de Fe (II): (a) antes da aplicação da função <i>imadjust</i> ; (b) após a aplicação da função <i>imadjust</i>	27
Figura 11. Sequência do tratamento das imagens obtidas antes da construção das curvas de calibração. (a) Imagem da placa contendo as soluções de calibração para o modelo de alcalinidade; (b) Imagem da placa no sistema de cores binárias; (c) Uso da função <i>regionprops</i> para determinação da região de maior intensidade de cor; (d) Região delimitada da imagem $m \times n$, para o recorte seguindo as coordenadas x_1 , x_2 , y_1 e y_2 , em <i>pixels</i>	29
Figura 12. Representação de um histograma de ocorrência de cor extraído de uma imagem utilizada para determinação de alcalinidade.	30
Figura 13. Arranjo matricial de imagens RGB. (a) Formato tridimensional da imagem colorida. (b) Desdobramento da imagem de arranjo de três dimensões para o arranjo de duas dimensões.	32
Figura 14. Representação esquemática de três conjuntos de dados com diferentes arranjos matriciais, obtidos de um sistema de sinal espectral em função do tempo. (a) Conjunto de dados de ordem zero, representado por um escalar; (b) Conjunto de	

dados de primeira ordem, representado por um vetor; (c) Conjunto de dados de segunda ordem, representado por uma matriz (VALDERRAMA et al., 2009).	33
Figura 15. Mudança de coordenadas do conjunto de dados utilizados na determinação de Alcalinidade, para o centro dos eixos de dados com a aplicação do pré-processamento: (a) antes do pré-processamento; (b) dados centrados na média...	35
Figura 16. Fluxograma estrutural do funcionamento de um GA. Fonte: (YUN et al., 2014).	37
Figura 17. Fluxograma para o modelo GA-PLS: (a) demonstra como o GA seleciona as variáveis da matriz de imagens. (b) demonstra a regressão do modelo PLS.	39
Figura 18. Operação de subtração de imagens: (a) placa das amostras utilizadas para quantificação de flúor em águas potáveis; (b) placa contendo água destilada; (c) diferença absoluta entre as duas imagens e (d) complementação das cores.	40
Figura 19. Projeção ortogonal geométrica, representando a decomposição do sinal analítico y^* , onde X representa o NAS, ortogonal aos interferentes, y . Fonte: (HIGGINS et al., 2012).	44
Figura 20. Fórmula estrutural plana do azul de bromotimol. Fonte: (PUBCHEM, 2015a).	61
Figura 21. PCA das quatro leituras realizadas pelo scanner em amostras para determinação de pH.	62
Figura 22. (a) Placa de cultura contendo as amostras das 17 soluções tampões de pH entre 5,0 e 9,0, após adição de azul de bromotimol, usadas na construção do modelo PLS (colunas 10 a 12) e as 9 amostras de validação externa (colunas 5 e 6); (b) Imagens das 26 regiões selecionadas (uma para cada amostra).	62
Figura 23. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo amostras de Na_2CO_3 em HCl $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ com concentrações entre 3,7 e $49,3 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (regiões A12 a B10) empregadas na construção da curva de calibração para determinação de Alcalinidade; e amostras de validação externa (regiões A8 a A7).	66
Figura 24. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo amostras de da mistura 1:1 de CaCO_3 e MgCO_3 , com concentração entre 0,0 a $21,4 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ e 0,0 a $35,8 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, de Dureza Ca e Dureza Total, respectivamente (regiões A12 a E11) empregadas para construção da curva de calibração e amostras de validação externa (regiões A8 a A7).	67
Figura 25. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo as amostras das soluções para a análise de cloretos. As regiões, A12 a B10, referem-se às amostras,	

entre 1,9 a 5,2 mg Cl ⁻ L ⁻¹ , empregadas na calibração; as regiões, A8 a F8, referem-se às amostras da validação externa: (a) Imagens RGB; (b) Imagens após o filtro <i>imadjust</i> ; (c) Imagens HSI.	73
Figura 26. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo as amostras das soluções para a análise de fluoretos. As regiões, A12 a C11, referem-se às amostras, entre 0,2 a 1,4 mg F ⁻ L ⁻¹ empregadas na calibração; as regiões, A7 a A8, referem-se às amostras da validação externa. (a) Imagens RGB; (b) Imagens XYZ.	74
Figura 27. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo as amostras das soluções para a análise de Ferro. As regiões, A12 a C11, referem-se às amostras, entre 0,1 a 8,0 mg Fe ²⁺ L ⁻¹ , empregadas na calibração; as regiões, A8 a F8, referem-se às amostras da validação externa: (a) Imagens RGB; (b) Imagens com o filtro <i>imadjust</i> ; (c) Imagens YCbCr.....	76
Figura 28. Fluxograma de extração de um vetor de histograma de cor da solução tampão de pH 5,0.	79
Figura 29. Histogramas médios de cor das imagens digitais RGB para as 26 amostras usadas na regressão PLS, para determinação do pH.	80
Figura 30. Coeficientes da regressão PLS para determinação de pH.	81
Figura 31. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆), estimados pelo modelo para determinação de pH da água.	84
Figura 32. Gráfico dos resíduos versus os valores estimados para o modelo PLS, para determinação do pH: amostras de calibração (●) e validação (◆).	84
Figura 33. Gráfico dos valores de referência versus valores estimados para a determinação do pH – amostras de calibração (●) e validação (◆).	86
Figura 34. Gráfico dos valores de referência versus a norma do NAS para a determinação do pH – amostras de calibração (●) e validação (◆).	86
Figura 35. Histogramas dos índices de cor dos canais RGB: (a) Vetores originais; (b) Vetor nã.	88
Figura 36. Fórmula estrutural plana do azul de timol: (a) Estrutura oxidada; (b) Estrutura reduzida.	90
Figura 37. Histogramas médios de cor do sistema RGB extraídos das imagens digitais das 13 amostras usadas na determinação da Alcalinidade. (a) Histogramas com 768 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 223 variáveis selecionadas por GA (O).	91

Figura 38. Histogramas médios do sistema RGB, extraídos de imagens das 13 amostras usadas na determinação de Dureza. (a) Histogramas com 768 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 192 variáveis selecionadas por GA (O).....	92
Figura 39. Fórmula estrutural plana do indicador ErioT. (a) Estrutura não complexada; (b) Estrutura complexada com o metal M.	93
Figura 40. Coeficientes de regressão GA-PLS2 para determinação de Dureza Ca (■) e Dureza Total (■), com as 192 variáveis selecionadas pelo GA.....	93
Figura 41. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes ao volume de HCl, estimados pelo modelo, para determinação de Alcalinidade.	96
Figura 42. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes às concentrações, em mg L ⁻¹ , obtidos pelo modelo para determinação (a) da Dureza Ca e (b) da Dureza Total na água.	97
Figura 43. Valores de referência versus valores estimados de mL de HCl 0,02 mol L ⁻¹ utilizados para a determinação da Alcalinidade. Amostras de calibração (●) e validação (◆).	98
Figura 44. Valores de referência versus valores estimados para a determinação da Dureza (a) Ca; (b) Dureza Total. Amostras de calibração (●) e validação (◆).	99
Figura 45. Histogramas médios de cores dos canais RGB para determinação dos íons Cl ⁻	102
Figura 46. Histogramas médios do canal H do sistema de cor HSI: (a) Histogramas com 256 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 49 variáveis selecionadas por GA (O).....	104
Figura 47. Sistema HSI de cores. (a) Plano circular de cores, em RGB, que são estimadas ao usar (b) coordenadas angulares do canal H para formação de cores.	104
Figura 48. Reação de complexação entre Zr-SPADNS com íons F ⁻	105
Figura 49. Histogramas médios de cores dos canais RGB, extraídos das imagens destinadas à determinação de fluoreto.....	105
Figura 50. Teste de visualização de <i>pixels</i> do segmento do poço B11 da placa contendo amostras padrão. Cada quadrado representa um <i>pixel</i>	106
Figura 51. (a) Diagrama XY de tonalidades cromáticas visíveis e (b) espaço triangular <i>sRGB</i> representado como um subconjunto do espaço XY.....	107

Figura 52. Histogramas médios do sistema de cor XYZ. (a) Histogramas com 768 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 49 variáveis selecionadas por GA (O).	108
Figura 53. Reação de complexação do íon Fe(II) com 1,10-fenatrolina formando o íon complexo ferro(II)-tri (1,10-fenantrolina) de cor laranja.	109
Figura 54. Histogramas médios de cor YCbCr: (a) Histogramas com 768 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 207 variáveis selecionadas por GA (O).	110
Figura 55. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes ao volume de AgNO ₃ , estimados pelo modelo para determinação de Cloretos da água.	113
Figura 56. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes às concentrações obtidas pelo modelo de determinação de Fluoretos.	113
Figura 57. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes às concentrações obtidas pelo modelo de determinação de Ferro Total.	114
Figura 58. Gráfico dos valores de referência versus valores estimados para a determinação de Cloretos: amostras de calibração (●) e validação (◆).	115
Figura 59. Gráfico dos valores de referência versus valores estimados para determinação de Fluoretos: amostras de calibração (●) e validação (◆).	115
Figura 60. Gráfico dos valores de referência versus valores estimados para determinação de Ferro Total: amostras de calibração (●) e validação (◆).	116
Figura 61. Gráfico dos valores de referência versus a norma do NAS para a determinação de Cloretos: amostras de calibração (●) e validação (◆).	117
Figura 62. Gráfico dos valores de referência versus a norma do NAS para a determinação de Fluoretos: amostras de calibração (●) e validação (◆).	117
Figura 63. Gráfico dos valores de referência versus a norma do NAS para a determinação de Ferro Total: amostras de calibração (●) e validação (◆).	118
Figura 64. Carta de controle da estabilidade do modelo PLS para determinação de pH de águas potáveis com base no erro (%) da diferença entre os valores estimados e os valores de referência.	122
Figura 65. Carta de controle da estabilidade do modelo GA-PLS para determinação de Alcalinidade de águas potáveis com base no erro (%) da diferença entre os valores estimados e os valores de referência.	123

Figura 66. Carta de controle da estabilidade do modelo GA-PLS para determinação de Dureza Total de águas potáveis com base no erro (%) da diferença entre os valores estimados e os valores de referência.	123
---	-----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação entre a concentração dos íons HPO_4^{2-} e H_2PO_4^- , em mol L^{-1} , para o preparo de soluções na faixa de pH entre 5,0 e 9,0.	60
Tabela 2. Soluções padrão preparadas para obtenção da curva de calibração de Alcalinidade.	64
Tabela 3. Soluções padrão preparadas para obtenção das curvas de calibração para os parâmetros de Dureza Total e Dureza Ca.	65
Tabela 4. Parâmetros adotados para seleção de variáveis para o modelo GA-PLS.	67
Tabela 5. Soluções padrão preparadas para obtenção das curvas de calibração para o parâmetro Cl^-	69
Tabela 6. Soluções padrão preparadas para obtenção das curvas de calibração para o parâmetro de fluoreto.	70
Tabela 7. Soluções padrão preparadas para obtenção das curvas de calibração para o parâmetro de Ferro (II).	71
Tabela 8. Figuras de mérito estimadas para o modelo PLS de determinação de pH de águas potáveis.	83
Tabela 9. Resultados das análises de pH das amostras de calibração e de previsão. Valores de referência (RM) versus valores estimados (PLS).	85
Tabela 10. Figuras de mérito estimadas para os modelos GA-PLS e GA-PLS2 para determinações de Alcalinidade, Dureza Ca e Dureza Total de águas potáveis.	95
Tabela 11. Resultados dos parâmetros de Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Ca e Dureza Mg, em $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$. Valores de referência (RM) versus valores estimados.	100
Tabela 12. Figuras de mérito, estimadas para os modelos GA-PLS para determinação de Cloreto, Fluoreto e Ferro Total de águas potáveis, respectivamente.	112
Tabela 13. Resultados dos parâmetros de cloretos, fluoretos e ferro total, em mg L^{-1} . Valores de referência (RM) versus valores previstos (GA-PLS).	119
Tabela 14. Resultados das análises dos parâmetros pH, Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Ca, Dureza Mg, Cloretos, Fluoretos e Ferro Total, em mg L^{-1} . Valores previstos versus valores de referência.	120
Tabela 15. Níveis descritivos de testes comparativos (valor-p) dos valores de referência e os valores estimados pelos modelos PLS para amostras de águas	

coletadas em três diferentes lugares do IQ-UFG: (I) Torneira, (II) Bebedouro e (III) Fonte de água mineral.....	121
Tabela 16. Valores estimados para comparação entre os métodos PLS e os métodos convencionais adotados nesta Tese, para determinação de pH, Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Cálcio, Dureza Magnésio, Fluoreto, Cloreto e Ferro Total.	125

LISTA DE ABREVIATURAS

MMA	<i>Ministério do Meio Ambiente</i>
ANA	<i>Agência Nacional de Águas</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
SNIS	<i>Sistema Nacional de Informações sobre o Saneamento</i>
PPP	<i>Pontos por Polegadas</i>
EDS	<i>Electromechanical Drum Scanner</i>
QTM	<i>Quantitative Television Microscope</i>
ISEs	<i>Ion-Selective Electrodes</i>
FIDAC	<i>Film Input to Digital Automatic Computer</i>
RMN	<i>Ressonância Magnética Nuclear</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PCs	<i>Principal Components</i>
AAS	<i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
GC-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>
MIA	<i>Multivariate Images Analysis</i>
MIR	<i>Multivariate Image Regression</i>
CCD	<i>Charge Coupled Devices</i>
CIE	<i>Commission Internationale de l'Eclairage</i>
RGB	<i>Red, Green, Blue</i>
HSI	<i>Hue, Saturation, Intensity</i>
SECAM	<i>Séquence Electronique Couler avec Mémoire</i>
PAL	<i>Phase Alternating Line</i>
DIB	<i>Device Independent Bitmap</i>
DFT	<i>Discrete Fourier Transform</i>
IDFT	<i>Inverse Discrete Fourier Transform</i>
OSC	<i>Orthogonal Signal Correction</i>
GA	<i>Genetic Algorithm</i>
RMSECV	<i>Root Mean Square Error of Cross Validation</i>
MLR	<i>Multiple Linear Regression</i>
PCR	<i>Principal Components Regression</i>

PLS	<i>Partial Least Squares</i>
PLSDA	<i>Partial Least Squares Discriminant Analysis</i>
PARAFAC	<i>Parallel Factor Analysis</i>
N-PLS	<i>N-way Partial Least Squares</i>
MCR	<i>Multivariate Curve Resolution</i>
LVs	<i>Latent Variables</i>
FOM	<i>Figure of Merit</i>
NAS	<i>Net Analyte Signal</i>
RMSEC	<i>Root Mean Square Error of Calibration</i>
RMSEP	<i>Root Mean Squares Error of Prediction</i>
DPR	<i>Desvio Padrão Relativo</i>
HO _R	<i>Valor de HorRat</i>
DPR _H	<i>Desvio padrão relativo de Horwitz</i>
CV	<i>Coeficiente de Variação</i>
DW	<i>Teste de Durbin-Watson</i>
DPr	<i>Desvio padrão dos dados residuais</i>
DPd	<i>Desvio padrão das diferenças sucessivas</i>
SEL	<i>Seletividade</i>
SEN	<i>Sensibilidade</i>
LD	<i>Limite de detecção</i>
LQ	<i>Limite de quantificação</i>
SVD	<i>Desvio padrão para as amostras de validação</i>
DEQ/CGAL	<i>Divisão de Ensaio Químico Coordenação-Geral de Apoio Laboratorial</i>
RPD	<i>Relative Predictive Determinant</i>
RMSECV	<i>Root Mean Square Error of Cross Validation</i>
ErioT	<i>Solução de Negro de Eriocromo T</i>
SD	<i>Solução complexante para teste de dureza</i>
FAAS	<i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
OMS	<i>Organização Mundial de Saúde</i>
UV-VIS	<i>Espectrofotometria de Absorção no Ultravioleta Visível</i>
SD	<i>Solução complexante para teste de dureza</i>
VIP	<i>Variables Importance in PLS Projections</i>

iPLS	<i>Interval PLS</i>
SPA	<i>Successive Projections Algorithm</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

a	<i>Escalar</i>
\vec{a}	<i>Vetor</i>
\mathbf{A}	<i>Matriz</i>
\mathbf{Z}	<i>Imagem monocromática</i>
f	<i>Função intensidade</i>
I	<i>Iluminação de imagens</i>
r	<i>Reflectância de imagens</i>
λ	<i>Ondas Eletromagnéticas</i>
\mathbf{u}	<i>Componentes vetoriais de imagens monocromáticas</i>
\mathbf{C}	<i>Imagem Colorida</i>
Y	<i>Luminância</i>
C_b	<i>Cromaticidade do canal B</i>
C_r	<i>Cromaticidade do canal R</i>
s_z	<i>Tamanho das imagens digitais</i>
h_z	<i>Altura da imagem</i>
w_z	<i>Largura da imagem</i>
d_z	<i>Número de canais monocromáticos</i>
b_z	<i>Número de bytes por canal monocromático</i>
\mathbf{H}_z	<i>Máscara matricial de convolução</i>
\mathfrak{F}	<i>Operador de convolução de Transformada de Fourier</i>
$A(x, y)$	<i>Amplitude de imagem de dimensão x, y</i>
$\emptyset(x, y)$	<i>Fase espectral do gradiente da imagem de dimensão x, y</i>
\hat{T}	<i>Operador numérico de filtragem de domínio espacial</i>
\mathbf{BW}	<i>Imagem com cores binárias</i>
\vec{h}	<i>Histogramas de imagens</i>

$n(L)$	<i>Intensidade do brilho</i>
$n(k)$	<i>k-ésimo número de pixels da imagem</i>
L	<i>Número total de níveis de intensidade de brilho</i>
N_k	<i>Número total de pixels da imagem</i>
\bar{x}_j	<i>Média de colunas</i>
x'_{ij}	<i>Valor centrado na média</i>
X	<i>Matriz de dados independentes</i>
Y	<i>Matriz de respostas dependentes</i>
h	<i>Número de variáveis Variável Latente</i>
T	<i>Matriz de escores das variáveis independentes para o modelo PLS</i>
U	<i>Matriz de escores das variáveis dependentes para o modelo PLS</i>
P	<i>Matriz de pesos das variáveis independentes para o modelo PLS</i>
Q	<i>Matriz de pesos das variáveis dependentes para o modelo PLS</i>
E	<i>Matriz de resíduos das variáveis independentes para o modelo PLS</i>
F	<i>Matriz de resíduos das variáveis dependentes para o modelo PLS</i>
\hat{Y}	<i>Matriz de respostas previstas pelo modelo de calibração</i>
b_h	<i>Coefficientes de regressão linear, entre as matrizes T e U</i>
k	<i>Analito de interesse</i>
$\hat{X}_{h,-k}$	<i>Matriz com as espécies presentes nas amostras, exceto o analito k de interesse</i>
$\hat{y}_{h,k}$	<i>Vetor de concentrações da espécie de interesse</i>
\hat{X}_h	<i>Matriz de dados reconstruída com h LVs</i>
I	<i>Matriz inversa</i>
$\hat{x}_{k,k,i}^{nas}$	<i>Vetor nâs</i>
$\hat{x}_{h,i}$	<i>Vetor de resposta instrumental estimado com h VLs</i>
\hat{b}_{nas}	<i>Coefficiente angular da regressão linear do vetor nâs</i>
c	<i>Intercepto da regressão linear do vetor nâs</i>
n_{GL}	<i>Número de graus de liberdade</i>

p	<i>Número de amostras de validação</i>
\hat{y}_i	<i>Valores estimados</i>
y_i	<i>Valores de referência</i>
r^2	<i>Coefficiente de correlação de Pearson</i>
\hat{S}_i^{nas}	<i>Sensibilidade líquida</i>
γ	<i>Sensibilidade analítica</i>
δx	<i>Desvio padrão do sinal de referência</i>
E_{cal}	<i>Resíduos para o conjunto de calibração</i>
n_v	<i>Número de amostras de validação</i>
r_{val}^2	<i>Coefficiente de correlação do conjunto de amostras de validação</i>
a_{H^+}	<i>Valor de atividade iônica dos íons H^+</i>

1. INTRODUÇÃO

A qualidade de vida da população depende do seu acesso aos bens necessários à sua sobrevivência. Entre esses bens essenciais para a manutenção da saúde e da vida, destaca-se a água. Regulamentada no Brasil pela Lei nº 9433/97, e gerenciada pelo Sistema Nacional de Gerenciamento dos Recursos Hídricos, (BRASIL, 1997), a água é um recurso indispensável para a fauna e flora e tem extrema importância para diversas atividades industriais, agrícolas e econômicas. Esses setores consomem enormes volumes diários de água, motivando a preocupação de vários órgãos governamentais em gerenciar a continuidade do abastecimento (BRASIL, 2005a).

Organismos internacionais, nacionais de fiscalização e de controle como a Organização Mundial de Saúde e o Ministério do Meio Ambiente (MMA) (BRASIL, 2006) têm reconhecido a problemática do abastecimento público de água em termos de qualidade e quantidade, principalmente nos países em desenvolvimento devido ao crescente consumo desse recurso (WHO, 2011).

A Agência Nacional de Águas (ANA), órgão vinculado ao MMA, através do seu relatório anual (BRASIL, 2015a), mostrou que no ano de 2012, a vazão de água retirada para consumo, atingiu a marca de $2.373 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ e que esse valor tende a aumentar. O Sistema Nacional de Informações sobre o Saneamento (SNIS) divulgou um aumento próximo a 10,0% no consumo médio de água potável no Brasil, entre os anos 2009 a 2013, atingindo a marca de 166,3 litros diários por habitante (BRASIL, 2014a).

Esse crescente consumo dos recursos hídricos requer rigoroso controle na qualidade das águas. Os padrões de potabilidade, os procedimentos de controle e as ferramentas de vigilância das águas destinadas ao consumo humano são estabelecidos no Brasil, pela Portaria Nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011a).

Essa portaria define água potável, como toda água que é distribuída ou armazenada para consumo humano e que atenda aos parâmetros de qualidade estabelecidos em lei, verificados por metodologias analíticas baseadas em normas nacionais e internacionais de exatidão para determinação de parâmetros físico-químicos de qualidade da água. Além disso, essa portaria define quais características

devem ser encontradas em cursos de água, para classificação de potabilidade, condição essencial na administração, tratamento, controle sanitário e distribuição de recursos hídricos, para a população consumidora (BRASIL, 2005b).

Nessa portaria, o padrão de potabilidade é identificado através de ensaios físico-químicos e microbiológicos em amostras de águas. Esses parâmetros são estabelecidos para determinação de propriedades organolépticas e características específicas das amostras e, conseqüentemente, dos corpos de água. Os valores encontrados estão correlacionados com fatores naturais ou artificiais, que ocorrem nos corpos hídricos, bacias de drenagem ou, até mesmo, na distribuição e no armazenamento da água e seus resultados são comparados com limites ideais para consumo (APHA-AWWA-WEF, 2005a).

As execuções desses ensaios seguem normativas nacionais (BRASIL, 2015b) e internacionais (APHA-AWWA-WEF, 2005a), e exigem equipamentos e condições específicas, o que dificulta a aplicação desses ensaios químicos em campo, ao ar livre, e até mesmo, próximo ao local de coleta. Isso obriga o deslocamento das amostras para laboratórios específicos que, conseqüentemente, aumentam custos dessas análises, devido às etapas de coleta, estocagem e transporte. Essas etapas tornam diversos ensaios químicos de potabilidade, pouco acessíveis por parte da população mais carente que não consta com centros analíticos perto de suas residências ou que não disponham de tratamento de água (PENATTI et al., 2008).

Além disso, vários métodos convencionais de análise de potabilidade, por utilizarem grandes volumes de amostras e de reagentes, produzem considerável quantidade de resíduos que devem ser gerenciadas no processo de descarte, tratamento ou reaproveitamento de maneira adequada. Esse gerenciamento é necessário para evitar problemas de contaminação e inviabilização de corpos de água, devido à agentes químicos que são despejados em descargas de esgoto de laboratórios empresariais ou, até mesmo, de laboratórios acadêmicos de treinamento (MARINHO et al., 2011; FERREIRA et al., 2014).

Na tentativa de amenizar essas condições, novas tecnologias e metodologias de análise, controle e monitoramento de corpos de água estão sendo desenvolvidas (MAYERHOFF, 2007). Como exemplo, pode-se citar a Potenciometria com Eletrodos de Íons Seletivos (ISEs – *Ion-Selective Electrodes*) (SAURINA et al., 2002); Espectroscopia de Absorção Atômica (AAS - *Atomic Absorption Spectrometry*) (AMORIM et al., 2008); Cromatografia Gasosa hifenada a Espectroscopia de Massa

(GC-MS - *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) (TSIKAS; JURGENS, 2010) e; destaca-se, a Análise Multivariada de Imagens (MIA – *Multivariate Images Analysis*) (MOLINERO et al., 2013).

A MIA, utiliza imagens bi ou tridimensionais de amostras como sinal analítico, para identificar padrões ou características específicas de um objeto. Essas características podem ser associadas aos métodos de calibração multivariada (LIED; ESBENSEN, 2001), e podem ser adaptadas para análise e controle qualidade de águas potáveis. Essa associação, chamada de Regressão Multivariada de Imagens (MIR - *Multivariate Image Regression*), proporciona métodos rápidos, de fácil locomoção, de baixo custo e gerando muito menos resíduos quando comparada à vários métodos convencionais.

As características obtidas com os métodos MIR são importantes para o desenvolvimento e monitoramento de sistemas de distribuição de águas, principalmente para consumidores que estejam afastados de grandes centros urbanos e que não tenham contato com o fornecimento público de água potável. Esses consumidores dispõem de poços artesianos, rios, lagos, dentre outras formas para captar e consumir água e, em muitos casos, sem o controle específico realizado com testes analíticos (TUCCI, 2008). As análises realizadas com imagens multivariadas, proporcionam que esses testes possam ser realizados no local de coleta e monitoradas constantemente sem a necessidade do deslocamento de amostras para laboratórios especializados.

Utilizando MIR, como metodologia principal e, as características de locomoção e de acessibilidade econômica para aplicação dessa técnica no controle de potabilidade, como justificativa de estudo, esta Tese propõem o desenvolvimento e validação de novos métodos de análise físico-química de águas potáveis, com ênfase na determinação analítica dos parâmetros físico-químico de pH, Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Cálcio, Dureza Magnésio, Cloreto, Fluoreto e Ferro Total, utilizando como sinal analítico, imagens das amostras obtidas por um *scanner* de mesa.

Objetivos

2. OBJETIVO

- Desenvolver métodos de análises de águas potáveis que correlacionem a ocorrência de *pixels* de cores de imagens digitais com a concentração de analitos presentes nas amostras de água.

2.1. Metas

- Construir modelos de Calibração Multivariada para determinação quantitativa dos parâmetros físico-químicos:

- pH;
- Alcalinidade;
- Dureza Total;
- Dureza Cálcio;
- Dureza Magnésio;
- Cloreto;
- Fluoreto;
- Ferro Total

- Validar os modelos construídos através de Figuras de Méritos de validação analítica para modelos multivariados.

Revisão

Bibliográfica

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O desenvolvimento humano, ao longo do tempo foi, e ainda é, marcado pela utilização de imagens como uma das principais maneiras de comunicação e expressão. Essa forma de registro foi realizada, ao longo da história, por meio de várias técnicas e com a utilização de diversos objetos tais como madeira, pedra, argila, osso, couro, metais, papéis, entre outros (RODRIGUES, 2007)

Desde a pré-história, como forma de se comunicar e registrar suas atividades, muitos povos desenhavam seu cotidiano nas paredes de cavernas sendo possível, mesmo após milhares de anos, a compreensão de fatos diários de épocas passadas (RAMOS, 2007).

Além dos registros das expressões e dos fatos históricos, as imagens são importantes recursos para divulgação de ideias científicas. São indiscutíveis ferramentas de visualização e conceptualização de fenômenos em diversos textos científicos (MARTINS, 2005).

Nessa temática, as imagens digitais têm sido utilizadas como fonte de dados para métodos de investigação científica desde meados do século XX. Inicialmente, eram utilizadas apenas como ferramentas de representação científica e, com a evolução de técnicas computacionais de investigação, passaram a ser utilizadas como instrumentos para registro para análises instrumentais, proporcionando avanços expressivos nas áreas de sensoriamento remoto, geologia, agricultura, biologia, medicina, entre outras (GELADI, P. et al., 1992).

Exemplos da evolução do uso de imagens como método científico, são encontrados na literatura. Em 1930, Thompson e Glagolev estabeleceram aproximações matemáticas entre frações da área, volume e densidade de amostras rochosas, utilizando imagens retiradas desses objetos, desenvolvendo a relação PPP (contagem de Pontos por Polegadas). Essas aproximações foram utilizadas para dimensionamento de objetos contidos nessas figuras (ROYET, 1991; HYKSOVA et al., 2012).

Um dos primeiros trabalhos com o uso de imagens como ferramenta de análise, descreve a utilização de cenas de alta resolução obtidas de detectores de

cintilação nuclear para visualização de rastros de partículas carregadas (CONDON, 1960).

Avanços no ramo de análise de imagens foram verificados na área de estrutura de materiais, com a construção dos primeiros analisadores baseados em microscopia de imagem. Utilizando uma câmera de televisão, adaptada com um scanner rudimentar chamado de EDS (*Electromechanical Drum Scanner*) como dispositivo de entrada, esses equipamentos, chamados de QTM (*Quantitative Television Microscope*), produziam como resposta instrumental, imagens binárias utilizadas para padronização, dimensionamento ou visualização estrutural de materiais (RASBERRY, 1985; TÓTH et al., 1992).

Um dos primeiros trabalhos utilizando imagens digitais, com finalidades analíticas quantitativas, foi publicado em 1964, e empregou scanners EDS para obtenção de fotomicrografias sequenciais de estruturas de células nervosas e fibras musculares. Nessa publicação, os scanners foram adaptados para gerar filmes das amostras. Nesses novos dispositivos, chamados agora de FIDAC (*Film Input to Digital Automatic Computer*), as imagens geradas eram enviadas para microprocessadores que analisaram quantitativamente os dados, com a finalidade de realizar agrupamentos dos objetos registrados (LEDLEY, 1964).

A aceitação de trabalhos em que empregavam automatização na análise quantitativa de imagens se mostrou bem-sucedida no final da década de 60, durante toda década de 70 e início da década de 80. A utilização de instrumentos de captação automatizada de imagens mais flexíveis e com melhores resoluções se tornou mais acessível. Nesse período, há os primeiros relatos de processamentos matemáticos realizados, diretamente nas imagens como dilatações de *pixels* e delimitação de contornos. Destacam-se relatos em pesquisas nas áreas nuclear (SCHMEISSER; HARSDORFF, 1972), farmacêutica (FRICKE et al., 1978), geológica (SCHOONDERBEEK et al., 1983), médica (MILLER, 1981) entre outros.

Com o maior acesso aos instrumentos automatizados de captura de imagens e com o desenvolvimento de várias técnicas de processamento, aumentou, também, o número de informações. Entre as décadas de 70 e 80, métodos de extração de informações de imagens digitais mais eficientes começaram a ser publicados. Esses métodos empregavam técnicas de estatística multivariada utilizando *pixels* de imagens monocromáticas como conjunto de variáveis, para enfatizar detalhes nas imagens (BILLINGSLEY, 1973).

Dentre esses métodos, destaca-se o uso de histogramas de brilho de imagens monocromáticas. Esses histogramas permitiram uma visão global dos detalhes que formavam as imagens, além de possibilitarem a confecção de vetores de dados que são extremamente importantes para análise multivariada (HOLMQUIST et al., 1975; RISEMAN; ARBIB, 1977).

Em 1986, Geladi e colaboradores publicaram o primeiro trabalho utilizando métodos quimiométricos para análise de imagens. Nesse trabalho, Análise de Componentes Principais (PCA – *Principal Component Analysis*) foi aplicada em histogramas extraídos de imagens digitalizadas (GELADI et al., 1986). O trabalho de Geladi e colaboradores pode ser considerado como o marco inicial do uso de Quimiometria como ferramenta de análise de imagens digitais, considerando-as como sinais analíticos no estudo de propriedades químicas.

Publicações no início da década de 90 relacionaram dados de imagens com métodos de regressão multivariada. Duas publicações se destacam. A primeira foi o trabalho Geladi e colaboradores, que apresentou estratégias para aplicação de métodos de calibração multivariada como Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS - *Partial Least Squares*), Regressão por Componentes Principais (PCR - *Principal Components Regression*) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais Discriminantes (PLSDA - *Partial Least Squares Discriminant Analysis*) em imagens de tomografias de fibras musculares e células nervosas (GELADI, P. L. et al., 1992). Na segunda publicação, Grahn, utilizou Regressão Linear Múltipla (MLR - *Multiple Linear Regression*) em imagem de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de paciente com tumores no cérebro (GRAHN; SÄÄF, 1992).

Em ambas as publicações os autores utilizaram como matrizes independentes as informações retiradas de imagens binárias através da técnica de Volume Seletivo. Nessa técnica, regiões específicas são recortadas das imagens originais. Desses recortes, são obtidas variáveis com maior significância estatística. Assim, no trabalho de Geladi, o conjunto de variáveis independentes foi criado através da junção das Componentes Principais (PCs - *Principal Components*) de maior variância obtidas da PCA dos recortes. No trabalho de Grahn, foram realizadas extrações de histogramas de frequência de imagens de RMN, que foram utilizadas para construção da matriz de dados independentes.

Métodos de segmentação e extração de informações de imagens multivariadas, semelhantes ao aplicado por Grahn, foram publicados por Lied e

colaboradores no ano de 2000 utilizando porém, imagens coloridas, de sistema RGB e com aplicação de regressão PLS para correlação dos dados (LIED et al., 2000).

O crescente emprego de imagens digitais em Química acompanha o desenvolvimento tecnológico das últimas décadas. Esse desenvolvimento permitiu um melhor gerenciamento de grandes volumes de dados gerados em análises quantitativas e qualitativas (GELADI et al., 1989) como nas Microscopia Ótica e de Força Atômica (COOKE, 1992; ALESSANDRINI; FACCI, 2005), e na Espectroscopia de Imagens (BURGER; GELADI, 2006), entre outras.

No Brasil, destaca-se entre os primeiros relatos, o trabalho de Godinho e colaboradores, publicado em 2008, que utilizaram imagens digitalizadas como técnica qualitativa na classificação de refrigerantes (GODINHO et al., 2008).

Nos últimos anos, foram publicados, vários trabalhos que empregaram imagens digitais como fontes de dados analíticos, utilizando diversos instrumentos de captura de imagens digitais que possuem dispositivos de CCD, como celulares, webcams, scanners de mesa ou portáteis e câmeras digitais (GODINHO et al., 2010; FOCA et al., 2011; DOEVEN et al., 2015). Essa metodologia vêm sendo aplicada em diversas áreas da Química como, por exemplo, na indústria (DUCHESNE et al., 2012), no controle de alimentos (IQBAL; BJORKLUND, 2011), na química do solo (EMAMGOLIZADEH et al., 2015), na atividade molecular de compostos orgânicos (SARKHOSH et al., 2014), entre outras.

Alguns trabalhos encontrados na literatura utilizaram imagens multivariadas para o estudo da potabilidade da água como, por exemplo, na determinação de pH (DAMASCENO et al., 2015), de dureza de íons Ca (II) (MOLINERO et al., 2013), no desenvolvimento de técnicas de filtração (SUN et al., 2011) e quantificação microbiológica de bactérias na água (QADIRI et al., 2006).

Metodologia

4. METODOLOGIA

4.1. IMAGENS

A utilização de imagens como método de investigação científica, parte do seu conceito mais básico. Na literatura, a definição de uma imagem é a reprodução real de alguma coisa ou objeto. Para fins científicos, a obtenção de imagens sempre terá o propósito de expressar alguma propriedade ou característica de um objeto de interesse (GELADI; GRAHN, 1997).

Essas características são apresentadas matematicamente na Figura 1, página 13, como arranjos numéricos, cujas coordenadas dimensionais, são representadas pela eq. (1), para imagens em 2D ou monocromática, \mathbf{Z} ,

$$\mathbf{Z} = f(x, y) \quad (1)$$

ou e pela eq.(2), para imagens \mathbf{Z}^n , em 3D,

$$\mathbf{Z}^n = f(x, y, z) \quad (2)$$

onde, f , define a função intensidade, eq. (3), proporcional à iluminação I , e à reflectância r , da imagem em qualquer ponto (x, y, z) e n , representa o número de imagens monocromáticas combinadas na formação da imagem 3D (GONZALEZ et al., 2009).

$$f(x, y) = I(x, y, z)r(x, y, z) \quad (3)$$

Essas funções representam as imagens quando escritas matematicamente de forma discreta, demonstrando a visualização do olho humano, formada pela intensidade proporcional do brilho, formado por ondas eletromagnéticas (λ).

Para que essas imagens sejam arquivadas e manipuladas por computadores, é necessário que a característica contínua dessas ondas

eletromagnéticas sejam delimitadas de maneira representativa e mapeada em *bits*, através da digitalização da imagem (NIXON; AGUADO, 2008; GODINHO, 2014).

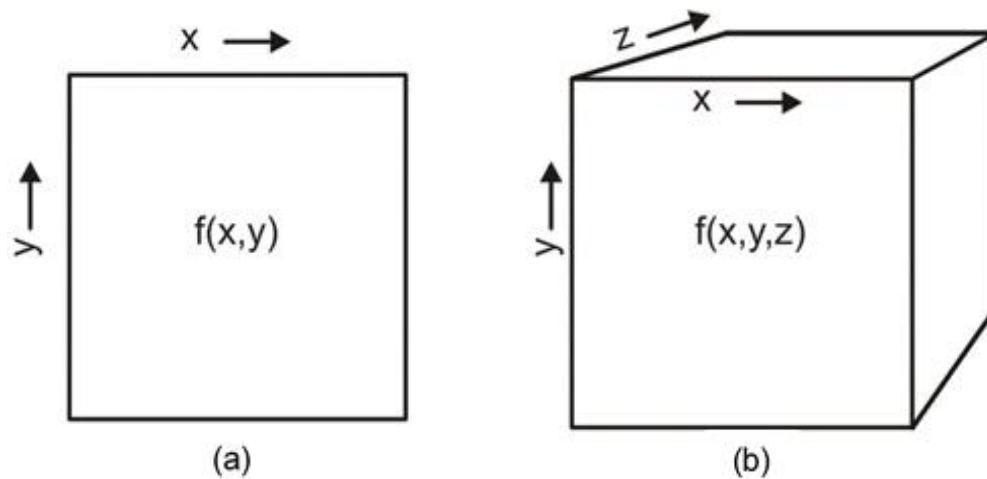


Figura 1. Representação dimensional de (a) imagem 2D e (b) imagem 3D.

O processo de digitalização é realizado por aparelhos que possuem sensores sensíveis às mudanças nas ondas eletromagnéticas emitidas dos objetos em análise. Esses sensores são chamados de Dispositivos de Cargas Acopladas (CCD - *Charge Coupled Devices*), que capturam uma imagem convertendo-a em uma imagem digital. Essa imagem digital é formada por estruturas quadriculadas chamadas de *pixels*, que tem a função de caracterizar os valores de intensidade de brilho específico para cada tipo de imagem (RUSS, 2000).

A formação das imagens digitais está correlacionada com a organização dos *pixels*. Esses podem formar arranjos bi ou tridimensionais. Os arranjos bidimensionais são caracterizados por coordenadas espaciais que formam imagens monocromáticas como, por exemplo, as imagens em escala em tons de cinza, e são classificadas como imagens univariadas (GONZALEZ et al., 2009).

As imagens coloridas possuem arranjos tridimensionais, construídas por combinações de imagens monocromáticas, e são classificadas como imagens multivariadas, cujas informações dependem da cor do objeto de interesse (PRATS-MONTALBÁN et al., 2011).

Computacionalmente, após a digitalização, as informações das imagens adquirem natureza discreta e podem ser tratadas como funções vetoriais, formadas geralmente por três componentes monocromáticas, delimitadas por um espaço de cor.

Por exemplo, a imagem digital colorida, \mathbf{C} , tem a sua cor formada pela combinação dos componentes vetoriais de imagens monocromáticas, \mathbf{u}_1 , \mathbf{u}_2 e \mathbf{u}_3 , para um dado *pixel* de dimensões (i, j) , representado por

$$\mathbf{C} = (\mathbf{u}_1(i, j), \mathbf{u}_2(i, j), \mathbf{u}_3(i, j))^T \quad (4)$$

onde, $0 \leq \mathbf{u} \leq 255$, detém valores integrais de cor delimitados no intervalo não negativo de níveis de cinza (KOSCHAN; ABIDI, 2008).

4.2. CORES DAS IMAGENS

Uma das características mais importantes das imagens coloridas, a cor, pode ser definida como a percepção humana à combinação de dois ou mais comprimentos de onda do espectro eletromagnético na região da luz visível, que incidem em uma superfície (ATKINS; JONES, 2006; RICCIO et al., 2011).

Essa combinação pode ocorrer de duas maneiras: A primeira, forma cores através de *Misturas Aditivas*, quando ocorre a soma de raios de luz com diferentes comprimentos onda.

Já a segunda, forma cores com *Misturas Subtrativas*, quando a luz refletida é proveniente das propriedades de absorção de luz dos materiais. Este é o caso, por exemplo, quando filtros, que absorvem a radiação luminosa em um determinado comprimento de onda, são iluminados por um feixe de luz específico. A Figura 2, página 15, ilustra a diferença entre misturas *aditivas* e *subtrativas* (KOSCHAN; ABIDI, 2008).

Existem diferentes representações para essas combinações e podem ser visualizadas através de sistemas ou espaços de cores. Esses sistemas contêm as combinações que formam canais monocromáticos, que juntos, formam as cores dos *pixels*. Esses espaços de cores, contêm valores de coordenadas numéricas das variações de tonalidades desses *pixels*. A diferença de cor entre duas imagens é calculada pela distância euclidiana entre essas coordenadas e os resultados desses cálculos são equivalentes à diferenciação das cores pela percepção humana.

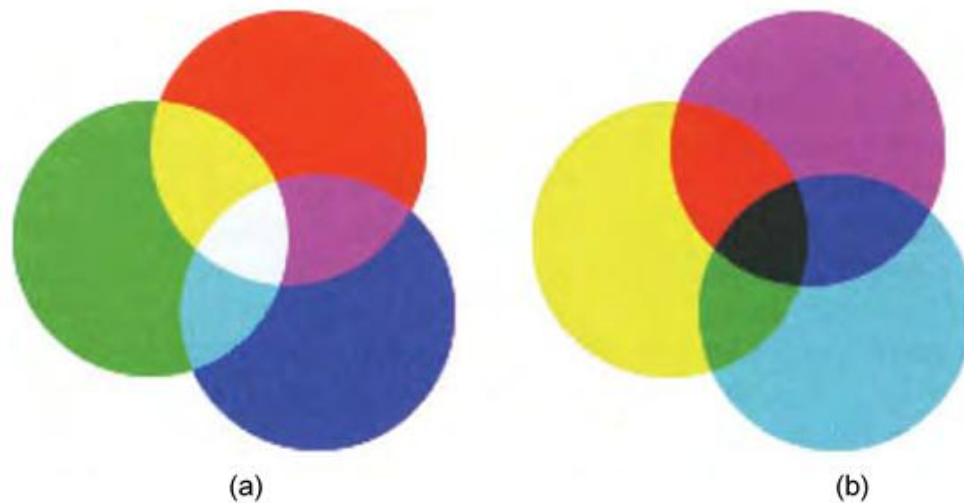


Figura 2. Combinação de feixes de luz, na formação da cor perceptível: (a) Mistura Aditiva; (b) Mistura Subtrativa.

Utilizando esse critério, para obtenção de diferentes tonalidades de cores, a Comissão Internacional de Iluminação (CIE - *Commission Internationale de l'Eclairage*), estabeleceu na década de 30, padronizações de sistemas de cores (PASCALE, 2003). O sistema mais conhecido é o RGB (*Red, Green, Blue*) utilizado em monitores, TV, câmeras, etc.

A partir do sistema RGB, pode-se obter outros canais de cores através de transformações não lineares (GONZALEZ et al., 2009). Nesta Tese, serão discutidos, além do sistema RGB, os sistemas HSI, XYZ e YCbCr.

4.2.1. Sistema RGB

O sistema RGB é o espaço de cores mais utilizado na área de computação gráfica com ênfase em processamento de imagens digitais. A cor nesse sistema é composta por um tripleto de valores numéricos inteiros entre 0 e 255, referentes às coordenadas dos canais monocromáticos R, G e B (*Red, Green e Blue*) (CHENG et al., 2001). Geometricamente, os canais citados podem ser visualizados em um cubo tridimensional, Figura 3, onde os eixos representam as coordenadas de cada cor primária.

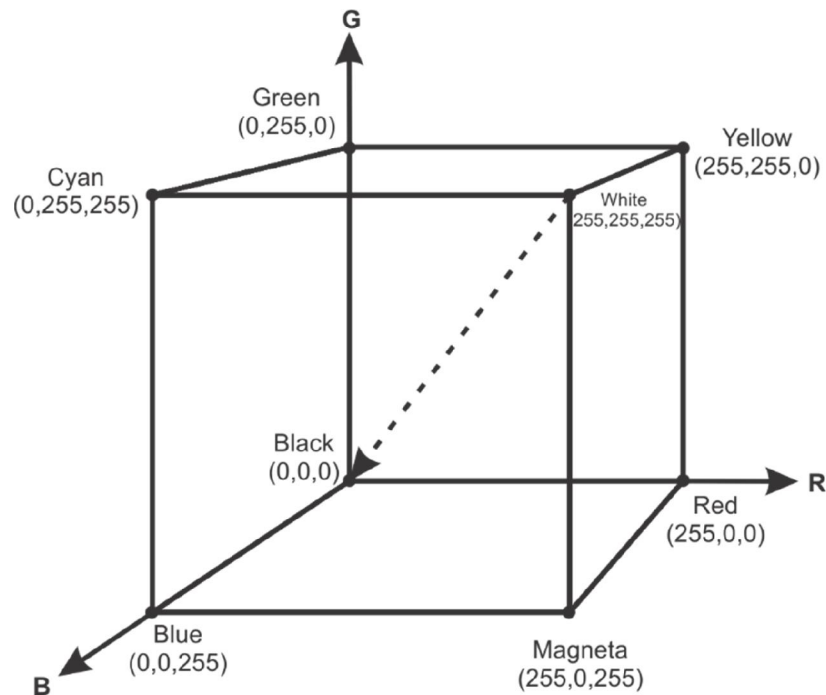


Figura 3. Cubo tridimensional representativo do espaço de cores RGB e da escala de cinza.

Dessa forma, cada ponto no cubo representa uma cor em particular, criada com a combinação das coordenadas dos três canais monocromáticos, formando *pixels* de uma imagem colorida, Figura 4. Quando essas coordenadas possuem valores iguais, elas formam a escala de cinza, representada pela diagonal do cubo da Figura 3.

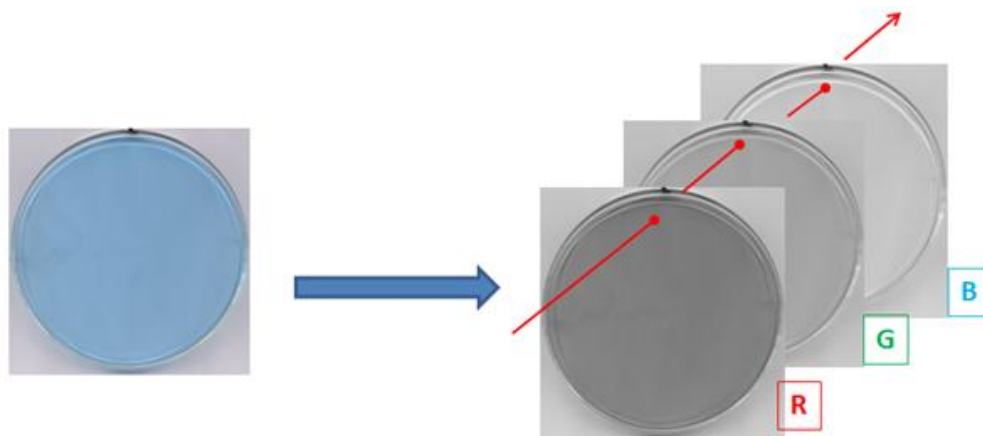


Figura 4. Decomposição da imagem RGB nos canais R, G e B. Cada canal representa a variação monocromática da cor em escala de cinza.

4.2.2. Sistema HSI

No espaço RGB, os canais R, G e B são altamente correlacionados. Como consequência, modificações na tonalidade e na intensidade das cores dependem da mudança das coordenadas dos três canais de cores monocromáticas, proporcionando complicações na diferenciação de alguns tons de cores, como por exemplo, os tons formados pela diferença de iluminação do objeto, no momento da captura da imagem digital (CARRON; LAMBERT, 1994).

Já no sistema HSI (*Hue, Saturation, Intensity*) é possível separar os canais monocromáticos em Matiz (*Hue*), que define a componente de cor; Saturação (*Saturation*), que define a pureza da cor, ou se a mesma está misturada com outra cor complementar; e Intensidade (*Intensity*), da cor de uma imagem que define a quantidade de luz na imagem. O emprego desses novos canais na formação da cor, tem como objetivo aproximar tons das imagens digitais de outros tons coloridos percebidos pela sensibilidade do olho humano. Esse sistema de cor é frequentemente utilizado em técnicas de visão artificial, baseados no modelo de percepção humano, como por exemplo, os processos de automatização de separação de produtos por diferença de coloração (FILHO; NETO, 1999).

A conversão do sistema RGB em HSI é obtida pelas equações (5), (6) e (7) (TANG; TIAN; STEWARD, 2000).

$$H = \cos^{-1} \left\{ \frac{\frac{(R - G) + (R - B)}{2}}{[(R - G)^2 + (R - B)(G - B)]^{1/2}} \right\} \quad (5)$$

$$I = \frac{(R + G + B)}{3} \quad (6)$$

$$S = 1 - \frac{\min(R, G, B)}{I} \quad (7)$$

Geometricamente, o sistema HSI pode ser observado como um arranjo bicônico, Figura 5(a), cujos cortes transversais produzem triângulos, Figura 5(b). Nos vértices dessa figura, contêm as cores primárias e, no centro, à combinação proporcional das mesmas, respectivamente, formando cores em tons de cinza, que

ficam mais claras ao ponto que os recortes sejam realizados mais próximos da extremidade superior da Figura 5(a) (FILHO; NETO, 1999).

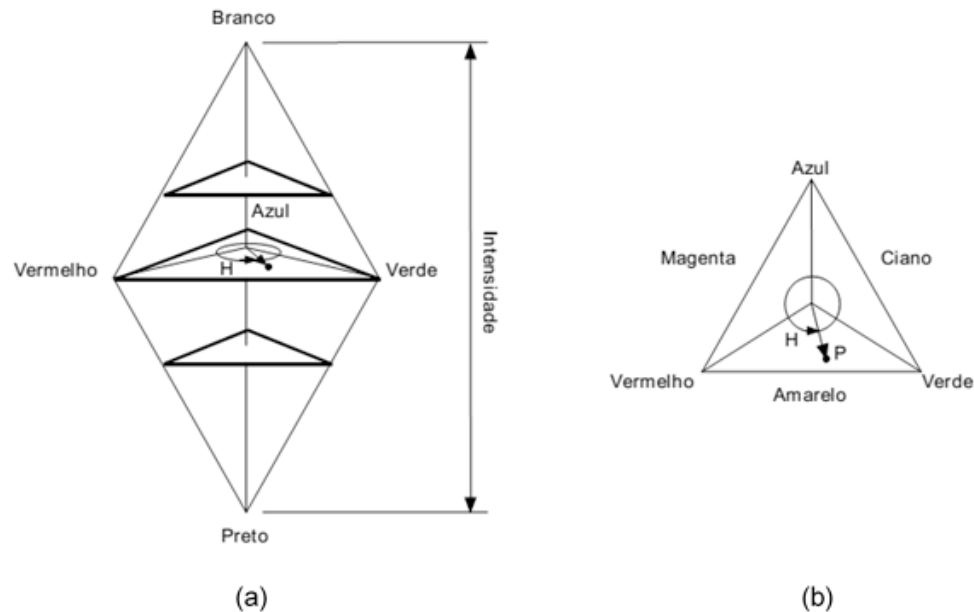


Figura 5. Representação das coordenadas do sistema HSI: (a) formato bicônico; (b) corte horizontal.

Na Figura 5(a), a componente Matiz é obtida pelos valores angulares que variam de 0 a 360°. A Saturação é dada pela distância radial a partir do centro do círculo dessa figura, e a Intensidade é representada pela linha axial no centro do círculo que forma os vários tons de cinza (PAULSSON; STOCKLASSA, 1999).

4.2.3. Sistema XYZ

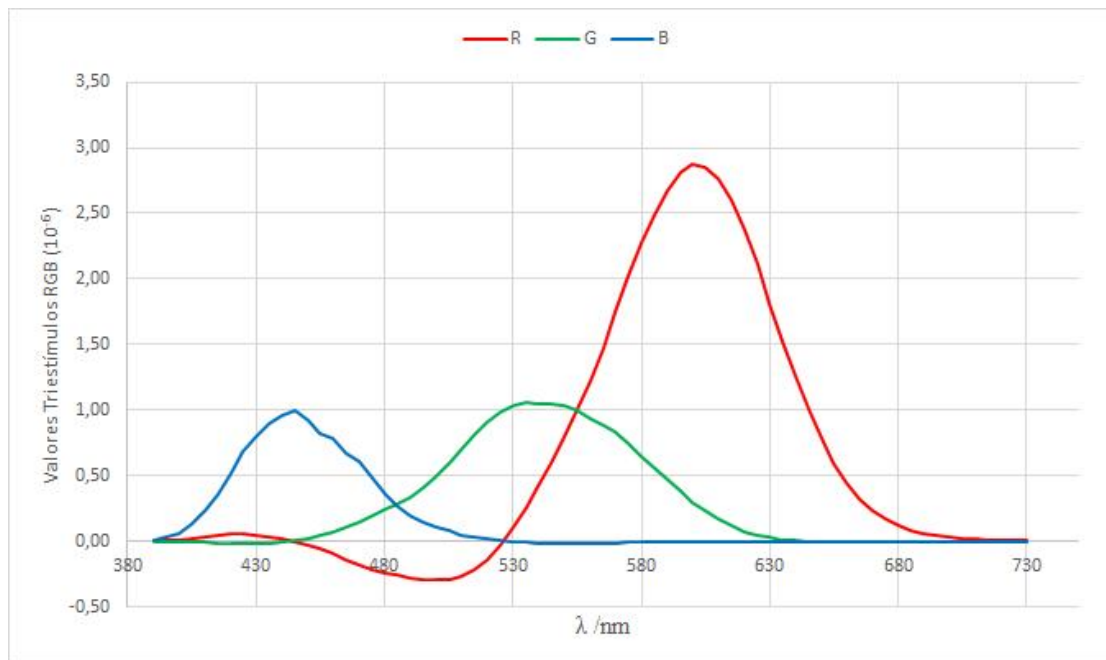
O sistema de cor XYZ foi desenvolvido pela CIE, como uma alternativa ao sistema RGB. Essa opção foi criada para aprimorar a reprodução das cores primárias vermelho, verde e azul que são produzidas por raios catódicos em monitores e televisores. Ao utilizar esses aparelhos, testes experimentais demonstraram a necessidade de ajustes na proporção dos brilhos dos canais dessas cores. Ao aplicar esses ajustes, foram identificados comprimentos de onda com valores negativos nas cores vermelho e verde, Figura 6a, impossibilitando a reprodução de variação de tonalidades de cores na região da luz visível (PESCE; WILEY, 2007; MARQUES, 2011).

Para obter variação na tonalidade de cores após ajustes nos brilhos, a CIE adaptou, em 1931, correções desses valores negativos, inicialmente para os valores negativos. Dessa forma, novas observações foram obtidas, baseadas nas respostas médias das cores, interpretadas pela visão humana.

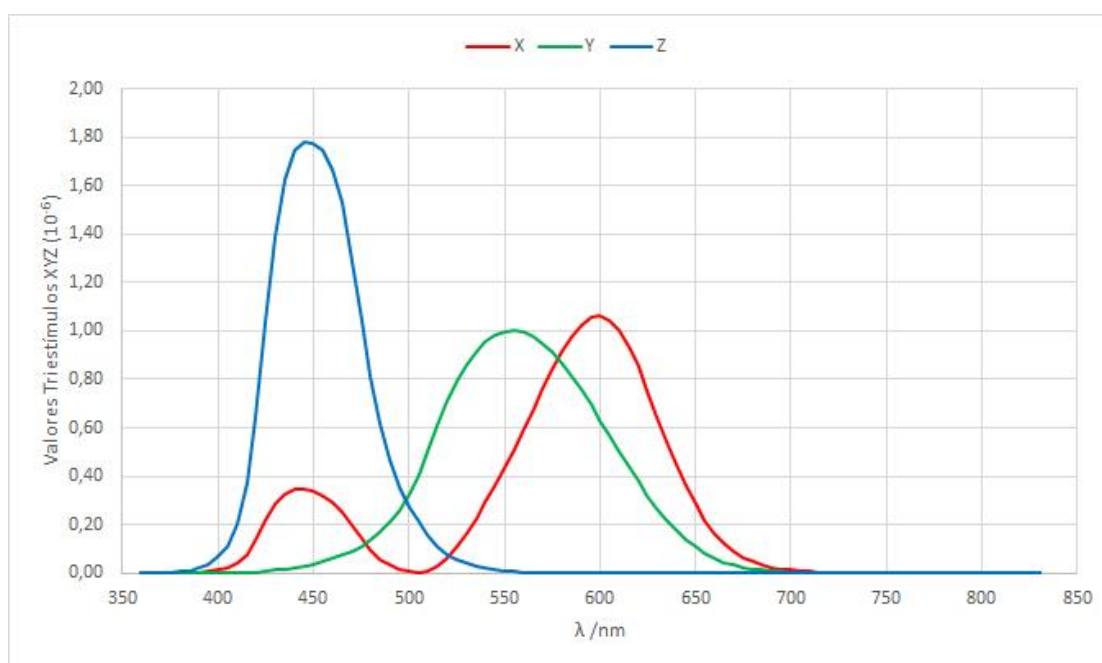
Essas novas observações foram possíveis, ao ponderar os comprimentos de onda das cores primárias R, G e B, com estímulos visuais. A Figura 6b, apresenta os valores dos estímulos, utilizados por cada um dos novos comprimentos de onda. Os novos canais R, G e B ponderados, convencionalmente chamados de canais XYZ, são utilizados para formação de qualquer cor específica que necessite de correção do brilho (MARQUES, 2011).

A relação entre os sistemas de cores RGB e XYZ é dada pela eq. (8), onde os canais X, Y e Z, são obtidos dos canais R, G e B após transformações lineares.

$$\begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0,431 & 0,342 & 0,178 \\ 0,222 & 0,707 & 0,071 \\ 0,020 & 0,130 & 0,939 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} \quad (8)$$



(a)



(b)

Figura 6. Funções de onda: (a) valores para RGB; (b) Valores para XYZ.

Matematicamente, após transformações lineares, o espaço XYZ pode ser considerado como uma tradução linear do sistema RGB de cores, Figura 7.

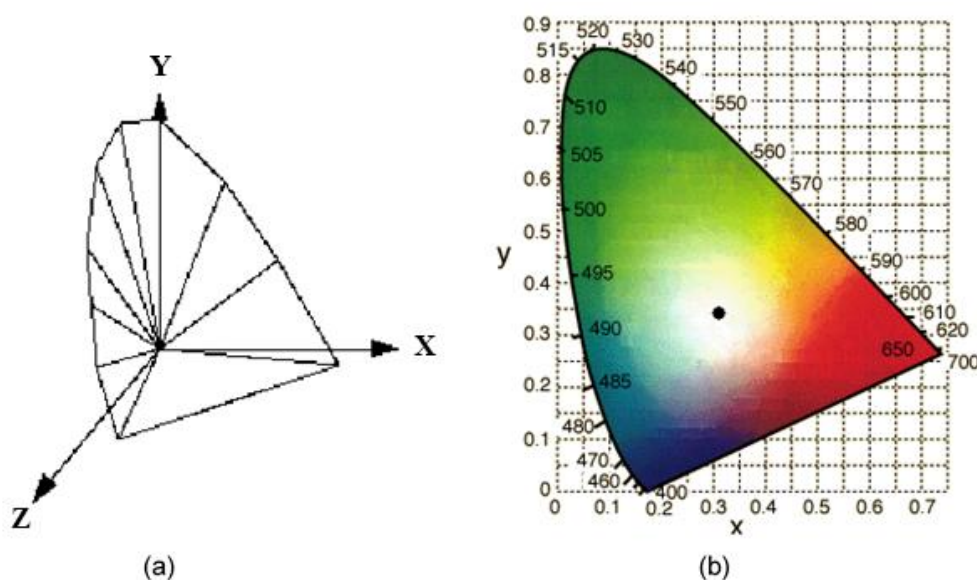


Figura 7. Representação das coordenadas: (a) do sistema XYZ; (b) localização das cores RGB com as coordenadas XYZ (ELECTRONICS-BASE, 2015).

O espaço XYZ é sensível a três situações: à direção de visualização; da orientação da superfície dos objetos em relação à luz local; e da intensidade da iluminação do objeto (ROSSEL et al., 2006).

4.2.4. Sistema YCbCr

O espaço de cor YCbCr tem sido amplamente utilizado em vídeos digitais como resposta para o aumento da demanda de algoritmos de alta definição para resolução das imagens digitais (KAKUMANU et al., 2007).

Utilizado pelos sistemas SECAM (*Séquence Electronique Couler avec Mémoire*) e PAL (*Phase Alternating Line*), esse modelo baseia-se na separação dos sinais do canal RGB em um sinal de luminosidade ou luminância (Y). Esse sinal, é calculado pela soma ponderada dos valores dos canais R, G e B, eq. (9). O canal de cromaticidade do canal R (Cr) e o canal de cromaticidade do canal B (Cb), são obtidos pela subtração dos valores dos canais R e B pela luminância (Y) respectivamente, eq. (10) e eq. (11) (LOPES, 2003a; VEZHNEVETS, 2003).

$$Y = 0,299R + 0,587G + 0,114B \quad (9)$$

$$Cr = R - Y \quad (10)$$

$$Cb = B - Y \quad (11)$$

Diferentemente do sistema RGB, o canal Y é independente, enquanto os canais Cb e Cr são dependentes de Y, reduzindo a redundância entre os canais R, G e B. Essa redução da redundância torna a representação da cor mais eficiente para processamentos de imagens digitais (KAUR; KRANTHI, 2012). A Figura 8, mostra que as cores RGB, ocupam parte do espaço YCbCr, possibilitando outras variações de tonalidades, inexistentes nas combinações das cores primárias vermelho, verde e azul.

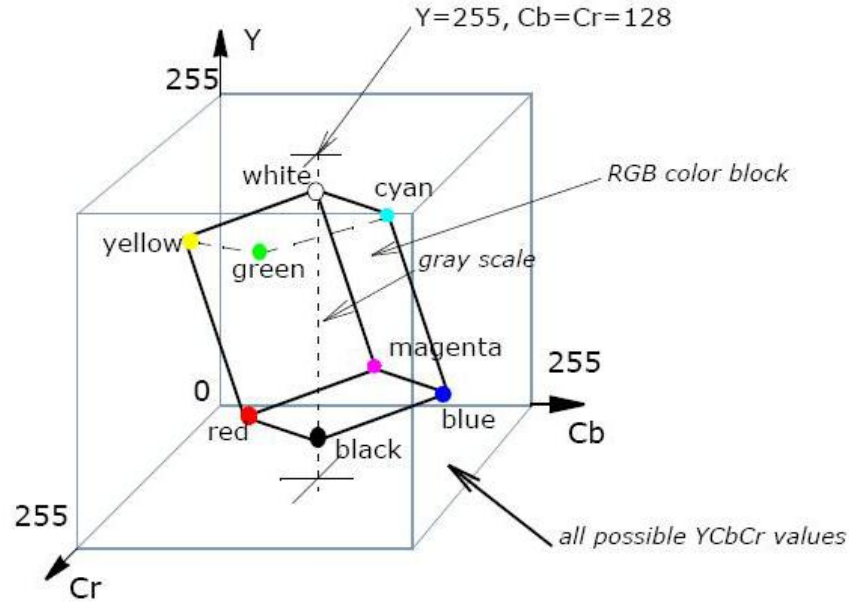


Figura 8. Cubo cor RGB, inserido no espaço de cor YCbCr (INTEL, 2015).

4.3. ARMAZENAMENTO E FORMATO DE IMAGENS

Uma vez capturada, a imagem pode ser armazenada no computador como uma sequência ou mapa de *bits* (Bitmap). Cada componente é representado por dimensões retangulares e delimitado por *bits* de informações, geralmente com valores iguais a 8. Considerando o conjunto de cores formado pelos canais monocromáticos RGB, tem-se 2^8 ou 256 possibilidades de tonalidades monocromáticas para cada canal, que forma o espaço cúbico da Figura 3, página 16. Com os três canais, pode-se obter aproximadamente, 16 milhões de cores possíveis ($2^8 \times 2^8 \times 2^8 = 2^{24}$). Cada pixel colorido, ocupa 24 *bits* ou 1 *byte* de espaço de armazenamento (ALLEN; TRIANTAPHILLIDOU, 2011).

Considerando as dimensões da imagem, o espaço de cor e o número de *bytes*, o tamanho das imagens digitais, s_Z , pode ser obtido pela eq. (12)

$$s_Z = h_Z \cdot w_Z \cdot d_Z \cdot b_Z \quad (12)$$

onde, h_Z , w_Z e b_Z , são altura, largura o número de *bytes* da imagem monocromática Z , respectivamente; d_Z é o número de canais monocromáticos em caso de imagens

coloridas. Quando a imagem for univariada, o valor de d_Z será igual a um (SCURI, 2002).

Essas informações são armazenadas em arquivos matriciais codificados em dimensões binárias passíveis de serem transmitidas e processadas. Essas codificações são estruturadas de acordo com o formato do arquivo de imagem (LOPES, 2003b).

Dentre os vários tipos de formatos de imagens, destaca-se o formato DIB (*Device Independent Bitmap*), devido à possibilidade do armazenamento sem haver a compressão dos *pixels*, mantendo assim, toda a informação capturada pela imagem (GODINHO, 2014).

O formato DIB, também designado como imagem BMP, é um formato padrão de armazenamento suportado por todas as variantes do sistema Windows. O formato DIB, descreve as cores de forma independente de como a imagem é projetada por dispositivos e monitores (LOPES, 2003b). Logo, com esse formato, é possível descrever a mesma imagem, em cores com 1, 4, 8 ou 24 bits por *pixel*, formando assim, imagens com 2, 16, 256 possibilidades de cores, respectivamente.

4.4. ANÁLISE DE IMAGENS

O termo Análise Multivariada de Imagens é a designação dada ao conjunto de técnicas matemáticas aplicadas em matrizes de imagens, com o objetivo de extrair e correlacionar os dados contidos nos *pixels* com informações de interesse (GELADI; GRAHN, 1997). Essas técnicas fazem parte de um campo mais amplo de atuação, conhecido como Visão Computacional, que consiste na extração de informações qualitativas e quantitativas, a partir de imagens obtidas por câmeras de vídeo, sensores, scanners, entre outros dispositivos (BALLARD; BROWN, 1982; GRIMSON, 1993; CAPITÁN-VALLVEY et al., 2015)

Essas informações são obtidas por métodos de Processamento de Imagens que analisam as cores através de cálculos numéricos, com o objetivo de melhorar a sua qualidade visual, antes de extrair informações úteis (DUCHESNE et al., 2012). Os métodos de Processamento de Imagem Digitais podem ser agrupados em áreas, como:

- *Compressão da imagem*, em que se remove a redundância presente nas imagens, com perda mínima de informações;
- *Pré-processamento de imagem*, o qual consiste em melhorar a qualidade visual da imagem, reduzindo o ruído, facilitando a detecção de bordas, texturas, etc., utilizando filtros ou funções para tratamento da imagem;
- *Análise quantitativa da imagem*, que fornece valores numéricos ou gráficos relacionados com as características da imagem e podem ser utilizados para classificação, detecção de defeitos, correlação com propriedades de interesse entre outras ações, e podem ser hifenadas com métodos de estatística multivariada (PRATS-MONTALBÁN et al., 2011).

Nesta Tese foram utilizados, como pré-processamento de imagens, aplicação de filtros e, para análise quantitativa de imagens, foram aplicadas técnicas de segmentação e extração de histogramas.

4.5. FILTRO DE IMAGENS

Métodos de pré-processamento de imagens consistem em manipulações matemáticas com a finalidade de resolver problemas relacionados à qualidade das imagens digitais, podendo consistir em restauração de imagens desfocadas ou com ruídos, detecção de bordas, compressão, dentre outros (THEISEN et al., 2007).

Um desses métodos é a filtragem, que utiliza algoritmos para eliminação de regiões indesejáveis que foram capturadas juntamente com as regiões de interesse da imagem, ou que foram geradas em consequência de erros sistemáticos nos processos de aquisição. Os filtros de imagens são divididos em lineares e não lineares.

Os filtros lineares são utilizados para atenuação ou remoção de ruídos através da combinação de *pixels* pertencentes à vizinhança do ponto em observação. Esses filtros funcionam pela ação de matrizes bidimensionais e rotinas matemáticas chamadas de convolução. O processo de convolução de uma imagem, \mathbf{Z} , de função intensidade $f(x, y)$, inicia-se com uma máscara matricial de convolução impulsiva, \mathbf{H}_Z , produzindo uma imagem de saída, \mathbf{Z}' , cuja função intensidade é igual a $q(x, y)$, eq. (13),

$$q(x, y) = \sum_{i=-m} \sum_{j=-n} \mathbf{H}_z(x, y) f(x + m, y + n) \quad (13)$$

sendo que i e j definem as coordenadas da vizinhança escolhida para a realização da convolução, de acordo com o tamanho da máscara, $\mathbf{H}_z(x, y)$ (BLANCHET; CHARBIT, 2006).

Filtros espaciais não lineares operam de forma semelhante aos filtros lineares, porém a operação de filtragem é baseada condicionalmente nos valores dos *pixels*, não utilizando rotinas de convolução (PITAS; VENETSANOPOULOS, 1986).

Tanto os filtros lineares, quanto os filtros não lineares, podem ser aplicados nas técnicas de filtragem nos domínios da frequência e de espaço. Os filtros classificados como domínio da frequência baseiam-se matematicamente, na teoria de convolução por Transformada de *Fourier* (DFT - *Discrete Fourier Transform*), representada pelo operador, \mathfrak{F} . Essa operação é utilizada para realçar a imagem $f(x, y)$ e convertê-la em um argumento referente à frequência, $Q(x, y)$, eq.(14)

$$Q(x, y) = \mathfrak{F}[f(x, y)] = A(x, y) \exp(\phi(x, y)) \quad (14)$$

onde, $A(x, y)$ e $\phi(x, y)$ referem-se à amplitude e à fase espectral do gradiente da imagem, respectivamente (FILHO; NETO, 1999; QU et al., 2013).

Nessa situação, manipulações matemáticas são realizadas com os *pixels* como, por exemplo, a realização de operações de suavização da imagem. Em seguida no processo de filtragem, é realizada a operação inversa de *Fourier* (IDFT - *Inverse Discrete Fourier Transform*), onde a nova imagem suavizada, \mathbf{Z}'' , com função intensidade representada por $f''(x, y)$, torna-se visível ao olho humano, eq. (15).

$$f''(x, y) = |\mathfrak{F}^{-1}[A_f(x, y) \exp(\phi(x, y))]|^2 \quad (15)$$

A filtragem no domínio espacial refere-se ao conjunto de *pixels* que compõem uma imagem digitalizada, $f(x, y)$, que sofre a ação direta de um conjunto

de valores numéricos de ponderação, definido pelo operador \hat{T} . Por exemplo, a eq. (16), mostra a filtragem espacial da imagem $f(x, y)$

$$g(x, y) = \hat{T}[f(x, y)] \quad (16)$$

onde, $g(x, y)$, é a função intensidade da imagem processada \mathbf{Z}''' e \hat{T} é um operador ou uma máscara de $f(x, y)$, definido a partir da oitava vizinhança de *pixels* ao redor do ponto referencial (x, y) , Figura 9, o que equivale a uma matriz 3x3 onde o centro é o ponto referencial (FILHO; NETO, 1999).

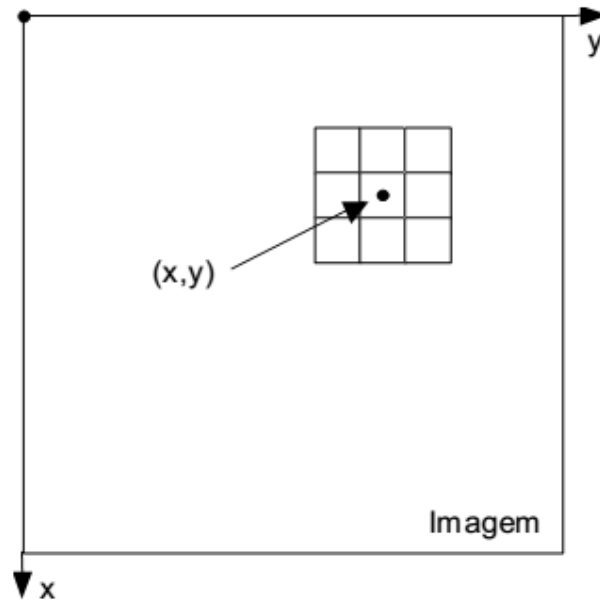


Figura 9. Definição a matriz 3x3 correspondente à vizinhança do ponto referencial (x, y) .

Nos casos de filtragem em que as máscaras são escalares, o operador \hat{T} , torna-se uma função de transformação intensiva que mapeia toda a imagem ao redor do ponto analisado, podendo ser escrita como

$$g(x, y) = \hat{T}(r_i) \quad (17)$$

onde, r_i , ponto mapeado da imagem $f(x, y)$ (GONZALEZ et al., 2009).

Nesta Tese, foi utilizado o filtro espacial linear de Ajuste de Intensidade.

4.5.1. Ajuste de Intensidade

O ajuste de intensidade é uma técnica que mapeia os valores de luminosidade de uma imagem convertendo-os em uma nova gama de valores que vão de 0 a 1. Essa gama de valores produz variações de tonalidades que vão de tons mais claros ao mais escuros, respectivamente, Figura 10.

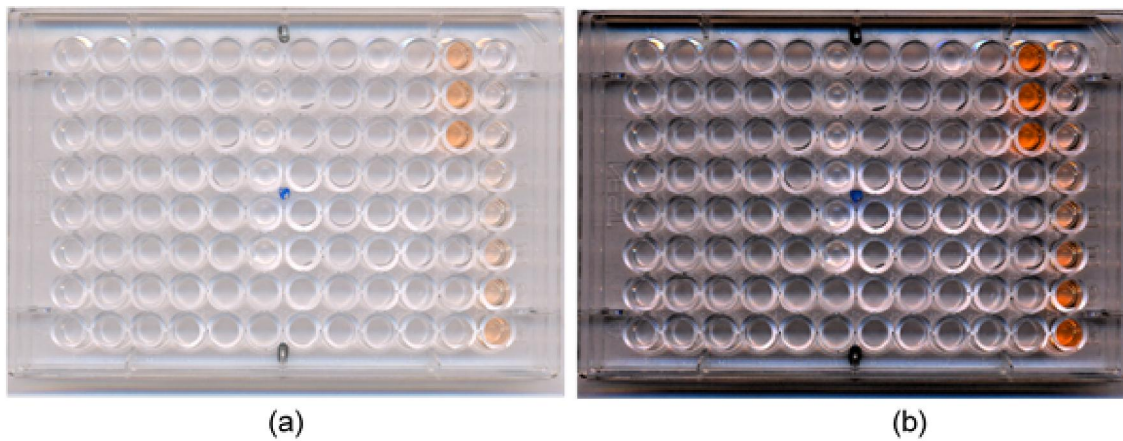


Figura 10. Amostras preparadas para determinação de Fe (II): (a) antes da aplicação da função *imadjust*; (b) após a aplicação da função *imadjust*.

Esse filtro está presente no Matlab Image Processing Toolbox (THE MATH WORKS INC, 2015) sendo aplicado pela função *imadjust*, eq. (18)

$$\mathbf{J} = \text{imadjust}(\mathbf{C}, [\text{low in}; \text{high in}], [\text{low out}; \text{high out}]) \quad (18)$$

onde, \mathbf{C} , é a imagem colorida de entrada, e \mathbf{J} , a de saída. Os valores de *low in*, *high in*, *low out* e *high out* estão contidos entre 0 e 1, e representam variações nas intensidades de cores que realçam a imagem (ALMAADEED et al., 2013).

4.6. SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS

Após a escolha dos sistemas de cores e da aplicação de filtros nas imagens, torna-se conveniente a segmentação das imagens em partes menores. O objetivo dessa ação é selecionar as regiões que possuem a maior ocorrência de *pixels* coloridos de interesse e que, possivelmente, tenham maior correlação com as propriedades investigadas.

Os métodos de segmentação analisam os *pixels* a fim de distinguir diferenças nas imagens, possibilitando a identificação de regiões que são mais benéficas para uma melhor correlação e análise dos dados (BUSIN et al., 2009; DENG et al., 2009).

Vários métodos de segmentação de imagens são descritos na literatura e utilizam, por exemplo, técnicas de programação (PAL; PAL, 1993), de seleção de *pixels* (TANG et al., 2000), de detecção de borda (ZENG; LI, 2012) e de identificação de textura (CHENG et al., 2002).

Outros métodos baseiam-se na manipulação dos canais monocromáticos das imagens coloridas para identificação das regiões de maior intensidade de cor, sinalizando o local de recorte (CHENG et al., 2001). Esse tipo de segmentação pode ser obtido no Matlab® com a função *regionprops*, eq. (19), (KULMYRZAEV et al., 2012)

$$stats = regionprops(BW, properties) \quad (19)$$

onde, **BW** é uma imagem com sistema de cores binárias.

Essa função calcula as propriedades geométricas das imagens selecionadas, Figura 11(a) (YANG et al., 2014), previamente convertidas em sistemas de cores binárias, Figura 11(b). Dessa forma, o operador indica as regiões de maior intensidade de cor branca, Figura 11(c), da imagem analisada, (GONZALEZ et al., 2009) possibilitando a seleção da melhor região para correlação com propriedades de interesse, Figura 11(d) (GAIAO et al., 2006).

Esses recortes, inicialmente com um arranjo tridimensional, podem ser desdobrados em uma nova estrutura bidimensional, formada pela justaposição dos canais de cores (PRATS-MONTALBÁN et al., 2011) e, separadamente, formam matrizes em que são extraídos histogramas de ocorrência de *pixels* coloridos.

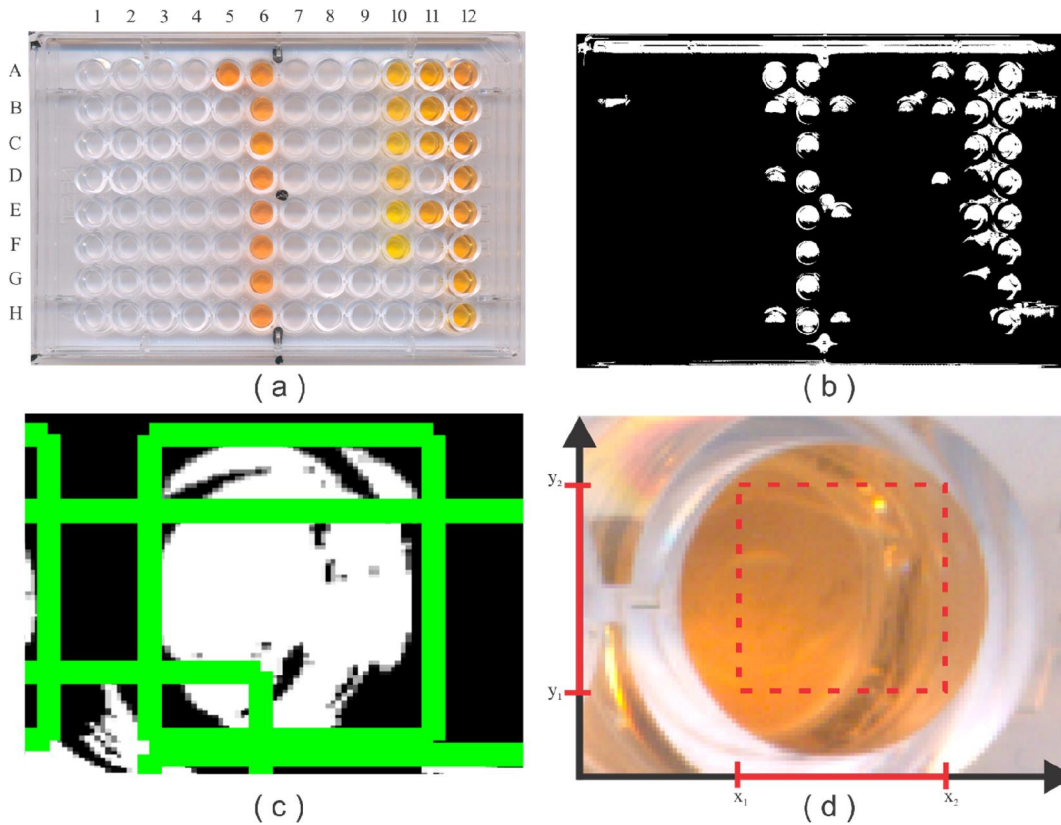


Figura 11. Sequência do tratamento das imagens obtidas antes da construção das curvas de calibração. (a) Imagem da placa contendo as soluções de calibração para o modelo de alcalinidade; (b) Imagem da placa no sistema de cores binárias; (c) Uso da função *regionprops* para determinação da região de maior intensidade de cor; (d) Região delimitada da imagem $m \times n$, para o recorte seguindo as coordenadas x_1 , x_2 , y_1 e y_2 , em *pixels*.

4.7. HISTOGRAMAS DE IMAGENS

Uma das maneiras de extrair informações de matrizes de dados de imagens é através de histogramas dos canais de cores, Figura 12, onde cada pico de ocorrência, armazena o número de *pixels* de uma dada intensidade de cor na imagem. Matematicamente, o histograma \vec{h} de uma imagem digital com L níveis de intensidade de brilho, é definido como uma função discreta, representada na eq. (20)

$$\vec{h}[n(L)] = n(k) \quad (20)$$

onde, $n(L)$, representa a intensidade do brilho da imagem e, $n(k)$, é o k -ésimo número de *pixels* da imagem, (PASS; ZABIH, 1999).

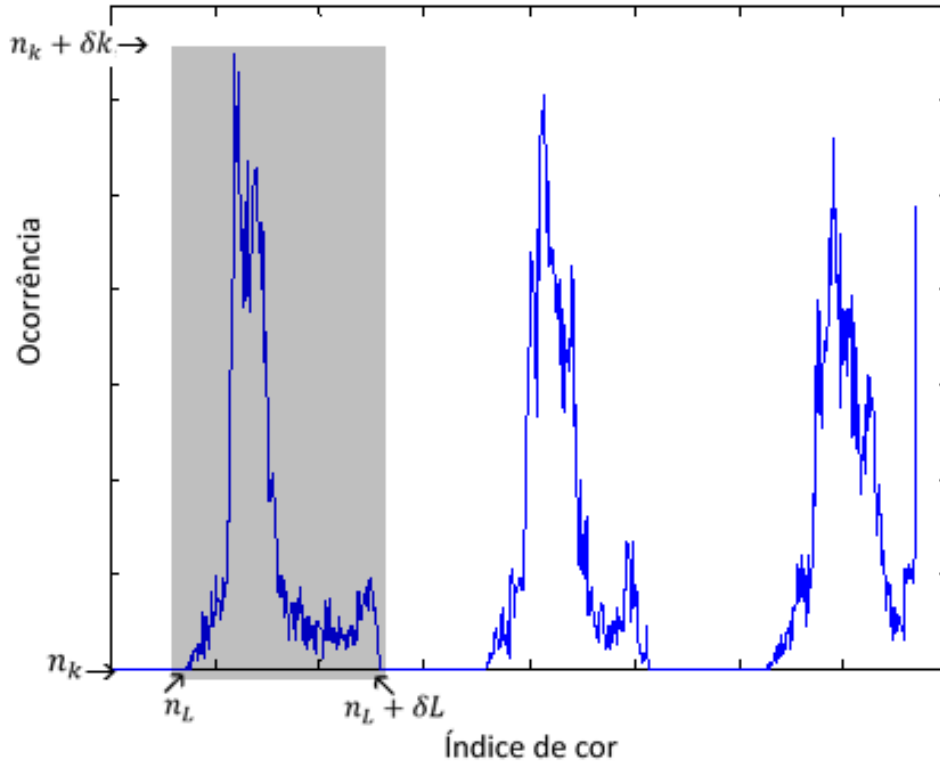


Figura 12. Representação de um histograma de ocorrência de cor extraído de uma imagem utilizada para determinação de alcalinidade.

Os histogramas representam o quantitativo de ocorrência de específicos índices de cores monocromáticas, definido pelo intervalo entre n_k para $n_k + \delta k$, e são formados pela variação na intensidade de brilho ao longo da imagem, representada pelo intervalo entre n para $n_L + \delta L$. Logo, considerando o limite δL , $\delta k \rightarrow 0$, tem-se:

$$n(L)\delta L = n(k)\delta k \quad (21)$$

$$n(k) = n(L) \frac{dL}{dk} \quad (22)$$

Ao integrar a eq. (22), pode-se reescrever a eq. (20), como um vetor \vec{k} , de ocorrência de *pixels* de intensidades de cores na imagem, definido pela eq. (23)

$$\vec{k} = n(L) = \frac{L - 1}{N_k} \int n(L) dL \quad (23)$$

onde, o termo $L - 1$, representa o contraste entre o brilho dos *pixels* que formam a imagem. N_k , representa o número total de *pixels*, e o termo $\int n(L) dL$, representa o histograma cumulativo, cujo o número de ocorrência dos *pixels*, está diretamente correlacionado, à intensidade do brilho das imagens (RICHARDS; JIA, 2006).

Esse vetor pode ser utilizado para correlacionar as informações obtidas das imagens com as propriedades de interesse por comporem histogramas de cor. Esses, por sua vez, são extraídos dos canais monocromáticos obtidos com o desdobramento das imagens digitalizadas.

4.7.1. Extração dos histogramas

As imagens digitalizadas apresentam, inicialmente, um formato tridimensional de informações devido à disposição das cores monocromáticas como, por exemplo, os canais R, G e B. Após um processo de desdobramento de dados, esses canais podem ser separados e reorganizados. A representação da Figura 13(a) é um exemplo de uma imagem segmentada que é desdobrada em uma nova estrutura de duas dimensões, Figura 13(b) (CHENG et al., 2002; PRATS-MONTALBÁN et al., 2011).

Após esse desdobramento, são extraídos histogramas médios contendo 256 índices de cor monocromática. Para o sistema RGB, o canal de cor R é projetado na faixa de índices 0 a 255, G em 256 a 512 e B em 513 a 768. Em seguida, os histogramas são organizados de forma colinear em uma reta. Assim, para cada imagem obtida, é extraído um vetor linha de 768 variáveis, formado por três histogramas de ocorrência de cor, Figura 12, pág. 30.

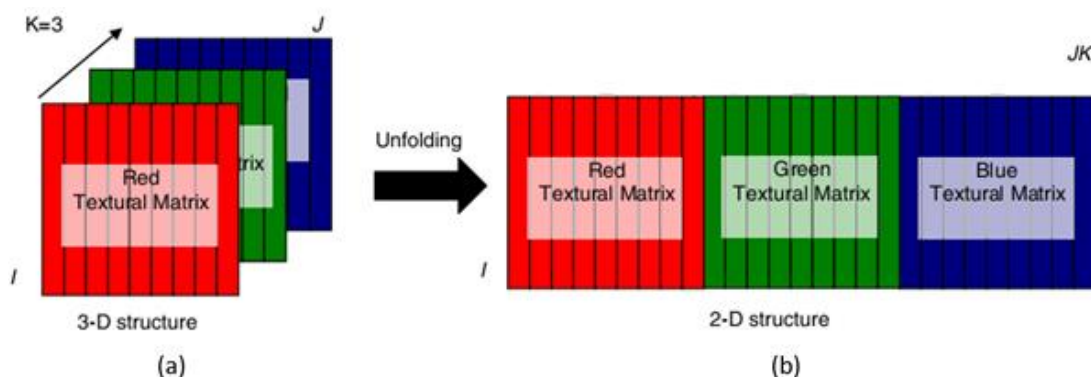


Figura 13. Arranjo matricial de imagens RGB. (a) Formato tridimensional da imagem colorida. (b) Desdobramento da imagem de arranjo de três dimensões para o arranjo de duas dimensões.

Esses histogramas, após o processo de vetorização expressada pela eq.(23), pág. 31, podem ser correlacionados com as propriedades químicas de interesse, ao serem utilizados como fonte de dados para metodologias de calibração multivariada.

4.8. TIPOS DE DADOS

Os métodos de calibração são escolhidos através da análise e da natureza do conjunto de dados. A obtenção desses dados depende do tipo de instrumentação envolvida na análise e são representados por arranjos matriciais formados por um escalar, um vetor, uma matriz (como exemplo, imagens) ou, até mesmo, por um conjunto tridimensional de dados.

Em álgebra, esses arranjos matriciais são denominados tensores de ordem zero, primeira, segunda e terceira ordem, respectivamente, e são fontes de análise para metodologias de calibração de ordem zero, de primeira e de segunda ordem (BOOKSH; KOWALSKI, 1994). A Figura 14 representa, esquematicamente, a diferença entre esses tipos de dados.

Nos modelos de calibração de ordem zero, o conjunto de dados é representado por um valor escalar obtido para cada amostra. Na Figura 14(a), esse conjunto de dados é representado pela aquisição de um sinal de comprimento de onda λ_j , para um tempo t_1 .

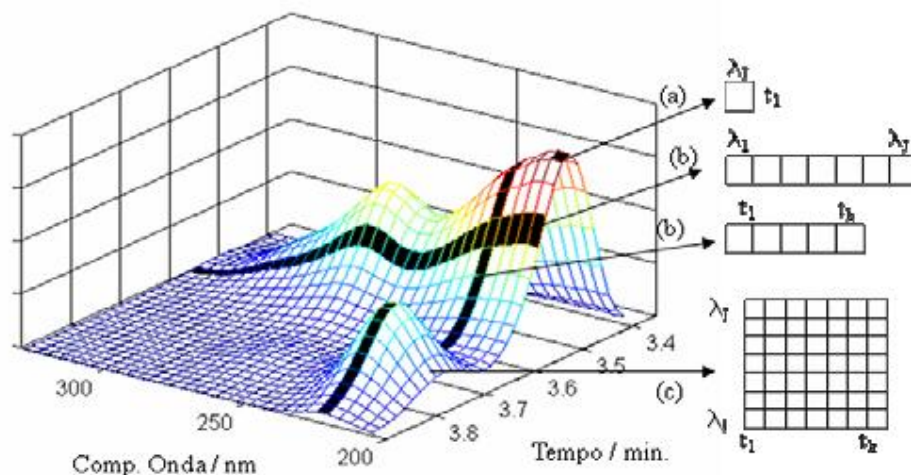


Figura 14. Representação esquemática de três conjuntos de dados com diferentes arranjos matriciais, obtidos de um sistema de sinal espectral em função do tempo. (a) Conjunto de dados de ordem zero, representado por um escalar; (b) Conjunto de dados de primeira ordem, representado por um vetor; (c) Conjunto de dados de segunda ordem, representado por uma matriz (VALDERRAMA et al., 2009).

Nos modelos de calibração de primeira ordem, o conjunto de dados é representado por um vetor. Como exemplo, tem-se na Figura 14(b), a variação do comprimento de onda, entre λ_1 e λ_j , ou a variação da absorvância em uma faixa de tempo, entre t_1 e t_k .

Para a calibração de segunda ordem são obtidas matrizes de dados, com dimensão $j \times k$, que representam a superfície de cada amostra, Figura 14(c). Caso seja feita a análise de i amostras diferentes, o conjunto de dados para calibração passa ter um formato tridimensional de dimensão $i \times j \times k$ (BOOKSH; KOWALSKI, 1994).

4.9. PRÉ-PROCESSAMENTO

Sinais analíticos são dados extraídos de processos experimentais e representam a variação de uma propriedade físico-química. Frequentemente, a maioria desses sinais apresentam ruídos que acabam dificultando a interpretação e o modelamento das propriedades associadas a esses dados. Ajustes matriciais são

encontrados na literatura como alternativas para suavizar esses ruídos, aplicados como pré-processamento desses dados (RINNAN et al., 2009).

Os métodos de pré-processamento podem ser definidos como qualquer manipulação matemática dos dados que possibilite reduzir ou remover fontes de variações físicas não informativas. Sejam elas sistemáticas ou aleatórias, com o objetivo de melhorar os modelos de Calibração Multivariada^b (DEVOS; DUPONCHEL, 2011).

Nessa Tese, foram utilizadas as técnicas Centrar Dados na Média e Correção Ortogonal de Sinal (OSC – *Orthogonal Signal Correction*) (SJOBLOM et al., 1998).

4.9.1. Centrar dados na média

Centrar os dados na média corresponde a deixar que cada variável tenha média igual a zero, proporcionando uma mudança nas coordenadas espaciais para o centro do eixo de dados como mostrado na Figura 15 (SOUZA; POPPI, 2012).

Para centralizar os dados na média, o valor médio é obtido para cada coluna j da matriz de dados, eq. (24), e, em seguida, subtrai-se o valor obtido de cada argumento dessa coluna, eq. (25)

$$\bar{x}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{ij} \quad (24)$$

$$x'_{ij} = x_{ij} - \bar{x}_{ij} \quad (25)$$

onde, \bar{x}_j é a média da coluna da variável j e, x'_{ij} , corresponde ao valor centrado na média para a variável j da amostra i (FERREIRA et al., 1999).

^b A definição de Calibração Multivariada será dada na secção 4.11, pág. 39.

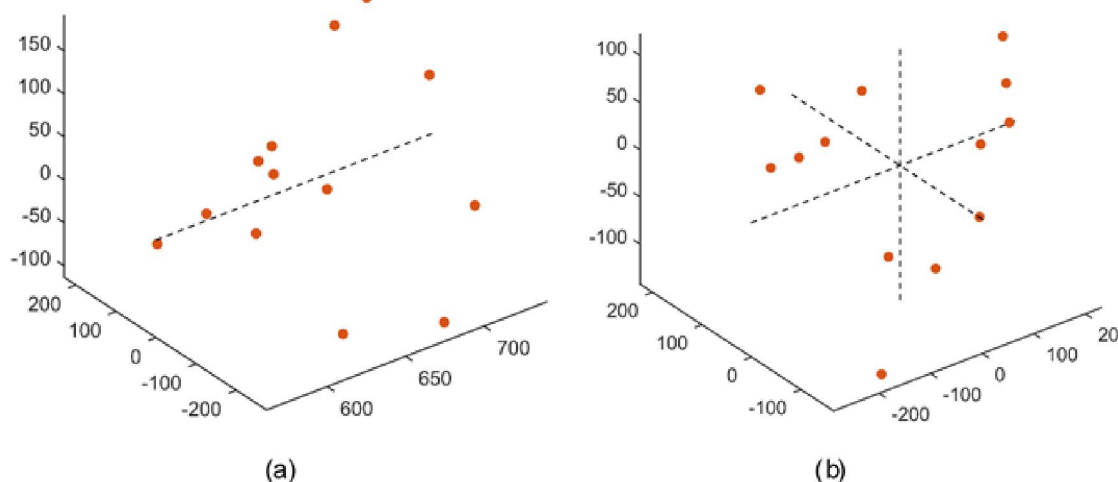


Figura 15. Mudança de coordenadas do conjunto de dados utilizados na determinação de Alcalinidade, para o centro dos eixos de dados com a aplicação do pré-processamento: (a) antes do pré-processamento; (b) dados centrados na média.

4.9.2. Correção Ortogonal de Sinal

O OSC é um filtro que remove erros sistemáticos irrelevantes através da remoção de dados ortogonais à resposta encontrada, reduzindo as informações na matriz \mathbf{X} que não são correlacionadas às repostas da matriz \mathbf{Y} (SJOBLOM et al., 1998).

De forma contrária ao algoritmo NIPALS utilizado na Regressão PLS (seção 4.11.1, página 41) em que o peso \mathbf{W} da matriz independente é calculado para maximizar a covariância entre \mathbf{X} e \mathbf{Y} , no OSC os cálculos para \mathbf{W} são modificados ao ponto de encontrarem a mínima correlação entre as matrizes independentes e dependentes. Ou seja, determinam os argumentos de \mathbf{X} que são ortogonais a \mathbf{Y} (WOLD et al., 1998).

Esses argumentos ortogonais, que não possuem informações relevantes, são subtraídos da matriz \mathbf{X} inicial, originando uma nova matriz com apenas as informações de interesse (FEUDALE et al., 2002).

4.10. SELEÇÃO DE VARIÁVEIS

A expansão tecnológica proporciona avanços em vários ramos da ciência e, naturalmente, proporciona a inclusão de variáveis irrelevantes nos modelos estatísticos. Para minimizar a influência dessas variáveis, pode-se realizar uma redução de dados por meio de métodos de projeção, seleção ou uma combinação de ambos, com objetivo de minimizar informações irrelevantes ou redundantes, selecionando as variáveis que proporcionarão o menor erro de previsão ao modelo. O processo de seleção de variáveis pode melhorar o desempenho do modelo, melhorando a interpretação e a compreensão do sistema estudado (MEHMOOD et al., 2012).

Nesta Tese, como métodos de seleção de variáveis, foram testados Projeção de Variáveis Importantes (VIP - *Variables Importance in PLS Projections*) (CHONG; JUN, 2005), Intervalo PLS (iPLS - *Interval PLS*) (MEHMOOD et al., 2012), Algoritmo de Projeções Sucessivas (SPA - *Successive Projections Algorithm*) (PONTES et al., 2005) e Algoritmos Genéticos (GA - *Genetic Algorithm*), porém, o método adotado foi o GA. Logo, apenas esse método será descrito. Além do GA foi utilizado o método de Subtrações de Imagens como métodos de seleção de *pixels* de imagens, conseqüentemente, como seleção de variáveis.

4.10.1. Algoritmos Genéticos

Algoritmos genéticos utilizam as definições do princípio de seleção natural proposto por Charles Robert Darwin^c para resolver problemas complexos, em especial de otimização de dados. Proposto na década de 70 por Holland, os GAs, proporcionam a evolução de uma dada população através de cálculos probabilísticos, de modo que haja uma tendência de que, na média, os indivíduos representem soluções com menores erros, à medida que o processo evolutivo continue (MITCHELL, 1999).

As principais vantagens do GA são: não requer informações sobre o gradiente da superfície de resposta; o processo de otimização do algoritmo não é

^c Charles Robert Darwin, ([CELERI; JACINTHO; DALGALARRONDO, 2010](#)).

afetado por descontinuidades da matriz de respostas; a presença de zeros não altera o processo de otimização e; apresenta excelente performance na seleção de variáveis para grandes matrizes de dados (FILHO; POPPI, 1999).

De forma geral, o GA gera populações adaptadas para responder os problemas aos quais foram expostos com etapas definidas por:

- Avaliação: avalia-se a aptidão das soluções;
- Seleção: indivíduos são selecionados para a reprodução;
- Mutação: características dos indivíduos resultantes do processo de reprodução são acrescentadas à população;
- Atualização: os indivíduos criados nesta geração são inseridos na população;
- Finalização: verifica se as condições de encerramento da evolução foram atingidas, retornando para a etapa de avaliação ou encerramento. A Figura 16, apresenta um fluxograma de funcionamento do algoritmo.

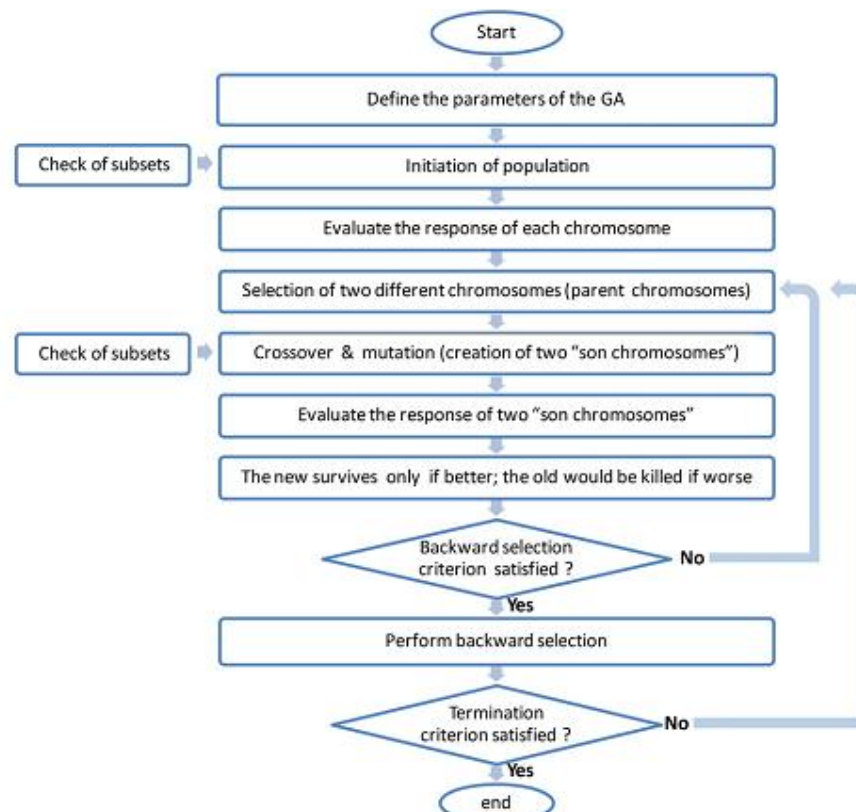


Figura 16. Fluxograma estrutural do funcionamento de um GA. Fonte: (YUN et al., 2014).

Para seleção de variáveis em uma dada matriz \mathbf{X} de dados, a escolha do subconjunto de dados ocorre de maneira aleatória através do uso da Raiz Quadrada do Erro da Validação Cruzada (RMSECV – *Root Mean Square Error of Cross Validation*) para os métodos de calibração escolhidos. A matriz é dividida em subconjuntos de variáveis, ou genes, chamados de indivíduos que são incluídos ou excluídos da população de acordo com os menores valores de RMSECV.

Depois de adicionar os novos indivíduos na população de dados original, todos os genes têm a oportunidade de mutação aleatória. Isso possibilita uma chance finita de adicionar ou remover variáveis que podem ser representadas na população.

Nessa etapa, os indivíduos são emparelhados, agrupados e redistribuídos até que, a matriz de dados, retorne ao seu tamanho original, iniciando a etapa de avaliação. O GA terminará o algoritmo, após realizar um número finito de avaliações, e depois que uma fração dos indivíduos, for utilizada em subconjuntos de variáveis idênticas, e outra fração, ser excluída como ruído (TANG et al., 2000; WISE et al., 2006; SARKHOSH et al., 2014; YUN et al., 2014).

No Matlab®, o GA é aplicado com a função *genalg* (THE MATH WORKS INC, 2015), que proporciona um ambiente de interface gráfica para seleção de variáveis e pode ser combinado com métodos de calibração multivariada, como a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS - *Partial Least Squares*). Esse método de calibração será descrito na seção 4.11.1, pág. 41 (SONG et al., 2012).

A combinação entre o GA e o PLS será chamada nesta Tese de GA-PLS. Nessa combinação o GA, seleciona as variáveis da matriz \mathbf{X} de dados de imagens mais relevantes para o modelo PLS, seguindo os critérios de seleção adotados para o algoritmo. Nesta Tese, os critérios adotados para aplicação do GA nos dados de imagens, estão descritos na Tabela 4, pág. 67.

Após a finalização do GA, o modelo PLS, correlaciona a nova matriz \mathbf{X}^* , contendo as variáveis selecionadas, com a matriz \mathbf{Y} , contendo as propriedades físico-química de interesse, como por exemplo, dados de água potável. A Figura 17, demonstra o fluxograma de aplicação do modelo GA-PLS.

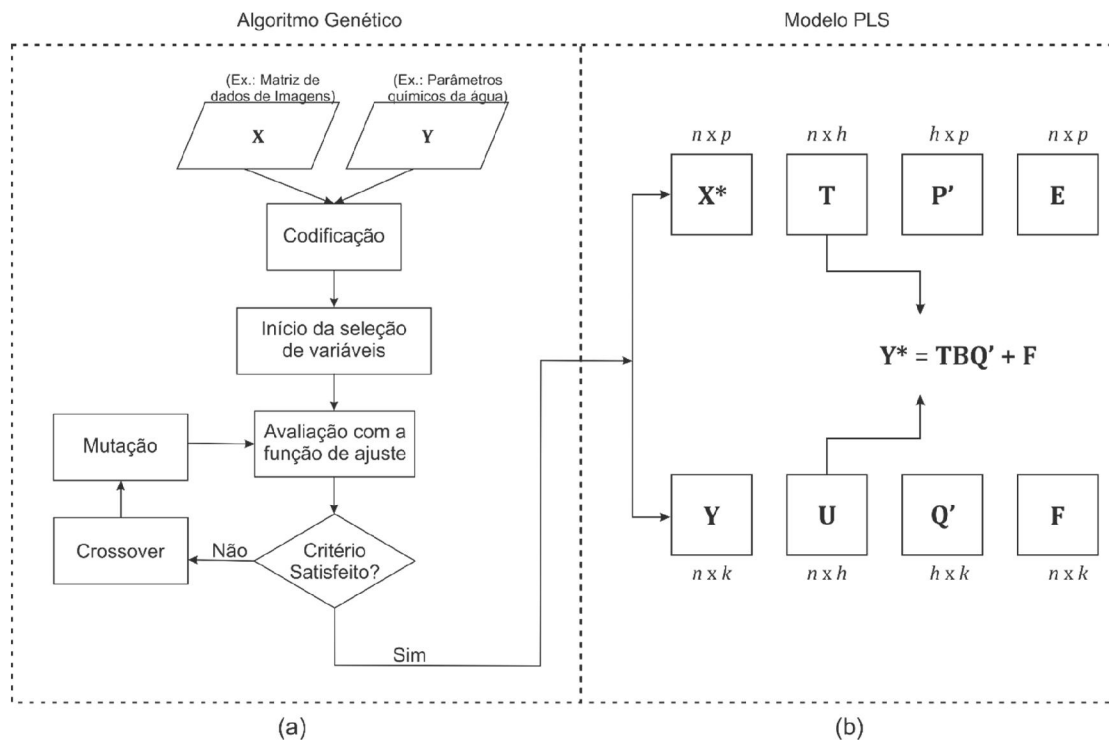


Figura 17. Fluxograma para o modelo GA-PLS: (a) demonstra como o GA seleciona as variáveis da matriz de imagens. (b) demonstra a regressão do modelo PLS.

4.10.2. Operações de Subtrações de Imagens

As operações de subtração são utilizadas para detectar diferenças entre imagens. Essas diferenças são causadas por fatores tais como a adição ou remoção artificial de dados através de processamento de imagens, detecção de objetos em movimento entre dois quadros de uma sequência de vídeo, dentre outros (MARQUES, 2011).

A subtração de imagem pode ser aplicada no Matlab® com a função *imabsdiff* (THE MATH WORKS INC, 2015), que calcula a diferença absoluta entre duas imagens. Como exemplo, essa função foi aplicada realizando subtrações dos *pixels* correspondentes entre a Figura 18(a) e a Figura 18(b) (LOR S et al., 2015). Essa nova imagem, Figura 18(c),   a representação oposta   das cores originais, que podem ser complementadas com a função *imcomplement*, Figura 18(d).

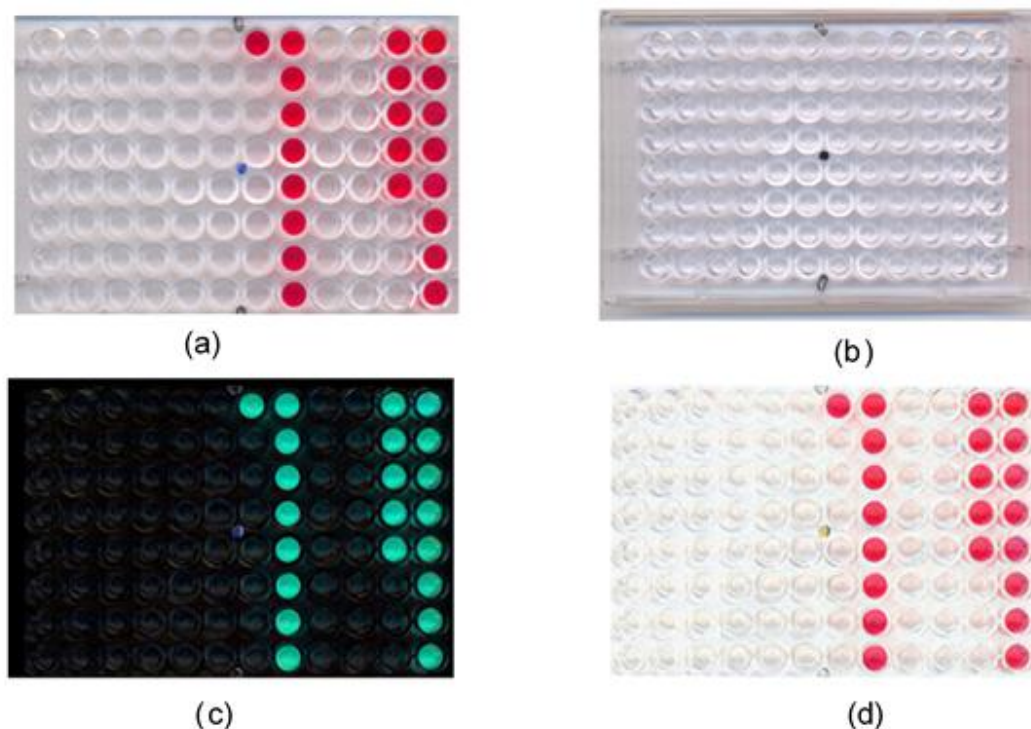


Figura 18. Operação de subtração de imagens: (a) placa das amostras utilizadas para quantificação de flúor em águas potáveis; (b) placa contendo água destilada; (c) diferença absoluta entre as duas imagens e (d) complementação das cores.

4.11. CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

Métodos de regressão ou calibração multivariada são técnicas matemáticas utilizadas para estabelecer relações entre sinais analíticos (imagens, por exemplo) com informações de interesse como propriedades físico-químicas.

Geralmente, essa metodologia é realizada em duas etapas. Na primeira, chamada de calibração, um grupo amostral é manipulado para construção de um modelo matemático de regressão linear ou não linear e, na segunda etapa, chamada de validação, um segundo grupo de amostras é utilizado para validar os modelos construídos (BEEBE; KOWALSKI, 1987).

Os métodos de calibração podem ser divididos em calibração de ordem zero, primeira e segunda ordem, de acordo com a complexidade ou dimensionalidade dos dados (VALDERRAMA et al., 2009). Dentre os métodos de calibração de primeira ordem mais citados na literatura, tem-se a Regressão Linear Múltipla (MLR - *Multiple Linear Regression*), Regressão por Componentes Principais (PCR - *Principal*

Components Regression) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS - *Partial Least Squares*) (KUMAR et al., 2014).

Para modelagem de dados de segunda ordem, os mais citados são Análise de Fatores Paralelos (PARAFAC - *Parallel Factor Analysis*), Mínimos Quadrados Parciais Multilinear (N-PLS - *N-way Partial Least Squares*) e Resolução de Curvas Multivariadas (MCR – *Multivariate Curve Resolution*) (TAULER, 1995; RUTLEDGE; BOUVERESSE, 2007).

4.11.1. PLS

O PLS ou Regressão por PLS (PLSR - *Partial Least Squares Regression*) é o método de calibração de dados mais citado na literatura para construção de modelos multivariados utilizando dados de primeira ordem. Hábil para modelar regressões com uma variável ou múltiplas variáveis de resposta, esse método não é afetado por multicolinearidade e produz fatores altamente correlacionados com as variáveis dependentes, podendo realizar a previsão de amostras mesmo na presença de interferentes (GELADI; KOWALSKI, 1986; CHONG; JUN, 2005).

O método PLS ocorre em três etapas. A primeira consiste em montar a matriz \mathbf{X} de dados independentes, e a matriz \mathbf{Y} de dados dependentes. \mathbf{X} , é uma matriz $n \times p$, onde n , é o número de amostras e p , é o número de variáveis. No caso de dados de imagens, a matriz \mathbf{X} foi construída com os histogramas extraídos de cada amostra como demonstrado na secção 4.7, pág. 29. \mathbf{Y} , pode ser um vetor (\vec{y}) $n \times 1$, quando o modelo PLS prediz apenas uma propriedade (PLS1), ou uma matriz $n \times k$, quando o modelo prediz k propriedades simultaneamente (PLS2). Essa matriz foi construída nesta Tese, com os resultados das análises físico-químicas utilizando métodos convencionais. A segunda etapa consiste em eliminar informações irrelevantes através da correlação linear das colunas da matriz \mathbf{X} . A última etapa relaciona a matriz \mathbf{X} reduzida, com a matriz \mathbf{Y} .

Dessa forma, a matriz \mathbf{X} é reduzida em h *Variáveis Latentes* (LVs - *Latent Variables*), relacionada com os escores e pesos criados no processo de redução da matriz \mathbf{X} . As LVs são utilizadas para correlacionar as variáveis dependentes de

interesse, \mathbf{Y} , de forma que se obtenha um modelo com menor erro de previsão possível (SENA et al., 2000; LI et al., 2002). O processo de decomposição das matrizes pode ser representado pelas equações (26) e (27)

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} = \sum \mathbf{t}_h \mathbf{p}'_h + \mathbf{E} \quad (26)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}' + \mathbf{F} = \sum \mathbf{u}_h \mathbf{q}'_h + \mathbf{F} \quad (27)$$

onde, \mathbf{T} e \mathbf{U} representam as matrizes de escores para as duas matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente, \mathbf{P} e \mathbf{Q} representam as matrizes de pesos, \mathbf{E} e \mathbf{F} são matrizes de resíduos não modelados. Em seguida é realizada uma correlação linear entre os escores das matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} , representada pelas equações (28) e (29)

$$\mathbf{u}_h = \mathbf{b}_h \mathbf{t}_h \quad (28)$$

$$\hat{\mathbf{Y}} = \mathbf{TBQ}' + \mathbf{F} \quad (29)$$

onde, \mathbf{b}_h é o vetor contendo os coeficientes de regressão linear, entre as matrizes \mathbf{T} e \mathbf{U} , para cada variável latente h . Os valores de \mathbf{b}_h , estão contidos na matriz diagonal \mathbf{B} . Logo, os valores previstos para novas amostras, $\hat{\mathbf{Y}}$, são obtidos a partir dos escores de \mathbf{X} e podem ser utilizados para validar analiticamente os modelos desenvolvidos.

4.12. VALIDAÇÃO ANALÍTICA MULTIVARIADA

Os métodos de validação são processos de investigação de novos modelos analíticos, com o objetivo de avaliar o desempenho, a qualidade das medidas instrumentais e a confiabilidade estatística dos cálculos, dando subsídios para afirmar se novas metodologias de análise são adequadas para serem aplicadas e reproduzidas (CITAC; EURACHEM, 2002). Assim, no processo de validação, são estimados parâmetros chamados de Figuras de Mérito (FOM – *Figure of Merit*) para caracterizar o desempenho e as limitações dos modelos analíticos.

Através de estudos sistemáticos, que devem ser realizados em laboratório, os resultados encontrados com a avaliação das FOMs, são responsáveis por repassar a confiabilidade dos novos procedimentos, desde que atenda às normas vigentes impostas por órgãos nacionais e internacionais de fiscalização (LORBER et al., 1997; SENA et al., 2007).

Porém, os processos de validação para métodos multivariados ainda geram várias discussões a respeito da sua aplicabilidade, devido à baixa popularidade desse tipo de metodologia e, conseqüentemente, a carência de guias específicos e ou regulamentações apropriadas para calibrações de primeira ordem ou superior.

Logo, faz-se necessária a adequação de alguns conceitos estatísticos e consolidados na calibração univariada como, por exemplo, a avaliação da linearidade do modelo, feita através da comparação das respostas instrumentais dos analitos versus o sinal analítico utilizado pelo equipamento. Nesse caso, a adequação é necessária, já que nos modelos multivariados, os resultados analíticos são estimados pela combinação de diversos sinais (BOTELHO, 2014).

Essa adequação é citada na literatura através da utilização do Sinal Analítico Livre (NAS - *Net Analyte Signal*), que possibilita separar parte do sinal específico correspondente às propriedades de interesse (BRO; ANDERSEN, 2003).

4.12.1. Sinal Analítico Líquido

O conceito do NAS, proposto na década de 1980 (LORBER, 1986), é definido como parte do sinal analítico exclusivamente relacionado à análise de interesse. Essa informação dos dados é ortogonal aos interferentes do modelo, Figura 19.

Dessa forma, é possível a separação das informações dos analitos a partir do sinal total, permitindo que figuras importantes de mérito, possam ser estimadas pelo modelo multivariado e possam ser visualizadas de uma forma “pseudo-univariada”, tornando mais fácil a interpretação do modelo em análises de rotina (SILVA et al., 2012).

A matriz \mathbf{X} de dados independentes é utilizada para a obtenção do NAS, após reconstrução com h LVs, através do modelo PLS (LORBER et al., 1997), eq. (30)

$$\hat{\mathbf{X}}_{h,-k} = (\mathbf{I} - \hat{\mathbf{y}}_{h,k} \hat{\mathbf{y}}_{h,k}^+) \hat{\mathbf{X}}_h \quad (30)$$

onde, $\hat{\mathbf{X}}_{h,-k}$, é a matriz que contém as informações de todas as espécies presentes nas amostras, exceto o analito k de interesse; $\hat{\mathbf{y}}_{h,k}$, é vetor de concentração da espécie de interesse estimado com h LVs; o índice "+" indica a pseudo-inversa do vetor $\hat{\mathbf{y}}_{h,k}$; $\hat{\mathbf{X}}_h$, é a matriz de dados reconstruída com h LVs; e \mathbf{I} , é a matriz inversa de dimensões apropriadas.

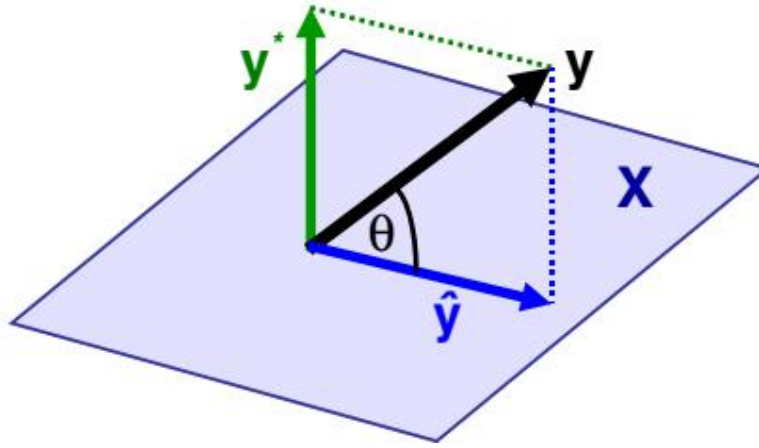


Figura 19. Projeção ortogonal geométrica, representando a decomposição do sinal analítico \mathbf{y}^* , onde \mathbf{X} representa o NAS, ortogonal aos interferentes, $\hat{\mathbf{y}}$. Fonte: (HIGGINS et al., 2012).

Dessa forma, a matriz $\hat{\mathbf{X}}_{h,-k}$ pode ser utilizada em uma nova projeção ortogonal para obtenção do vetor $\mathbf{n}\hat{\mathbf{a}}\mathbf{s} = ||\hat{\mathbf{x}}_{k,i}^{\text{nas}}||$ para cada amostra i (FERRÉ; FABER, 2003), eq. (31)

$$\mathbf{n}\hat{\mathbf{a}}\mathbf{s} = ||\hat{\mathbf{x}}_{h,k,i}^{\text{nas}} = (\mathbf{I} - \hat{\mathbf{X}}_{h,-k}^T (\hat{\mathbf{X}}_{h,-k}^T)^+ \hat{\mathbf{x}}_{h,i} || \quad (31)$$

onde, T , indica a transposta da matriz; $\hat{\mathbf{x}}_{h,i}$, indica o vetor de resposta instrumental estimado com h VLs; e $|| ||$ representa a norma Euclidiana.

O $\mathbf{n\hat{a}s}$ é um vetor análogo ao sinal analítico univariado que, além de ser utilizado para estimar algumas FOMs, pode ser utilizado para traçar curvas pseudo-univariadas de calibração.

Essas curvas são úteis para visualização da linearidade e do ajuste do modelo multivariado, ao se plotar os valores de referência versus a norma do NAS. Como resultado, tem-se uma visão univariada do modelo multivariado (FABER, 2000).

Para traçar a curva, o vetor $\mathbf{n\hat{a}s}$ é calculado previamente para i amostras de calibração. Em seguida, é realizada uma Regressão Linear por Mínimos Quadrados. Após a regressão, obtêm-se o \hat{b}_{nas} , referente ao coeficiente angular da regressão linear com o vetor $\mathbf{n\hat{a}s}$ realizada, eq. (32) e, conseqüentemente, uma equação da curva criada referente ao modelo, eq. (33), são obtidos (ROCHA; POPPI, 2010).

$$\hat{b}_{nas} = (\mathbf{n\hat{a}s}^T \mathbf{n\hat{a}s})^{-1} \mathbf{n\hat{a}s}^T \mathbf{Y} \quad (32)$$

$$\hat{\mathbf{Y}} = \hat{b}_{nas} \mathbf{n\hat{a}s} + c \quad (33)$$

4.12.2. Figuras de Mérito

A avaliação de novos métodos analíticos deve ser realizada logo que são propostos, seguindo as orientações de órgãos reguladores. A fim de atender às orientações nacionais para validação e acreditação (BRASIL, 2007), foram estimadas, após adaptações utilizando o vetor $\mathbf{n\hat{a}s}$, as FOMs para os modelos PLS desenvolvidos para os parâmetros pH, alcalinidade, dureza total, dureza Ca, cloreto, fluoreto e ferro total: exatidão, precisão, linearidade, seletividade, sensibilidade, sensibilidade analítica, limite de detecção, limite de quantificação, viés (*bias*) e Desvio Residual de Previsão.

4.12.2.1. Exatidão

Exatidão expressa o grau de concordância entre os valores estimados e os valores tidos como referência (ICH, 2005), obtida com a junção dos valores de veracidade e de precisão. A veracidade foi estimada nesta Tese com a utilização dos

valores do Erro Médio Quadrático de Calibração (RMSEC - *Root Mean Square Error of Calibration*), eq. (34), Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Previsão (RMSEP- *Root Mean Squares Error of Prediction*), eq. (35), e pelos Erros Relativos de Previsão (ER%), eq. (36), (GEMPERLINE, 2006)

$$\text{RMSEC} = \left[\frac{1}{n_{GL}} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \right]^{1/2} \quad (34)$$

$$\text{RMSEP} = \left[\frac{1}{p} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \right]^{1/2} \quad (35)$$

$$\text{ER\%} = \left[\frac{\hat{y}_i - y_i}{y_i} \right] 100 \quad (36)$$

onde, n_{GL} , é o número de graus de liberdade, p , é o número de amostras de validação e \hat{y}_i e y_i são, respectivamente, os valores estimados e de referência.

4.12.1.2. Precisão

Precisão expressa o grau de concordância entre os resultados. É obtida com uma série de medidas feitas para uma mesma amostra em condições determinadas (BRAGA; POPPI, 2004). Segundo o DOQ-008 (BRASIL, 2007), a precisão é um termo geral, para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, de amostras semelhantes ou de padrões. Pode ser estimado numericamente pelo Desvio Padrão Relativo (DPR), também conhecido como Coeficiente de Variação (CV), eq. (37), onde é obtido pela razão entre desvio padrão s , descrito pela eq. (38), e o valor médio, \bar{y} , do resultado das N medidas, eq. (39).

$$\text{DPR} = \left[\frac{s}{\bar{y}} \right] 100 \quad (37)$$

$$s = \left[\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \right]^{1/2} \quad (38)$$

$$\bar{y} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^n y_i \quad (39)$$

Os valores de DPR devem ser comparados para avaliar sua reprodutibilidade. Essa comparação pode ser feita através da equação de HorRat (HO_R) (BRASIL, 2010), eq. (40)

$$HO_R = \frac{DPR}{DPR_H} \quad (40)$$

onde, HO_R , é calculado pela razão entre DPR e o desvio padrão relativo de Horwitz, DPR_H , descrito pela eq. (41), que utiliza a concentração C do analito.

$$DPR_H = 2^{(1-0,5\log C)} \quad (41)$$

Dessa forma, se os valores de HorRat forem menores ou iguais a 2,0, a reprodutibilidade do método pode ser considerada satisfatória. Em situações em que a equação de Horwitz não puder ser aplicada, como medidas de pH, por exemplo, deve-se adotar as recomendações da (BRASIL, 2014b), que orientam valores DPR_H iguais a 20,0%.

4.12.1.3. Ajuste de Curva e Linearidade

O ajuste do modelo pode ser avaliado pelo coeficiente de correlação de Pearson (r^2) entre os valores de referência e os valores estimados das propriedades de interesse. Outra maneira de estimar o ajuste é através do vetor **nâs**, correlacionado com as concentrações de referência das amostras de calibração (FERREIRA et al., 2013).

A linearidade foi estimada pela avaliação do comportamento aleatório dos resíduos após o ajuste de calibração e de predição, através da aplicação do teste de Durbin-Watson (DW) (BOTELHO, 2014). Esse teste é utilizado para verificar a ausência de auto correlação dos erros de regressão, onde o desvio padrão dos dados residuais (DPr) é comparado com o desvio padrão das diferenças sucessivas (DPd) do mesmo conjunto de dados. Para que o conjunto de dados possa ser considerado aleatoriamente distribuído, devem ser realizados testes de hipóteses que demonstrem ausência de diferença estatística entre DPd e o DPr (ALI; SHARMA, 1993; BARROSO et al., 2012).

4.12.1.4. Seletividade e Sensibilidade Analítica

Os parâmetros seletividade (SEL) e sensibilidade (SEN) são estimados para avaliação da influência dos constituintes presentes no analito e na modificação do sinal analítico (BRASIL, 2010). Esses dois parâmetros não são propriamente utilizados para controle de qualidade, apesar de estarem correlacionados com a linearidade, precisão e exatidão do modelo (VALDERRAMA et al., 2009; BRASIL, 2010).

A SEL, é a medida do grau de sobreposição entre o sinal analítico e os interferentes presentes nas amostras, indicando a parte do sinal que é perdida. Esse parâmetro é obtido pela razão entre a norma do vetor $\mathbf{n\hat{s}}$ e a norma de cada respectivo sinal, $\|\mathbf{x}_i\|$, eq. (42). Com a média dos valores obtidos por essa equação, estima-se a seletividade geral do modelo.

$$SEL = \frac{\|\mathbf{n\hat{s}}\|}{\|\mathbf{x}_i\|} \quad (42)$$

Os valores de seletividade obtidos podem ser considerados como o percentual do sinal utilizado pelo modelo. Essa definição é introduzida a fim de suprir a impossibilidade do cálculo da seletividade máxima do sinal na calibração multivariada. Esse fator é facilmente interpretado no cenário univariado, uma vez que, nessa metodologia de análise, considera-se o pico do sinal instrumental como

altamente seletivo para o analito de interesse. Logo, trata-se de uma condição essencial para prever amostras desconhecidas (LORBER et al., 1997).

A SEN é definida como a fração do sinal responsável pelo acréscimo de uma unidade de concentração da propriedade de interesse. É determinada através da eq. (43) para modelos de calibração multivariada como o PLS

$$SEN = \frac{1}{\|\mathbf{b}_i\|} \quad (43)$$

onde, \mathbf{b}_i , é o vetor dos coeficientes de regressão para a espécie de interesse i , estimado pelo modelo de calibração multivariada.

Quando o \mathbf{n}^{as} é determinado, também se pode estimar a SEN a partir da obtenção do vetor de sensibilidade líquida, $\hat{\mathbf{S}}_i^{\text{nas}}$, para as amostras do conjunto de calibração, equações (44) e (45), utilizando-se vetor, $\hat{\mathbf{x}}_{A,k,i}^{\text{nas}}$, eq. (31), página 44 (VALDERRAMA et al., 2009).

$$\hat{\mathbf{S}}_i^{\text{nas}} = \left\| \frac{\hat{\mathbf{x}}_{A,k,i}^{\text{nas}}}{y_i} \right\| \quad (44)$$

$$SEN = \|\hat{\mathbf{S}}_i^{\text{nas}}\| \quad (45)$$

A sensibilidade analítica, γ , indica a sensibilidade do método em termos de unidades de concentração dos analitos presentes nas amostras. É definida como a razão entre a sensibilidade e o desvio padrão do sinal de referência $\delta\mathbf{x}$, estimado por meio do desvio padrão do valor de NAS obtido para 15 leituras instrumentais de alíquotas sem analitos ou “amostras em branco”.

Porém, nesta Tese, foi utilizada a adaptação proposta por SILVA e colaboradores (SILVA et al., 2012) na qual o valor de $\delta\mathbf{x}$, foi estimado a partir da raiz quadrada do somatório do quadrado dos resíduos das amostras de calibração, dividida por n_{GL} , graus de liberdade, eq. (46)

$$\delta \mathbf{x} = \left| \frac{1}{n_{GL}} \sum \|\mathbf{E}_{cal}\|^2 \right|^{1/2} \quad (46)$$

onde, \mathbf{E}_{cal} , é a matriz contendo todos os vetores residuais para o conjunto de calibração, $\|\mathbf{E}_{cal}\|^2$, representa a norma de *Frobenius*^d da matriz de resíduos.

O valor de γ , é estimado pela eq. (47), onde o inverso desse parâmetro, γ^{-1} , permite estabelecer a menor diferença de concentração entre amostras, a qual pode ser distinguida pelo método (BRAGA; POPPI, 2004).

$$\gamma = \frac{SEN}{\delta \mathbf{x}} \quad (47)$$

4.12.1.5. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) de um procedimento analítico expressam, respectivamente, as menores quantidades da espécie de interesse que podem ser detectadas e determinadas quantitativamente (BRASIL, 2010). Para um conjunto de dados que apresenta erros de previsão não correlacionados e aproximadamente constantes, os LD e LQ, na calibração multivariada, podem ser calculados por

$$LD = 3,3\delta \mathbf{x} \frac{1}{SEN} \quad (48)$$

$$LQ = 10\delta \mathbf{x} \frac{1}{SEN} \quad (49)$$

em que a SEN, correspondente à sensibilidade e $\delta \mathbf{x}$, representa o desvio padrão do sinal de referência, obtidos pelas equações (43) e (46), respectivamente (FABER et al., 1998; SARRAGUÇA; LOPES, 2009).

^d *Frobenius norm*, (BENZLI, 2002).

4.12.1.6. Viés (*bias*)

Para a verificação de erros sistemáticos são feitos testes de viés (*bias*).

Esses erros, segundo a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), são as diferenças entre as médias populacionais e os valores verdadeiros que não apresentam aleatoriedade (CURRIE, 1999). A avaliação desses erros foi realizada através do teste t_{bias} , para 95% de confiança, calculado por

$$bias = \frac{1}{n_v} \sum_{i=1}^{n_v} (y_i - \hat{y}_i) \quad (50)$$

$$SVD = \left[\frac{1}{n_v - 1} \sum [(y_i - \hat{y}_i) - bias]^2 \right]^{1/2} \quad (51)$$

$$t_{bias} = \frac{|bias| \sqrt{n_v}}{SVD} \quad (52)$$

onde, *bias* é a tendência para as amostras do conjunto de validação; n_v é o número de amostras de validação; e SVD é o desvio padrão para as amostras de validação (VALDERRAMA et al., 2009).

4.12.1.7. Desvio Residual de Previsão

Outra forma de avaliar a capacidade de exatidão e previsão dos modelos de calibração é através da estimativa do Desvio Residual de Previsão (RPD – *Relative Predictive Determinant*) (IGNE; HURBURGH, 2010).

RPD, eq. (53), representa a capacidade que o modelo de calibração desenvolvido tem de prever respostas para o conjunto de validação de dados, e está relacionado ao coeficiente de correlação de previsão, desse grupo de amostras (r_{val}^2). Valores de RPD entre 3,1 e 4,9 indicam que o modelo é adequado para monitoramento; valores entre 5,0 e 6,4 são considerados adequados para controle de qualidade; valores entre 6,5 e 8,0 são adequados para controle de processos e valores acima 8,0 são considerados adequados para qualquer aplicação (KIM et al., 2007).

$$RPD = \sqrt{\frac{1}{1 - r_{val}^2}} \quad (53)$$

4.13. PARÂMETROS QUÍMICOS DE ÁGUAS POTÁVEIS ANALISADOS COM IMAGENS

Nesta Tese foram desenvolvidas metodologias para análise físico-química dos parâmetros pH, Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Cálcio, Dureza Magnésio, Cloreto, Fluoreto e Ferro Total de águas potáveis

4.13.1. pH

O potencial hidrogênioônico (pH) representa as condições ácidas, ou alcalinas, em meio aquoso ao calcular, em escala logarítmica, a atividade iônica dos íons hidrogênio (H^+) dissolvidos, eq. (54). O pH varia de 0 a 14 e indica a distribuição de formas livres ou ionizadas de diversos compostos químicos, além do grau de solubilidade de substâncias utilizadas em tratamentos de potabilidade da água (BRASIL, 2006)

$$pH = \log \frac{1}{a_{H^+}} \quad (54)$$

onde, a_{H^+} , representa o valor de atividade iônica do íons H^+ .

Definido por normas internacionais como fator de acidez da água (APHA-AWWA-WEF, 2005b), a medida de pH é uma das mais importantes e frequentes análises realizadas no controle químico de potabilidade. Esse parâmetro é monitorado praticamente em todas as etapas do abastecimento de água potável, e no tratamento de efluentes urbanos e industriais.

As alterações de pH podem ter origem natural, provenientes da dissolução de rochas, fotossíntese, decomposição de material orgânico, chuvas ácidas, dissolução de gases, da variação de temperatura dos corpos de água entre outros

fatores. Pode também ter origem antropogênica, através de despejos domésticos e industriais.

Para águas de abastecimento, baixos valores de pH podem contribuir para os processos de corrosão das tubulações, enquanto que valores elevados aumentam a possibilidade de incrustações das mesmas.

A ação de gases poluentes dissolvidos na água por meio de precipitações ácidas, por exemplo, pode causar acidificação dos corpos de abastecimento. Ambientes aquáticos naturalmente alcalinos podem existir em função da composição química de suas águas, como é o exemplo de alguns lagos africanos nos quais o pH chega a ultrapassar o valor de 10 (BRASIL, 2006).

A Portaria nº 2914/11 (BRASIL, 2011a) recomenda que o valor de pH esteja no intervalo entre 6,0 e 9,5 para águas destinadas ao abastecimento. Para efluentes tratados, a Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011 (BRASIL, 2011b), recomenda valores de pH entre 5,0 e 9,0. Essas faixas de pH têm como objetivo minimizar a corrosão e a incrustação nas linhas de distribuição, além de evitar as degradações ambientais ao longo dos rios que recebem esses efluentes.

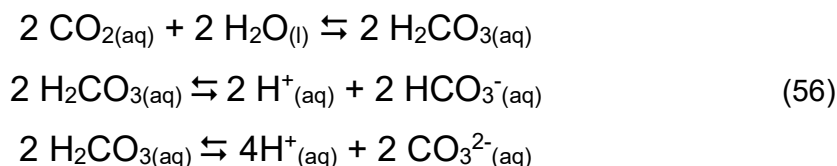
A medição de pH é feita por método potenciométrico (NBR 14339, 1999) e baseia-se na determinação da atividade iônica dos íons H^+ presentes nas amostras. Essa medição ocorre com a utilização de um eletrodo padrão de referência. Operacionalmente, um potenciômetro é calibrado utilizando a atividade iônica presente em soluções tampão de referência e o pH amostral é obtido através da diferença potenciométrica entre as amostras e o referencial, eq. (55)

$$pH = pH_B \pm \frac{F(E - E_B)}{2303RT} \quad (55)$$

onde, pH representa o pH amostral; pH_B representa o pH da solução tampão de referência; F é a Constante de Faraday ($9,649 \times 10^4 \text{ C.mol}^{-1}$); E é a força eletromotriz produzida pelos íons dissolvidos nas amostras, em Volts; E_B é a força eletromotriz produzida pelos íons dissolvidos nas soluções tampão de referência, utilizadas para calibração do aparelho, em Volts; R é a constante dos gases ideais, igual a $8,314 \text{ J (mol K)}^{-1}$; e T a temperatura amostral, em Kelvin (APHA-AWWA-WEF, 2005b).

4.13.2. Alcalinidade e Dureza

Alcalinidade é o caráter tamponante dos corpos de águas (DICKSON, 1981). Ou seja, a capacidade da água em manter o equilíbrio ácido-básico, eq. (56).



Esse parâmetro mede a concentração dos íons básicos, CO_3^{2-} , HCO_3^- e OH^- , que são incorporados naturalmente ou pela ação contaminante de resíduos industriais e domésticos (APHA-AWWA-WEF, 2005c). Variações na alcalinidade dificultam o controle da qualidade da água, principalmente na instabilidade do pH ocasionando corrosões, incrustações e complicações ambientais (YAN et al., 2008).

A Dureza Total da água é definida como a somatória da concentração dos íons $\text{Ca}(\text{II})$ e $\text{Mg}(\text{II})$ presentes nos corpos de águas (SAURINA et al., 2002). Esse parâmetro, comumente associado à habilidade da água de precipitar sabão (APHA-AWWA-WEF, 2005d), é um importante fator de qualidade da água, quando destinada ao consumo doméstico e à produção industrial (VIERO et al., 2002). Águas duras podem provocar problemas em tubulações de água quente, em aparelhos de cozinha, instalações de abastecimento de águas para caldeiras, etc. (MALAKOOTIAN et al., 2010).

A legislação vigente (BRASIL, 2011a), recomenda que o valor de alcalinidade e dureza seja, no máximo, de $500,0 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ para águas e efluentes tratados. Essa legislação objetiva minimizar a incrustação e interrupção nas linhas de distribuição, além evitar aspectos desagradáveis como cor e sabor da água de abastecimento.

As metodologias convencionais utilizadas nesta Tese para determinação de Alcalinidade e Dureza Total em amostras de água foram baseadas em Titulometria de Neutralização (NBR 13736, 1996; APHA-AWWA-WEF, 2005c) e Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS – *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) (NBR 13812, 1997; APHA-AWWA-WEF, 2005e), respectivamente.

Medidas de Alcalinidade são obtidas por titulações de neutralização empregando H_2SO_4 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ou HCl $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ como titulantes. Expressa em equivalentes de miligrama de CaCO_3 por litro ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$), as quantidades dos íons CO_3^{2-} , HCO_3^- e OH^- podem ser determinadas pelo uso de soluções orgânicas que indicam as mudanças de pH ao longo da reação até o ponto de interesse ou equivalência.

Essa mudança é indicada pela eq. (56), pág. 54, onde as formas iônicas que provocam mudanças na alcalinidade da água, estão intensamente interligadas, e que qualquer modificação na concentração desses íons irá afetar o pH, o equilíbrio químico e a capacidade tamponante das amostras (SAWYER et al., 2003).

Para a determinação de metais que causam Dureza na água foi utilizado FAAS. A Espectrometria de Absorção Atômica por Chama é uma técnica onde a amostra é aspirada por um nebulizador e introduzida em uma chama que funciona como um atomizador dos analitos. Essa chama é alimentada por um gás combustível – acetileno, por exemplo – e por um gás oxidante como o ar ou óxido nitroso (AMORIM et al., 2008), onde o solvente é evaporado, e os sólidos remanescentes são atomizados.

Átomos obtidos após a nebulização, no estado fundamental, são capazes de absorver energia luminosa em um comprimento de onda específico, alcançando um estado excitado. Aumentando-se o número de átomos presentes no caminho ótico, pode-se aumentar a quantidade de radiação absorvida. A quantidade de energia absorvida em determinado comprimento de onda específico é proporcional à concentração do metal presente na amostra. Nos casos de Ca(II) e Mg(II) os comprimentos utilizados para determinação após a atomização são iguais a 422,7 e 285,2 nm, respectivamente (APHA-AWWA-WEF, 2005e).

4.13.3. Íons Cloretos, Fluoretos e Ferro Totais

A concentração de íons cloretos é um importante parâmetro físico-químico para o controle produtivo em várias áreas econômicas como setor ambiental, industrial, sanitário e de saúde, sendo um fator químico fundamental para o controle de águas potáveis (DE GRAAF et al., 2015; MARTIN; NARAYANASWAMY, 1997).

Cloretos estão presentes tanto em águas superficiais, quanto em águas subterrâneas, sendo oriundos de fontes naturais provenientes da decomposição de materiais orgânicos, de solos ricos em sais minerais, da mistura de água doce com água salgada em áreas costeiras entre outros fatores.

Esses íons podem ter origem de fontes antropogênicas, que estão fortemente relacionadas às atividades empresariais que utilizam os corpos de água. Como exemplos de fontes antropogênicas, podem-se citar efluentes urbanos que vão para os corpos de água, o uso de fertilizantes inorgânicos, lixiviações de aterros sanitários, efluentes de tanques sépticos, dissolução de ração animal e efluentes industriais (WHO. SDE. WSH, 2008). Dentre essas fontes, destaca-se os resíduos urbanos que podem demonstrar níveis elevados de consumo dos íons sódio (Na^+) pela população.

A concentração dos íons Na^+ e Cl^- em águas subterrâneas, após tratamento, podem variar de $75,0 \text{ mg L}^{-1}$ a $150,0 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, apesar da legislação brasileira (BRASIL, 2011a) estabelecer que concentrações de até $250,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Cl^- em corpos de águas são aceitáveis. Porém, níveis elevados desses dois íons, tendem a indicar contaminação dos corpos de água por esgoto, já que estão presentes em diversos subprodutos de limpeza urbana. Além desse fato, concentrações elevadas do íon Na^+ , podem indicar consumo excessivo de alimentos industrializados, fator que tende a ser relacionado a problemas de saúde da população (NEW HAMPSHIRE DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL SERVICES, 2010).

Considerado como um dos dez mais importantes avanços da saúde pública no Brasil, o processo de fluoretação de águas de abastecimento tem como objetivo aplicar íons F^- no controle da cárie dentária. O seu uso, sob diversas formulações químicas, são administradas no tratamento da água potável fornecida à população, sendo um dos métodos mais eficientes para o controle sanitário quando ministradas em concentrações adequadas (MOTTER et al., 2011).

A OMS recomenda o limite máximo de concentração na água de $1,5 \text{ mg F}^- \text{ L}^{-1}$ (WHO, 2011). Altos níveis de concentração de flúor podem causar graves problemas de saúde para o ser humano, como a Fluorose Dental (CASTRO et al., 2014), problemas gastrointestinais e neurológicos (PARHAM; RAHBAR, 2009) além de grandes implicações nos processos industriais e biológicos que dependem de corpos de água. Tudo isso torna essencialmente importante o monitoramento desse íon (MATSUNAGA et al., 2006).

O ferro é outro elemento importante no controle de potabilidade da água, e está presente, naturalmente, em vários tipos de rocha e solos. São encontrados, naturalmente, em estado de oxidação 2, como Fe^{2+} , e no estado de oxidação 3, como Fe^{3+} (ONDIGO et al., 2013). Destaca-se o Fe(II) , que possui enorme importância nos estudos médicos e biológicos (LIEU et al., 2001), sendo absorvido pelos seres vivos principalmente de fontes alimentares e pela água.

Devido ao escoamento de rejeitos industriais, urbanos e agrícolas contendo ferro, os níveis naturais do íon Fe(II) nos corpos de água podem ser modificados e, conseqüentemente, provocar prejuízos ao meio ambiente e ao consumo de água (ACHTERBERG et al., 2001). A ingestão excessiva de ferro pode causar problemas hemorrágicos, diarreias e complicações hepáticas (SIQUEIRA et al., 2011). O Ministério da Saúde recomenda a ingestão diária de aproximadamente 15,0 mg (KLEIN et al., 2011) e define o limite máximo de $0,3 \text{ mg Fe}^{2+} \text{ L}^{-1}$ na água destinada para consumo (BRASIL, 2011a).

Titulometria de Complexação e Espectrofotometria de Absorção no Ultravioleta Visível (UV-VIS) foram utilizados como metodologias convencionais para determinação de Cloreto (NBR 13797, 1997; APHA-AWWA-WEF, 2005f), Fluoreto (NBR 13737, 1996; APHA-AWWA-WEF, 2005g) e Ferro Total (NBR 13934, 1997; APHA-AWWA-WEF, 2005h) para amostras de água, respectivamente.

A complexação dos íons cloretos ocorre em meio neutro, com adição de AgNO_3 como titulante, e K_2CrO_4 , como indicador. O ponto final é indicado com a formação do sobrenadante de Ag_2CrO_4 de cor vermelha (EPA, 1994).

Para quantificação dos íons F^- e Fe^{2+} , utilizou-se Espectrofotometria na região UV-VIS. Consiste em uma das técnicas analíticas mais empregadas em diversas áreas como Química, Ciências Biológicas e Farmacêuticas, em função da diversidade de análises qualitativas de inúmeras espécies orgânicas e inorgânicas, além de ser utilizada em amostras bioquímicas em diferentes tipos de materiais. Os procedimentos analíticos envolvem medidas diretas de espécies que absorvem radiação e podem ser hifenadas à diversas técnicas ou processos como Cromatografia, Eletroforese e Análises em Fluxo (ROCHA; TEIXEIRA, 2004).

A Espectrofotometria é um método fundamentada na lei de Lambert-Beer, que relaciona, quantitativamente, os graus de absorção da radiação nas regiões do ultravioleta, do visível e do infravermelho do espectro eletromagnético, com as

concentrações das moléculas absorventes que estão ligadas aos analitos (OWEN, 1996; SKOOG et al., 2006).

EXPERIMENTAL

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. DETERMINAÇÃO DO pH

5.1.1. Amostras e padrões

Dezesseis soluções tampão com pH entre 5,0 e 8,7 e uma solução iônica de pH 9,0 foram preparadas com H_3PO_4 (Sigma-Aldrich, 85%), NaH_2PO_4 (Sigma-Aldrich, 98%) e Na_2HPO_4 (Sigma Life Science, 98%), Tabela 1.

O pH de cada solução foi ajustado com adição de H_3PO_4 concentrado, ou de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (Sigma-Aldrich, 98%), e o valor final foi aferido com pHmetro PHTEK PHS-3B, conforme as normas vigentes (NBR 14339, 1999; APHA-AWWA-WEF, 2005b).

Tabela 1. Relação entre a concentração dos íons HPO_4^{2-} e H_2PO_4^- , em mol L^{-1} , para o preparo de soluções na faixa de pH entre 5,0 e 9,0.

pH	$[\text{HPO}_4^{2-}] / [\text{H}_2\text{PO}_4^-]$	pH	$[\text{HPO}_4^{2-}] / [\text{H}_2\text{PO}_4^-]$
5,0	0,01	7,2	1,29
5,2	0,02	7,5	2,57
5,5	0,03	7,7	4,07
5,7	0,04	8,0	8,13
6,0	0,08	8,2	12,88
6,2	0,13	8,5	25,70
6,5	0,26	8,7	40,74
6,7	0,41	9,0	81,28
7,0	0,81		

5.1.2. Coloração das amostras

Azul de Bromotimol (Merck, 89%) foi utilizado como indicador ácido-base. Sua estrutura planar (PUBCHEM, 2015a) é apresentada na Figura 20, com $\text{pK}_a = 7,1$ e com faixa de viragem descrita por: cor amarela ($\text{pH} < 6,0$), cor verde ($6,0 \leq \text{pH} \leq 7,6$) e cor azul ($\text{pH} > 7,6$).

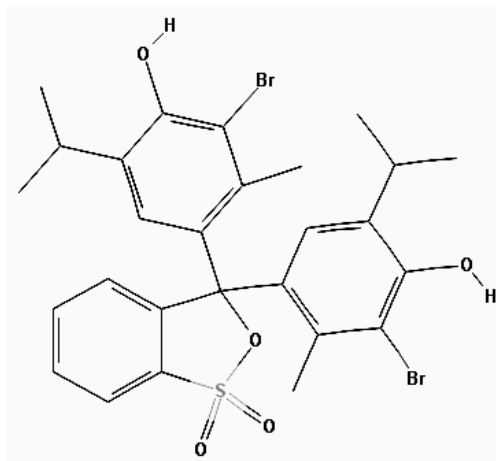


Figura 20. Fórmula estrutural plana do azul de bromotimol. Fonte: (PUBCHEM, 2015a).

5.1.3. Obtenção e processamento das imagens digitais

Alíquotas de 20,0 μL das soluções tampão, que foram destinadas à construção do modelo de calibração e validação interna, e amostras de águas potáveis, utilizadas para validação externa, foram transferidas para uma microplaca de poliestireno de alta transparência (placa para cultura celular) nas posições A10 a H12 e A5 a H6, respectivamente. Em seguida, foram adicionados 4,0 μL de uma solução indicadora de azul de bromotimol 0,10% (MORITA; ASSUMPÇÃO, 2007).

Essa placa foi colocada no centro de um scanner de mesa (HP 2400) e o software *Scanitto Pro* (MASTERS ITC, 2014), versão 2.7.15.198, foi utilizado para configurar o scanner para a obtenção das imagens no espaço RGB, formato BMP e resolução de 300 dpi.

Foram feitas quatro leituras no scanner. Análises com PCA, feita com essas imagens, demonstraram que a primeira imagem obtida apresentava tons diferentes das demais, Figura 21. Essa observação foi atribuída ao processo de aquecimento da CCD do scanner utilizado no processo experimental. Logo, das quatro imagens geradas, a primeira foi descartada.

Uma imagem da placa com as soluções após adição do indicador consta na Figura 22(a). A análise dos dados foi realizada utilizando o software MATLAB 7.12 (The MathWorks Natick, USA), com auxílio do pacote computacional PLS ToolBox 7.9 (Eigenvector Research Inc., Manson, USA) empregado na calibração multivariada.

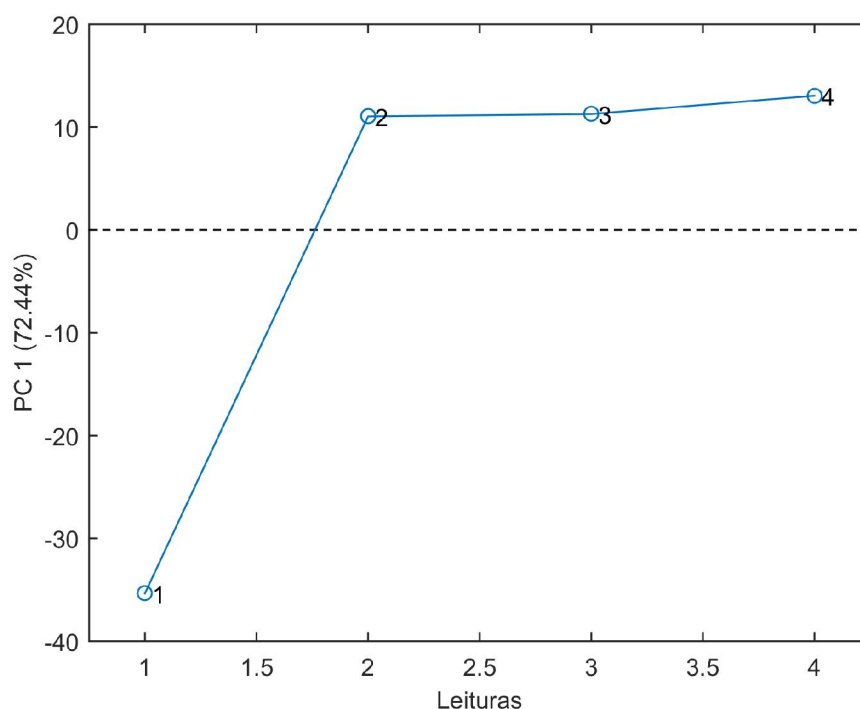


Figura 21. PCA das quatro leituras realizadas pelo scanner em amostras para determinação de pH.

Após a obtenção das triplicatas das imagens digitais da placa contendo as 26 amostras, Figura 22(a), regiões de interesse dessas imagens foram selecionadas conforme a Figura 22(b), com a função *regionprops*, gerando novas imagens.

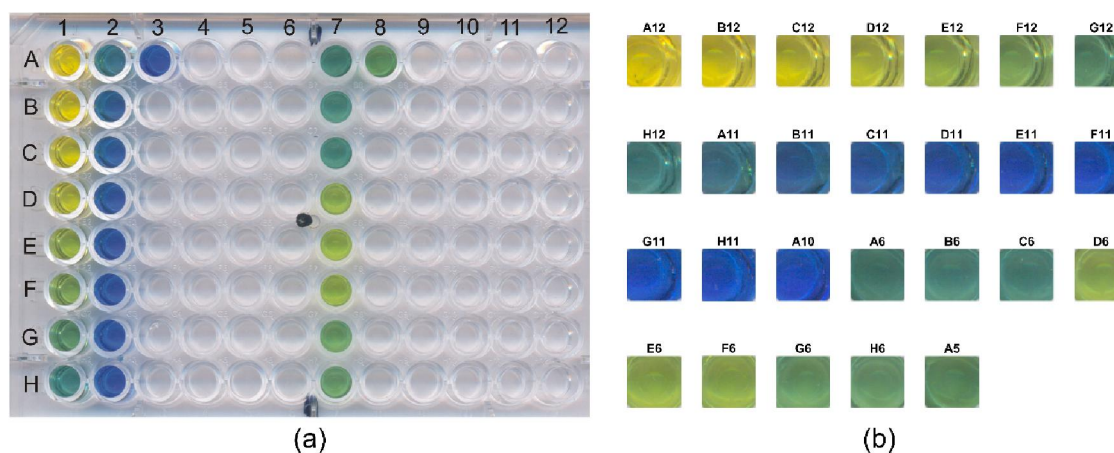


Figura 22. (a) Placa de cultura contendo as amostras das 17 soluções tampões de pH entre 5,0 e 9,0, após adição de azul de bromotimol, usadas na construção do modelo PLS (colunas 10 a 12) e as 9 amostras de validação externa (colunas 5 e 6); (b) Imagens das 26 regiões selecionadas (uma para cada amostra).

5.2. DETERMINAÇÃO DE ALCALINIDADE, DUREZA TOTAL, DUREZA Ca e DUREZA Mg

5.2.1. Reagentes

Soluções estoque de Na_2CO_3 1000,0 mg L^{-1} (Synth, São Paulo, Brasil) e de uma mistura em proporção 1:1 de duas soluções estoque. A primeira, de CaCO_3 0,5 mg L^{-1} (Synth, São Paulo, Brasil) e a segunda, de MgCO_3 0,5 mg L^{-1} (Synth, São Paulo, Brasil), foram previamente preparadas para construção das curvas de calibração destinadas a determinação do teor de Alcalinidade, Dureza Total e Dureza Ca, respectivamente.

Foram preparadas soluções metanólicas de Azul de Timol 2,0% (m/v) (Merk, ACS, Darmstadt, Alemanha) e de Negro de Eriocromo T (ErioT) 1,0% (m/v) (Merk, ACS, Darmstadt, Alemanha). Solução tampão pH 10,0, foi preparado com a dissolução de NH_4Cl em NH_4OH (ACS, Synth, São Paulo, Brasil) e água destilada.

Soluções de HCl 0,02 mol L^{-1} (ACS, Synth, São Paulo, Brasil) e de EDTA 0,01 mol L^{-1} (Synth, São Paulo, Brasil), foram preparadas e padronizadas. Uma nova solução complexante para teste de dureza, chamada de “SD”, foi preparada com a mistura de 5,0 mL de ErioT e 100,0 mL de EDTA 0,01 mol L^{-1} . Essa solução se mostrou estável por, aproximadamente, seis horas à temperatura ambiente ($\approx 25^\circ\text{C}$) apresentando com cor vinho. Após esse tempo, essa solução tornou-se incolor.

5.2.2. Amostras e padrões

- Alcalinidade

Soluções padrão de Na_2CO_3 , com concentração entre 3,7 a 49,3 mg CaCO_3 L^{-1} , foram preparadas para obtenção da curva de calibração de Alcalinidade. As soluções padrão preparadas foram distribuídas pelos poços da microplaca ELISA. As concentrações das soluções constam da Tabela 2. Esses valores foram encontrados por titulometria de neutralização utilizando HCl 0,02 mol L^{-1} .

Dessas treze soluções e das amostras de água potável destinadas à validação externa, volumes de 200,0 μL foram transferidos para os poços da

microplaca ELISA. Em seguida, 40,0 μL de HCl 0,02 mol L^{-1} e 4,0 μL de indicador de Azul de Timol 2,0% foram adicionados.

Tabela 2. Soluções padrão preparadas para obtenção da curva de calibração de Alcalinidade.

Nº	Alcalinidade Total (mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) ^a	Poços (Microplaca ELISA)
1	3,7	A12
2	5,2	B12
3	7,8	C12
4	10,0	D12
5	13,0	E12
6	16,7	F12
7	20,4	G12
8	22,2	H12
9	26,7	A11
10	33,0	B11
11	37,8	C11
12	44,4	A10
13	49,3	B10

^a Método convencional, secção 5.2.4, pág. 68;

- Dureza Total e Cálcio

Treze soluções padrão, com concentrações de Dureza Total entre 0,0 e 35,8 mg L^{-1} CaCO_3 , foram preparadas da solução estoque 1:1, de CaCO_3 e MgCO_3 , descrita na secção 5.2.1, pág. 63, para construção da curva de calibração de Dureza Total, de Dureza Ca e de Dureza Mg.

As concentrações das soluções e a distribuição dessas, ao longo da microplaca ELISA, são apresentadas na Tabela 3. Os resultados que constam nessa tabela foram obtidos por FAAS, ao analisar a concentração dos íons Ca(II) e Mg(II) presentes nas soluções padrão e nas amostras de água potável. Volumes de 150,0 μL dessas soluções foram transferidos para os poços da microplaca ELISA. Em seguida, foram adicionados 40,0 μL de SD e 20,0 μL de tampão pH 10,0.

Tabela 3. Soluções padrão preparadas para obtenção das curvas de calibração para os parâmetros de Dureza Total e Dureza Ca.

N°	Dureza Ca (mg CaCO ₃ L ⁻¹) ^b	Dureza Total (mg CaCO ₃ L ⁻¹) ^b	Poços (Microplaca ELISA)
1	0,0	0,0	A12
2	1,8	3,0	B12
3	3,6	6,0	C12
4	5,4	9,0	D12
5	7,2	12,0	E12
6	8,9	14,9	F12
7	10,7	17,9	G12
8	12,5	20,9	H12
9	14,3	23,9	A11
10	16,1	26,8	B11
11	17,8	29,8	C11
12	19,6	32,8	D11
13	21,4	35,8	E11

^a Método convencional, secção 5.2.4, pág. 68;

5.2.3. Obtenção e processamento das imagens digitais

A placa contendo as alíquotas das soluções padrão, e com as amostras de validação externa, foi colocada no centro de um scanner de mesa. O software *Scanitto Pro*, foi utilizado para configurar o scanner e obter imagens digitais no formato BMP, com espaço de cores RGB e resolução de 300 dpi.

A leitura da placa pelo scanner foi realizada em quatro repetições. Devido a análises com PCA dessas imagens, a primeira leitura descartada^e. A análise dos dados foi realizada utilizando o software MATLAB 7.12, com auxílio do pacote computacional PLS ToolBox 7.9. Nas imagens selecionadas, as rotinas *imabsdiff* e *imcomplement* (MARQUES, 2011) foram aplicadas.

Utilizou-se outras imagens, previamente obtidas, da microplaca ELISA, contendo apenas água destilada, para diminuir os ruídos referentes às sombras

^e Análogo a secção 5.1.3, pág. 60.

projetadas pelos poços e pela intensa reflexão da luz emitida pelo CCD na placa. Após esse tratamento, essas imagens foram segmentadas em regiões menores, utilizando a função *regionprops*. Para cada região da imagem, correspondente às soluções em análise, foram realizados recortes de dimensões de 55x55 *pixels*, Figura 23 e Figura 24.

Esses recortes foram desdobrados em novas estruturas bidimensionais, formadas pela justaposição dos canais R, G e B. Separadamente, de cada canal de cor desdobrado, contendo 256 índices de cores, foram extraídos histogramas de ocorrência de *pixels*. Esses histogramas foram, então, justapostos formando vetores com 768 variáveis para cada recorte (GODINHO et al., 2008).

GA foi utilizado para seleção das variáveis mais relevantes para o modelo PLS (SARKHOSH et al., 2014; YUN et al., 2014). O método GA-PLS foi aplicado seguindo os parâmetros descritos na Tabela 4.

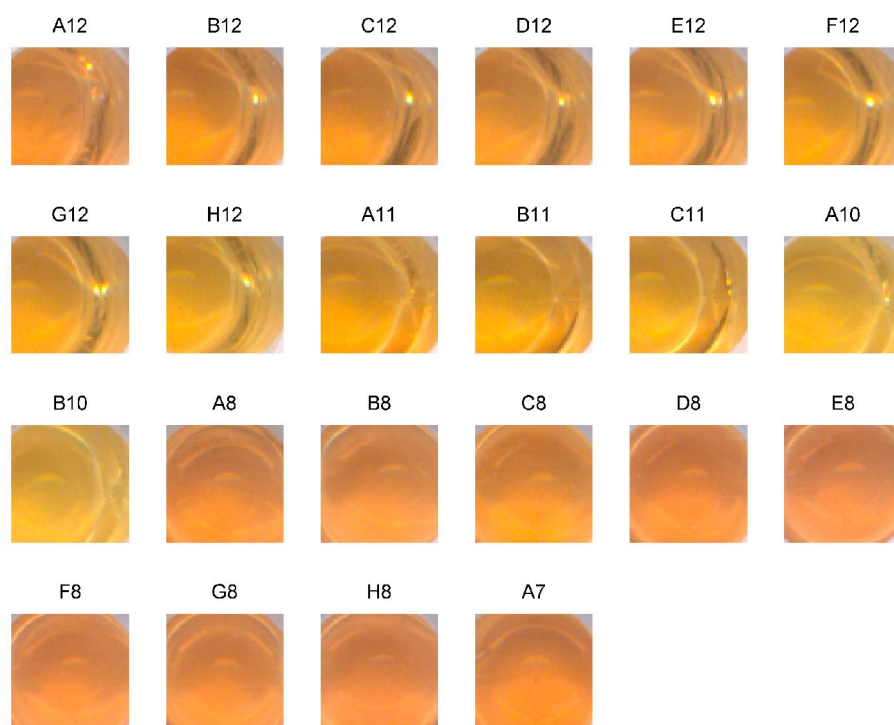


Figura 23. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo amostras de Na_2CO_3 em HCl $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ com concentrações entre $3,7$ e $49,3 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (regiões A12 a B10) empregadas na construção da curva de calibração para determinação de Alcalinidade; e amostras de validação externa (regiões A8 a A7).

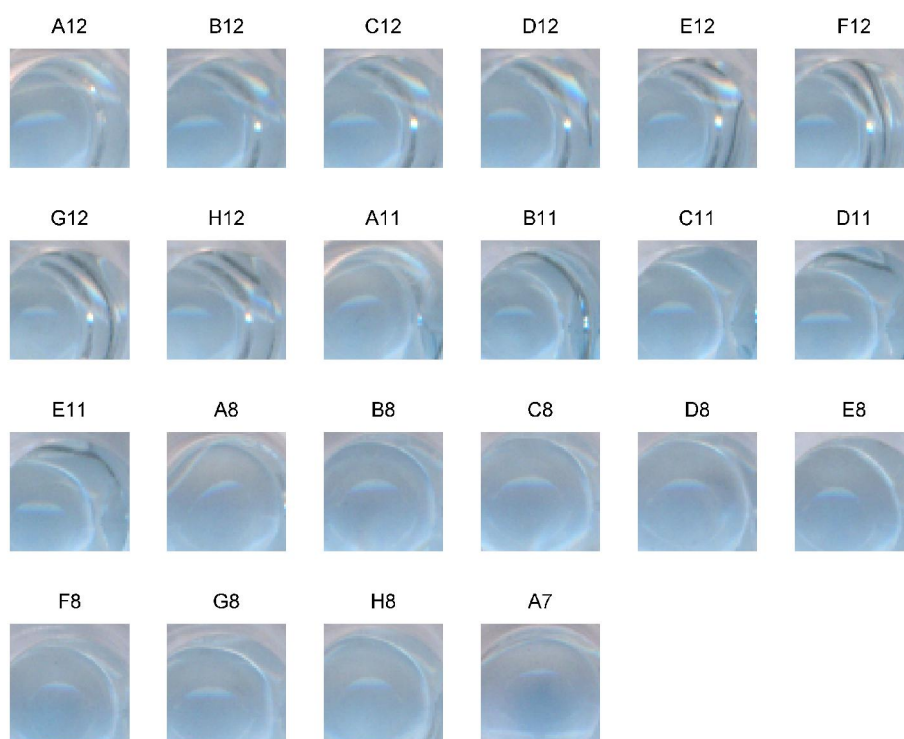


Figura 24. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo amostras de da mistura 1:1 de CaCO_3 e MgCO_3 , com concentração entre 0,0 a 21,4 $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ e 0,0 a 35,8 $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, de Dureza Ca e Dureza Total, respectivamente (regiões A12 a E11) empregadas para construção da curva de calibração e amostras de validação externa (regiões A8 a A7).

Tabela 4. Parâmetros adotados para seleção de variáveis para o modelo GA-PLS.

Tamanho da População:	100,0
Tamanho da Janela:	1,0
Número máximo de variáveis em cada população:	30,0
Probabilidade de convergência:	50,0%
Probabilidade de mutação:	0,5%
Máximo de gerações:	100,0
Número máximo de VLs para o modelo PLS:	4,0
Cross-validation:	Divisões: Aleatório Interações: Aleatório

O filtro OSC (SJOBLOM et al., 1998) e a rotina para centrar dados na média, foram utilizadas como pré-processamento.

5.2.4. Métodos de referência

Os métodos GA-PLS desenvolvidos nesta Tese foram comparados e validados com métodos convencionais. Para Alcalinidade, o método de referência foi a Titulometria de Neutralização com indicador misto de vermelho de metila e verde de bromocresol (NBR 13736:1996).

Para determinação da Dureza, foram consideradas as concentrações dos íons Ca(II) e Mg(II) determinadas por absorção atômica (FAAS). Um espectrofotômetro PerkinElmer, AAnalyst 400, com atomização por chama azul oxidante, com gás acetileno como combustível, nebulização por difusor estático e uso lâmpadas de catodo oco, específicas para Ca ($\lambda=422,7\text{nm}$) e Mg ($\lambda=285,2\text{nm}$), como fontes do comprimento de onda, presente no Laboratório de Química Instrumental do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, foi empregado conforme metodologia (NBR 13812:1997).

5.3. DETERMINAÇÃO DE CLORETOS, FLUORETOS E FERRO

5.3.1. Reagentes

Soluções estoques de NaCl $0,014\text{ mol L}^{-1}$ (Synth, São Paulo, Brasil), NaF $2,4 \times 10^{-4}\text{ mol L}^{-1}$ (Synth, São Paulo, Brasil) e de sulfato ferroso amoniacal hexaidratado ($\text{Fe}[\text{NH}_4]_2[\text{SO}_4]_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) a $6,2 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$ (Synth, São Paulo, Brasil), foram preparadas.

AgNO_3 $2,8 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$ (Pro Quimius, Rio de Janeiro, Brasil), foi preparado e padronizada com a solução padrão de NaCl utilizando K_2CrO_4 a 5,0%.

Soluções de NaAsO_2 a 5,0% (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), uma mistura 1:1 (V/V) de SPADNS (sal trissódico do ácido 4,5-di-hidróxido-3-(para-sulfo-fenil-azo)-2,7-naftileno-dissulfônico) (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) com $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 0,03% (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e Cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}_2\text{Cl}$) 10% (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foram preparadas.

Soluções indicadoras de K_2CrO_4 a 5,0%, dissolvido em água destilada (MORITA; ASSUMPÇÃO, 2007), de SPADNS a 0,2% (NBR 13737:1996) e ortofenantrolina ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) a 0,1% (Synth, São Paulo, Brasil) (NBR 13934:1997),

foram preparadas. Também foram preparadas soluções tamponantes de pH 7,0 e 10,0.

5.3.2. Amostras e padrões

- Íons cloretos

Soluções padrão de cloretos, com concentrações entre 1,9 e 5,2 mg Cl⁻ L⁻¹ foram preparadas. As concentrações das soluções à disposição dessas, ao longo da microplaca ELISA, constam na Tabela 5. Os valores das concentrações foram obtidos por Titulometria de Precipitação com AgNO₃ 2,8x10⁻³ mol L⁻¹.

Volumes de 200,0 µL das soluções padrões e das amostras de água potável destinadas a validação externa, foram transferidas para os poços da microplaca ELISA. Em seguida foram adicionados 40,0 µL de AgNO₃ 2,8x10⁻³ mol L⁻¹, 10,0 µL de tampão pH 7,0 e 4,0 µL da solução indicadora de K₂CrO₄ a 5,0%.

Tabela 5. Soluções padrão preparadas para obtenção das curvas de calibração para o parâmetro Cl⁻.

Nº	Cloretos (mg Cl ⁻ L ⁻¹) ^a	Poços (Microplaca ELISA)
1	1,9	A12
2	2,1	B12
3	2,3	C12
4	2,4	D12
5	2,7	E12
6	2,9	F12
7	3,2	G12
8	3,6	H12
9	3,8	A11
10	4,3	B11
11	4,6	C11
12	5,0	A10
13	5,2	B10

^a Método convencional, seção 5.3.4, pág. 76;

- Íons Fluoretos

Onze soluções padrão foram preparadas, a partir da solução estoque de NaF, para construção das curvas de calibração de cloretos. As concentrações dessas soluções e a disposição dessas, ao longo da microplaca ELISA, constam na Tabela 6. Esses valores foram obtidos com análise das soluções com Espectrofotometria UV-VIS.

Volumes de 200,0 μL dessas soluções e das amostras de água potável foram transferidos para os poços da microplaca ELISA. Em seguida, a essas frações, adicionou-se 20,0 μL de NaAsO₂ a 5,0%. Após a adição dos íons AsO₃⁻, o meio reacional foi mantido em repouso, por um minuto. Em seguida foi colocado no meio reacional, 40,0 μL da mistura 1:1 de solução de SPADNS e solução ZrOCl₂ previamente preparadas.

Tabela 6. Soluções padrão preparadas para obtenção das curvas de calibração para o parâmetro de fluoreto.

Nº	Fluoreto (mg F ⁻ L ⁻¹) ^a	Poços (Microplaca ELISA)
1	0,2	A12
2	0,3	B12
3	0,5	C12
4	0,6	D12
5	0,7	E12
6	0,8	F12
7	0,9	G12
8	1,0	H12
9	1,1	A11
10	1,2	B11
11	1,4	C11

^a Método convencional, seção 5.3.4, pág. 76;

- Íons ferroso

Foram preparadas, soluções padrão de íon Fe(II), com concentração entre 0,1 e 8,0 mg Fe²⁺ L⁻¹, a partir da solução estoque de FeCl₃. A concentrações constam na Tabela 7.

Para o preparo das amostras, volumes de 50,0 mL das soluções padrão foram transferidos para balões de 100,0 mL. Nesses balões foram adicionados 2,0 mL HCl P.A. (ACS, Synth, São Paulo, Brasil) e 1,0 mL de $\text{NH}_2\text{OH}_2\text{Cl}$ 10,0%.

Tabela 7. Soluções padrão preparadas para obtenção das curvas de calibração para o parâmetro de Ferro (II).

Nº	Ferro (II) (mg Fe^{2+} L ⁻¹) ^a	Poços (Microplaca ELISA)
1	0,1	A12
2	0,8	B12
3	1,2	C12
4	1,6	D12
5	2,0	E12
6	2,8	F12
7	3,5	G12
8	5,1	H12
9	6,1	A11
10	7,0	B11
11	8,0	C11

^a Método convencional, secção 5.3.4, pág. 76;

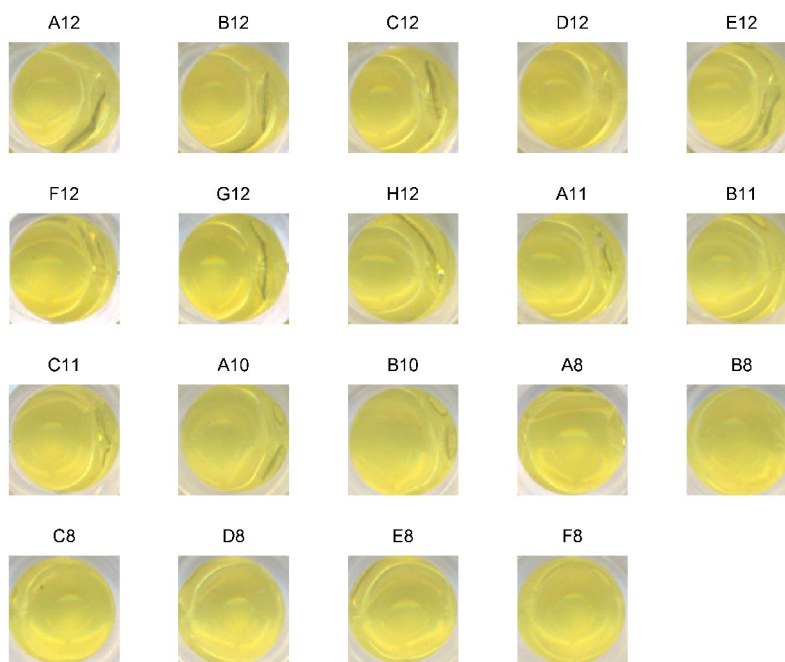
O meio reacional foi deixado em repouso por 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 10,0 mL da solução tampão pH 10,0 e 4,0 mL de $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ 0,1%, completando em seguida, os balões até 100,0 mL com água destilada.

Após a adição de $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ e do tampão de pH 10,0, o meio reacional foi mantido em repouso, por 10 minutos. Em seguida, foram transferidos 200,0 μL das últimas diluições para os poços da placa de ELISA.

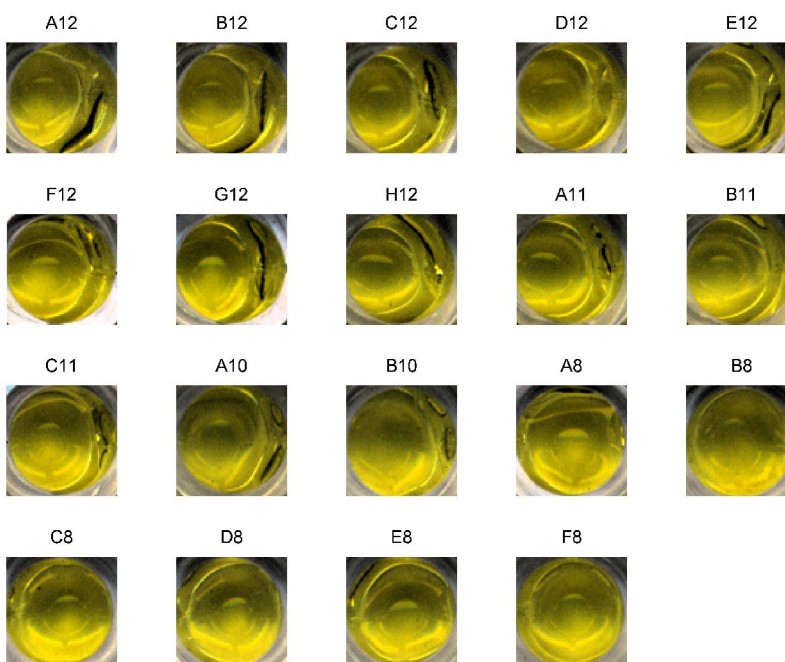
5.3.3. Obtenção e processamento das imagens digitais

As imagens foram obtidas com scanner de mesa. O software *Scanitto Pro* foi utilizado para configurar o scanner na obtenção das imagens digitais no formato BMP, com espaço de cores RGB e resolução de 300 dpi. A leitura e a seleção dos dados foram realizadas como descrita na secção 5.2.3, pág. 65.

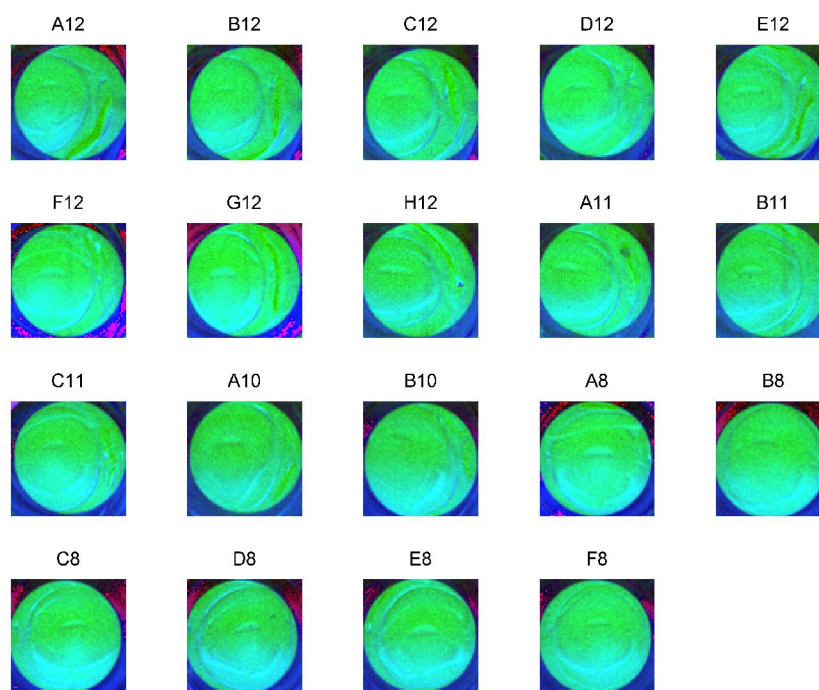
Nas amostras destinadas à construção da curva de cloretos, os recortes das imagens digitais foram realizados em imagens RGB de dimensões 55x55 *pixels*, Figura 25(a). Após os recortes, o filtro *imadjust* foi aplicado para diminuir os ruídos referentes à dispersão da luz do CCD e aumentar a nitidez das imagens, Figura 25(b). Em seguida, essas imagens foram convertidas para o sistema HSI, Figura 25(c).



(a)



(b)



(c)

Figura 25. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo as amostras das soluções para a análise de cloretos. As regiões, A12 a B10, referem-se às amostras, entre 1,9 a 5,2 mg $\text{Cl}^- \text{L}^{-1}$, empregadas na calibração; as regiões, A8 a F8, referem-se às amostras da validação externa: (a) Imagens RGB; (b) Imagens após o filtro *imadjust*; (c) Imagens HSI.

Para amostras das soluções empregadas nas análises de fluoretos, os recortes foram realizados com imagens RGB, Figura 26(a). Em seguida, essas imagens foram convertidas para o sistema XYZ, Figura 26(b), e desdobradas em vetores formados pela justaposição dos canais X, Y e Z.

Nas amostras destinadas à construção da curva de Fe(II), os recortes foram realizados com imagens RGB, Figura 27(a). Nesses recortes, aplicou-se o filtro *imadjust* para diminuir os ruídos referentes à dispersão da luz do CCD e aumentar a nitidez das imagens, Figura 27(b).

Em seguida, as imagens foram convertidas para o sistema YCbCr, Figura 27(c). Esses recortes, inicialmente com um arranjo tridimensional, foram desdobrados em uma nova estrutura bidimensional, formada pela justaposição dos canais Y, Cb e Cr respectivamente.

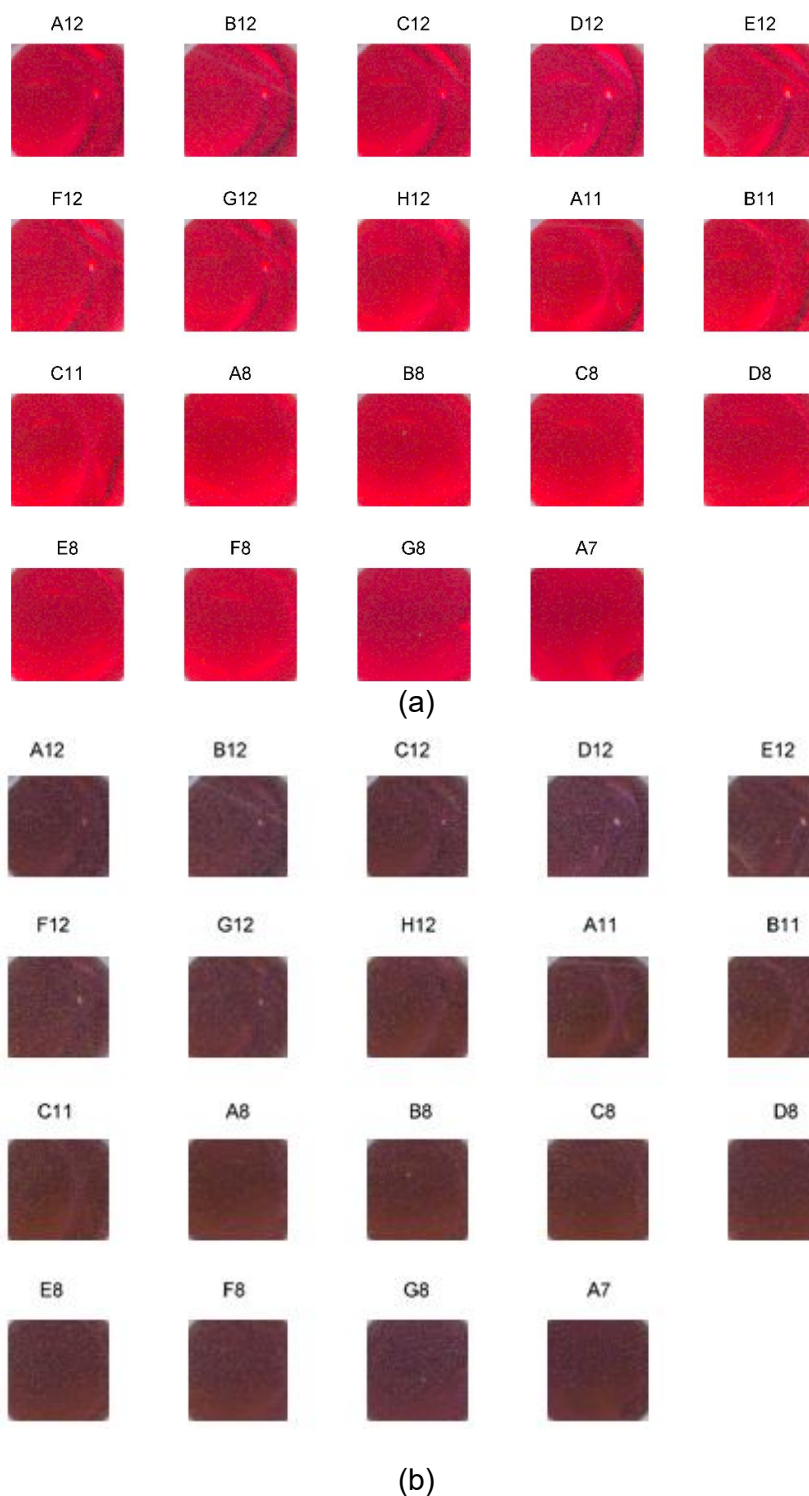
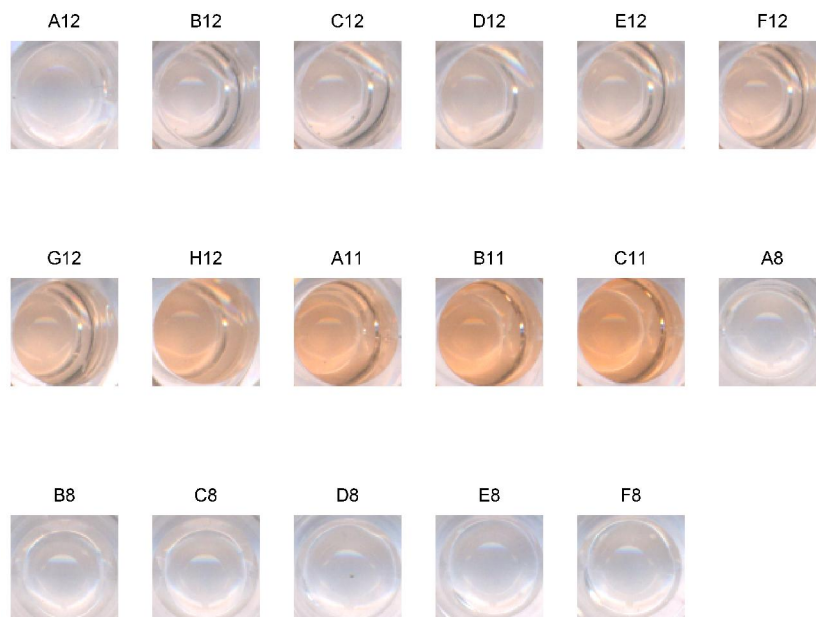
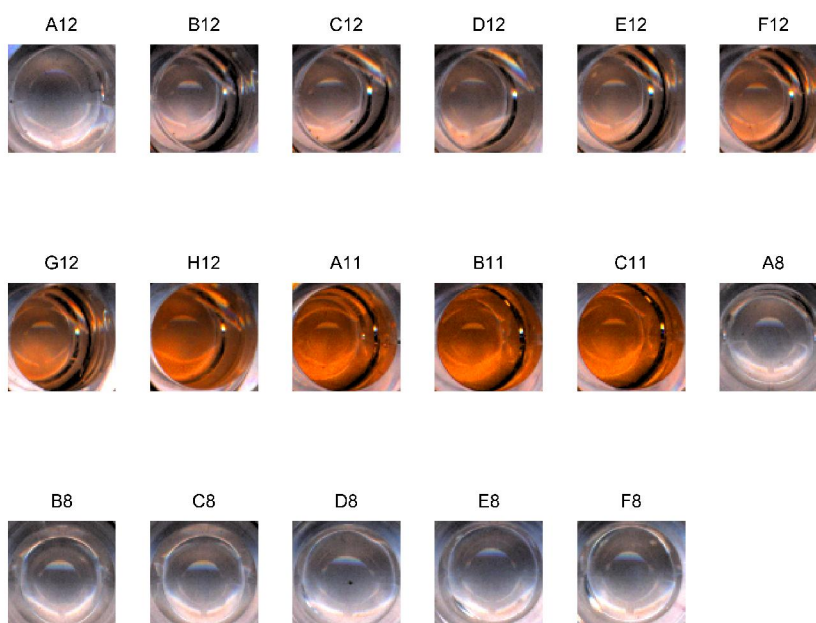


Figura 26. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo as amostras das soluções para a análise de fluoretos. As regiões, A12 a C11, referem-se às amostras, entre 0,2 a 1,4 mg F⁻ L⁻¹ empregadas na calibração; as regiões, A7 a A8, referem-se às amostras da validação externa. (a) Imagens RGB; (b) Imagens XYZ.

Para cada canal de cor desdobrado foram extraídos histogramas de ocorrência dos 256 índices de cores dos *pixels*. Em seguida, esses histogramas foram justapostos, formando uma matriz de dimensões do número de amostras x 768 colunas.



(a)



(b)

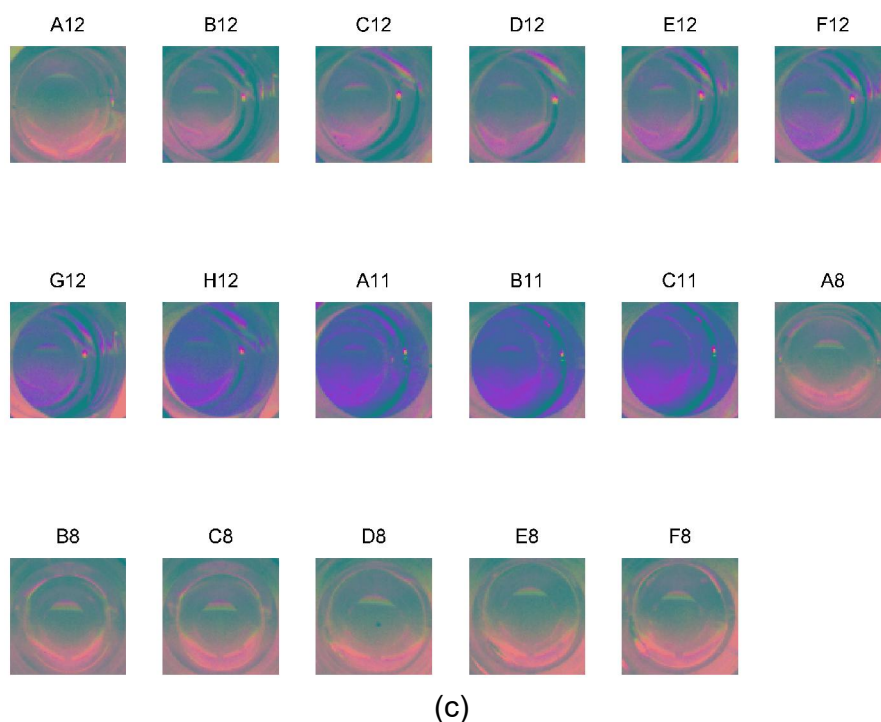


Figura 27. Recortes das imagens obtidas da placa ELISA contendo as amostras das soluções para a análise de Ferro. As regiões, A12 a C11, referem-se às amostras, entre 0,1 a 8,0 mg $\text{Fe}^{2+} \text{ L}^{-1}$, empregadas na calibração; as regiões, A8 a F8, referem-se às amostras da validação externa: (a) Imagens RGB; (b) Imagens com o filtro *imadjust*; (c) Imagens YCbCr.

Após a justaposição, o GA foi utilizado para seleção de variáveis, e desenvolver modelos mais robustos para análise de amostras reais, seguindo os parâmetros descritos na Tabela 4, pág. 67. Após o GA, foi aplicado o filtro OSC e os dados foram centrados na média como pré-processamento.

5.3.4. Métodos de referência

Os métodos GA-PLS desenvolvidos nesta Tese foram comparados com análises realizadas seguindo as metodologias convencionais. Para a determinação dos íons Cl^- foi utilizada Titulometria de Precipitação com indicador de K_2CrO_4 , de acordo com norma brasileira (NBR 13797:1997).

A determinação dos íons F^- e Fe (II) foi realizada por espectrofotometria na região do visível, com o uso de um espectrofotômetro UV-VIS, modelo Femto, 700

Plus, com faixa espectral de 195,0 a 1100,0 nm e ajuste automático de 100,0 %T. Foram utilizadas cubetas de quartzo de 16x100 mm, com $\lambda=570,0$ nm para ambos os íons, em acordo com as normas brasileira vigentes (NBR 13737:1996; NBR 13934:1997).

Resultados e Discussão

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. MODELO PARA DETERMINAÇÃO DE pH

As soluções tampão (Tabela 1, pág. 60) e as amostras de água potável foram diferenciadas pela adição do indicador azul de bromotimol, cujas cores variaram conforme a mudança do pH. A cor amarela, indicou o meio ácido, conforme a posição A12 na microplaca (Figura 22, pág. 62), que contém uma solução tampão de pH 5,0. A cor verde, posição G12 na microplaca ELISA, demonstrou o meio próximo ao neutro, com solução tampão de pH 6,5. A cor azul, em meio básico, posição A10 na microplaca, contém solução tampão de pH 9,0. As imagens, obtidas em triplicata, foram segmentadas e, em seguida, foram decompostas em imagens monocromáticas, referentes aos canais R, G e B, como ilustrado na Figura 13, pág. 32.

Em seguida, de cada segmento dos poços, referentes às soluções tampão e de amostras água potável, foram obtidos três histogramas de ocorrência de índices (ou intensidades) das cores, extraídos dos canais R, G e B, respectivamente. Esses histogramas foram justapostos, formando um vetor de histograma de cor. Esse processo é representado na Figura 28.

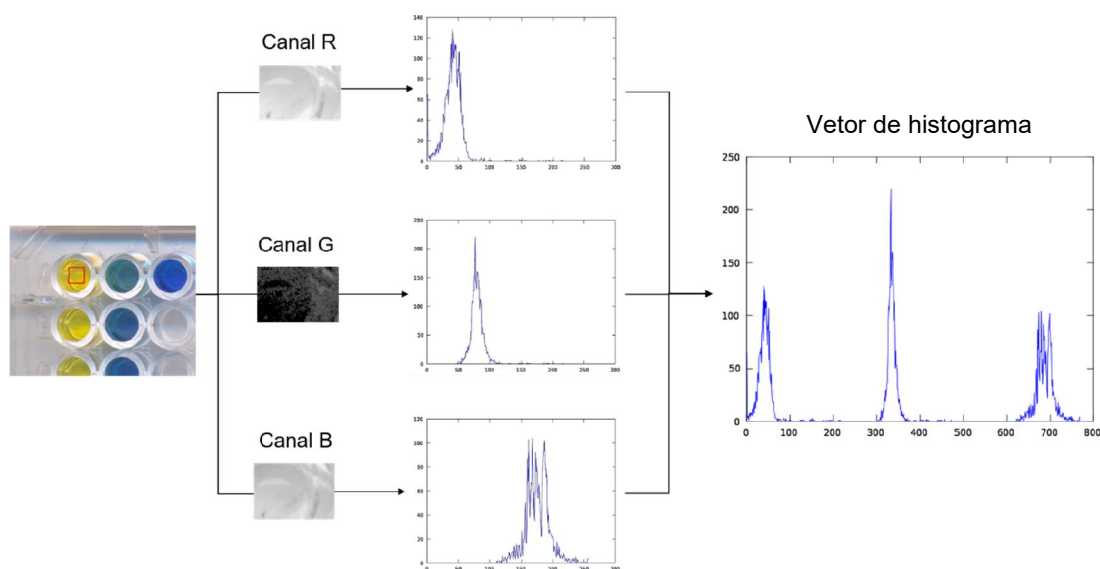


Figura 28. Fluxograma de extração de um vetor de histograma de cor da solução tampão de pH 5,0.

Esse processo foi realizado em triplicata. Logo, para cada segmento dos poços, foram extraídos, três vetores. Com esses vetores, foram feitas médias. Para melhor entendimento, nesta Tese, a média dos vetores serão chamados de histogramas médios.

Em seguida foi construída uma matriz de dimensões 26x768, contendo os histogramas médios de cores, Figura 29. Os histogramas de número 1 a 17, representam as imagens das soluções tampão preparadas para construção do modelo de regressão.

Percebe-se, na Figura 29, que os histogramas médios – que são representações gráficas das matrizes de dados resultantes do processamento das imagens digitais – traz semelhança com espectros de amostras comumente analisadas em laboratórios. No entanto, essa figura representa um conjunto amostras cujas variáveis analisadas estão relacionadas à cor, com diferentes intensidades.

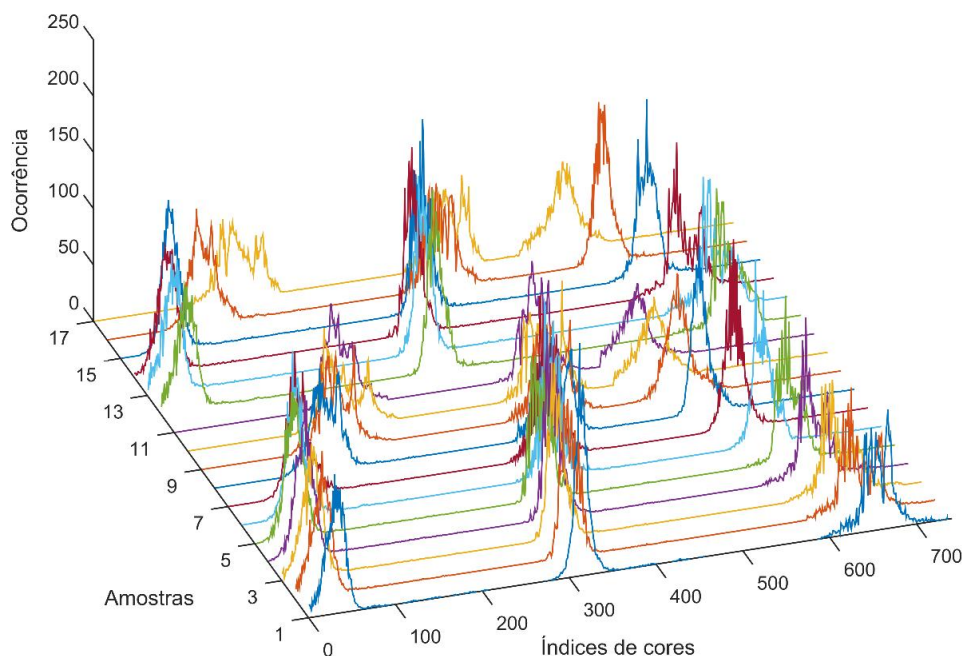


Figura 29. Histogramas médios de cor das imagens digitais RGB para as 26 amostras usadas na regressão PLS, para determinação do pH.

Em seguida, os dados foram subdivididos entre 11 amostras no conjunto de calibração e 6 amostras no conjunto de previsão. As amostras do conjunto de calibração incluíam os dois extremos da faixa de pH, além de serem igualmente espaçadas. Os dois conjuntos para calibração e previsão foram centrados na média,

como pré-processamento, com o objetivo de diminuir a dispersão dos sinais com baixa intensidade.

O número de LVs foi escolhido utilizando validação cruzada com divisão por *leave one out* (BRERETON, 2007), com base nos menores valores RMSECV. Os melhores modelos, utilizaram 4,0 LVs. O modelo PLS desenvolvido correlacionou os valores de pH, estimados por potenciometria, com os histogramas médios de cores. Os coeficientes desse modelo são apresentados na Figura 30. Essa figura, mostra as variáveis dos histogramas médios, apresentados na Figura 29, que mais contribuíram para previsão dos valores de pH.

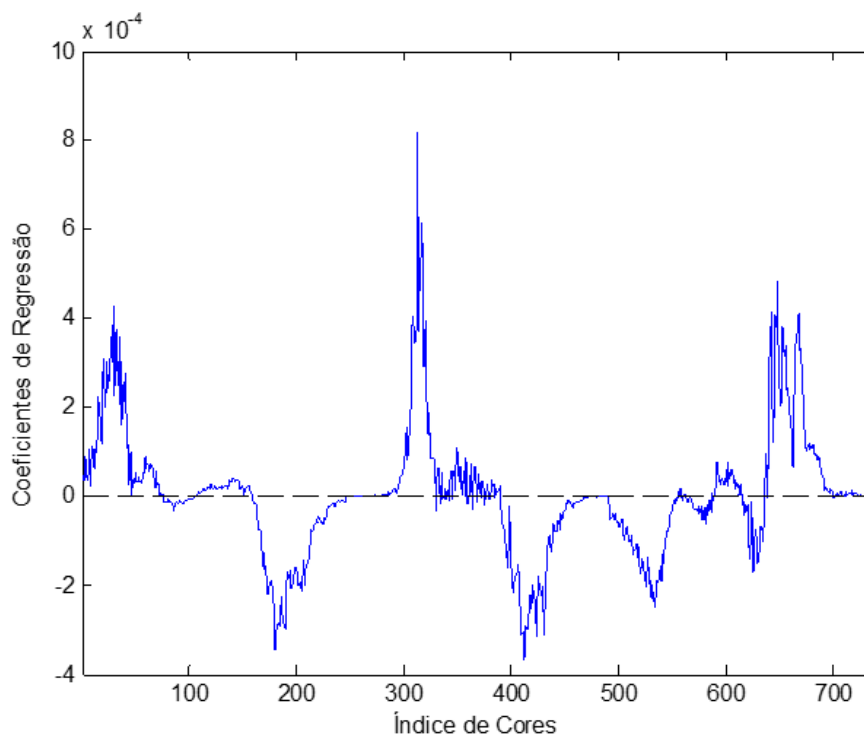


Figura 30. Coeficientes da regressão PLS para determinação de pH.

As regiões com maiores incidências de cores, próximas a 300 e, entre as regiões 630 e 700, Figura 30, indicaram a variação de cor observada nas imagens das soluções tampão após adição do indicador, Figura 22, pág. 62.

Existem três mudanças significativas nos histogramas que podem ser diretamente relacionadas com as propriedades químicas do indicador. A primeira, na região 200, refere-se à mudança de amarelo para verde ($5,0 < \text{pH} < 6,0$). A segunda, em torno de 400, refere-se à mudança de verde para azul ($6,0 < \text{pH} < 7,6$); e a última, menos acentuada, na faixa de 500 a 630, refere-se à intensificação da cor azul ($\text{pH} > 7,6$).

Analogicamente aos resultados de Botelho e colaboradores (BOTELHO et al., 2013), infere-se que, nessas regiões, as mudanças de tonalidades das principais cores, ao longo da microplaca ELISA, equivalentes à variação de pH das soluções tampão, foram representadas pelos os picos de valores negativos da Figura 30, sendo constituintes inversamente correlacionados na construção do modelo PLS para determinação do pH.

6.1.1. Validação analítica do modelo PLS para pH

A Tabela 8 resume os parâmetros estimados para a avaliação das FOMs do modelo PLS, proposto para previsão do pH em amostras de águas potáveis utilizando imagens digitais. A veracidade do modelo foi avaliada utilizando os valores de RMSEC, RMSECV e RMSEP. Os valores encontrados para esses três parâmetros foram 0,10, 0,31 e 0,16 unidades de pH, respectivamente, apresentando boa concordância entre os resultados estimados e os resultados de referência. O teste *t* para *bias*, indica que o modelo não é tendencioso ($t_{\text{tab}}=3,18$; $P = 0,05$).

Além dessas afirmações, a veracidade também foi avaliada com o auxílio da Figura 31, que mostra os erros relativos do modelo. Erros relativos de calibração e de previsão, com valores entre -3,99 e 3,26% foram observados. Esses valores atendem às diretrizes brasileiras para aceitação de erros relativos. Essa legislação estabelece diferenças percentuais $\leq 20,0\%$ para valores estimados por novos modelos analíticos quando comparados com os resultados de referência obtidos com métodos convencionais já atestados (BRASIL, 2014b).

A precisão foi avaliada através do desvio padrão relativo. Foram testados três pontos da curva de calibração com valores de DPR iguais a 0,12% e 0,26% para medidas extremas de pH e DPR igual a 0,09% para a medida central, Tabela 8. Esses valores foram testados, de acordo com as diretrizes brasileiras (BRASIL, 2014b), através do teste de HorRat e apresentaram reprodutibilidade satisfatória com valores de HOr menores que 2,0. Devido as conclusões do teste de *bias*, DPR e veracidade, pode-se inferir que o modelo proposto para determinação de pH foi significativamente exato em suas previsões. A exatidão do modelo PLS construído, foi avaliada com base no valor de RPD. O valor desse parâmetro foi de 7,07, indicando que o modelo PLS é adequado para previsão do pH.

Tabela 8. Figuras de mérito estimadas para o modelo PLS de determinação de pH de águas potáveis.

FOM	Parâmetros	Valores
Veracidade ^a	RMSEC	0,10
	RMSECV	0,31
	RMSEP	0,16
	Erro (%)	Máximo Mínimo
		-3,99 3,26
Precisão	Valores iniciais da curva	DPR (%) HO _R
		0,12 0,01
	Valores centrais da curva	DPR (%) HO _R
		0,09 0,01
	Valores finais da curva	DPR (%) HO _R
		0,26 0,02
Linearidade	Ajuste da curva ^c	r ² _{cal}
		0,99
	Resíduos independentes	r ² _{val}
		0,98
		DW
		1,50
Ajuste (NAS)	Inclinação	p
		0,09
		0,008
		±0,0003
	Intersecção	4,7596
Seletividade		±0,08
		r ² _{cal}
		0,990
		0,47
		453,05
Sensibilidade analítica ^b		
γ^{-1a}		0,002
Limite de Detecção ^a		0,03
Limite de Quantificação ^a		0,1
RPD		7,07
Erro Sistemático	<i>bias</i>	-0,04
	SVD	0,19
	<i>t_{bias}</i>	0,54

^a Unidades de pH;^b (pH)⁻¹;^c Ajuste obtido entre os valores de referência versus valores estimados.

A

Figura 32, apresenta os resíduos referentes à calibração multivariada em função dos valores estimados.

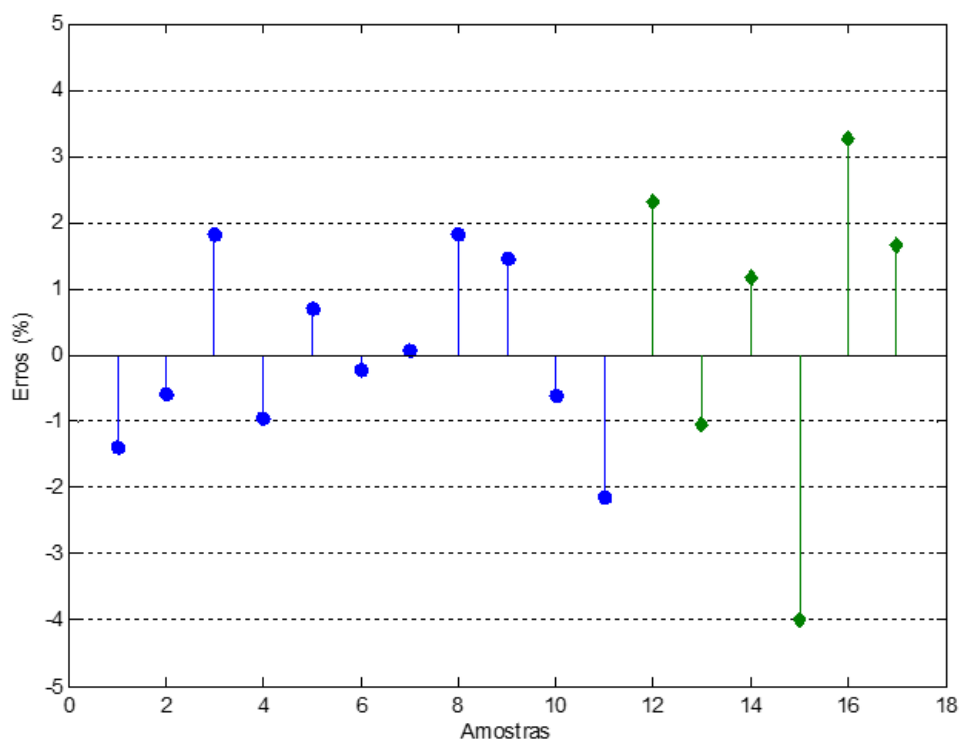


Figura 31. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆), estimados pelo modelo para determinação de pH da água.

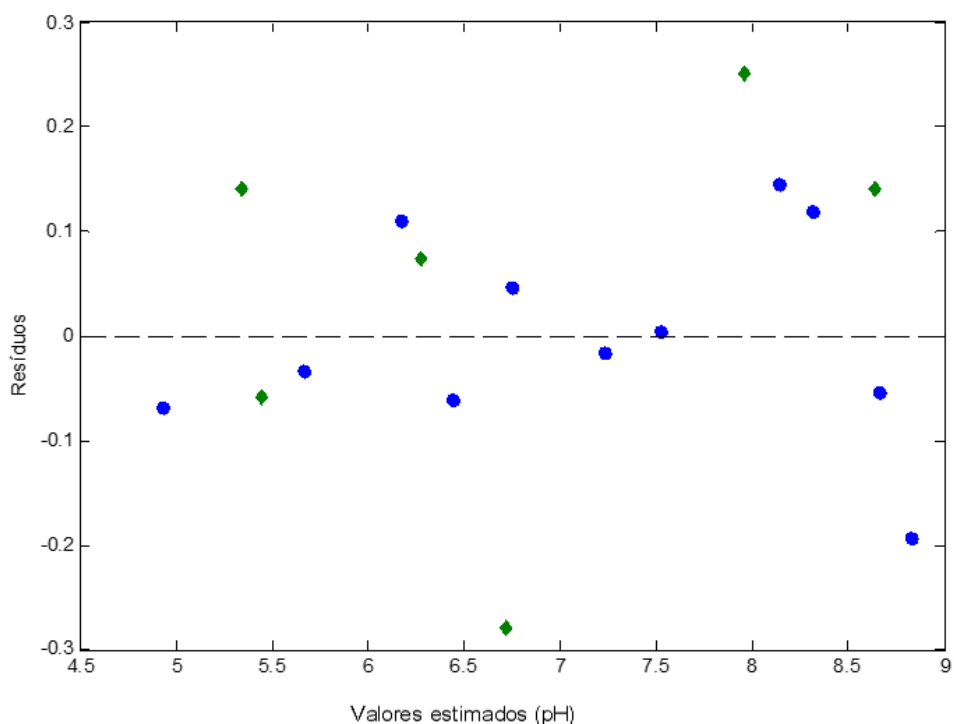


Figura 32. Gráfico dos resíduos versus os valores estimados para o modelo PLS, para determinação do pH: amostras de calibração (●) e validação (◆).

Nota-se ausência de tendências sistemáticas na distribuição dos resíduos. Essa ausência foi confirmada com o teste DW ($P = 0,08$), Tabela 8, pág. 83.

Correlações entre os valores de referência e os estimados, Figura 33, foram realizadas. Os valores dos coeficientes de correlação encontrados foram de 0,9940 e 0,9839 para os dados de calibração e validação, respectivamente. Os valores obtidos para pH das amostras de calibração e validação são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados das análises de pH das amostras de calibração e de previsão. Valores de referência (RM) versus valores estimados (PLS).

pH			
Calibração		Validação	
RM	PLS	RM	PLS
9,0	8,8	8,5	8,6
8,7	8,7	7,7	8,0
8,2	8,3	7,0	6,7
8,0	8,1	6,2	6,3
7,5	7,5	5,5	5,4
7,3	7,2	5,2	5,3
6,7	6,7		
6,5	6,4		
6,1	6,2		
5,7	5,7		
5,0	4,9		

A linearidade do modelo de regressão PLS para determinação de pH, foi confirmada por ANOVA, que indicou que o modelo linear é adequado para os dados ($P_{cal}; P_{val} = 0,05$).

Outra forma de expressar a linearidade do modelo multivariado foi através do ajuste linear dos valores de referência versus a norma do vetor do sinal analítico líquido, Figura 34.

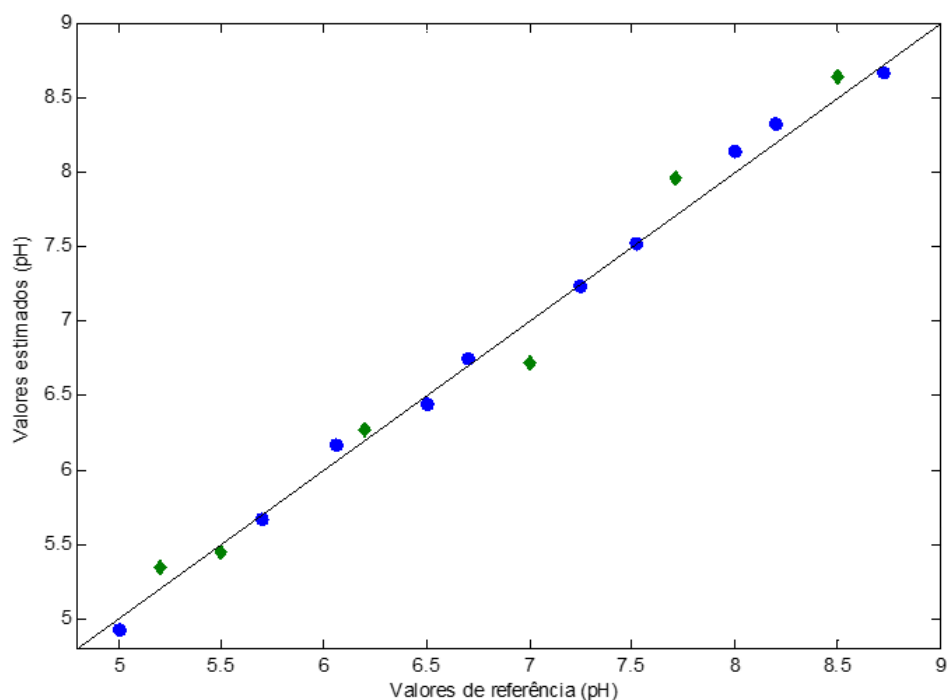


Figura 33. Gráfico dos valores de referência versus valores estimados para a determinação do pH – amostras de calibração (●) e validação (◆).

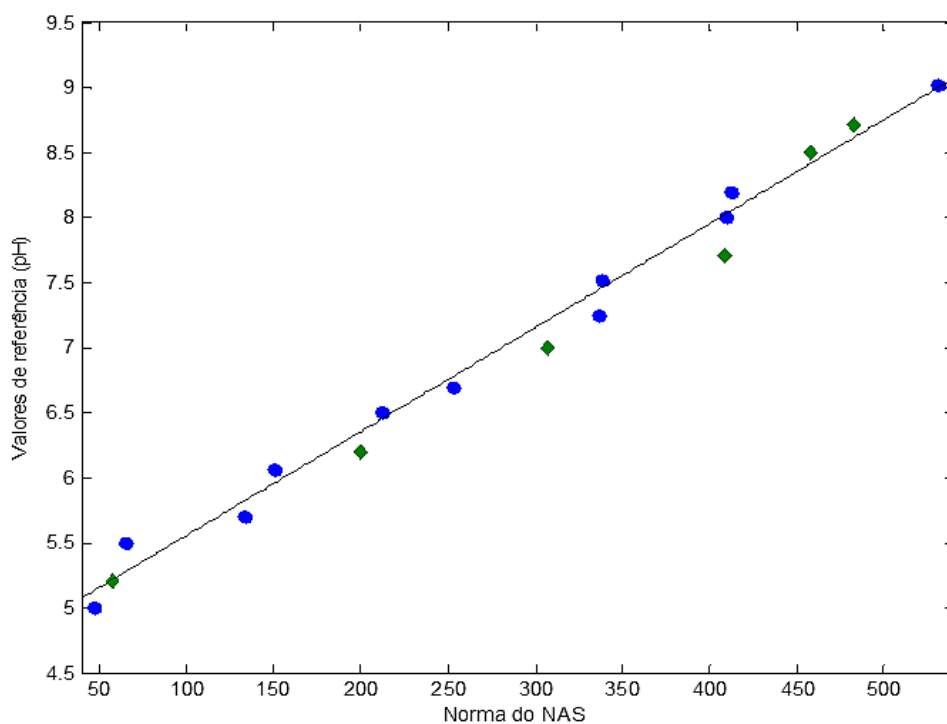


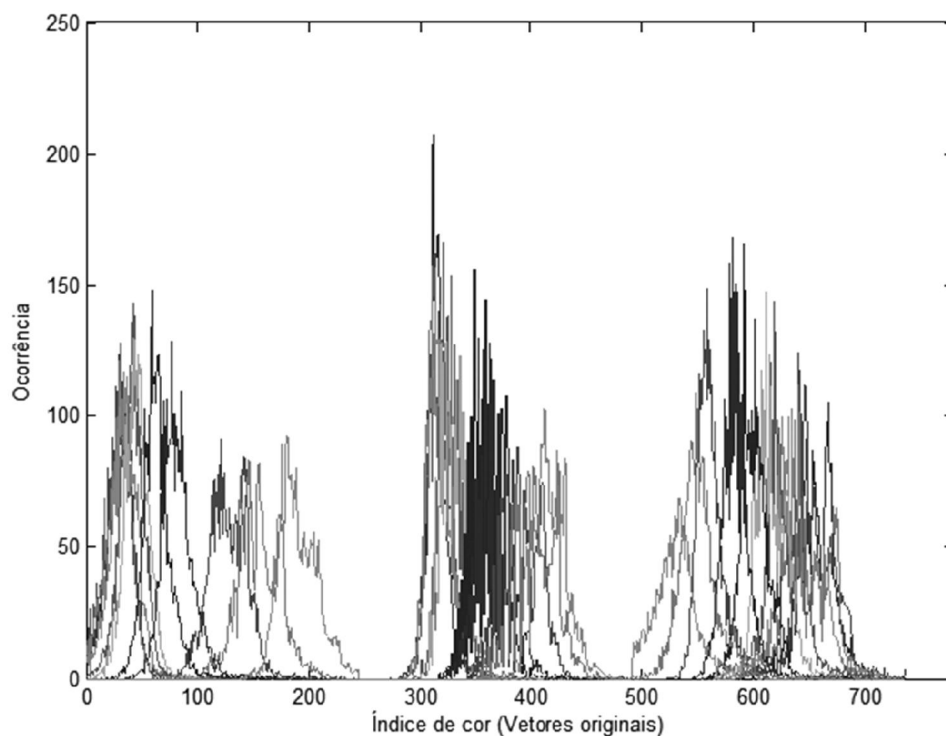
Figura 34. Gráfico dos valores de referência versus a norma do NAS para a determinação do pH – amostras de calibração (●) e validação (◆).

O ajuste linear da Figura 34, é expressada pela eq. (57), que representa uma interpretação pseudo-univariada do modelo PLS desenvolvido para determinação de pH

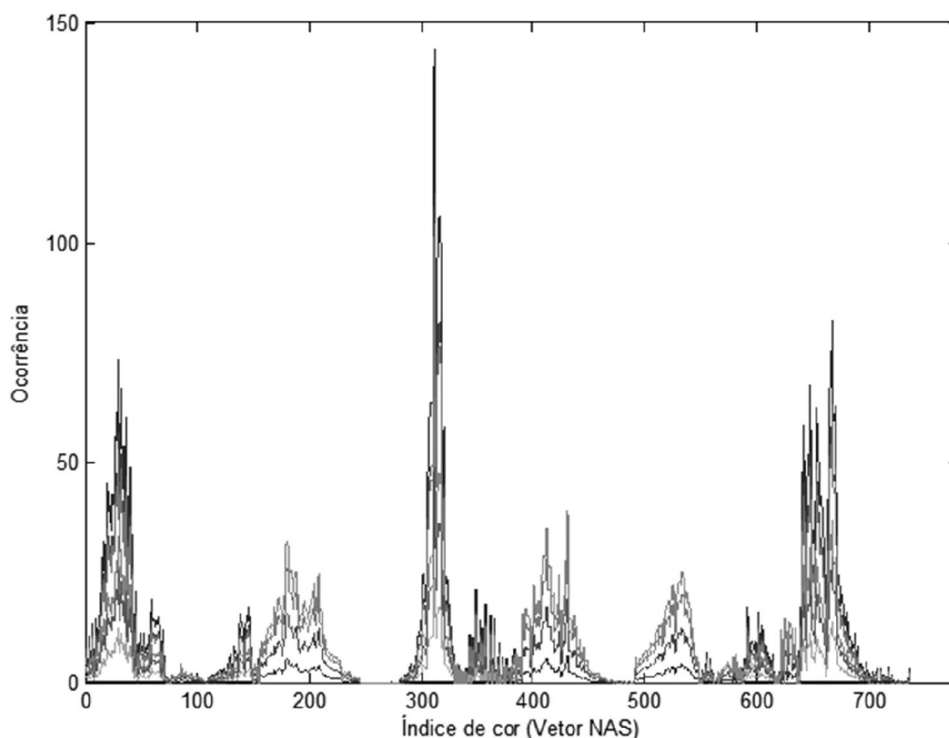
$$\text{pH} = 0,008\|\mathbf{n\hat{s}}\| + 4,7596 \quad (57)$$

onde, os valores de $\|\mathbf{n\hat{s}}\|$ são equivalentes à intensidade das cores das soluções tampão após a extração dos interferentes, obtidos dos histogramas médios de índice de cor de cada amostra.

Pode-se observar que o vetor $\mathbf{n\hat{s}}$ separou parte dos sinais de interesse, Figura 35(b), que são ortogonais aos interferentes do modelo, e que estão diretamente relacionados ao pH. Pelo cálculo da seletividade, 47,0% dos índices de cores que formaram os histogramas médios, Figura 35(a), foram correlacionados com a mudança de cor e, conseqüentemente, à mudança de pH.



(a)



(b)

Figura 35. Histogramas dos índices de cor dos canais RGB: (a) Vetores originais; (b) Vetor **nâs**.

Para distinção entre as amostras, utilizou-se o inverso da sensibilidade analítica que indicou que o modelo PLS, foi capaz de distinguir as amostras com a diferença de 0,002 unidades de pH entre as soluções tampão.

Foram estimados limites de quantificação. Dessa forma, pode-se inferir que o modelo desenvolvido para determinação de pH, foi capaz de analisar amostras com pH acima 0,1.

6.2. MODELOS PARA DETERMINAÇÃO DE ALCALINIDADE, DUREZA TOTAL, DUREZA Ca E DUREZA Mg

As soluções padrão e as amostras de água potável foram diferenciadas após a adição dos indicadores específicos de cada análise. Para Alcalinidade foi utilizado azul de timol 5,0%, após da adição de HCl 5,0%, (Figura 23, pág. 66). Para Dureza, o indicador utilizado foi a solução SD, contendo ErioT 1,0%.

Para determinação de Alcalinidade foi construído um modelo de calibração GA-PLS, sigla adotada nesta Tese, como sendo a regressão pelo modelo PLS utilizando os dados extraídos das imagens após a aplicação de GA, como método de seleção de variáveis. O conjunto de dados dependentes, foi utilizado com os resultados da Titulometria de Neutralização, em mL de HCl 0,02 mol L⁻¹. Para os parâmetros de Dureza Total e Dureza Ca, foi construído um modelo GA-PLS2, utilizando os resultados, em mg CaCO₃ L⁻¹, obtidos por FAAS. As discussões sobre o método GA-PLS e sobre o termo PLS2 foram feitas nas secções 4.10.1, pág. 36 e 4.11.1, pág. 41, respectivamente.

A escolha do GA como método de seleção de variáveis, baseou-se na obtenção de menores valores do RMSEP para as amostras de validação externa, além de ser o método que se mostrou mais eficiente com os dados de imagens. Infere-se que, os índices de valor zero presentes nos histogramas médios, influenciaram os demais métodos de seleção de variáveis testados, citados na secção 4.10, pág. 36, porém, esses índices não influenciaram a eficácia do GA.

Determinou-se a utilização de duas casas decimais para os valores dependentes na construção dos modelos para melhor interpretação dos testes estatísticos, porém, os resultados finais, foram apresentados na Tabela 11, pág. 100, com uma casa decimal.

6.2.1. Modelo para determinação de Alcalinidade

Após a adição de HCl 0,02 mol L⁻¹ nas soluções padrão, com concentrações crescentes de HCO₃⁻, foi observado a formação de solução tampão, de caráter ácido, ao longo dos poços. Com a adição da solução de azul de timol como indicador, observou-se a variação de cor formada nas soluções, com mudança de laranja intenso (pH ≤ 2,8) para amarelo (2,9 ≤ pH ≤ 5,0)^f, devido à redução do oxigênio sulfônico presente nas moléculas de azul de timol. Essa redução é provocada pelos ânions HCO₃⁻, não neutralizados pelo HCl, presentes nas soluções padrão. A estrutura do azul de timol é mostrada na Figura 35 (PUBCHEM, 2015b).

^f Faixa de pH para mudança de cor do Azul de Timol (PATNAIK, 2004).

Das triplicatas obtidas dos poços, foram extraídos 13 histogramas médios RGB, Figura 35a. Notou-se uma maior ocorrência de *pixels* na faixa entre 200 e 400 de índices de cores referentes aos canais R e G.

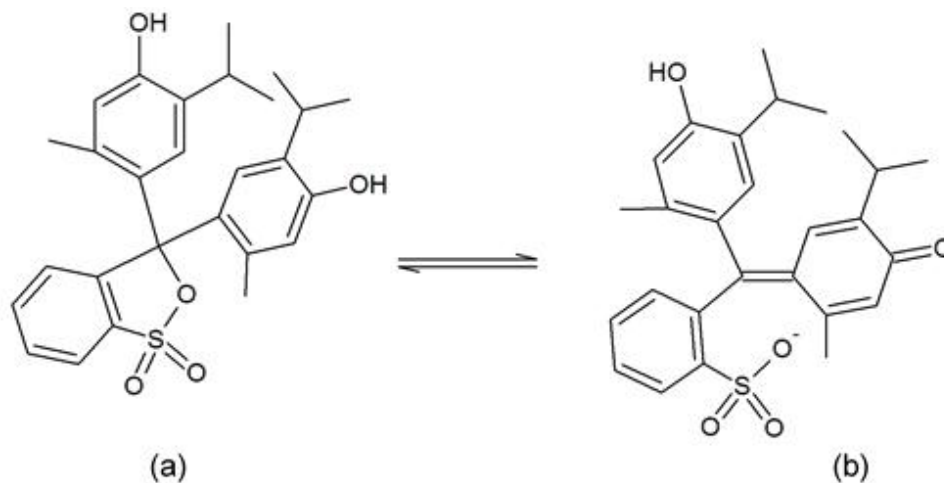
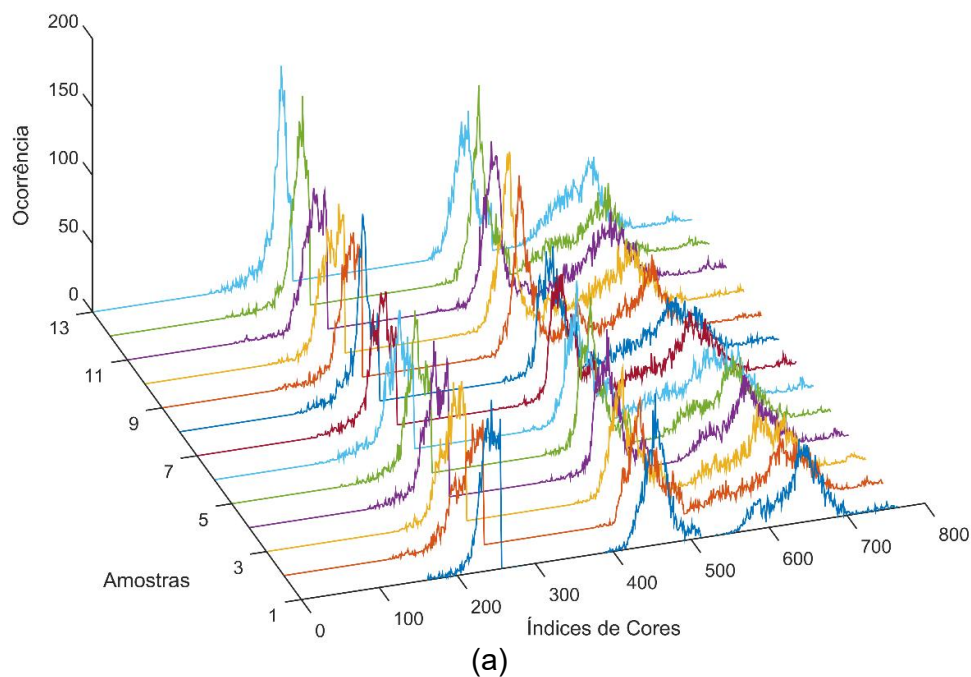
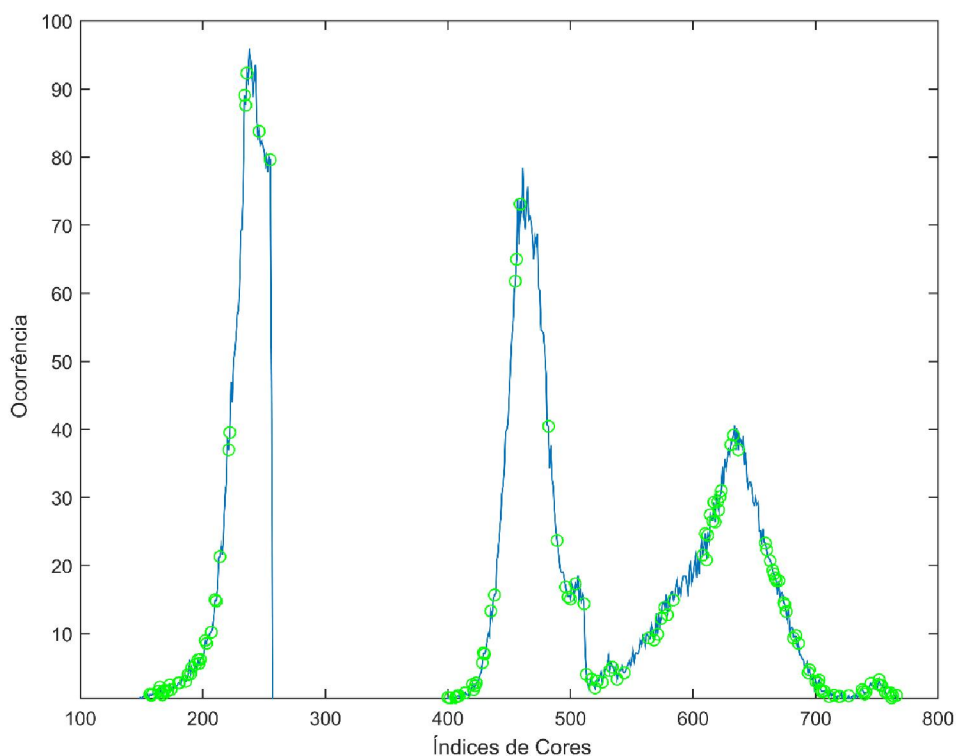


Figura 36. Fórmula estrutural plana do azul de timol: (a) Estrutura oxidada; (b) Estrutura reduzida.

Ao aplicar GA, a matriz de dados independentes foi reduzida, de 768 para 223 variáveis. As variáveis remanescentes indicaram a influência do canal R na construção do modelo, Figura 37(b).





(b)

Figura 37. Histogramas médios de cor do sistema RGB extraídos das imagens digitais das 13 amostras usadas na determinação da Alcalinidade. (a) Histogramas com 768 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 223 variáveis selecionadas por GA (○).

6.2.2. Modelo de Dureza Total, Ca(II) e Mg(II)

Mudanças nas cores dos poços após a adição da solução indicadora SD foram observadas ao longo da placa, devido às variações das concentrações dos íons Ca(II) e Mg(II), Figura 24, pág. 67. Após a segmentação das imagens RGB, foram gerados 13 histogramas médios para as soluções, Figura 38(a). Ao aplicar o GA, a matriz de variáveis independentes foi reduzida de 768 para 192 variáveis, Figura 38(b). Nota-se na Figura 38(a), uma maior ocorrência de *pixels* na faixa de 700 a 768 de índices de cores, referentes ao canal B. Essa coloração está relacionada à formação dos complexos EDTA-Ca e EDTA-Mg. A ausência de metais livres nas soluções, após a adição do EDTA, fez com que o indicador ErioT apresentasse cor azul intensa.

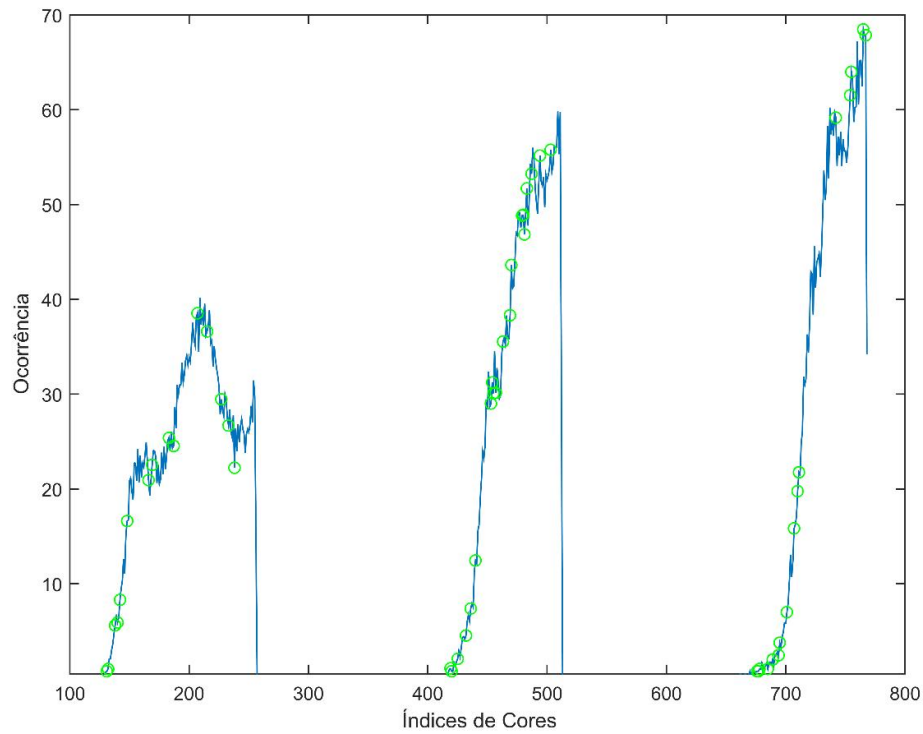
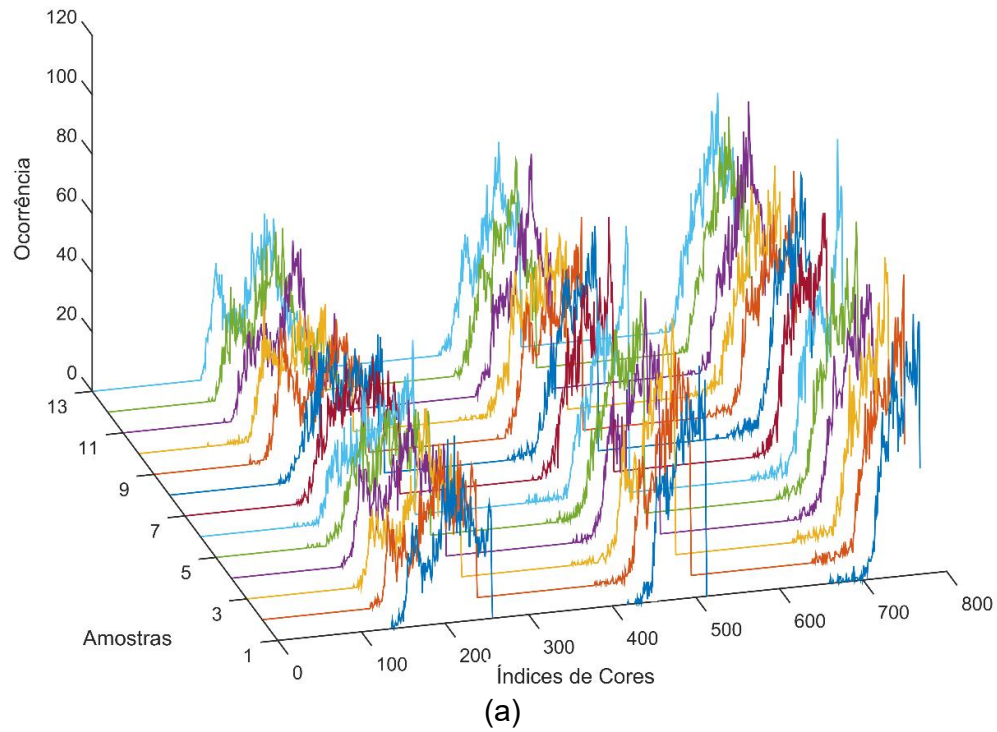


Figura 38. Histogramas médios do sistema RGB, extraídos de imagens das 13 amostras usadas na determinação de Dureza. (a) Histogramas com 768 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 192 variáveis selecionadas por GA (○).

Porém, com o aumento das concentrações dos íons ao longo da placa ELIZA, os metais livres nas alíquotas se ligaram aos oxigênios sulfônicos e nitrosos da molécula do indicador (PUBCHEM, 2015c), formando um complexo avermelhado modificando as cores das soluções padrão, Figura 39. A Figura 40, mostra os coeficientes de regressão utilizados no modelo GA-PLS2.

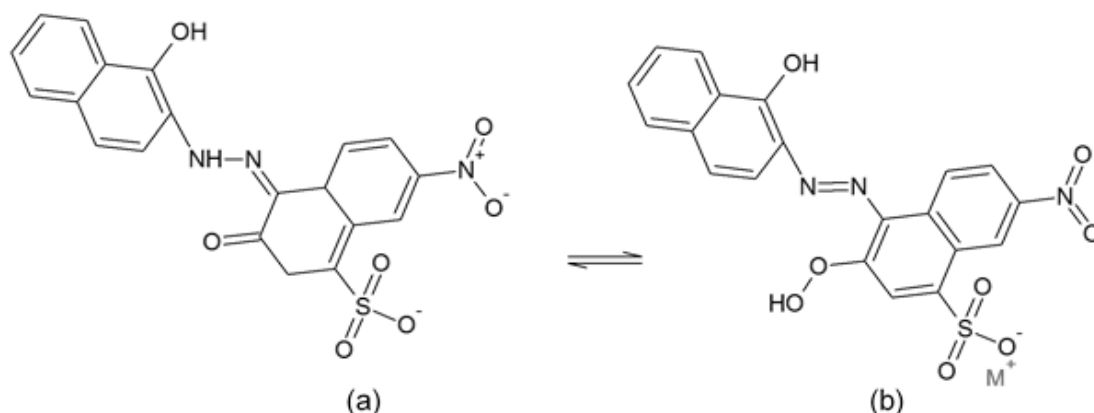


Figura 39. Fórmula estrutural plana do indicador ErioT. (a) Estrutura não complexada; (b) Estrutura complexada com o metal M.

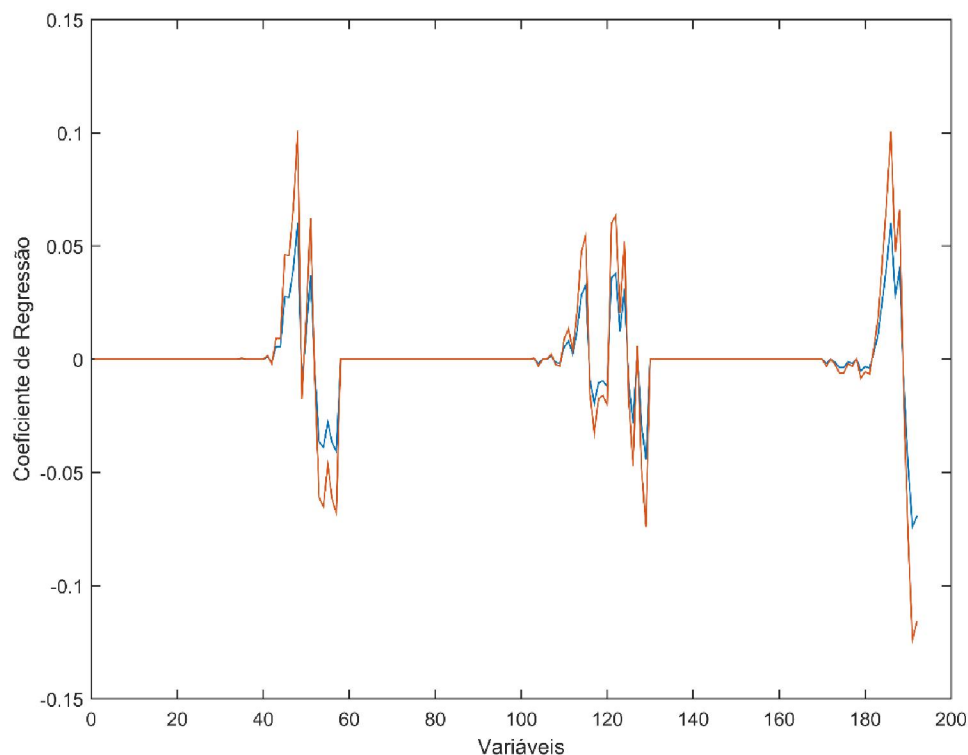


Figura 40. Coeficientes de regressão GA-PLS2 para determinação de Dureza Ca (■) e Dureza Total (■), com as 192 variáveis selecionadas pelo GA.

Nas soluções padrão utilizadas para a construção do modelo para determinação de Dureza, a variação da coloração apresentou-se discreta a “olho nu”, porém, tornou-se visível com a digitalização, visualizada pelos picos na Figura 40.

6.2.3. Validação Analítica

O modelo GA-PLS para determinação de Alcalinidade, foi construído utilizando os resultados da Titulometria de Neutralização. Dessa forma, o modelo desenvolvido simula o volume do ácido que seria necessário para titular e determinar o teor de Alcalinidade em 50,0 mL das amostras.

Os dados foram subdivididos entre nove amostras para o conjunto de calibração e quatro amostras para o conjunto de validação, utilizando o algoritmo *Kennard-Stone* (KENNARD; STONE, 1969). Foram determinadas 2,0 LVs para construção do modelo PLS, utilizando validação cruzada com divisão por *leave-one-out* (BRERETON, 2007), com base nos menores valores de RMSECV.

O modelo GA-PLS2, foi construído com os valores de Dureza Total e Dureza Ca, em mg CaCO₃ L⁻¹, obtidos com as concentrações dos íons Ca(II) e Mg(II), em mg L⁻¹, utilizando FAAS. O conjunto de calibração e validação com nove e quatro amostras, respectivamente, foi subdividido de modo que as amostras ficassem igualmente espaçadas entre os resultados das respostas obtidas pelo FAAS. Foram determinados 3,0 LVs utilizando validação cruzada com divisão por *leave-one-out*. Os resultados são apresentados na Tabela 10.

Os baixos valores encontrados para RMSEC, RMSEP e RMSECV das análises dos parâmetros físico-químicos foram utilizados para avaliação da veracidade dos modelos propostos. O modelo GA-PLS para Alcalinidade apresentou RMSEP de 0,034 mL de HCl 0,02 mol L⁻¹. Os resultados apresentados na Tabela 10 para o modelo GA-PLS2 apresentaram valores de RMSEP iguais a 1,20 e 2,01 mg CaCO₃ L⁻¹ para Dureza Ca e Dureza Total, respectivamente.

O teste *t* para “*bias*” não indicou influências significativas dos erros observados no conjunto de validação para os modelos construídos, já que $t_{cal} < t_{crítico}$ tabelado da distribuição de *t*-student ($t_{tab}=3,18$, $P = 0,05$).

Tabela 10. Figuras de mérito estimadas para os modelos GA-PLS e GA-PLS2 para determinações de Alcalinidade, Dureza Ca e Dureza Total de águas potáveis.

FOM	Parâmetros		Alcalinidade	Dureza	
				Ca	Total
				Valores	
Veracidade ^a	RMSEC		0,02	0,10	0,17
	RMSECV		0,14	1,68	2,82
	RMSEP		0,03	1,20	2,01
	Erro (%)	Máximo	14,57	9,06	9,07
		Mínimo	-11,82	-22,78	-22,79
Precisão	Valores iniciais da curva	DPR (%)	7,39	0,78	0,95
		HO _R	1,03	0,15	0,19
	Valores centrais da curva	DPR (%)	2,15	0,78	0,30
		HO _R	0,35	0,18	0,08
	Valores finais da curva	DPR (%)	0,75	0,31	0,25
		HO _R	0,14	0,09	0,08
	Linearidade	Ajuste da curva ^c	r ² _{cal}	0,998	0,9998
r ² _{val}			0,994	0,9998	0,992
Resíduos independentes		DW	1,64	1,79	1,79
		p	0,16	0,26	0,26
Ajuste (NAS)		Inclinação	0,0074	0,214	0,3567
			±9 x 10 ⁻⁵	±0,006	±0,009
		Intersecção	0,0097	0,066	0,1113
			±0,009	±0,325	±0,543
		r ² _{cal}	0,998	0,995	0,995
Seletividade		Seletividade		0,53	0,55
	Sensibilidade analítica ^b		85,16	42,39	15,15
	γ^{-1a}		0,01	0,02	0,07
Limite de Detecção ^a	Limite de Detecção ^a		0,03	0,07	0,23
	Limite de Quantificação ^a		0,10	0,20	0,70
	RPD		12,99	11,48	11,47
Erro Sistemático	<i>bias</i> ^a		0,01	1,05	1,75
	SVD		0,04	0,68	1,42
	<i>t_{bias}</i>		0,60	3,06	2,47

^a Alcalinidade: mg CaCO₃ L⁻¹; Dureza Ca / Total: mg CaCO₃ L⁻¹;^b Alcalinidade: (mL)⁻¹ de HCl; Dureza Ca / Total: (mg CaCO₃)⁻¹ L;^c Ajuste obtido entre os valores de referência versus valores estimados;

Os erros relativos dos modelos de Alcalinidade e Dureza, Figura 41e Figura 42, apresentaram valores médios iguais a 0,85, 9,46 e 9,44%, respectivamente.

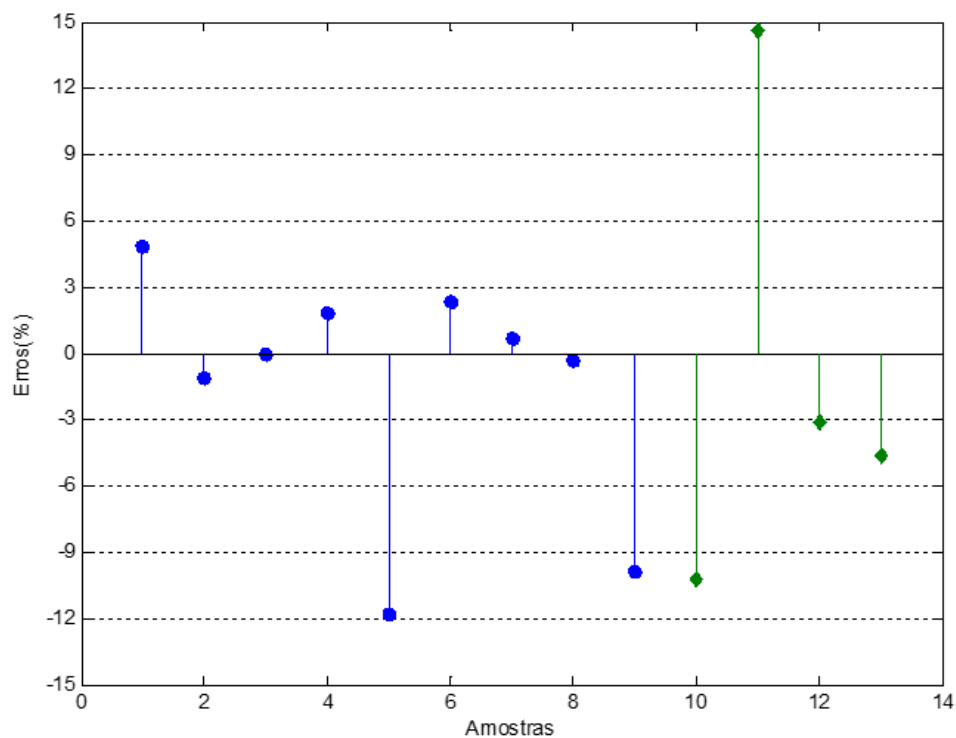
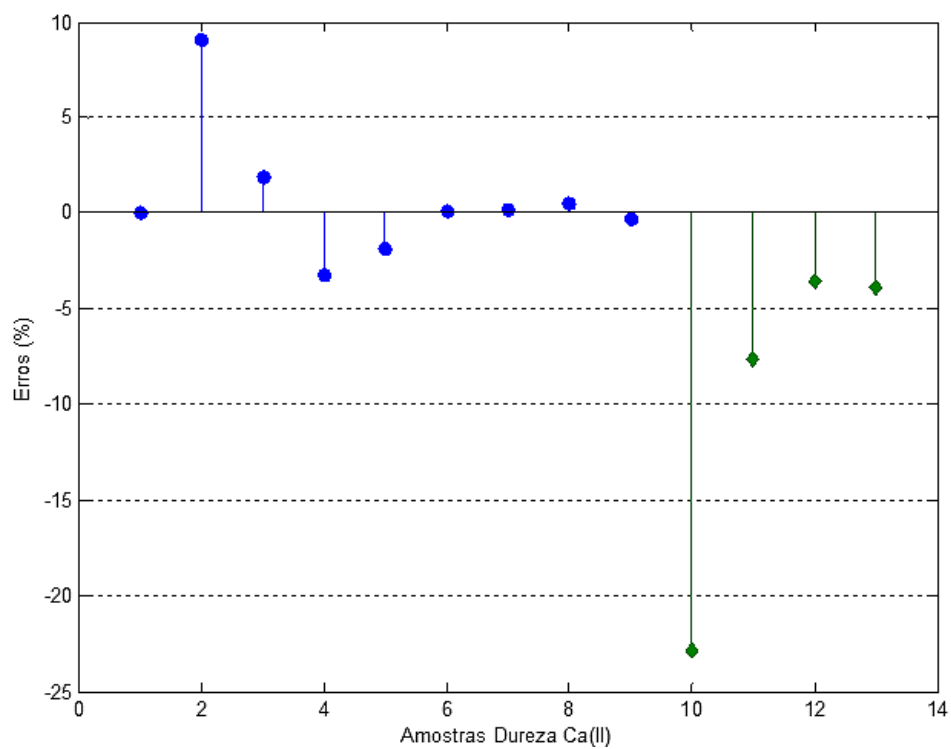


Figura 41. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes ao volume de HCl, estimados pelo modelo, para determinação de Alcalinidade.



(a)

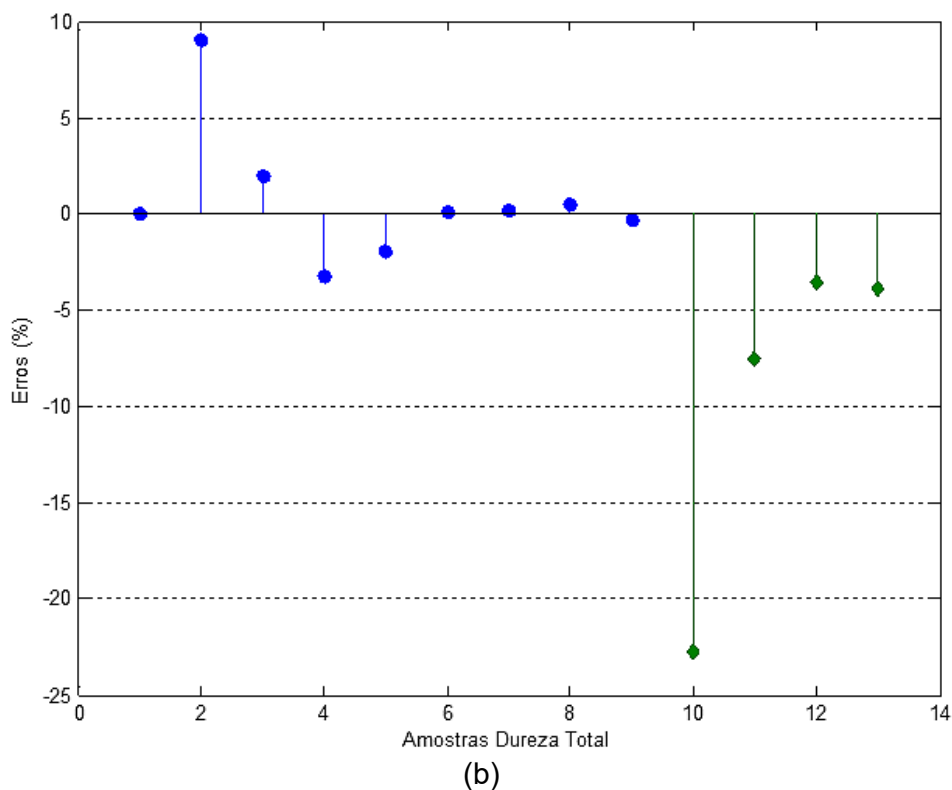


Figura 42. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes às concentrações, em mg L⁻¹, obtidos pelo modelo para determinação (a) da Dureza Ca e (b) da Dureza Total na água.

A avaliação da precisão foi realizada com a obtenção dos valores de DPR para três pontos da curva de calibração, obtendo-se valores iguais a 7,39% e 0,75% para medidas extremas das amostras de Alcalinidade e valor igual a 2,15% para a medida central.

Valores de DPR iguais 0,78% e 0,31% para valores extremos do modelo de Ca(II) e, valores de iguais a 0,95% e 0,25% para os extremos do modelo de Dureza Total, foram encontrados. As medidas centrais apresentaram a mesma tendência, Tabela 10, pág. 95. Através do teste de HorRat, os dois modelos apresentaram reprodutibilidade satisfatória, com valores de HOr menores que 2,0.

Com os valores de estimados para veracidade e para precisão pode-se afirmar que os modelos GA-PLS e GA-PLS2 para determinação da Alcalinidade e Dureza respectivamente, se mostraram exatos em suas previsões.

A eficácia do modelo foi verificada com o RPD. Os valores de 12,99, 11,48 e 11,47, respectivamente, para os parâmetros Alcalinidade, Dureza Ca e Dureza

Total, atestaram que os modelos construídos são adequados para realização de análises quantitativas.

A linearidade foi estimada através do teste de aleatoriedade dos resíduos, além dos ajustes dos valores estimados versus os valores de referência. Os testes DW, para aleatoriedade dos resíduos apresentaram ausência de autocorrelação ($P = 0,16$ para Alcalinidade; $P = 0,26$ para Dureza Ca e Dureza Total, respectivamente).

Coefficientes de correção iguais a 0,9983 e 0,9940 foram obtidos para calibração e validação do modelo GA-PLS. Os coeficientes de correlação, 0,998 e 0,992, foram obtidos para calibração e validação, respectivamente, para os índices de dureza do modelo GA-PLS2. Esses valores indicam que os modelos apresentaram boa linearidade para os parâmetros físico-químicos. A Figura 43 e a Figura 44 apresentam as correlações entre os valores de referência contra os estimados.

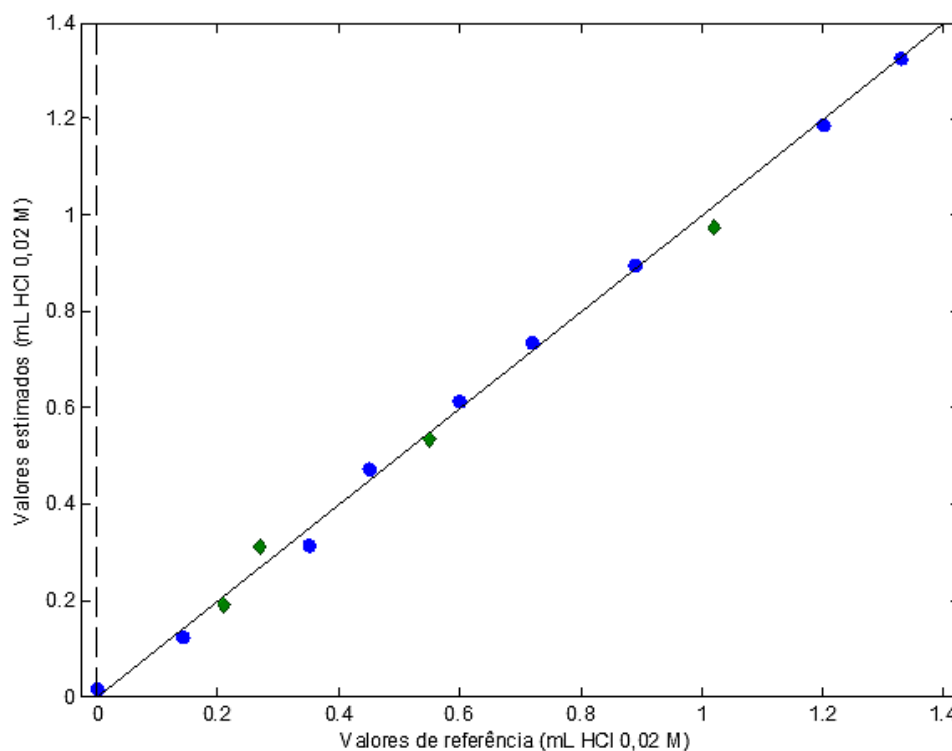
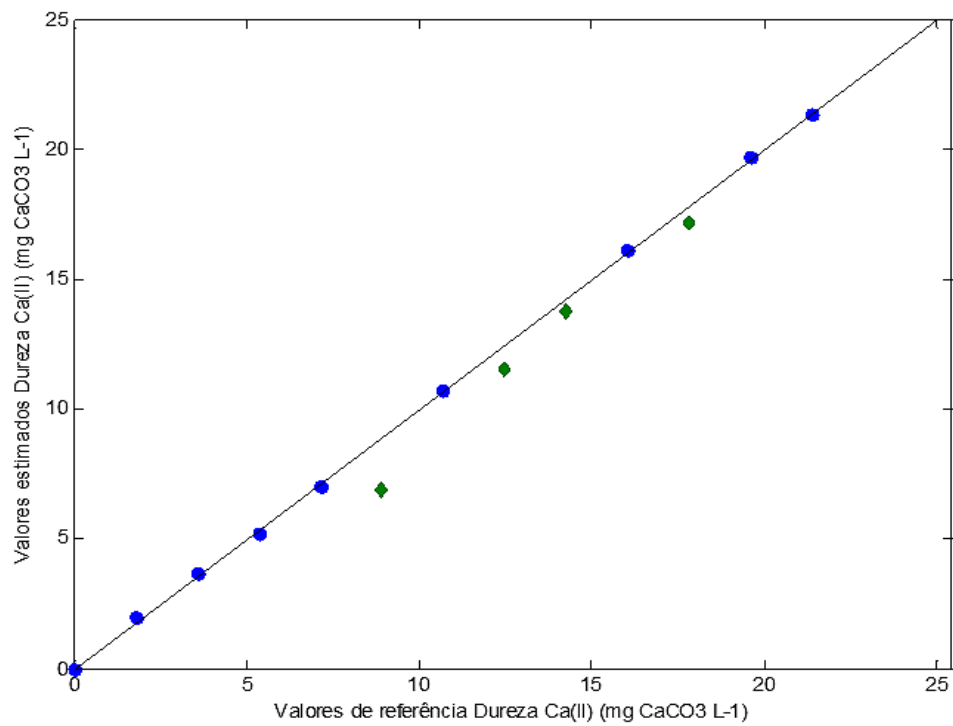
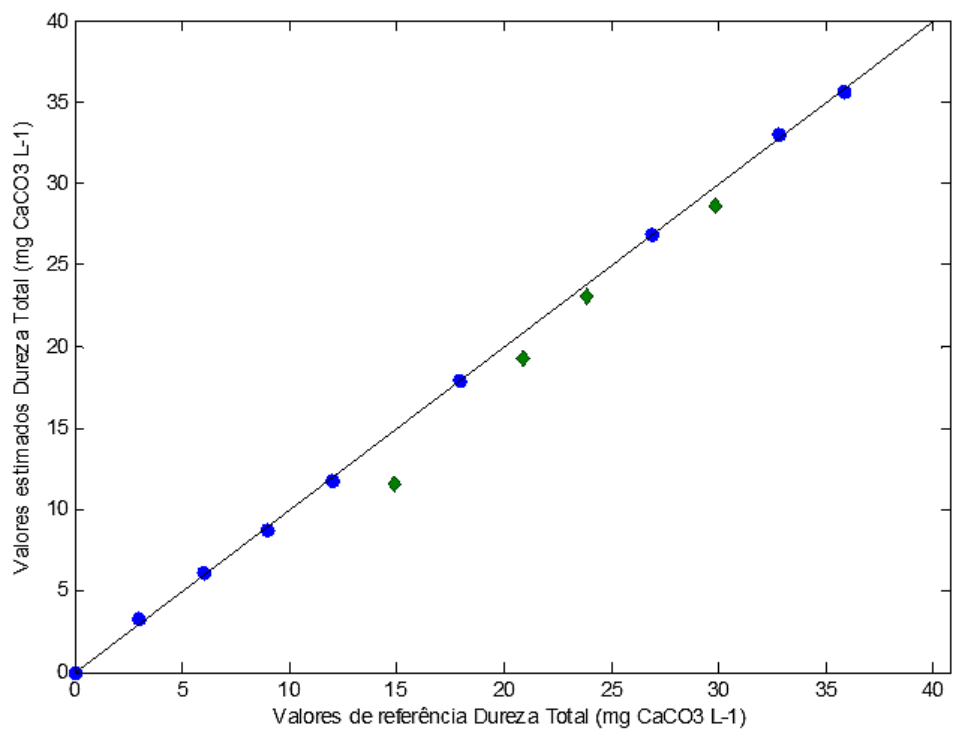


Figura 43. Valores de referência versus valores estimados de mL de HCl 0,02 mol L⁻¹ utilizados para a determinação da Alcalinidade. Amostras de calibração (●) e validação (◆).



(a)



(b)

Figura 44. Valores de referência versus valores estimados para a determinação da Dureza (a) Ca; (b) Dureza Total. Amostras de calibração (●) e validação (◆).

Os valores estimados para Dureza Mg foram obtidos conforme a legislação vigente (NBR 13800, 1997). Os resultados obtidos pelos modelos GA-PLS e GA-PLS2 são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Resultados dos parâmetros de Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Ca e Dureza Mg, em mg CaCO₃ L⁻¹. Valores de referência (RM) versus valores estimados.

Alcalinidade		Dureza Total		Dureza Ca		Dureza Mg	
Calibração							
RM	GA-PLS	RM	GA-PLS2	RM	GA-PLS2	RM	NBR 13800
3,7	4,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1
5,2	4,6	3,0	3,3	1,8	2,0	0,3	0,3
13,0	11,7	6,0	6,1	3,6	3,7	0,6	0,6
16,7	17,5	9,0	8,7	5,4	5,2	0,9	0,9
22,2	22,7	12,0	11,8	7,2	7,0	1,2	1,2
26,7	27,1	17,9	17,9	10,7	10,7	2,6	2,6
33,0	33,2	26,9	26,9	16,1	16,1	1,5	1,1
44,4	44,0	32,8	33,0	19,6	19,7	2,3	2,3
49,3	49,1	35,8	35,7	21,4	21,3	2,9	2,8
Validação							
RM	GA-PLS	RM	GA-PLS2	RM	GA-PLS2	RM	NBR 13800
7,8	7,0	14,9	11,5	8,9	6,9	1,7	1,8
10,0	11,5	20,9	19,3	12,5	11,5	3,2	3,2
20,4	19,7	23,9	23,0	14,3	13,8	3,5	3,5
37,8	36,0	29,8	28,7	17,8	17,1	2,0	1,9

Com os resultados estimados pelos os modelos de regressão, utilizou-se ANOVA para confirmar que o modelo linear é adequado para os dados ($P = 0,05$). A linearidade dos modelos de Alcalinidade, Dureza Ca e Dureza Total também foram expressadas através da correlação dos valores escalares do sinal analítico líquido (NAS) em função dos valores de referência. Essas correlações apresentaram r^2_{cal} iguais a 0,9978, 0,9947 e 0,9952 para os três parâmetros físico-químicos, respectivamente. As equações que representam essas correlações estão expressas nas equações (58), (59) e (60), respectivamente

$$\text{Volume HCl}_{\text{ml}} = 0,0074||\text{n\~{a}s}|| + 0,0097 \quad (58)$$

$$\text{Dureza Ca}_{\text{mgCaCO}_3\text{L}^{-1}} = 0,214||\text{n\~{a}s}|| + 0,066 \quad (59)$$

$$\text{Dureza Total}_{\text{mgCaCO}_3\text{L}^{-1}} = 0,3567||\text{n\~{a}s}|| + 0,1113 \quad (60)$$

onde, os valores de $||\text{n\~{a}s}||$ são equivalentes à intensidade das cores das alíquotas após a extração dos interferentes.

Os resultados para a seletividade dos modelos desenvolvidos, para os parâmetros de Alcalinidade, Dureza Ca e Dureza Total utilizaram, respectivamente, os percentuais de 53,0, 55,0 e 54,0% dos índices de cor. Esses índices formam os histogramas médios e relacionam as mudanças de cor com as variações das concentrações dos analitos presentes nas amostras.

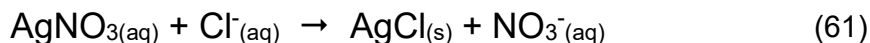
O inverso da sensibilidade analítica indicou que o modelo GA-PLS foi capaz de distinguir volumes com diferenças entre 0,01 mL HCl 0,02 mol L⁻¹ que seriam utilizados para análise das soluções padrão. Para o modelo GA-PLS2, foi possível a distinção de concentrações, em mg CaCO₃ L⁻¹, a partir de 0,02 para Dureza Ca e 0,07 para Dureza Total.

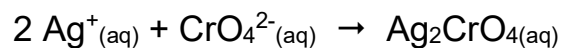
O modelo desenvolvido para Alcalinidade foi capaz de analisar as amostras com volumes acima de 0,1 mL HCl 0,02 mol L⁻¹. Concentrações acima de 0,20 e 0,7 mg CaCO₃ L⁻¹ de Dureza Ca e Total, respectivamente, também foram estimadas também como limites de quantificação.

6.3. MODELOS PARA DETERMINAÇÃO DE CLORETOS, FLUORETOS E FERRO TOTAL

6.3.1. Modelo para determinação de Cloretos

A variação da concentração de cloretos foi testada com volumes fixos de AgNO₃ utilizando solução de K₂CrO₄ como indicador. A reação de precipitação do íon Ag⁺ ocorrida nos processos de titulação é apresentada na eq. (61).





As cores formadas nas soluções apresentaram mudanças de amarelo intenso para marrom ao atingir o ponto de equivalência, e referem-se às reações envolvendo os íons Cl^- e CrO_4^{2-} , utilizadas para obtenção das imagens, em RGB. Dessas imagens foram extraídos histogramas médios, utilizados para as análises iniciais, Figura 45.

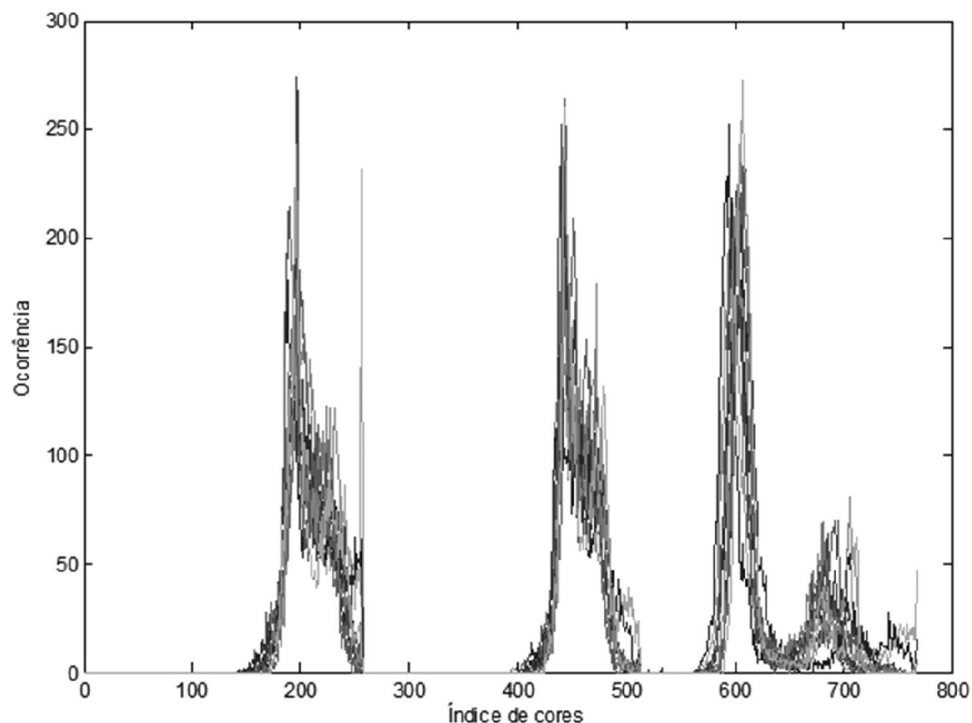


Figura 45. Histogramas médios de cores dos canais RGB para determinação dos íons Cl^- .

Apesar da normalização na distribuição dos dados de cor pelos histogramas médios, os modelos GA-PLS desenvolvidos para os histogramas RGB não apresentaram resultados satisfatórios quando submetidos aos testes estatísticos de validação.

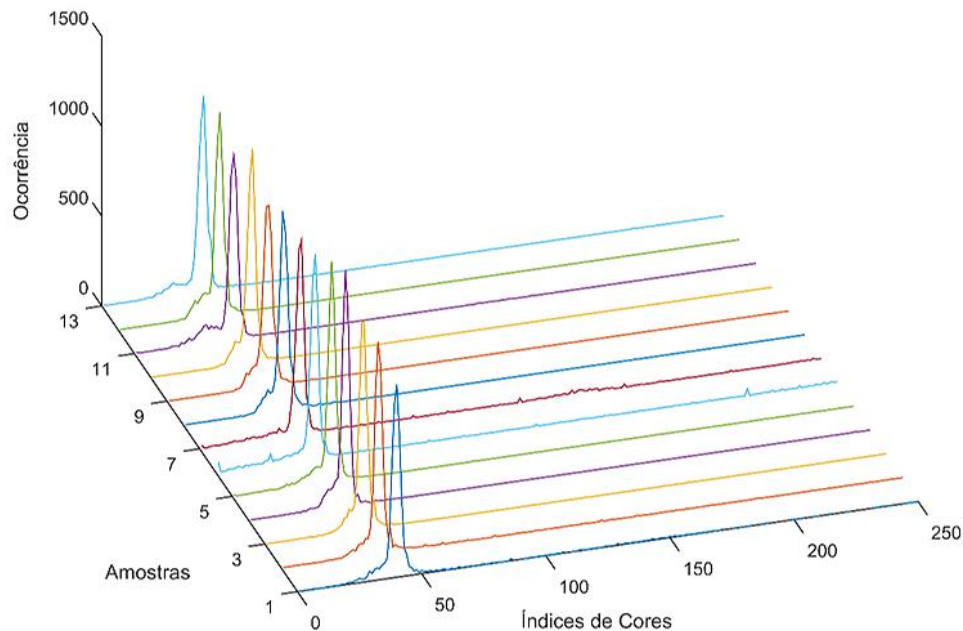
Esses modelos, inicialmente, forneceram valores estimados para o conjunto de amostras de calibração e validação interna estatisticamente exatos. No entanto, indícios de superajuste foram encontrados, com valores de RMSEP menores que o RMSEC, além de apresentarem erros acima de 20,0% para os conjuntos de amostras de validação externa. Outros métodos de seleção de variáveis (seção 4.10, pág. 36), foram testados e não apresentaram resultados estatisticamente satisfatórios.

A alternativa encontrada para obter melhores modelos, foi a conversão das imagens, inicialmente em sistema RGB, para o sistema HSI, com o auxílio das equações (5), (6) e (7), página 17.

Após a conversão das imagens RGB para o sistema HSI, o modelo escolhido utilizou os histogramas médios do canal H, Figura 46(a), que após aplicação de GA, foi reduzido de 256 para 49 variáveis, Figura 46(b).

Ao analisar a Figura 46(a), notou-se uma grande incidência de índices de cores em torno de 50 no canal H. Esse canal de cor é a Matiz do sistema HSI. Uma das propriedades desse canal é a variação de coordenadas angulares, sendo possível obter as mudanças nas tonalidades de cor das imagens de maneira equivalente aos canais RGB (WOODS, GONZALEZ, RAFAEL C., RICHARD E., 2009).

As Figura 47(a) e Figura 47(b) mostram a gama de cores visíveis em RGB, que são obtidas ao se mudar as coordenadas angulares do canal H. Destaca-se a cor amarela, presente nas imagens obtidas das alíquotas amostrais preparadas para o teste de Cl⁻, próxima ao ângulo de 50° de rotação na Figura 47(b).



(a)

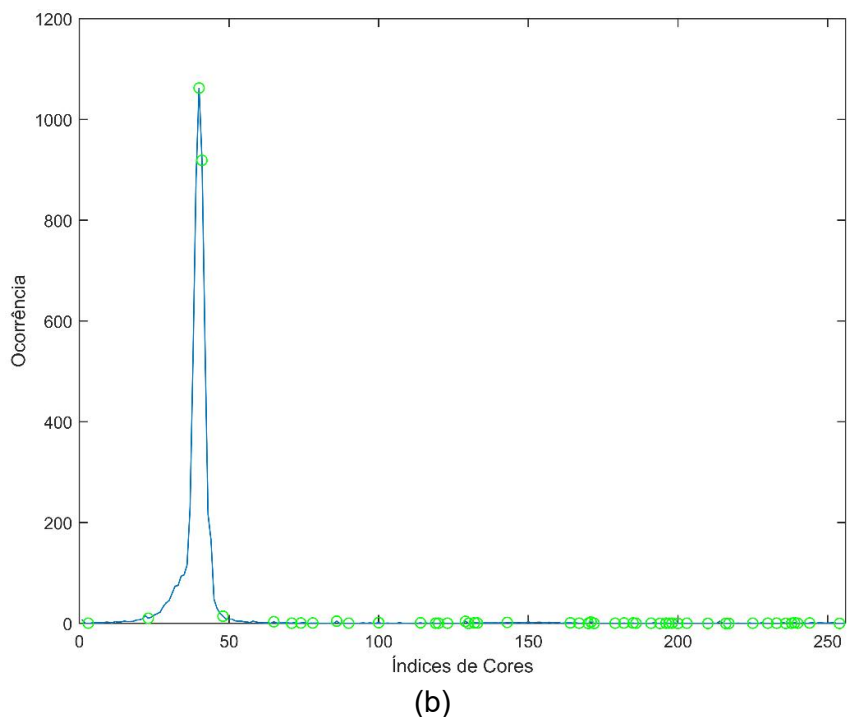


Figura 46. Histogramas médios do canal H do sistema de cor HSI: (a) Histogramas com 256 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 49 variáveis selecionadas por GA (○).

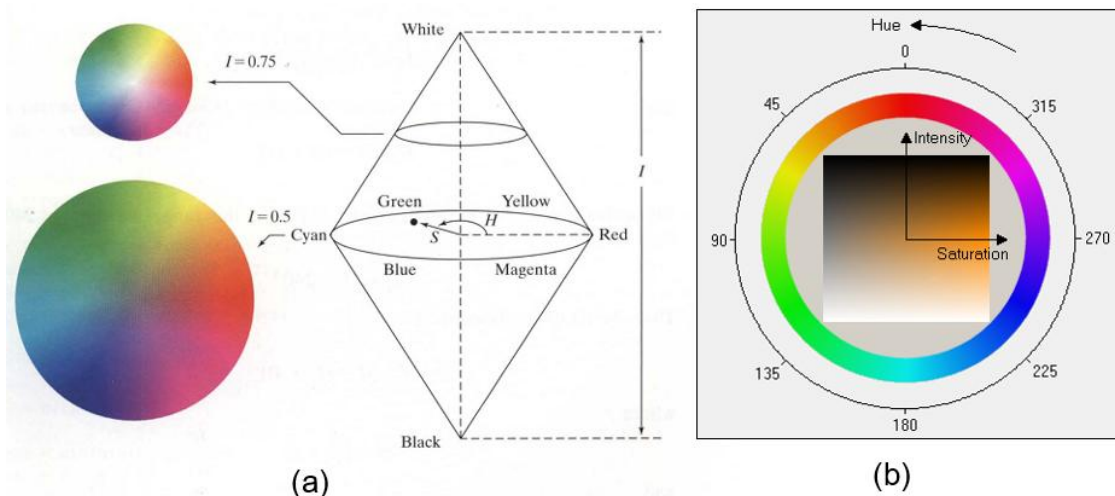


Figura 47. Sistema HSI de cores. (a) Plano circular de cores, em RGB, que são estimadas ao usar (b) coordenadas angulares do canal H para formação de cores.

6.3.2. Modelo para determinação de Fluoretos

As soluções padrão preparadas para o desenvolvimento dos modelos de fluoretos foram testadas com volumes fixos da mistura de Zr-SPADNS. Esse íon

reagiu com o complexo avermelhado de Zr e SPADNS provocando sua dissociação e, seguidamente, a formação do ânion hexafluorozirconato(IV) (ZrF_6^{2-}). Essa reação provoca liberação da parte orgânica do SPADNS e, conseqüentemente, torna a solução incolor. O mecanismo dessa reação é apresentado na Figura 48, (PUBCHEM, 2015d). Dessa maneira, a determinação do íon F^- foi realizada pela medida do grau de descoloração da solução contendo a mistura de Zr-SPADNS (QUEIROZ et al., 2010).

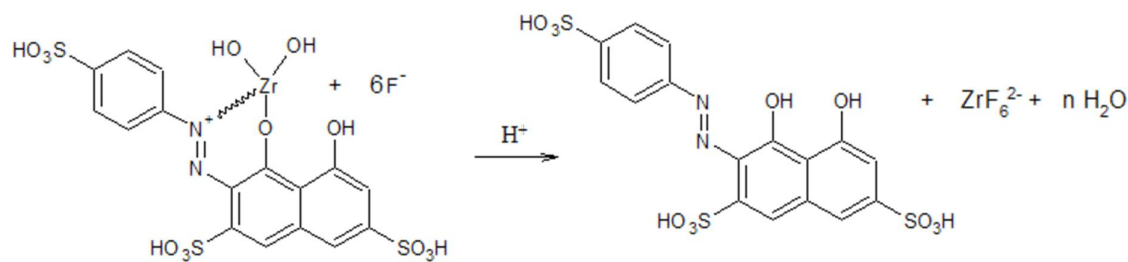


Figura 48. Reação de complexação entre Zr-SPADNS com íons F^- .

Ao analisar os histogramas médios de cor dos canais RGB, Figura 49, destacou-se a ocorrência de pontos no intervalo de 200 a 300 de índices de cor.

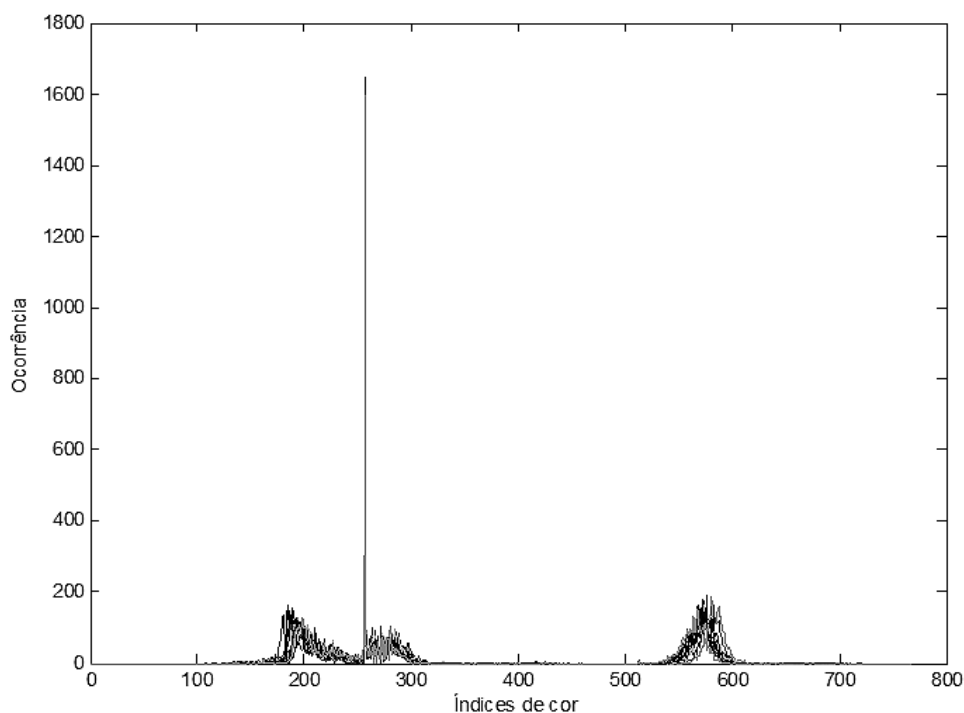


Figura 49. Histogramas médios de cores dos canais RGB, extraídos das imagens destinadas à determinação de fluoreto.

Inicialmente, o maior pico dessa figura foi tratado como uma grande dispersão de luz causada pelo reflexo da placa no momento de captura da imagem pelo CCD do scanner. No entanto, pode-se notar na Figura 26(a), pág. 74, a intensa cor vermelha das soluções formadas.

Essa intensa ocorrência de *pixels* de cor vermelha, com ocorrência entre 200 e 300 de índices de cores, foi confirmada, após a realização de um teste de visualização de *pixels*, em regiões aleatórias das imagens obtidas dos poços contendo as alíquotas.

O resultado de um desses testes é apresentado na Figura 50. Nesse teste foi possível ver cada *pixel* que forma a imagem colorida, separadamente, além de visualizar as coordenadas dos canais R, G e B que os compõem. Percebe-se a prevalência de índices do canal R com valores entre 240 a 260.

Essa distribuição de cores, se repetiu ao longo das amostras preparadas para determinação de íons F^- , produzindo grande influência nos modelos GA-PLS. Logo, esses resultados não se apresentaram satisfatórios devido aos altos erros de calibração e validação.

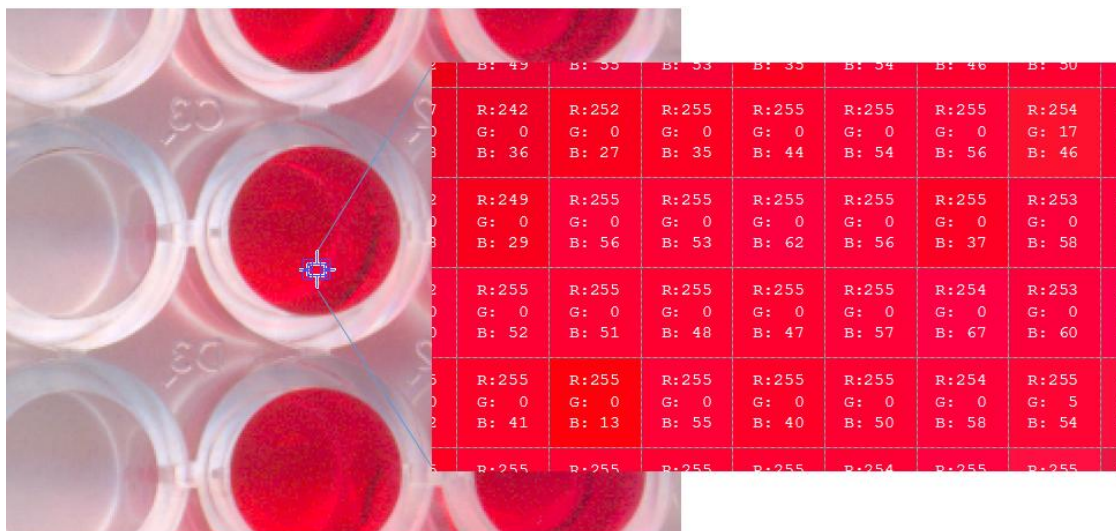


Figura 50. Teste de visualização de *pixels* do segmento do poço B11 da placa contendo amostras padrão. Cada quadrado representa um *pixel*.

Um novo modelo foi então construído com o sistema de cor XYZ. Na Figura 51(a), nota-se nesse sistema, coordenadas de tonalidades disposta em curvas, onde as cores puras estão no extremo do gráfico. As coordenadas de luminância ou brilho do gráfico dessa figura são projetadas pelo canal Y.

A outra coordenada é representada pelo canal Y. Esse último é definido como a combinação linear de cores (ou estímulos visuais) não negativos, utilizado para visualizar e especificar tonalidades de cores visíveis, especificamente àquelas pertencentes aos subconjuntos do canal RGB (sRGB), Figura 51(b) (JR, 2015).

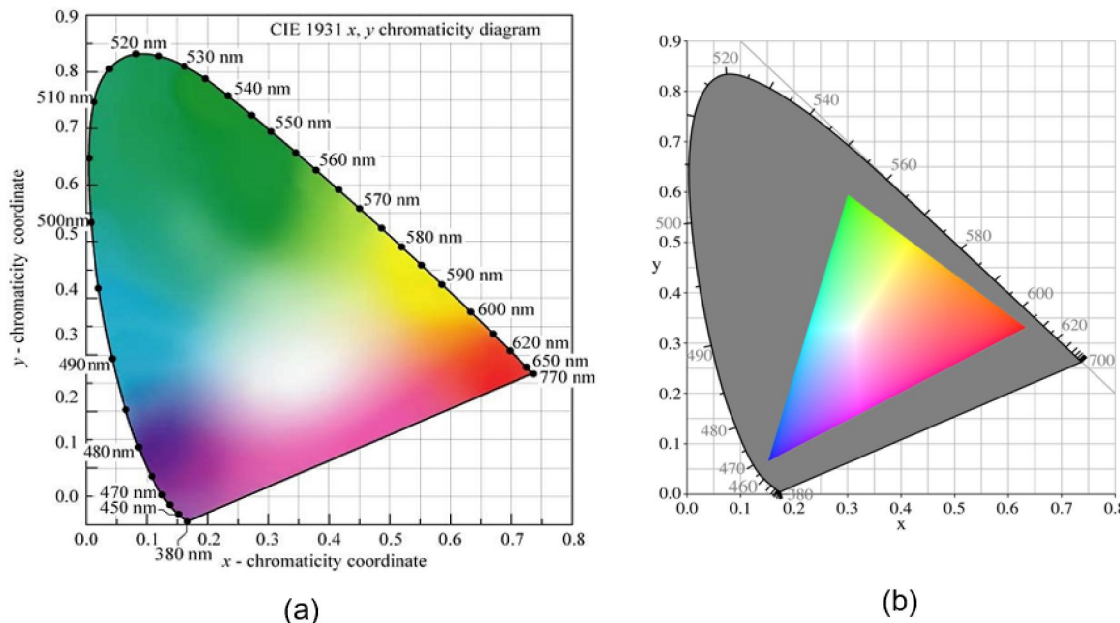
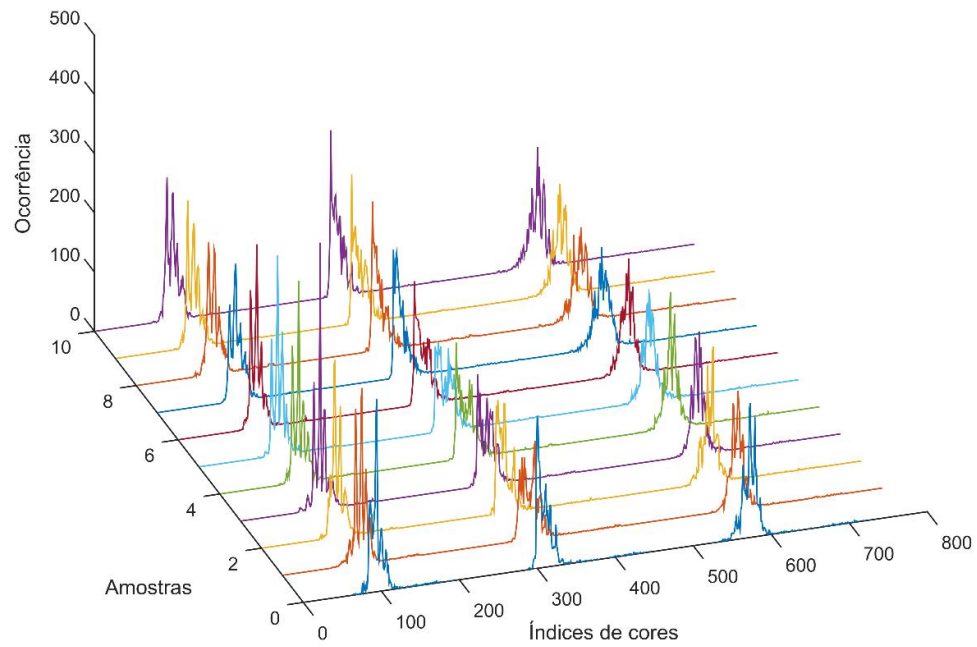
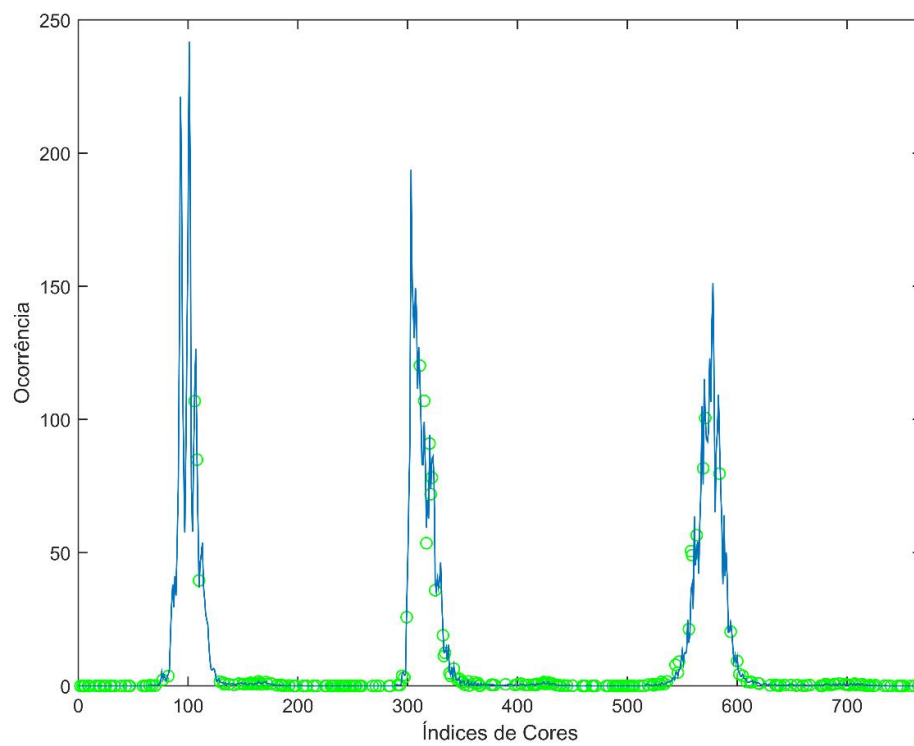


Figura 51. (a) Diagrama XY de tonalidades cromáticas visíveis e (b) espaço triangular sRGB representado como um subconjunto do espaço XY.

Os histogramas médios, Figura 52(a), utilizados no modelo GA-PLS para determinação de fluoretos foram, pré-processados com aplicação de GA, como método de seleção de variáveis, utilizando os parâmetros da Tabela 4, pág. 67, reduzindo o conjunto de índice de cores de 768 para 243 variáveis, Figura 52(b).



(a)



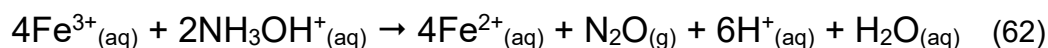
(b)

Figura 52. Histogramas médios do sistema de cor XYZ. (a) Histogramas com 768 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 49 variáveis selecionadas por GA (○).

6.3.3. Modelo para determinação de Ferro Total

As soluções contendo íons Fe(II) foram as únicas preparadas fora dos poços da microplaca ELISA, antes da obtenção das imagens. Essa opção foi escolhida devido as várias etapas envolvidas no processo de redução dos íons Fe(III) para Fe(II), pela praticidade em manipular e homogeneizar as soluções e, principalmente, para evitar manchas de corrosões nas paredes dos poços, devido ao caráter ácido do meio reacional. Devido ao tempo de espera para finalizar todo o processo oxi-redutivo, esses fatores poderiam interferir nas análises por imagens.

O processo de redução do íon Fe(III) ao estado ferroso foi realizado com cloridrato de hidroxilamina em meio ácido, eq. (62) (MADSEN, 2013).



Em seguida, o íon ferroso foi complexado com 1,10-fenantrolina, Figura 53, formando um complexo de cor laranja (BASOLO et al., 1954; ITO et al., 1969).

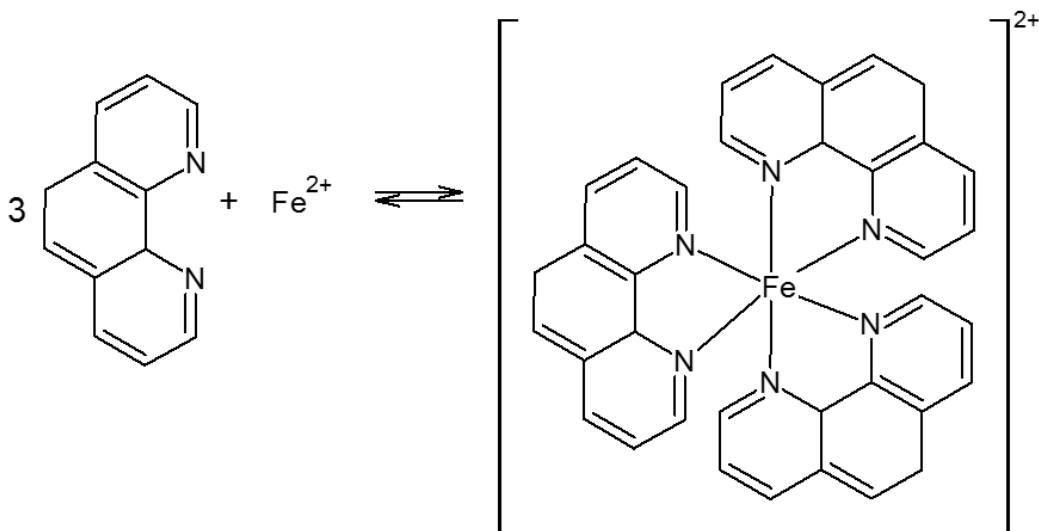
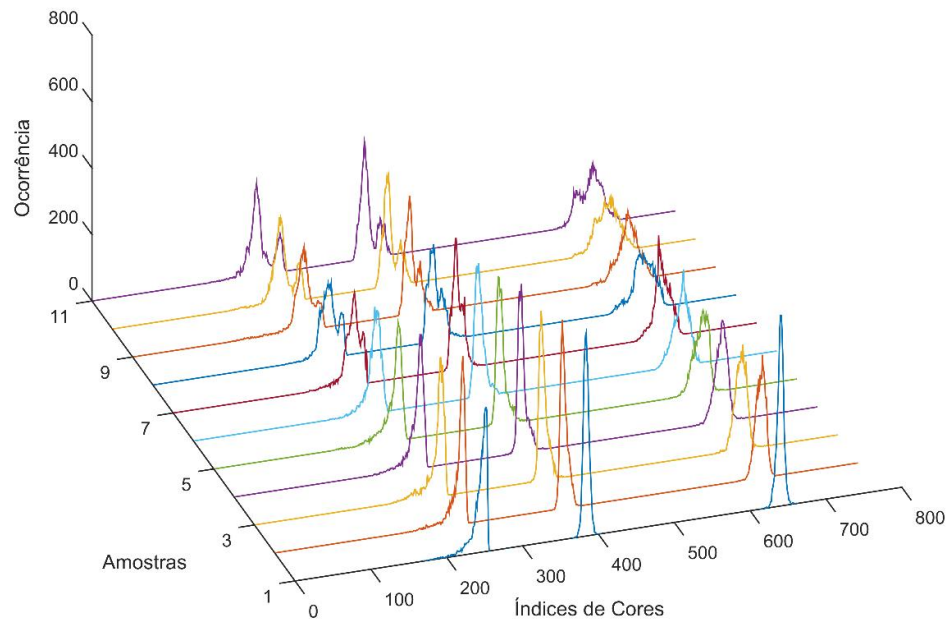


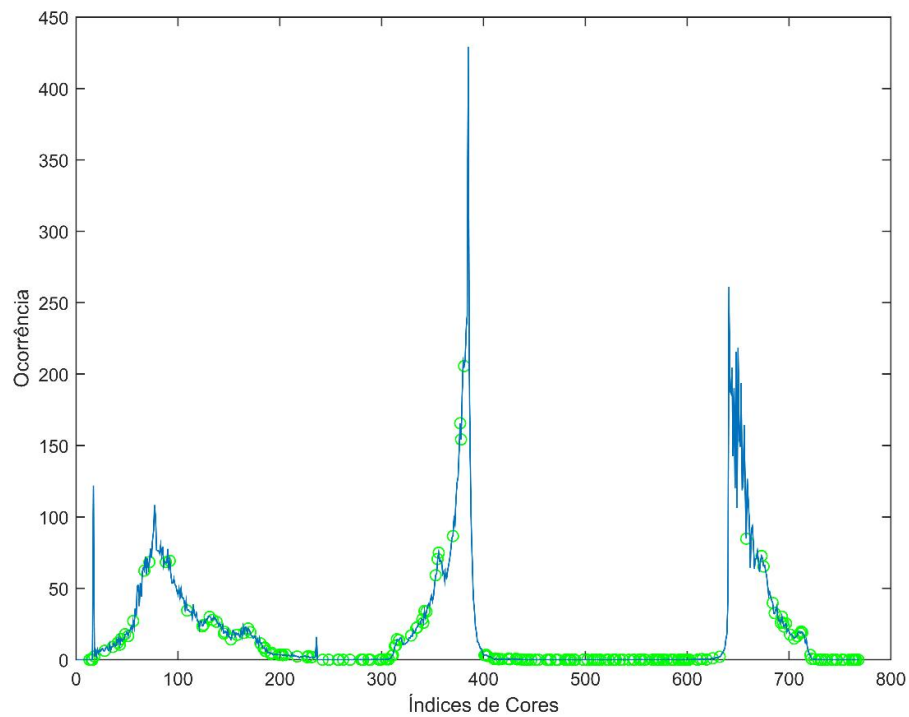
Figura 53. Reação de complexação do íon Fe(II) com 1,10-fenatrolina formando o íon complexo ferro(II)-tri (1,10-fenantrolina) de cor laranja.

Modelos criados com sistemas RGB, e testados com as amostras de validação externa, não apresentaram resultados satisfatórios com erros acima de 20,0%. Ao experimentar, novos sistemas de cores, os melhores modelos GA-PLS, foram desenvolvidos utilizando o conjunto de histogramas médios de cores do sistema

YCbCr, Figura 54(a) que, após aplicação de GA, o conjunto de variáveis foi reduzido de 768 para 207, Figura 54(b).



(a)



(b)

Figura 54. Histogramas médios de cor YCbCr: (a) Histogramas com 768 variáveis; (b) Média dos histogramas com as 207 variáveis selecionadas por GA (○).

6.3.4. Validação Analítica

Foram extraídos treze histogramas médios dos recortes das imagens obtidas para determinação dos íons Cl^- , Figura 25, pág. 73. Para determinação dos parâmetros F^- e Fe(II) , 11 histogramas médios das imagens foram obtidos, Figura 27, pág. 76 e Figura 28, pág. 79, respectivamente. Modelos de calibração GA-PLS foram construídos para os três parâmetros físico-químicos investigados.

Para determinação dos íons Cl^- , foi estimado o volume, em mL, de AgNO_3 $2,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ que seria necessário para titular e definir esse parâmetro em 50,0 mL de amostra. Os valores estimados pelo modelo de determinação dos íons F^- e Fe(II) , foram validados, utilizando-se os resultados das análises espectrofotométricas UV-VIS. Os resultados finais foram apresentados na Tabela 13, pág. 119, com uma casa decimal.

Os dados utilizados na construção dos modelos GA-PLS, foram subdivididos em amostras de calibração e validação por meio do algoritmo SPXY (GALVÃO et al., 2005). O número de LVs foi escolhido utilizando validação cruzada com divisão por *leave-one-out* com base nos menores valores de RMSECV. Todos os modelos utilizaram 2,0 LVs. Os resultados das FOMs são apresentados na Tabela 12.

O modelo GA-PLS para Cloreto apresentou RMSEP igual a 0,069 mL de AgNO_3 . Foram encontrados RMSEP iguais a 0,044 mg $\text{F}^- \text{ L}^{-1}$ e 0,056 mg $\text{Fe}^{2+} \text{ L}^{-1}$, respectivamente, para os parâmetros físico-químicos de Fluoreto e Ferro Total.

Testes t_{bias} indicaram que não há erros significativo para nenhum dos três modelos ($t_{\text{cal}} < t_{\text{crítico}}$, $t_{\text{tab}}=3,18$, $P = 0,05$). Os modelos para determinação de Cloretos, Fluoretos e Ferro, cujos erros relativos, Figura 55, Figura 56 e Figura 57, obtidos pela diferença entre os valores estimados e os valores de referência, apresentaram médias, iguais a 1,01, 5,15 e 1,33%, respectivamente. Apesar da amostra 1, na Figura 57, pág. 114, possuir erro muito alto, as demais amostras ficaram dentro das condições de aceitabilidade da legislação brasileira, com erros abaixo de 20,0%.

A avaliação da precisão foi realizada com os valores de DPR de três pontos da curva de calibração, Tabela 12. Através dos testes de HorRat os modelos apresentaram reprodutibilidade satisfatória com valores de HOr menores que 2,0.

A eficácia dos modelos de Cloreto, Fluoreto e Ferro Total foi verificada com o RPD. Os valores de 7,87, 10,14 e 31,62 respectivamente para os três modelos

atestaram que os modelos GA-PLS construídos são adequados para determinação de Cloretos, Fluoretos e Ferro Total.

Tabela 12. Figuras de mérito, estimadas para os modelos GA-PLS para determinação de Cloreto, Fluoreto e Ferro Total de águas potáveis, respectivamente.

FOM	Parâmetros		Cloreto	Fluoreto	Ferro Total
			Valores		
Veracidade ^a		RMSEC	0,015	0,021	0,015
		RMSECV	0,164	0,143	0,471
		RMSEP	0,069	0,044	0,056
	Erro (%)	Máximo	3,24	18,53	20,00
		Mínimo	-1,42	-3,93	-2,69
Precisão ^d	Valores iniciais da curva	DPR (%)	5,110	7,207	2,462
		HO _R	0,724	1,025	0,277
	Valores centrais da curva	DPR (%)	4,930	5,766	1,334
		HO _R	0,812	0,031	0,277
	Valores finais da curva	DPR (%)	4,722	5,389	0,191
		HO _R	0,412	0,267	0,046
Linearidade	Ajuste da curva ^c	r ² _{cal}	0,999	0,997	0,999
		r ² _{val}	0,984	0,990	0,999
	Resíduos independentes	DW	2,182	2,240	1,418
		p	0,798	0,878	0,878
	Ajuste (NAS)	Inclinação	0,003	0,0262	0,006
			±5,7x10 ⁻⁵	±0,02	±0,02
		Intersecção	0,037	0,00471	0,0103
			±0,05	±1,8x10 ⁻⁴	±5,8x10 ⁻⁵
		r ² _{cal}	0,998	0,997	0,999
	Seletividade	0,784	0,620	0,774	
	Sensibilidade analítica ^b	15507	9,78x10 ⁺³	6,69x10 ⁺³	
	γ ^{-1a}	6,45x10 ⁻⁵	1,02x10 ⁻⁴	1,49x10 ⁻⁴	
	Limite de Detecção ^a	1,93x10 ⁻⁴	3,07x10 ⁻⁴	4,48x10 ⁻⁴	
	Limite de Quantificação ^a	6,45x10 ⁻⁴	0,001	1,5x10 ⁻³	
	RPD	7,87	10,14	31,62	
Erro Sistemático		bias	0,01	0,02	0,05
		SVD	0,08	0,05	0,06
		t _{bias}	0,23	0,79	1,63

^a Cloreto: mL de AgNO₃; Fluoreto: mg F⁻ L⁻¹; Ferro(II): mg Fe²⁺ L⁻¹;

^b Cloreto: (mL)⁻¹ de AgNO₃; Fluoreto: (mg F⁻)⁻¹ L; Ferro(II): (mg Fe²⁺)⁻¹ L;

^c Ajuste obtido entre os valores de referência versus valores estimados;

^d mL de AgNO₃, mg F⁻ L⁻¹, mg Fe²⁺ L⁻¹ respectivamente.

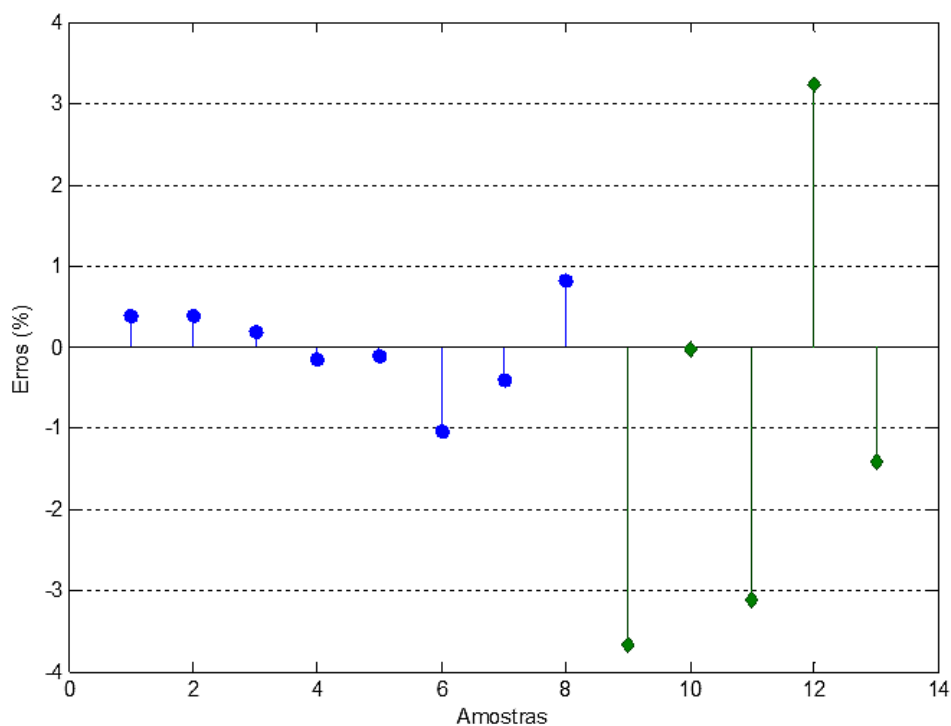


Figura 55. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes ao volume de AgNO_3 , estimados pelo modelo para determinação de Cloretos da água.

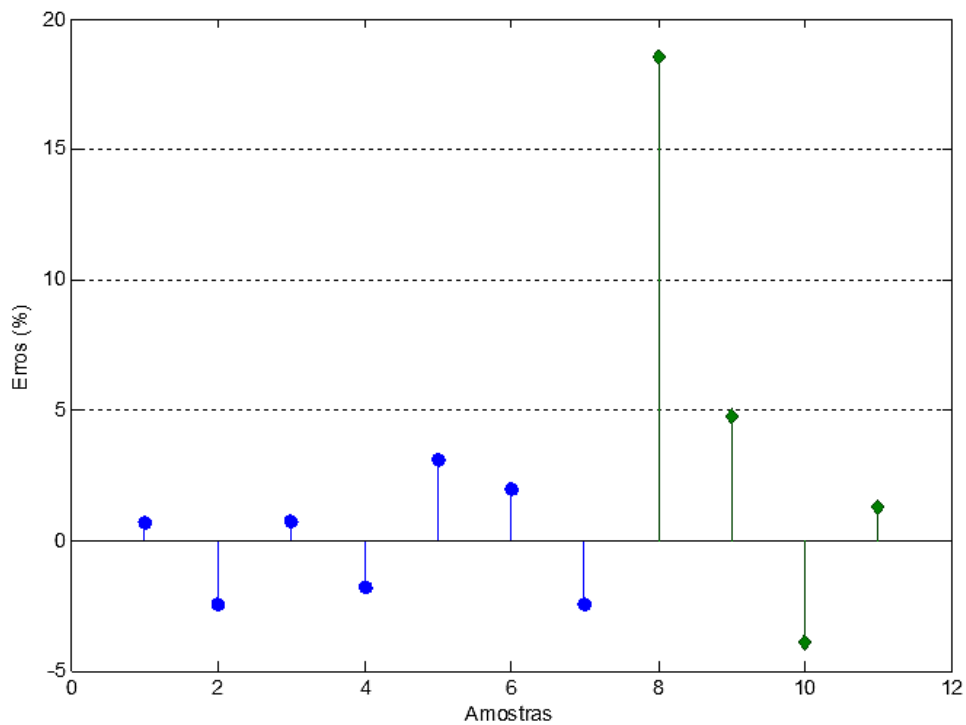


Figura 56. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes às concentrações obtidas pelo modelo de determinação de Fluoretos.

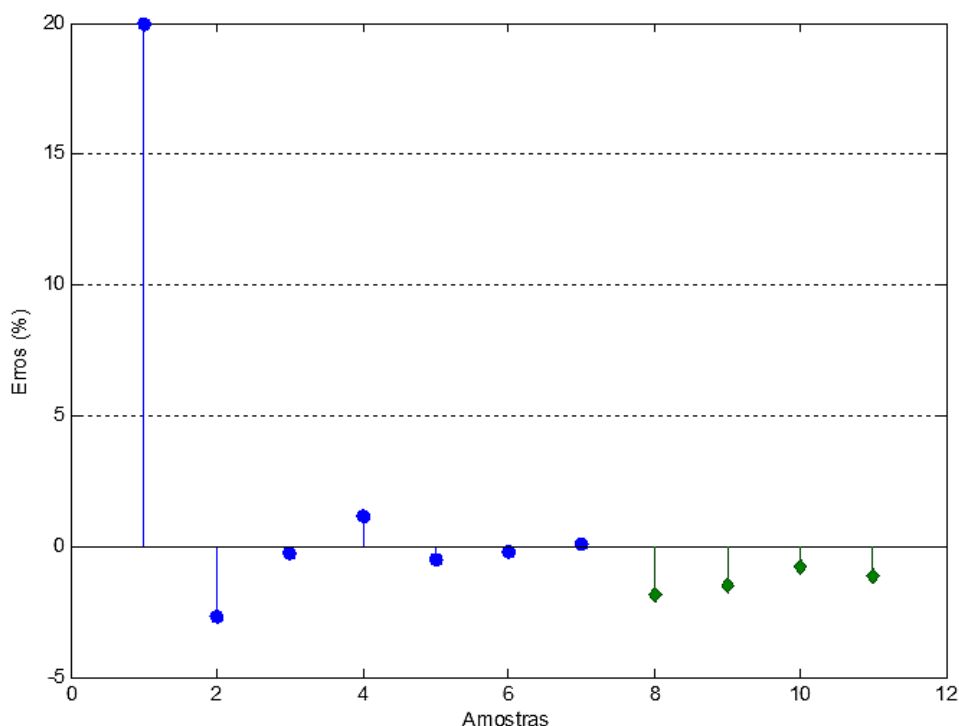


Figura 57. Erros relativos das amostras de calibração (●) e validação (◆) referentes às concentrações obtidas pelo modelo de determinação de Ferro Total.

A linearidade foi estimada através dos testes de aleatoriedade dos resíduos juntamente, com a correlação dos valores estimados versus os valores de referência. Os testes DW, para aleatoriedade, apresentaram ausência de autocorrelação dos resíduos ($P = 0,79$ para Cloreto; $P = 0,88$ para Fluoreto e; $P = 0,88$ para Ferro Total).

A correlação feita com os dados do modelo para determinação de Cloreto, Figura 58, apresentaram coeficientes de 0,9998 e 0,9836 para calibração e validação, respectivamente. No modelo de determinação de Fluoreto, Figura 59, foram obtidos coeficientes de 0,9971 e 0,9998 para calibração e validação. Para o modelo de determinação de Ferro Total os valores dos coeficientes encontrados foram 0,9991 e 0,9987 para calibração e validação, respectivamente, Figura 60.

A linearidade do modelo de regressão GA-PLS para os três parâmetros físico-químicos, foi confirmada por ANOVA, que indicou que o modelo linear é adequado para os dados ($P = 0,05$).

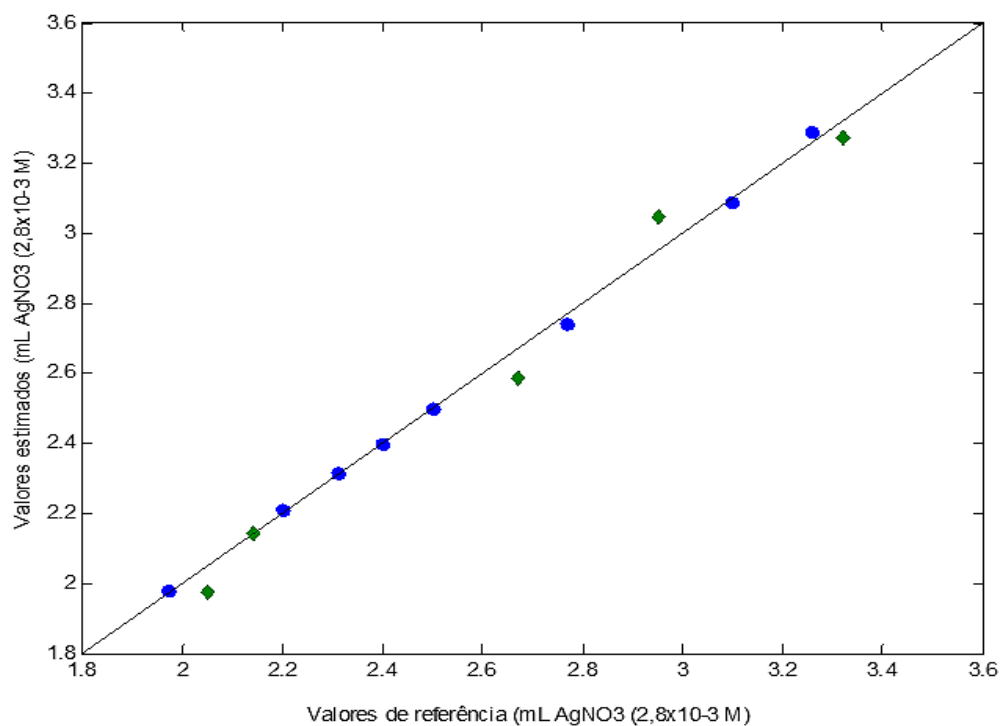


Figura 58. Gráfico dos valores de referência versus valores estimados para a determinação de Cloretos: amostras de calibração (●) e validação (◆).

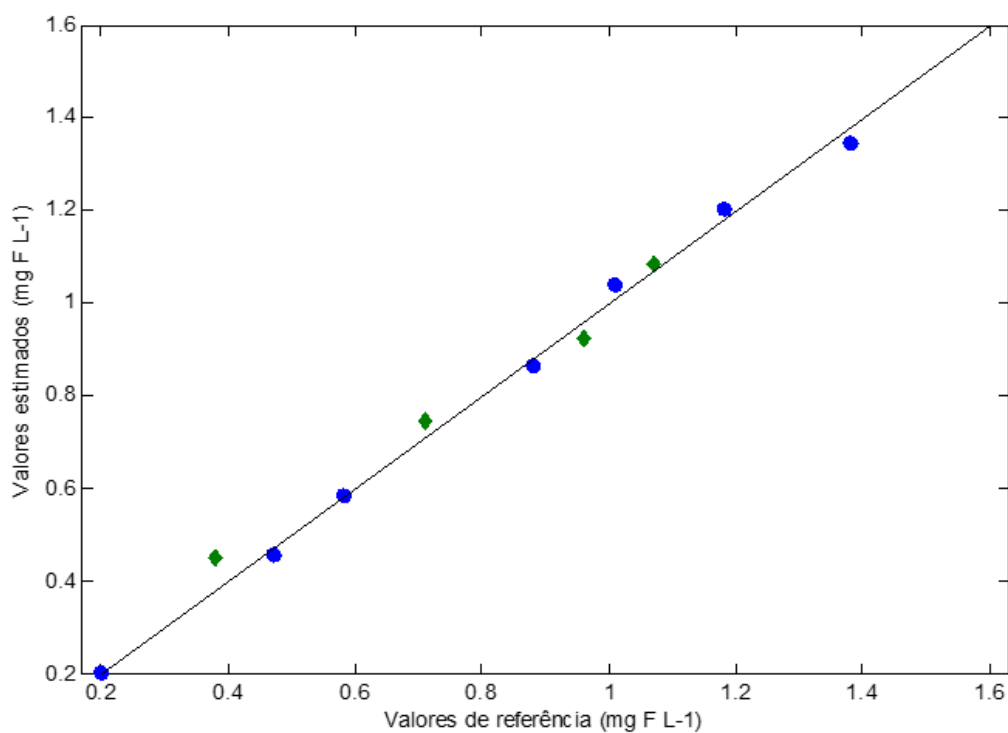


Figura 59. Gráfico dos valores de referência versus valores estimados para a determinação de Fluoretos: amostras de calibração (●) e validação (◆).

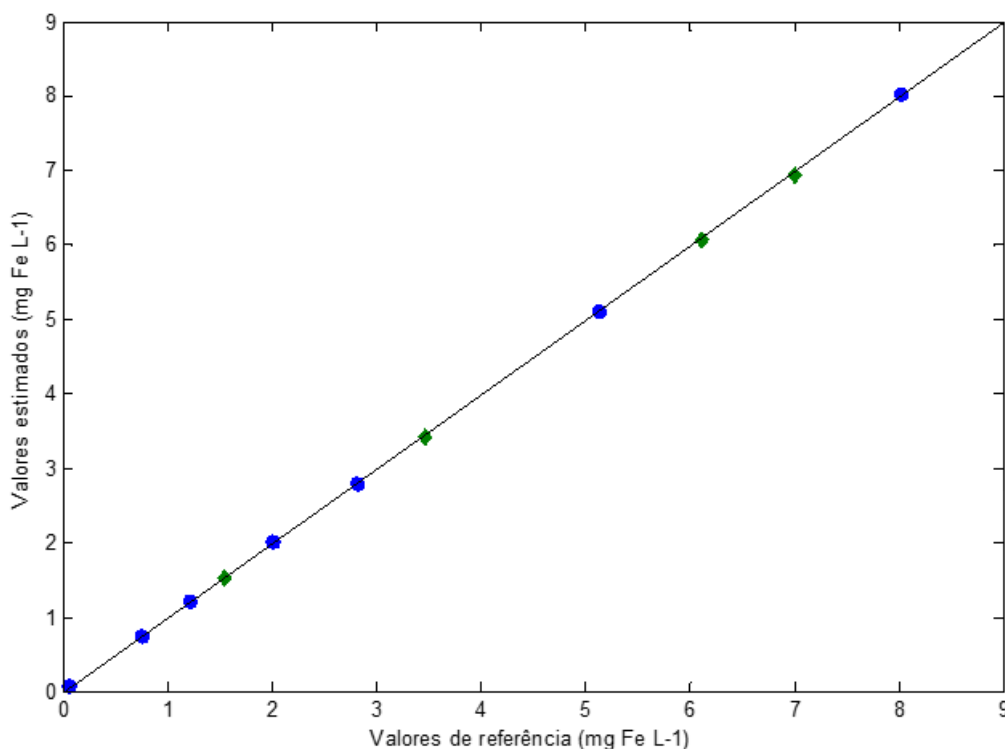


Figura 60. Gráfico dos valores de referência versus valores estimados para determinação de Ferro Total: amostras de calibração (●) e validação (◆).

Outra forma de expressar a linearidade dos três modelos propostos, foi através das curvas de calibração pseudo-univariada, utilizando os vetores obtidos da norma do NAS. As correlações dos valores estimados pelos vetores NAS, são apresentadas nas Figura 61, Figura 62 e Figura 63. Os valores da norma do NAS, são equivalentes à intensidade das cores após a exclusão dos sinais dos interferentes. Com as representações das equações (63), (64) e (65) tem-se uma representação univariada dos modelos PLS criados.

$$\text{mL AgNO}_3 = 0,003||\mathbf{n\hat{a}s}|| + 0,037 \quad (63)$$

$$\text{mg F}^- = 0,0262||\mathbf{n\hat{a}s}|| + 0,00471 \quad (64)$$

$$\text{mg Fe} = 0,006||\mathbf{n\hat{a}s}|| + 0,0103 \quad (65)$$

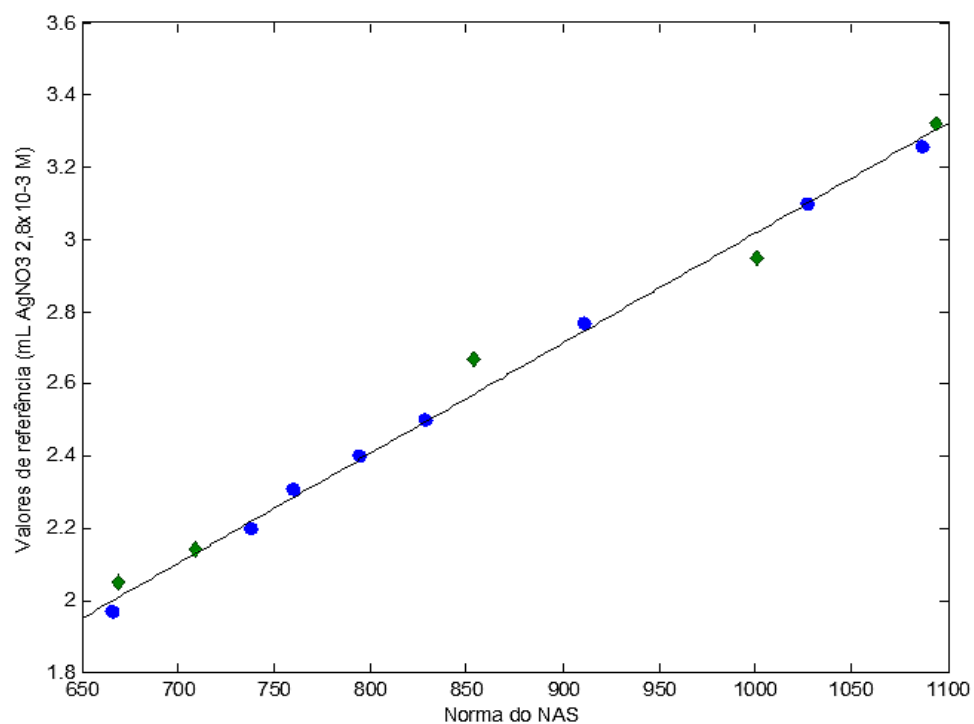


Figura 61. Gráfico dos valores de referência versus a norma do NAS para a determinação de Cloretos: amostras de calibração (●) e validação (◆).

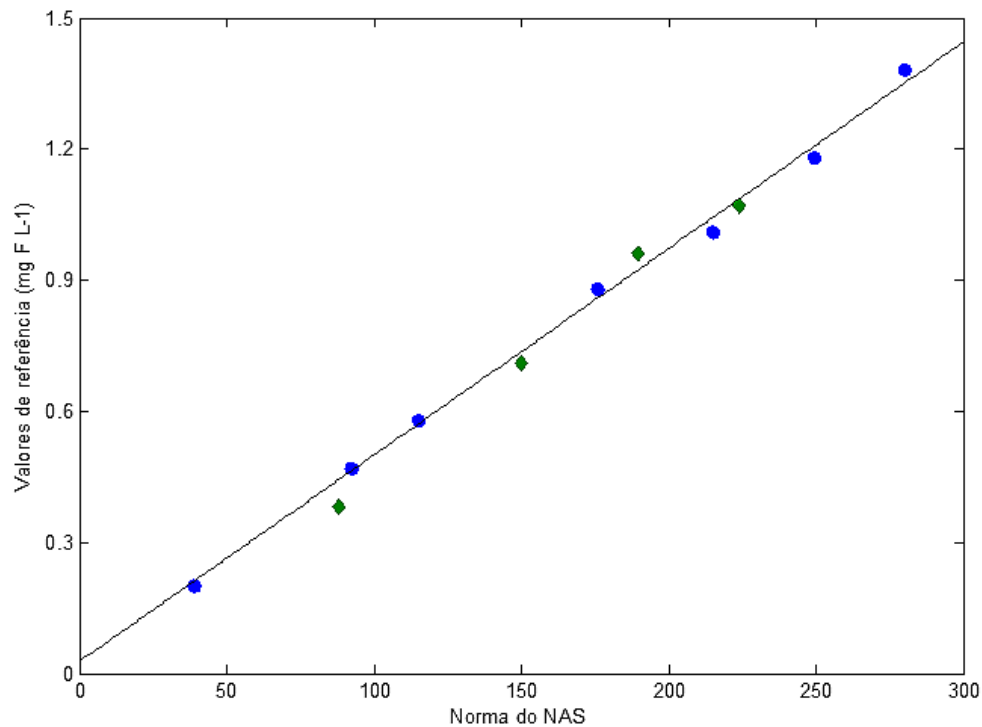


Figura 62. Gráfico dos valores de referência versus a norma do NAS para a determinação de Fluoretos: amostras de calibração (●) e validação (◆).

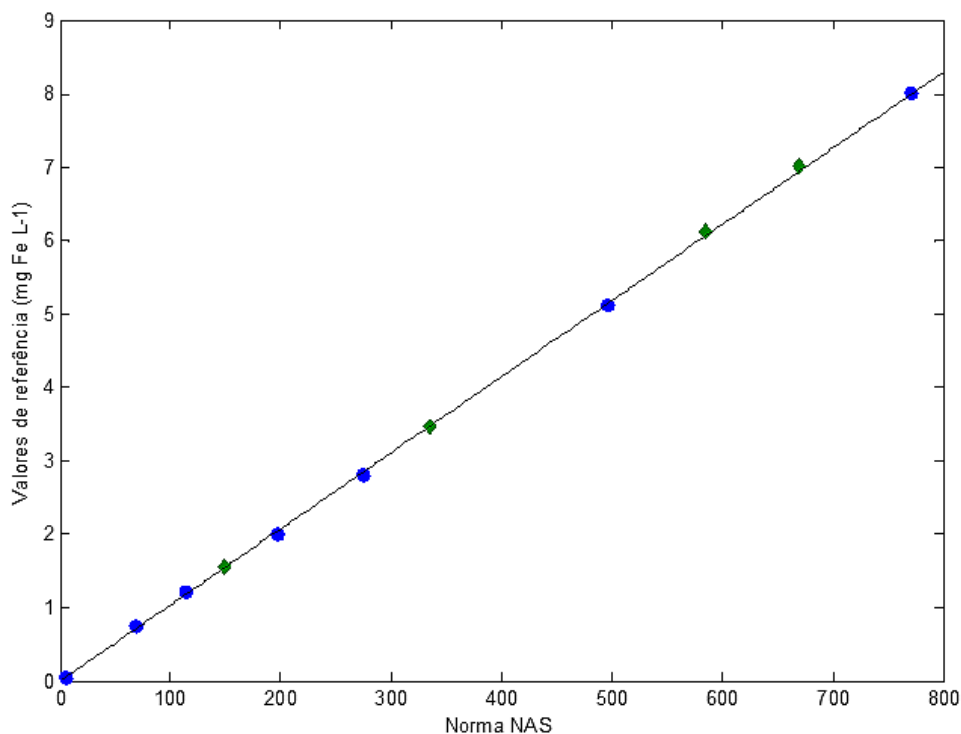


Figura 63. Gráfico dos valores de referência versus a norma do NAS para a determinação de Ferro Total: amostras de calibração (●) e validação (◆).

As concentrações de cloretos nas amostras foram obtidas com os volumes de AgNO_3 $2,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ estimados pelo modelo GA-PLS, utilizando a norma NBR 13797:1997. Os resultados obtidos pelos modelos são apresentados na Tabela 13.

Com base no cálculo de seletividade, os modelos utilizaram respectivamente para Cloreto, Fluoreto e Ferro Total, os percentuais de 78,0%, 62,0% e 77,0% dos histogramas médios, para relacionar as mudanças de cor com as variações das concentrações dos analitos presentes nas alíquotas.

O inverso da sensibilidade analítica indicou que os modelos GA-PLS foram capazes de discriminar amostras com diferença de $6,45 \times 10^{-5} \text{ mL AgNO}_3$ $2,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ entre as alíquotas de Cloreto, $1,02 \times 10^{-4} \text{ mg F}^{-} \text{ L}^{-1}$ para as alíquotas de Fluoreto e $1,49 \times 10^{-4} \text{ mg Fe L}^{-1}$ para Ferro Total.

Tabela 13. Resultados dos parâmetros de cloretos, fluoretos e ferro total, em mg L⁻¹. Valores de referência (RM) versus valores previstos (GA-PLS).

Cloretos		Fluoretos		Ferro Total	
Calibração					
RM	GA-PLS	RM	GA-PLS	RM	GA-PLS
1,9	1,9	0,2	0,2	0,1	0,1
2,4	2,5	0,5	0,5	0,8	0,7
2,7	2,7	0,6	0,6	1,2	1,2
2,9	2,9	0,9	0,9	2,0	2,0
3,2	3,2	1,0	1,0	2,8	2,8
3,8	3,8	1,2	1,2	5,1	5,1
4,6	4,6	1,4	1,3	8,0	8,0
5,0	5,1	ND ^a	ND	ND	ND
Validação					
RM	GA-PLS	RM	GA-PLS	RM	GA-PLS
2,1	1,9	0,3	0,5	1,6	1,5
2,3	2,3	0,7	0,7	3,5	3,4
3,6	3,4	1,0	0,9	6,1	6,1
4,3	4,5	1,1	1,1	7,0	6,9
5,2	5,1	-	-	-	-

^a ND: Não Detectado.

6.4. VALIDAÇÃO EXTERNA DOS MODELOS

Para avaliação da capacidade preditiva dos modelos desenvolvidos para determinação de pH, Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Cálcio, Dureza Magnésio, Fluoreto, Cloreto e Ferro Total, foram utilizadas amostras reais coletadas da torneira, de bebedouros e de água mineral. Ressalta-se que as amostras provenientes dos bebedouros vieram das linhas de distribuição e tratamento da UFG Campus Samambaia, que são abastecidas pela Represa Samambaia pertencente à sub-bacia do rio Meia Ponte. Os valores obtidos foram comparados com os resultados encontrados pelos métodos convencionais, Tabela 14.

Tabela 14. Resultados das análises dos parâmetros pH, Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Ca, Dureza Mg, Cloretos, Fluoretos e Ferro Total, em mg L⁻¹. Valores previstos versus valores de referência.

Parâmetros	Validação Externa ^a					
	Torneira		Bebedouro		Mineral	
	PLS	RM ^b	PLS	RM	PLS	RM
pH	6,7±0,00	6,5±0,14	6,2±0,06	6,2±0,05	6,1±0,01	6,1±0,03
Alcalinidade	14,7±0,57	13,2±2,13	14,9±2,55	13,3±0,74	5,3±1,61	4,7±0,43
Dureza Total	10,2±1,31	10,8±0,05	11,5±1,54	9,5±0,54	9,5±1,49	8,6±0,07
Dureza Ca	6,1±0,78	7,8±0,03	6,9±0,92	5,7±0,04	5,7±0,89	4,6±0,02
Dureza Mg	1,0 ± 0,13	0,7±0,01	1,1±0,15	0,9±0,01	0,9 ± 0,15	0,9±0,01
Cloretos	2,9±0,08	3,0±0,12	2,9±0,18	2,9±0,42	ND ^c	ND
Fluoretos	1,3±0,03	1,3±0,01	0,9±0,03	0,9±0,01	0,2±0,04	0,2±0,02
Ferro Total	0,3±0,03	0,3±0,02	0,1±0,02	0,1±0,01	ND	ND

^a Média ± desvio padrão;

^b RM: Método de referência;

^c ND: Não Determinado;

Os testes foram realizados seguindo os procedimentos descritos na secção 5, pág. 60. Os parâmetros Cloreto e Ferro Total estavam abaixo dos limites de quantificação dos métodos convencionais nas amostras de águas minerais. Para confirmação desses resultados, os respectivos modelos GA-PLS desenvolvidos para esses dois parâmetros, estimaram concentrações próximas a zero ou valores negativos para esses dois íons.

Pode-se inferir que o modelo estava utilizando apenas interferentes provenientes do espalhamento reflexivo da luz para distinguir a mudança de cor dos indicadores, produzindo erros sistemáticos. Logo, para essa matriz amostral, os valores dos dois parâmetros não foram determinados (ND).

Equivalências entre os resultados obtidos pelos modelos PLS e pelos métodos convencionais foram avaliadas, com a aplicação de testes *t*_{Student} (testes com médias pareadas e testes com médias equivalentes) no nível de confiança de 95,0%,

para comparação estatística. Os resultados dos testes são apresentados na Tabela 15.

Não houve a indicação de diferenças estatisticamente significativas ($P = 0,05$), entre os valores estimados pelos métodos PLS e os obtidos pelos métodos convencionais.

Testes F ($P = 0,05$) foram realizados. Os modelos PLS referentes aos parâmetros pH (com exceção da amostra de Torneira), Alcalinidade, Cloretos, Fluoretos e Ferro Total, obtiveram variâncias estatisticamente semelhantes às observadas com os resultados obtidos pelos métodos de referência.

Os testes de variância para os métodos GA-PLS de Dureza Total, Dureza Ca e Dureza Mg, mostraram-se menos preciso que a metodologia de referência (espectroscopia de absorção atômica).

Tabela 15. Níveis descritivos de testes comparativos (valor-p) dos valores de referência e os valores estimados pelos modelos PLS para amostras de águas coletadas em três diferentes lugares do IQ-UFG: (I) Torneira, (II) Bebedouro e (III) Fonte de água mineral.

Parâmetros	Teste t^a			Teste t^b			Teste F^c		
	(I)	(II)	(III)	(I)	(II)	(III)	(I)	(II)	(III)
pH	0,154	0,491	0,181	0,094	0,311	0,165	0,001	0,405	0,072
Alcalinidade	,282	,487	,627	,314	,368	,541	,065	,078	,066
Dureza Total	,525	,154	,326	,474	,086	,279	,001	,000	,001
Dureza Ca	,071	,171	,160	,025	,096	,097	0,01	,001	,000
Dureza Mg	,078	,131	,934	,021	,072	,933	0,00	,001	,006
Cloretos	,171	,867	ND	,402	,895	ND	,315	,155	ND
Fluoretos	,987	,183	,244	,984	,163	,170	,081	,136	,312
Ferro Total	,307	,467	ND	,683	,301	ND	,342	,213	ND

^a t-student médias pareadas.

^b t-student médias equivalentes.

^c Avaliação da variância a 95% ($P = 0,05$), uni-caudal.

6.4.1. Avaliação do desempenho dos modelos desenvolvidos

Os modelos PLS desenvolvidos para a estimação de pH, Alcalinidade e Dureza Total foram testados com amostras reais, fornecidas pela empresa AQUALIT Saneamento LTDA, com o objetivo de desenvolver cartas de controle para avaliação

do desempenho dos modelos em situações reais de laboratório de análise. Os resultados encontrados demonstraram concordância com as normas nacionais de validação analítica.

Segundo a normatização vigente, novos métodos analíticos desenvolvidos, devem apresentar 67,0% dos resultados estimados, dentro da faixa de $\pm 20,0\%$ de erros experimental de previsão. Os demais, 33,0% dos resultados estimados, podem estar fora destes limites. Caso, o percentual de resultados estimados, esteja fora desses parâmetros, o modelo deve ser revisado (BRASIL, 2003).

Dessa forma, amostras reais de águas potáveis oriundas de estações de tratamento, poços artesianos e de pontos de coleta aleatórios da Grande Goiânia, foram fornecidas, para determinação de pH, Alcalinidade e Dureza Total utilizando os modelos PLS.

Os erros relativos entre os modelos PLS e os métodos analíticos utilizados pela AQUALIT, são apresentados nas Figura 64, Figura 65 e Figura 66. As linhas vermelhas nas figuras, representam os limites inferior e superior estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2003).

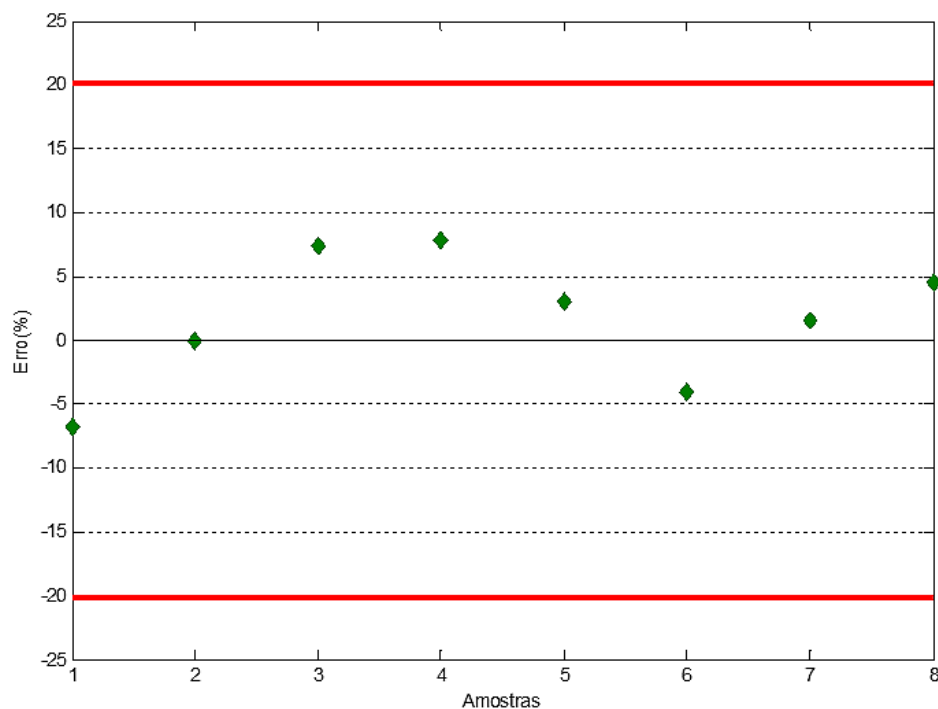


Figura 64. Carta de controle da estabilidade do modelo PLS para determinação de pH de águas potáveis com base no erro (%) da diferença entre os valores estimados e os valores de referência.

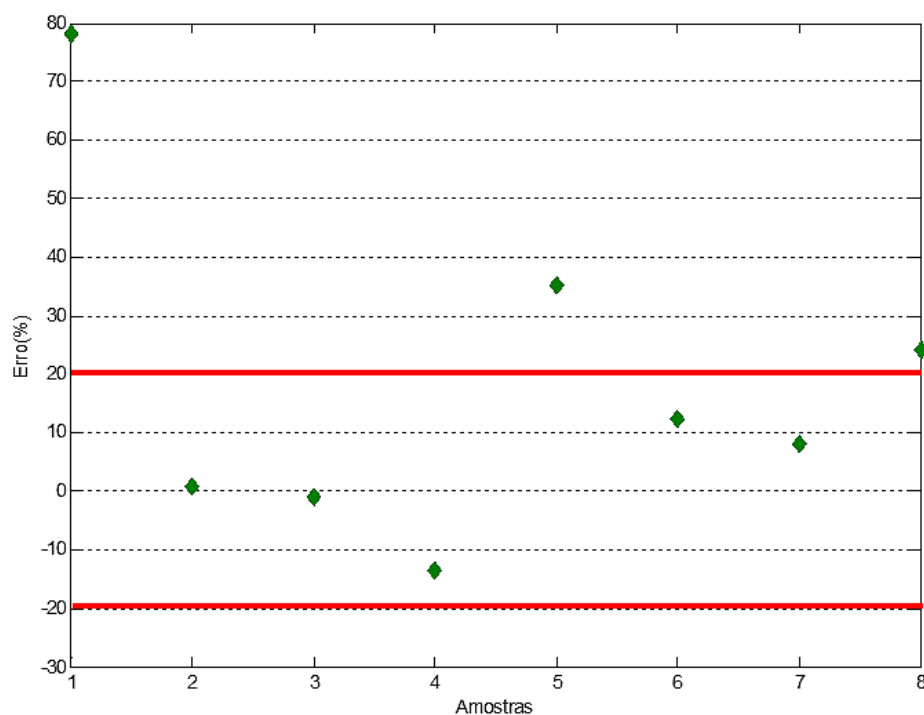


Figura 65. Carta de controle da estabilidade do modelo GA-PLS para determinação de Alcalinidade de águas potáveis com base no erro (%) da diferença entre os valores estimados e os valores de referência.

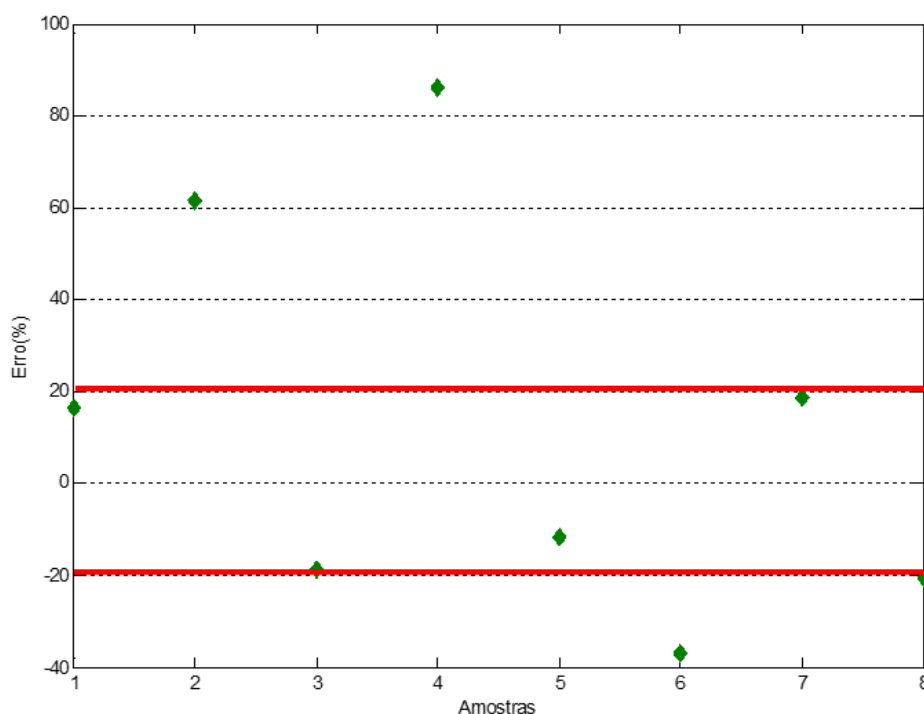


Figura 66. Carta de controle da estabilidade do modelo GA-PLS para determinação de Dureza Total de águas potáveis com base no erro (%) da diferença entre os valores estimados e os valores de referência.

O modelo PLS para determinação do pH se mostrou estável, com 100,0% das amostras dentro dos limites estabelecidos em lei. Já o modelo para Alcalinidade apresentou três amostras (37,0% do total) fora do limite máximo estabelecido. O modelo para determinação de Dureza Total apresentou quatro amostras (50,0% do total) fora do limite máximo.

Ressalta-se que os resultados analíticos fornecidos em laudo, pela AQUALIT Saneamento LTDA, foram gerados com métodos convencionais diferentes dos adotados nesta Tese. Para análise de Alcalinidade, a empresa adota Titulometria com H_2SO_4 0,02 mol L^{-1} e, para a Análise de Dureza, a empresa adota Titulometria com EDTA 0,01 mol L^{-1} . Logo, erros aleatórios referentes às diferenças metodológicas, entre as análises usadas como comparativos, já eram esperados.

Dessa forma, as duas últimas figuras, indicaram a necessidade de ajustes, nos modelos PLS desenvolvidos. Essas correções, podem ser realizadas com os resultados estimados das metodologias analíticas que forem adotadas, como convencionais pelas empresas e, novas validações estatísticas, devem ser realizadas ao se utilizar a metodologia MIA, hifenada à regressão PLS, como procedimento analítico para determinação dos parâmetros de potabilidade.

6.4.2. Avaliações Finais

Ao comparar os métodos convencionais adotados nesta Tese, com as análises realizadas pelos métodos PLS, estes últimos, apresentaram-se mais econômicos. Foi realizado um balanço comparativo de reagentes preparados, volumes de amostras utilizados e a quantidade de resíduos gerados, entre as metodologias estudadas. Os resultados são apresentados na Tabela 16.

Os modelos PLS desenvolvidos nesta Tese, utilizaram cerca de 0,04% do volume de amostras que é, convencionalmente utilizado, pelos métodos de referência. Utilizaram, em média, 40,0 μL de reagentes e 4,0 μL de indicadores, produzindo 400,0 μL de resíduos.

Além do aspecto econômico, os modelos PLS, trazem a vantagem de serem métodos móveis, podendo ser deslocados até as fontes de coletas de amostras, enquanto a maioria dos métodos convencionais de análise físico-química

de águas potáveis, necessitam que as amostras sejam levadas à laboratórios específicos.

Tabela 16. Valores estimados para comparação entre os métodos PLS e os métodos convencionais adotados nesta Tese, para determinação de pH, Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Cálcio, Dureza Magnésio, Fluoreto, Cloreto e Ferro Total.

Métodos de análise ^a		
	PLS	Referência
Amostras	200,0 µL	50,0 mL
Amostras / análise	48 / análise	1,0 / análise
Reagentes	40,0 µL	10,0 mL
Indicadores	4,0 µL	1,0 mL
Resíduos	400,0 µL	60,0 mL
Mobilidade	Móvel	-

^a Média dos valores medidos durante os testes analíticos destinados ao desenvolvimento e validação dos métodos desenvolvidos.

7. CONCLUSÕES

As avaliações dos modelos desenvolvidos com a Análise Multivariada de Imagens, associada à Regressão Multivariada por Mínimos Quadrados Parciais, indicaram que essas associações podem ser utilizadas para análise e controle qualidade de águas potáveis proporcionando métodos de fácil locomoção, de baixo custo, gerando muito menos resíduos quando comparadas às metodologias convencionais.

As análises foram realizadas em microplacas ELISA, contendo 96 poços nas quais, foram colocadas 200,0 μ L de soluções padrão e de amostras. As microplacas contendo as soluções, foram colocadas no centro de um scanner de mesa, configurado para obter imagens no espaço RGB, formato BMP, com resolução de 300 dpi.

Foram feitas quatro leituras no scanner para cada parâmetro físico-químico investigado. Análises de PCA com essas imagens, demonstraram que a primeira imagem obtida, apresentava tons diferentes das demais. Logo, as primeiras leituras foram descartadas.

Para as imagens escolhidas, sistemas de cores e aplicações de filtros foram testados, antes da segmentação em partes menores. O objetivo dessa ação foi selecionar as regiões de maior ocorrência de *pixels* coloridos de interesse, e que tinham maior correlação com as propriedades investigadas. Para análise de pH, Alcalinidade e Dureza da água os melhores modelos foram obtidos com a utilização de imagens em sistema RGB.

Os modelos, inicialmente desenvolvidos, com os histogramas para cloretos, fluoretos e ferro total, no sistema RGB de cores, não apresentaram resultados satisfatórios quando submetidos aos testes estatísticos de validação.

A alternativa encontrada para obter melhores modelos, foi a conversão das imagens, inicialmente em sistema RGB, para outros sistemas de cores. Para Cloreto, o modelo escolhido utilizou o canal H do sistema HSI. Os parâmetros Fluoreto e Ferro Total, utilizaram os sistemas XYZ e YCbCr, respectivamente.

De cada segmento dos poços, contendo soluções e amostras água potável, obteve-se três histogramas de ocorrência de índices (ou intensidades) das cores de cada canal do sistema anteriormente escolhido. Esses histogramas foram justapostos

formando vetores de histogramas de cor que, por sua vez, formaram histogramas médios de cores.

Como métodos de seleção de variáveis, foram testados VIP, iPLS, SPA e GA. Os melhores resultados foram encontrados com aplicação do GA, sendo adotado nesta Tese. A escolha do GA como método de seleção de variáveis, baseou-se na obtenção de menores valores de RMSEP, para as amostras de validação externa, além de ser o método que se mostrou mais eficiente com os dados de imagens.

O primeiro modelo PLS desenvolvido, correlacionou os valores de pH das amostras, estimados por potenciometria, com os histogramas médios de cores. O modelo GA-PLS, desenvolvido para determinação de Alcalinidade, foi construído utilizando os resultados da Titulometria de Neutralização. Dessa forma, o modelo desenvolvido simulou o volume de HCl que seria necessário para titular e determinar o teor de Alcalinidade de 50,0 mL das amostras. O modelo GA-PLS2, desenvolvido para determinação da Dureza Total, Dureza Ca, utilizou as concentrações dos íons Ca(II) e Mg(II), obtidos por FAAS. Os modelos GA-PLS, para determinação dos íons Cl⁻, utilizou-se o volume, em mL, de AgNO₃ $2,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ que seria necessário para titular e definir esse parâmetro em 50,0 mL de amostra. Os modelos GA-PLS, para determinação dos íons F⁻ e Fe(II) utilizaram os resultados das análises espectrofotométricas UV-VIS.

Os modelos desenvolvidos foram avaliados por FOMs e estimaram resultados, estatisticamente, exatos e precisos, para a investigação de oito parâmetros físico-químico de águas potáveis: pH, Alcalinidade, Dureza Total, Dureza Cálcio, Dureza Magnésio, Cloreto, Fluoreto e Ferro Total.

Os resultados foram validados utilizando testes estatísticos convencionais adotados por agências nacionais e internacionais de metrologia. Os resultados desses testes não demonstraram diferença estatisticamente significativa ($P = 0,05$) entre os valores estimados pelos métodos PLS e os obtidos pelos métodos convencionais.

Testes F ($P = 0,05$) foram realizados. Os modelos PLS utilizados para estimar os parâmetros pH, Alcalinidade, Cloretos, Fluoretos e Ferro Total, obtiveram variâncias estatisticamente semelhantes às observadas com os resultados obtidos pelos métodos de referência. Os testes de variância para os métodos GA-PLS2 de Dureza Total, Dureza Ca e Dureza Mg, mostraram-se menos precisos que a metodologia de referência.

Os modelos desenvolvidos utilizaram 200,0 μL de amostras e, após ao procedimento analítico, geraram aproximadamente 400,0 μL de resíduos para cada análise. Dessa forma, os modelos desenvolvidos nesta Tese, são alternativas analíticas aos métodos convencionais. Esse resultado possibilita o desenvolvimento de outras análises baseadas em imagens para investigação da potabilidade da água.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHTERBERG, E. P.; HOLLAND, T. W.; BOWIE, A. R.; MANTOURA, R. F. C.; WORSFOLD, P. J. Determination of Iron in seawater. **Analytica Chimica Acta**, v. 442, n. 1, p. 1–14, 2001.

ALESSANDRINI, A.; FACCI, P. AFM: a versatile tool in biophysics. **Measurement Science and Technology**, v. 16, n. 6, p. R65–R92, 2005.

ALI, M. M.; SHARMA, S. C. Robustness to nonnormality of the Durbin-Watson test for autocorrelation. **Journal of Econometrics**, v. 57, n. 1-3, p. 117–136, 1993.

ALLEN, E.; TRIANTAPHILLIDOU, S. **The Manual of Photography**. 10^a ed. Massachusetts, USA: Focal Press, 2011.

ALMAADEED, M. A.; KAHRAMAN, R.; NOORUNNISA KHANAM, P.; AL-MAADEED, S. Characterization of untreated and treated male and female date palm leaves. **Materials and Design**, v. 43, p. 526–531, 2013.

AMORIM, F. A. C.; LOBO, I. P.; SANTOS, V. L. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Espectrometria de absorção atômica: O caminho para determinações multi-elementares. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1784–1790, 2008.

APHA-AWWA-WEF. 1010 A. Introduction. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed., 2005a. Washington, USA: American Public Health Association - American Water Works Association - Water Environment Federation.

APHA-AWWA-WEF. 4500-H+ A. pH - VALUE. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed., 2005b. Washington, USA: American Public Health Association - American Water Works Association - Water Environment Federation.

APHA-AWWA-WEF. 2320 A. Alkalinity. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed., 2005c. Washington, USA: American Public Health Association - American Water Works Association - Water Environment Federation.

APHA-AWWA-WEF. 2340 A. HARDNESS. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed., 2005d. Washington, USA: American Public Health Association - American Water Works Association - Water Environment Federation.

APHA-AWWA-WEF. 3111 B. Metals by Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed., 2005e.

Washington, USA: American Public Health Association - American Water Works Association - Water Environment Federation.

APHA-AWWA-WEF. 4500 - Cl. Chloride. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed., 2005f. Washington, USA: American Public Health Association - American Water Works Association - Water Environment Federation.

APHA-AWWA-WEF. 4500- F D. Fluoride. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed., 2005g. Washington, USA: American Public Health Association - American Water Works Association - Water Environment Federation.

APHA-AWWA-WEF. 3500 -Fe B. Iron. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed., 2005h. Washington, USA: American Public Health Association - American Water Works Association - Water Environment Federation.

ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de Química - Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente**. 3ª ed. Porto Alegre, Brasil: Bookman, 2006.

BALLARD, D. H.; BROWN, C. M. **Computer Vision**. New Jersey, USA: Prentice - Hall, 1982.

BARROSO, L. M. A.; NASCIMENTO, M.; SILVA, F. F. E; NASCIMENTO, A. C. C.; PETERNELLI, L. A. Avaliação do teste generalizado de Durbin-Watson. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 30, n. 3, p. 432–441, 2012.

BASOLO, F.; HAYES, J. C.; NEUMANN, H. M. Mechanism of racemization of complex ions. II. Kinetics of the dissociation and racemization of Tris-(1,10-phenanthroline)-iron(II) and Tris-(2,2'-dipyridyl)-iron(II) complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 76, n. 14, p. 3807–3809, 1954.

BEEBE, K. R.; KOWALSKI, B. R. An introduction to multivariate calibration and analysis. **Analytical Chemistry**, v. 59, n. 17, p. 1007 A–1017 A, 1987.

BENZI, M. Preconditioning techniques for large linear systems: A survey. **Journal of Computational Physics**, v. 182, n. 2, p. 418–477, 2002.

BILLINGSLEY, F. C. Digital Image Processing for Information Extraction. **International Journal of Man-Machine Studies**, v. 5, p. 203–214, 1973.

BLANCHET, G.; CHARBIT, M. **Digital signal and image processing using Matlab**. Washington, USA: ISTE, 2006.

BOOKSH, K. S.; KOWALSKI, B. R. Theory of analytical chemistry. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 15, p. 782A–791A, 1994.

BOTELHO, B. G. **Desenvolvimento e validação de métodos para análise direta de alimentos usando ferramentas quimiométricas , espectroscopia no infravermelho e imagens digitais**, 2014. Belo Horizonte, Brasil: Tese (Doutorado) - Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais.

BOTELHO, B. G.; MENDES, B. A. P.; SENA, M. M. Implementação de um método robusto para o controle fiscal de umidade em queijo minas artesanal. Abordagem metrológica multivariada. **Química Nova**, v. 36, n. 9, p. 1416–1422, 2013.

BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Validação de modelos de calibração multivariada: Uma aplicação na determinação de pureza polimórfica de carbamazepina por Espectroscopia no Infravermelho Próximo. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 1004–1011, 2004.

BRASIL. **Lei nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997**. Brasília - DF, Brasil: Ministério do Meio Ambiente, 1997.

BRASIL. **Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003**. Brasília - DF, Brasil: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2003.

BRASIL. **Consumo Sustentável - Manual de Educação**. Brasília - DF: Ministério da Educação, 2005a.

BRASIL. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Brasília - DF: Ministério do Meio Ambiente, 2005b.

BRASIL. **pH - Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**. Brasília - DF: Ministério do Meio Ambiente, 2006.

BRASIL. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos - DOQ-CGCRE-008. **DOQ-CGCRE-008**, 2007. Brasília - DF, Brasil: Instituto Nacional de Metrologia e Normalização e Qualidade Industrial.

BRASIL. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos - DOQ-CGCRE-008. **DOQ-CGCRE-008**, 2010. Brasília - DF: Instituto Nacional de Metrologia e Normalização e Qualidade Industrial.

BRASIL. **Portaria nº. 2914 de 12 de dezembro de 2011**. Brasília - DF, Brasil: Ministério da Saúde, 2011a.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011**. Brasília - DF, Brasil: Ministério do Meio Ambiente, 2011b.

BRASIL. **Sistema nacional de informações sobre saneamento: Diagnóstico dos serviços de água e esgotos - 2013**. Distrito Federal, Brasil: Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, 2014a.

BRASIL. **Manual de validação, verificação/confirmação de desempenho, estimativa da incerteza de medição e controle de qualidade intralaboratorial.** Distrito Federal, Brasil: DEQ/CGAL - Divisão de Ensaios Químicos Coordenação-Geral de Apoio Laboratorial - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2014b.

BRASIL. **Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil - Ano 2014.** Distrito Federal, Brasil: Agência Nacional de Águas. Ministério do Meio Ambiente, 2015a.

BRASIL. Catálogo de normativas de análise - Água. **ABNT - Catálogo**, 2015b. Brasília - DF: Associação Brasileira de Normas Técnicas. Disponível em: <<http://www.abntcatalogo.com.br/normagrid.aspx>>. Acesso em: 1/6/2015.

BRERETON, R. G. **Applied Chemometrics for Scientists.** West Sussex, England: John Wiley & Sons, 2007.

BRO, R.; ANDERSEN, C. M. Theory of net analyte signal vectors in inverse regression. **Journal of Chemometrics**, v. 17, n. 12, p. 646–652, 2003.

BURGER, J.; GELADI, P. Hyperspectral NIR image regression part II: Dataset preprocessing diagnostics. **Journal of Chemometrics**, v. 20, n. September, p. 106–119, 2006.

BUSIN, L.; VANDENBROUCKE, N.; MACAIRE, L. Color spaces and image segmentation. **Advances in Imaging and Electron Physics**, v. 151, p. 65–168, 2009.

CAPITÁN-VALLVEY, L. F.; LÓPEZ-RUIZ, N.; MARTÍNEZ-OLMOS, A.; ERENAS, M. M.; PALMA, A. J. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review. **Analytica Chimica Acta**, v. 899, p. 23–56, 2015.

CARRON, T.; LAMBERT, P. Color edge detector using jointly Hue, Saturation and Intensity. **International Conference on Image Processing**. p.977–981, 1994. Austin: IEEE 977.

CASTRO, K. S.; ARAÚJO FERREIRA, A. C. DE; DUARTE, R. M.; SAMPAIO, F. C.; MEIRELES, S. S. Acceptability, efficacy and safety of two treatment protocols for dental fluorosis: A randomized clinical trial. **Journal of Dentistry**, v. 42, n. 8, p. 938–944, 2014.

CHENG, H. D.; JIANG, X. H.; SUN, Y.; WANG, J. Color image segmentation: Advances and prospects. **Pattern Recognition**, v. 34, n. 12, p. 2259–2281, 2001.

CHENG, H. D.; JIANG, X. H.; WANG, J. Color image segmentation based on homogram thresholding and region merging. **Pattern Recognition**, v. 35, n. 2, p. 373–393, 2002.

CHONG, I.-G.; JUN, C.-H. Performance of some variable selection methods when multicollinearity is present. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 78, p. 103–112, 2005.

CITAC; EURACHEM. Guide to quality in analytical chemistry - an aid to accreditation. Disponível em: <http://www.citac.cc/CITAC_EURACHEM_GUIDE.pdf>. Acesso em: 20/10/2015.

CONDON, P. E. Image Tubes in Nuclear Physics. **Physics Advances in Electronics and Electron Physics**. p.123–124, 1960. Londres, Inglaterra: Academic Press (online).

COOKE, P. M. Chemical Microscopy. **Analytical Chemistry**, v. 64, n. 12, p. R219–R243, 1992.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Analytica Chimica Acta**, v. 391, p. 105–126, 1999.

DAMASCENO, D.; TOLEDO, T. G.; GODINHO, M. S.; et al. Análise multivariada de imagens na química: um experimento para determinação do pH de águas potáveis. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 836–841, 2015.

DENG, Y.; MANJUNATH, B. S.; SHIN, H. Color image segmentation. **Computer Society Conference on**. v. 18, p.2330–9, 2009. Santa Barbara, USA: Computer Vision and Pattern Recognition.

DEVOS, O.; DUPONCHEL, L. Parallel Genetic Algorithm co-optimization of spectral pre-processing and wavelength selection for PLS regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 107, n. 1, p. 50–58, 2011.

DICKSON, A. G. An exact definition of total alkalinity and a procedure for the estimation of alkalinity and total inorganic carbon from titration data. **INSTRUMENTS AND METHODS**, v. 28, n. 6, p. 609, 1981.

DOEVEN, E. H.; BARBANTE, G. J.; HARSANT, A. J.; et al. Mobile phone-based electrochemiluminescence sensing exploiting the “ USB On-The-Go ” protocol. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 216, p. 608–613, 2015.

DUCHESNE, C.; LIU, J. J.; MACGREGOR, J. F. Multivariate image analysis in the process industries: A review. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 117, p. 116–128, 2012.

ELECTRONICS-BASE. Color sensor theory for dummies. Disponível em: <<http://www.electronics-base.com/general-description/measurement/175-color-sensor-theory-for-dummies?highlight=WyJ4eXoiXQ==>>>. Acesso em: 1/7/2015.

EMAMGOLIZADEH, S.; BATENI, S. M.; SHAHSAVANI, D.; ASHRAFI, T.; GHORBANI, H. Estimation of soil cation exchange capacity using Genetic Expression Programming (GEP) and Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS). **Journal of Hydrology**, v. 529, p. 1590–1600, 2015.

EPA. Method 9253 - Chloride (titrimetric, silver nitrate). **Wastes - Hazardous Waste - Test Methods**, 1994. Washington, USA: EPA - Environmental Protection Agency.

FABER, N. M. Exact presentation of multivariate calibration model as univariate calibration graph. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 50, n. 1, p. 107–114, 2000.

FABER, N. M.; DUEWER, D. L.; CHOQUETTE, S. J.; GREEN, T. L.; CHESLER, S. N. Characterizing the uncertainty in near-infrared spectroscopic prediction of mixed-oxygenate concentrations in gasoline: Sample-specific prediction intervals. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 22, p. 4877, 1998.

FERRÉ, J.; FABER, N. M. Net analyte signal calculation for multivariate calibration. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 69, n. 1-2, p. 123–136, 2003.

FERREIRA, L. C. R. P.; LIMA, N. A.; ARAGÃO, L. V. DE O.; JÚNIOR, M. H. K.; OLIVEIRA, A. M. DE. Caracterização dos resíduos gerados em um laboratório de análise de água em Teresina, PI. **V Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**, 2014. Belo Horizonte, Brasil: IBEAS – Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais.

FERREIRA, M. H.; BRAGA, J. W. B.; SENA, M. M. Development and validation of a chemometric method for direct determination of hydrochlorothiazide in pharmaceutical samples by diffuse reflectance near infrared spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 109, p. 158–164, 2013.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: Calibração multivariada - um tutorial. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 724–731, 1999.

FEUDALE, R. N.; TAN, H.; BROWN, S. D. Piecewise orthogonal signal correction. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 63, n. 1, p. 129–138, 2002.

FILHO, O. M.; NETO, H. V. **Processamento Digital de Imagens**. Rio de Janeiro, Brasil: Brasport, 1999.

FILHO, P. A. DA C.; POPPI, R. J. Algoritmo Genético em Química. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 405–411, 1999.

FOCA, G.; MASINO, F.; ANTONELLI, A.; ULRICI, A. Prediction of compositional and sensory characteristics using RGB digital images and multivariate calibration techniques. **Analytica Chimica Acta**, v. 706, n. 2, p. 238–245, 2011.

FRICKE, H.; MÜHLIG, P.; KÜHNE, C. Quantitative dünnschichtchromatographische bestim mung des makrolidantibiotikums turimycin hund einiger abba uprodukte durch densitometrische in-situ-messung mit dem bildanalysegerät "quantimet 720." **Journal of Chromatography**, v. 153, p. 495–506, 1978.

GAIAO, E. D. N.; MARTINS, V. L.; LYRA, W. D. S.; et al. Digital image-based titrations. **Analytica Chimica Acta**, v. 570, n. 2, p. 283–290, 2006.

GALVÃO, R. K. H.; ARAUJO, M. C. U.; JOSÉ, G. E.; et al. A method for calibration and validation subset partitioning. **Talanta**, v. 67, n. 4, p. 736–40, 2005.

GELADI, P.; BENGTSSON, E.; ESBENSEN, K.; GRAHN, H. Image analysis in chemistry I. Properties of images, greylevel operations, the multivariada image. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 11, n. 1, p. 41–53, 1992.

GELADI, P.; GRAHN, H. **Multivariate Image Analysis**. 1ª ed. New York, USA: John Wiley & Songs, 1997.

GELADI, P.; ISAKSSON, H.; LINDQVIST, L.; ESBENSEN, K. Principal Component Analysis of Multivariate Images. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 5, p. 209–220, 1989.

GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial Least Squares Regression: A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 185, p. 1–17, 1986.

GELADI, P. L.; GRAHN, H. F.; ESBENSEN, K. H. Strategies for multivariate image regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 14, p. 357–374, 1992.

GELADI, P.; WOLD, S.; ESBENSEN, K. Image Analysis and Chemical Information in Images. **Analytica Chimica Acta**, v. 191, p. 473–480, 1986.

GEMPERLINE, P. **Practical guide to chemometrics**. 2ª ed. New York, USA: CRC Press, 2006.

GODINHO, M. D. S. **Avaliação da Degradação de Óleos Isolantes usando Análise de Imagens e Técnicas Espectroscópicas Combinadas com Métodos de Calibração Multivariada e Resolução de Curvas**, 2014. Goiânia, Brasil: Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás.

GODINHO, M. DA S.; PEREIRA, R. O.; RIBEIRO, K. DE O.; et al. Classificação de Refrigerantes através de Análise de Imagens e Análise de Componentes Principais (PCA). **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1485–1489, 2008.

GODINHO, M. S.; OLIVEIRA, A. E.; SENA, M. M. Determination of interfacial tension of insulating oils by using image analysis and multi-way calibration. **Microchemical**

Journal, v. 96, n. 1, p. 42–45, 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X10000226>>. Acesso em: 21/1/2014.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E.; EDDINS, S. L. **Digital Image Processing Using Matlab**. 2009.

GRAAF, D. B. DE; ABBAS, Y.; BOMER, J.; OLTHUIS, W.; BERG, A. VAN DEN. Sensor-actuator system for dynamic chloride ion determination. **Analytica Chimica Acta**, v. 888, p. 44–51, 2015.

GRAHN, H. F.; SÄÄF, J. Multivariate image regression and analysis Useful techniques for the evaluation of clinical magnetic resonance images. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 14, p. 391–396, 1992.

GRIMSON, W. E. L. The intelligent camera : Images of computer vision. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, p. 9791–9794, 1993.

HIGGINS, K.; KALIVAS, J. H.; ANDRIES, E. Evaluation of target factor analysis and net analyte signal as processes for classification purposes with application to benchmark data sets and extra virgin olive oil adulterant identification. **Journal of Chemometrics**, v. 26, n. 3-4, p. 66–75, 2012.

HOLMQUIST, J. A. N.; BENGTSSON, E.; OLSEN, B.; STENKVIST, B.; NOGUCHI, Y. Analysis of grey-level histograms as a method of classifying cells from the uterine cervix. **Computers in Biology and Medicine**, v. 6, p. 213–223, 1975.

HYKSOVA, M.; KALOUSOVA, A.; SAXL, I. Early history of geometric probability and stereology. **Image Anal Stereol**, v. 31, p. 1–16, 2012.

ICH. Validation of a analytical Procedures: text and methodology Q2(R1). **International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use**. v. 1994, p.17, 2005. Washington, USA: ICH Harmonised Tripartite Guideline.

IGNE, B.; HURBURGH, C. R. Local chemometrics for samples and variables: Optimizing calibration and standardization processes. **Journal of Chemometrics**, v. 24, n. 2, p. 75–86, 2010.

INTEL. Color Models. Disponível em: <<https://software.intel.com/enus/node/503873#FIG6-5>>. Acesso em: 1/7/2015.

IQBAL, Z.; BJORKLUND, R. B. Assessment of a mobile phone for use as a spectroscopic analytical tool for foods and beverages. **Food Science e Technology**, v. 46, p. 2428–2436, 2011.

ITO, T.; TANAKA, N.; HANAZAKI, I.; NAGAKURA, S. Electronic Structure of Tris(1,10-phenanthroline)iron(II) Complex. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 42, p. 702–709, 1969.

JR, M. P. Cor - Processamento de Imagens. Disponível em: <http://wiki.icmc.usp.br/images/a/a1/DIP_04_Cores.pdf>. Acesso em: 27/9/2015.

KAKUMANU, P.; MAKROGIANNIS, S.; BOURBAKIS, N. A survey of skin-color modeling and detection methods. **Pattern Recognition**, v. 40, n. 3, p. 1106–1122, 2007.

KAUR, A.; KRANTHI, B. V. Comparison between YCbCr Color Space and CIELab Color Space for Skin Color Segmentation. **International Journal of Applied Information Systems (IJ AIS)**, v. 3, n. 4, p. 30–33, 2012.

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

KIM, Y.; SINGH, M.; KAYS, S. E. Near-infrared spectroscopic analysis of macronutrients and energy in homogenized meals. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1248–1255, 2007.

KLEIN, E. J.; BUCHMAN, A. P.; DASSOLER, K.; et al. Quantificação de Ferro em água mineral, Espectrofotometria UV-VIS. **Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica**. p.1–5, 2011. Toledo, Brasil: Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

KOSCHAN, A.; ABIDI, M. **Digital Color Image Processing**. 1ª ed. New Jersey, USA: John Wiley & Sons, Inc, 2008.

KULMYRZAEV, A.; BERTRAND, D.; LEPETIT, J.; et al. Potential of a custom-designed fluorescence imager combined with multivariate statistics for the study of chemical and mechanical characteristics of beef meat. **Food Chemistry**, v. 131, n. 3, p. 1030–1036, 2012.

KUMAR, N.; BANSAL, A.; SARMA, G. S.; RAWAL, R. K. Chemometrics tools used in analytical chemistry: An overview. **Talanta**, v. 123, p. 186–199, 2014.

LEDLEY, R. S. High-Speed Automatic Analysis of Biomedical Pictures. **Science**, v. 146, n. 3641, p. 216–223, 1964.

LI, B.; MORRIS, J.; MARTIN, E. B. Model selection for Partial Least Squares Regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 64, n. 1, p. 79–89, 2002.

LIED, T. T.; ESBENSEN, K. H. Principles of MIR , multivariate image regression I :

Regression typology and representative application studies. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 58, n. 2, p. 213–226, 2001.

LIED, T. T.; GELADI, P.; ESBENSEN, K. H. Multivariate image regression (MIR): implementation of image PLSR — first forays. **Journal of Chemometrics**, v. 14, p. 585–598, 2000.

LIEU, P. T.; HEISKALA, M.; PETERSON, P. A.; YANG, Y. The roles of iron in health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 22, n. 1-2, p. 1–87, 2001.

LOPES, J. M. B. **Cor e Luz**. Lisboa, Portugal: Departamento de Engenharia Informática, 2003a.

LOPES, J. M. B. **Formatos de Imagens**. Lisboa, Portugal: Departamento de Engenharia Informática - Universidade Técnico de Lisboa, 2003b.

LORÂS, H.; ÖHBERG, F.; VASSELJEN, O.; STENSDOTTER, A. K. Frame-difference analysis of video-recorded laser-beam projections. **Manual Therapy**, v. 20, p. 879–883, 2015.

LORBER, A. Error propagation and figures of merit for quantification by solving matrix equations. **Analytical Chemistry**, v. 58, n. 6, p. 1167–1172, 1986.

LORBER, A.; FABER, K.; KOWALSKI, B. R. Net Analyte Signal Calculation in Multivariate Calibration. **Analytical Chemistry**, v. 69, n. 8, p. 1620–1626, 1997.

MADSEN, H. E. L. Redox process catalysed by growing crystal-strengite, $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, crystallizing from solution with iron(II) and hydroxylamine. **Journal of Crystal Growth**, v. 401, p. 275–278, 2013.

MALAKOOTIAN, M.; MANSOORIAN, H. J.; MOOSAZADEH, M. Performance evaluation of electrocoagulation process using iron-rod electrodes for removing hardness from drinking water. **Desalination**, v. 255, n. 1-3, p. 67–71, 2010.

MARINHO, C. C.; BOZELLI, R. L.; ASSIS ESTEVES, F. DE; et al. Gerenciamento de resíduos químicos em um laboratório de ensino e pesquisa: A experiência do laboratório de limnologia da UFRJ. **Ecletica Química**, v. 36, n. 2, p. 85–104, 2011.

MARQUES, O. **Practical image and video processing using Matlab**. Florida, USA: John Wiley & Sons, Inc, 2011.

MARTIN, A.; NARAYANASWAMY, R. Studies on quenching of fluorescence of reagents in aqueous solution leading to an optical chloride-ion sensor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 39, n. 1-3, p. 330–333, 1997.

MARTINS, I. Aprendendo com imagens. **Ciência e Cultura**, v. 57, n. 4, p. 38–40, 2005.

MASTERS ITC. Scanitto Pro. Disponível em: <<https://www.scanitto.com/>>. Acesso em: 5/4/2013.

MATSUNAGA, H.; KANNO, C.; YAMADA, H.; TAKAHASHI, Y.; SUZUKI, T. M. Fluorometric determination of fluoride ion by reagent tablets containing 3-hydroxy-2'-sulfoflavone and zirconium(IV) ethylenediamine tetraacetate. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 1000–1004, 2006.

MAYERHOFF, Z. D. V. L. Inovações estão em aperfeiçoar o tratamento de águas e efluentes. **Inovação Uniemp**, v. 3, n. 1, p. 22, 2007.

MEHMOOD, T.; LILAND, K. H.; SNIPEN, L.; SAEBO, S. A review of variable selection methods in Partial Least Squares Regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 118, p. 62–69, 2012.

MILLER, A. K. H. Using the quantimet 720 image analyzing computer to count nucleolated neurones in the human brain. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 4, p. 407–430, 1981.

MITCHELL, M. **An Introduction to Genetic Algorithms**. 5ª ed. Massachusetts, USA: Massachusetts Institute of Technology, 1999.

MOLINERO, A. L.; CUBERO, V. T.; IRIGOYEN, R. D.; PIAZUELO, D. S. Feasibility of digital image colorimetry - Application for water calcium hardness determination. **Talanta**, v. 103, p. 236–244, 2013.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de Soluções , Reagentes e Solventes**. 2ª ed. São Paulo, Brasil: Blucher, 2007.

MOTTER, J.; MOYSES, S. T.; HELENA, B.; et al. Análise da concentração de flúor na água em Curitiba , Brasil : comparação entre técnicas. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, v. 29, n. 4, p. 120–125, 2011.

NBR 13736. Água - Determinação de Alcalinidade - Métodos potenciométrico e titulométrico. **ABNT - Catálogo**, 1996. Rio de Janeiro, Brasil: Associação Brasileira de Normas Técnicas.

NBR 13737. Água - Determinação de Fluoreto - Métodos colorimétricos Spadns, visual de alizarina e eletrodo de íon específico. **ABNT - Catálogo**, 1996. Rio de Janeiro, Brasil: Associação Brasileira de Normas Técnicas.

NBR 13797. Água - Determinação de Cloretos - Métodos titulométricos do Nitrato Mercúrico e do Nitrato de Prata. **ABNT - Catálogo**, 1997. Rio de Janeiro, Brasil: Associação Brasileira de Normas Técnicas.

NBR 13800. Água - Determinação de Magnésio - Métodos gravimétrico e por cálculo. **ABNT - Catálogo**, 1997. Rio de Janeiro, Brasil: Assosiação Brasileira de Normas Técnicas.

NBR 13812. Água - Determinação de Cálcio e Magnésio - método da Espectrometria de Absorção Atômica por Chama. **ABNT - Catálogo**, 1997. Rio de Janeiro, Brasil: Assosiação Brasileira de Normas Técnicas.

NBR 13934. Água - Determinação de Ferro - Método colorimétrico da ortofenantrolina. **ABNT - Catálogo**, 1997. Rio de Janeiro, Brasil: Assosiação Brasileira de Normas Técnicas.

NBR 14339. Água - Determinação de pH - Método eletrométrico. **ABNT - Catálogo**, 1999. Rio de Janeiro, Brasil: Assosiação Brasileira de Normas Técnicas.

NEW HAMPSHIRE DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL SERVICES. Sodium and Chloride in drinking water. Disponível em: <<http://des.nh.gov/organization/commissioner/pip/factsheets/dwgb/documents/dwgb-3-17.pdf>>. Acesso em: 1/8/2015.

NIXON, M. S.; AGUADO, A. S. **Feature Extraction and Image Processing**. Oxford, England: Newnes, 2008.

ONDIGO, D. A.; TSHENTU, Z. R.; TORTO, N. Electrospun nanofiber based colorimetric probe for rapid detection of Fe²⁺ in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 804, p. 228–234, 2013.

OWEN, T. **Principles and applications of UV-visible spectroscopy**. Germany: Hewlett-Packard Company, 1996.

PAL, N. R.; PAL, S. K. A review on image segmentation techniques. **Pattern Recognition**, v. 26, n. 9, p. 1277–1294, 1993.

PARHAM, H.; RAHBAR, N. Solid phase extraction-spectrophotometric determination of fluoride in water samples using magnetic iron oxide nanoparticles. **Talanta**, v. 80, n. 2, p. 664–669, 2009.

PASCALE, D. **A Review of RGB Color Spaces from XYZ to RGB**. Montreal, Canada: The BabelColor Company, 2003.

PASS, G.; ZABIH, R. Comparing images using joint histograms. **Multimedia Systems**, v. 7, n. 3, p. 234–240, 1999.

PATNAIK, P. **Dean's Analytical Chemistry Handbook**. 2^a ed. New York, USA: McGraw-Hill Education, 2004.

PAULSSON, N.; STOCKLASSA, B. A real-time color image processing system for forensic fiber investigations. **Forensic Science International**, v. 103, n. 1, p. 37–59, 1999.

PENATTI, F. E.; GUIMARÃES, S. L.; SILVA, P. M. DA. Gerenciamento de resíduos químicos em laboratórios de análises e pesquisa: O desenvolvimento do sistema em laboratórios da área química. **Workshop In-ternacional em Indicadores de Sustentabilidade – WIPIS II**. v. 2, p.106–119, 2008. São Carlos, Brasil: Universidade de São Paulo.

PESCE, W. J.; WILEY, P. B. **Digital Image Processing**. 4ª ed. California, USA: John Wiley & Sons, Inc, 2007.

PITAS, I.; VENETSANOPOULOS, A. N. Nonlinear order statistic filters for image filtering and edge detection. **Signal Processing**, v. 10, p. 395–413, 1986.

PONTES, M. J. C.; GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U.; et al. The successive projections algorithm for spectral variable selection in classification problems. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 78, n. 1-2, p. 11–18, 2005.

PRATS-MONTALBÁN, J. M.; JUAN, A. DE; FERRER, A. Multivariate image analysis: A review with applications. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 107, n. 1, p. 1–23, 2011.

PUBCHEM. Bromothymol Blue. Disponível em:
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6450>>. Acesso em: 1/4/2015a.

PUBCHEM. Thymol Blue. Disponível em:
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/65565#section=Top>>. Acesso em: 1/4/2015b.

PUBCHEM. Eriochrome black t. Disponível em:
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5351620#section=Top>>. Acesso em: 1/4/2015c.

PUBCHEM. SPADNS. Disponível em:
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5484072>>. Acesso em: 1/4/2015d.

QADIRI, H. M. AL; AL-HOLY, M. A.; LIN, M.; et al. Rapid Detection and Identification of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* as Pure and Mixed Cultures in Bottled Drinking Water Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Multivariate Analysis. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 5749–5754, 2006.

QU, Z. G.; WANG, P.; GAO, Y. H.; WANG, P.; SHEN, Z. K. Frequency domain filtering of gradient image for contour detection. **Optik - International Journal for Light and**

Electron Optics, v. 124, n. 13, p. 1398–1401, 2013.

QUEIROZ, J.; LIMA, F.; SILVA, M.; CARDOSO, C. Análise do Teor de Fluoretos na Água de Abastecimento Público do Município de Vassouras , Rio de Janeiro. **Revista electronica TECEN**, v. 3, n. 3, p. 17–28, 2010.

RAMOS, M. Um breve ensaio sobre a fotografia e a leitura crítica do discurso fotográfico. Disponível em: <<http://www.studium.iar.unicamp.br/23/03.html?ppal=index.html>>. Acesso em: 10/10/2015.

RASBERRY, S. D. Spheroidized Iron Carbide in Ferrite. **Standart Reference Material 493**, 1985. Gaithersburg, USA: U.S. Departament of Commerce, Standard Reference Material.

RIBEIRO, D. B. M. **Desenvolvimento de metodologias analíticas multivariadas empregando espectroscopia Raman de baixa resolução amplificada por superfície**, 2009. Campinas, Brasil: Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade de Campinas.

RICCIO, M.; RESCA, E.; BERTONI, L.; et al. RGB method in immunofluorescence investigations on stem cells. **Optics & Laser Technology**, v. 43, n. 2, p. 317–322, 2011.

RICHARDS, J. A; JIA, X. **Remote Sensing Digital Image Analysis: An Introduction**. 4ª ed. Canberra, Australia: Springer, 2006.

RINNAN, A.; BERG, F. VAN DEN; ENGELSEN, S. B. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 1201–1222, 2009.

RISEMAN, E. M.; ARBIB, M. A. Computational Techniques in the Visual Segmentation of Static Scenes. **Computer Graphics and image processing**, v. 6, p. 221–276, 1977.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807–812, 2004.

ROCHA, W. F. DE C.; POPPI, R. J. Multivariate control charts based on net analyte signal (NAS) for characterization of the polymorphic composition of Piroxicam using near infrared spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 21–26, 2010.

RODRIGUES, R. C. Análise e tematização da imagem fotográfica. **Ciência da Informação**, v. 36, p. 67–76, 2007.

ROSSEL, R. A. V.; MINASNY, B.; ROUDIER, P.; MCBRATNEY, A. B. Colour space

models for soil science. **Geoderma**, v. 133, p. 320–337, 2006.

ROYET, J. P. Stereology: a method for analyzing images. **Progress in Neurobiology**, v. 37, p. 433 – 474, 1991.

RUSS, J. C. **The image processing - Handbook**. 4^a ed. North Carolina, USA: CRC Press, 2000.

RUTLEDGE, D. N.; BOUVERESSE, D. J. R. Multi-way analysis of outer product arrays using PARAFAC. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 85, n. 2, p. 170–178, 2007.

SARKHOSH, M.; KHORSHIDI, N.; NIAZI, A.; LEARDI, R. Application of genetic algorithms for pixel selection in multivariate image analysis for a QSAR study of trypanocidal activity for quinone compounds and design new quinone compounds. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 139, p. 168–174, 2014.

SARRAGUÇA, M. C.; LOPES, J. A. The use of net analyte signal (NAS) in near infrared spectroscopy pharmaceutical applications: Interpretability and figures of merit. **Analytica Chimica Acta**, v. 642, n. 1-2, p. 179–185, 2009.

SAURINA, J.; LÓPEZ-AVILES, E.; MOAL, A. LE; HERNÁNDEZ-CASSOU, S. Determination of calcium and total hardness in natural waters using a potentiometric sensor array. **Analytica Chimica Acta**, v. 464, n. 1, p. 89–98, 2002.

SAWYER, C. N.; MCCARTY, P. L.; PARKIN, G. F. **Chemistry for Environmental Engineering and Science**. 5^a ed. New York, USA: McGraw Hill Higher Education, 2003.

SCHMEISSER, H.; HARSDORFF, M. Improvement of experimental work on nucleation kinetics by means of a “quantimet 720” image analysing computer. **Thin Solid Films**, v. 14, p. 321–331, 1972.

SCHOONDERBEEK, D.; THIEL, F.; BİSDOM, E. B. A. Quantimet 720 analysis of porosities in backscattered electron scanning images made with different phototechniques. **Geoderma**, v. 30, p. 271–275, 1983.

SCURI, A. E. Fundamentos da Imagem Digital. Disponível em: <<http://webserver2.tecgraf.puc-rio.br/~scuri/download/fid.pdf>>. Acesso em: 1/7/2015.

SENA, M. M. DE; POPPI, R. J.; FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 547–556, 2000.

SENA, M. M.; FREITAS, C. B.; SILVA, L. C.; NODA, C.; PAULA, Y. O. DE. Determinação espectrofotométrica simultânea de paracetamol e ibuprofeno em

formulações farmacêuticas usando calibração multivariada. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 75–79, 2007.

SILVA, M. A M.; FERREIRA, M. H.; BRAGA, J. W. B.; SENA, M. M. Development and analytical validation of a multivariate calibration method for determination of amoxicillin in suspension formulations by near infrared spectroscopy. **Talanta**, v. 89, p. 342–51, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22284501>>. Acesso em: 31/12/2012.

SIQUEIRA, L. F. S.; ROJAS, M. O. A. I.; NETO, J. DE J. G. DA C. Determinação espectrométrica de Ferro (II) pelo sistema Fe (II)/ KSCN em água do mar da Praia do Calhau, São Luís, Maranhão (Brasil). **Revista ACTA Tecnológica**, v. 6, n. li, p. 28–34, 2011.

SJOBLOM, J.; SVENSSON, O.; JOSEFSON, M.; KULLBERG, H.; WOLD, S. An evaluation of orthogonal signal correction applied to calibration transfer of near infrared spectra. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 44, p. 229–244, 1998.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; COUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª ed. São Paulo, Brasil: THOMSON, 2006.

SONG, K.; LI, L.; LI, S.; et al. Hyperspectral retrieval of phycocyanin in potable water sources using genetic algorithm-partial least squares (GA-PLS) modeling. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 18, n. 1, p. 368–385, 2012.

SOUZA, A. M. DE; POPPI, R. 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**, v. 35, n. 1, p. 223–229, 2012.

SUN, C.; FIKSDAL, L.; HANSSEN-BAUER, A.; RYE, M. B.; LEIKNES, T. Characterization of membrane biofouling at different operating conditions (flux) in drinking water treatment using confocal laser scanning microscopy (CLSM) and image analysis. **Journal of Membrane Science**, v. 382, n. 1-2, p. 194–201, 2011.

TANG, L.; TIAN, L.; STEWARD, B. L. Color image segmentation with genetic algorithm for in-field weed sensing. **Transactions American Society of Agricultural Engineers ASAE**, , n. 217, p. 1–20, 2000.

TAULER, R. Multivariate curve resolution applied to second order data. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 30, n. 1, p. 133–146, 1995.

THE MATH WORKS INC. **Image Processing Toolbox™ User ' s Guide R 2015 a**. 9.2 ed. Natick, USA: MathWorks, 2015.

THEISEN, E. M. K.; PAZOS, R. E. P.; MOLZ, R. F. Procedimentos de congruência de fase no processamento de imagens. **XXX Congresso Nacional de Matemática Aplicada e Computacional**, 2007. Florianópolis, Brasil: Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional.

TÓTH, V.; KUMMERT, M.; SUGÁR, J.; KNOLL, J. A procedure for measuring neuromelanin in neurocytes by a TV-image analyser. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 63, p. 215–221, 1992.

TSIKAS, D.; JURGENS, K. C. Quantification of carbonate by gas chromatography-mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 19, p. 7897–7905, 2010.

TUCCI, C. E. M. Águas Urbanas. **Estudos Avançados**, v. 22, n. 63, p. 97–112, 2008.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1278–1287, 2009.

VEZHNEVETS, V. A Survey on pixel-based skin color detection techniques. **Cybernetics**, v. 85, n. 0896-6273 SB - IM, p. 85–92, 2003.

VIERO, A. F.; MAZZAROLLO, A. C. R.; WADA, K.; TESSARO, I. C. Removal of hardness and COD from retanning treated effluent by membrane process. **Desalination**, v. 149, n. 1-3, p. 145–149, 2002.

WHO. **WHO guidelines for drinking-water quality**. 4^a ed. World Health Organization, 2011.

WHO. SDE. WSH. Chloride in Drinking-water Background document for development. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chloride.pdf>. Acesso em: 20/5/2008.

WISE, B. M.; SHAVER, J. M.; GALLAGHER, N. B.; et al. **Chemometrics Tutorial for PLS _ Toolbox and Solo**. Washington, USA: Eigenvector Research, 2006.

WOLD, S.; ANTTI, H.; LINDGREN, F.; ÖHMAN, J. Orthogonal signal correction of near-infrared spectra. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 44, n. 1-2, p. 175–185, 1998.

WOODS, GONZALEZ, RAFAEL C., RICHARD E., S. L. E. **Digital Image Processing Using Matlab**. 4^o ed. Washington, USA: Gatesmark, 2009.

YAN, M.; WANG, D.; QU, J.; NI, J.; CHOW, C. W. K. Enhanced coagulation for high alkalinity and micro-polluted water: The third way through coagulant optimization. **Water Research**, v. 42, n. 8-9, p. 2278–2286, 2008.

YANG, S. W.; LIN, C. S.; LIN, S. K.; CHIANG, H. TE. Automatic defect recognition of TFT array process using gray level co-occurrence matrix. **Optik**, v. 125, n. 11, p. 2671–2676, 2014.

YUN, Y. H.; CAO, D. S.; TAN, M. L.; et al. A simple idea on applying large regression coefficient to improve the genetic algorithm-PLS for variable selection in multivariate calibration. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 130, p. 76–83, 2014.

ZENG, J.; LI, D. Optik color image edge detection method using VTV denoising and color difference. **Optik - International Journal for Light and Electron Optics**, v. 123, n. 22, p. 2072–2075, 2012.

ANEXOS

ANEXOS

CURRICULUM VITAE

Deangelis Damasceno

Dados pessoais

Nome Deangelis Damasceno
Filiação Abadio Anselmo Damasceno e Leda Marcia Damasceno
Nascimento 08/10/1981 - Uberlândia/MG - Brasil

Endereço profissional Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Senador Canedo
Rua Firmino Rodrigues do Nascimento,
Quadra 1F, Lotes 21 e 22, Jardim Todos os Santos,
Senador Canedo, Goiás
Telefone: 062 81841863

Endereço eletrônico
E-mail para contato: diangiquimico@yahoo.com.br
E-mail alternativo deangelis.damasceno@ifg.edu.br

Formação acadêmica/titulação

2011 Doutorado em Química.
Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiânia, Brasil
Título: APLICAÇÃO DE ANÁLISE DE IMAGENS E MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS NO CONTROLE DE POTABILIDADE DE ÁGUAS
Orientador: Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira

2007 - 2009 Mestrado em Química.
Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiânia, Brasil
Título: Análise Multivariada do Perfil dos Docentes de Química do Ensino Médio da Rede Pública de Ensino do Estado de Goiás dos Anos de 2003 e 2007, Ano de obtenção: 2009
Orientador: Anselmo Elcana de Oliveira

2002 - 2006 Graduação em Ciência - Habilitação em Química.
Universidade Estadual de Goiás, UEG, Brasil

Atuação profissional

1. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - IFG

Vínculo institucional

2014 - Atual Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Coordenador de polo de Educação a Distância, Carga horária: 20, Regime: Parcial
2012 - Atual Enquadramento funcional: Docente - Química Geral, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva

2. Colégio Estadual Garavelo Park - CEGP

Vínculo institucional

2006 - 2015 Enquadramento funcional: Professor, Carga horária: 30, Regime: Parcial

3. Colégio Estadual José Lopes Rodrigues - CEJLR

Vínculo institucional

2008 - 2015 Enquadramento funcional: Professor de Informática, Carga horária: 30, Regime: Parcial

Áreas de atuação

1. Química
2. Prática de ensino em química - docente
3. Quimiometria - Estatística Aplicada
4. Instrumentação Analítica
5. Designer Gráfico - Docente

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. **Damasceno, Deangelis**, TOLEDO, THIAGO G., GODINHO, MARIANA S., SILVA, CASSIANO P. DA, OLIVEIRA, SÉRGIO B. DE, Oliveira, Anselmo E. MULTIVARIATE IMAGE ANALYSIS IN CHEMISTRY: pH MEASUREMENTS OF DRINKING WATER. Química Nova (Impresso). v.38, p.836 - 841, 2015.
2. Damasceno, Deangelis, Godinho, Mariana da S, Soares, Marlon H. F. B, Oliveira, Anselmo E. de, **DAMASCENO, D.** A formação dos docentes de química: uma perspectiva multivariada aplicada à rede pública de ensino médio de Goiás. Química Nova (Impresso). v.34, p.1666 - 1671, 2011.
3. **DAMASCENO, D.**, GODINHO, M. S., Soares, M. H. F. B., OLIVEIRA, A. E. O Perfil da Carreira dos Docentes de Química da Rede de Ensino Pública do Estado de Goiás, Brasil: Uma Análise Multivariada. Educación Química. vol.. XXI, p.246/9 - 253, 2010.

Apresentação de trabalho e palestra

1. MORAIS, P. A. O., SOUZA, D. M., **DAMASCENO, D.**, OLIVEIRA, A. E. **CLASSIFICAÇÃO TEXTURAL DO SOLO POR ANÁLISE MULTIVARIADA DE IMAGENS**, 2014. (Seminário, Apresentação de Trabalho)
2. **DAMASCENO, D.**, SILVA, A. C. A. M., SILVA, F. C. **UTILIZAÇÃO DE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA PARA VERIFICAÇÃO DO PROCESSO DE ENSINO DO IFG – CÂMPUS CIDADE DE GOIÁS**, 2014. (Seminário, Apresentação de Trabalho)
3. **DAMASCENO, D.**, OLIVEIRA, A. E., OLIVEIRA, S. B. **Determinação da Dureza Total em Águas Potáveis por Análise Multivariada de Imagens**, 2013. (Seminário, Apresentação de Trabalho)
4. **DAMASCENO, D.**, OLIVEIRA, A. E., OLIVEIRA, S. B., TOLEDO, T. G. **DETERMINAÇÃO DE ÍONS CLORETO UTILIZANDO ANÁLISE DE MIA-PLS**, 2013. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

5. **DAMASCENO, D., OLIVEIRA, A. E., OLIVEIRA, S. B. Determinação de pH em águas potáveis por análise multivariada de imagens**, 2012. (Seminário, Apresentação de Trabalho)
6. **DAMASCENO, D. Oficina de Velas Artísticas**, 2012. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
7. **DAMASCENO, D., GONÇALVES, M.I., MOURA, A. R., SILVA, R. S. Água – reaproveitamento no laboratório de Ciências na escola pública**, 2010. (Seminário, Apresentação de Trabalho)
8. **DAMASCENO, D., GODINHO, M. S., GONÇALVES, M.I., Soares, M. H. F. B. APLICAÇÃO DE INSETICIDA NATURAL EM AULAS EXPERIMENTAIS NO ENSINO DE QUÍMICA**, 2008. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
9. **DAMASCENO, D., GODINHO, M. S., OLIVEIRA, A. E., SENA, M. M. Avaliação da degradação de papel Kraft através do tratamento quimiométrico de imagens digitalizadas**, 2008. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
10. **DAMASCENO, D., GODINHO, M. S., OLIVEIRA, A. E., Soares, M. H. F. B. Caracterização Acadêmica dos Professores de Química do Ensino Médio do Estado de Goiás utilizando Análise de Componentes Principais**, 2008. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
11. **DAMASCENO, D., GODINHO, M. S., OLIVEIRA, A. E., Soares, M. H. F. B. COMPARAÇÃO DO PERFIL PROFISSIONAL DOS PROFESSORES DE QUÍMICA DO ESTADO DE GOIÁS COM OS RESULTADOS DO VESTIBULAR USANDO PCA**, 2008. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
12. **DAMASCENO, D., GODINHO, M. S., Soares, M. H. F. B., OLIVEIRA, A. E. Perfil dos professores de química do ensino médio do estado de Goiás utilizando Análise de Componentes Principais**, 2008. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
13. **DAMASCENO, D., GONÇALVES, M.I. Utilização do extrato de *Dieffenbachia sp* como pesticida natural**, 2008. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
14. **DAMASCENO, D. USO DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS PARA ESTUDAR A EVOLUÇÃO DO QUADRO DE PROFESSORES DE QUÍMICA, NO ENSINO MÉDIO DE GOIÁS, ENTRE OS ANOS DE 2003 A 2007**, 2007. (Outra, Apresentação de Trabalho)
15. **DAMASCENO, D. Aplicação de Extrato de Açaí no Ensino de Química**, 2005. (Seminário, Apresentação de Trabalho)
16. **DAMASCENO, D. Utilização da Reciclagem do Bilhete de SITPASS e sua Coloração com Pigmentos Naturais no Ensino de Química**, 2004. (Outra, Apresentação de Trabalho)

Orientações e Supervisões

Orientações e supervisões concluídas

Iniciação científica

1. Wanderson Duarte de Souza. **Sustentabilidade Socioambiental no ensino de Química: Processo experimental para o tratamento de água oleosa proveniente de resíduos de lavagem automotiva**. 2015. Iniciação científica (Técnico em Automação Industrial) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
2. Arcanjo Rodrigues de Moura. **Água – reaproveitamento no laboratório de Ciências na escola pública**. 2010. Iniciação científica (Ensino Médio) - Colégio Estadual Garavelo Park
3. Jéssica Tamara Sabino dos Santos; **Utilização do Extrato Etanoico da *Dieffenbachia ssp* (“Comigo-Ninguém-Pode”) como pesticida Natural**. 2008. Iniciação científica (Ensino Médio) - Colégio Estadual Garavelo Park