

AJUSTE LINEAR SIMPLES PARA CURVA DE CALIBRAÇÃO DO FÓSFORO E NITROGÊNIO

Eduardo Valdir Poffo Neckel¹, Patrícia Hüther Zambão¹, Andresa Pescador¹

¹ Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

evpneckel@gmail.com, patriciazambao@hotmail.com, andresa.pescador@gmail.com

Resumo

Ao utilizar modelagem matemática para determinação de curvas de calibração, equações e coeficientes para parâmetros químicos, tem como objetivo facilitar o trabalho laboratorial. Os parâmetros nitrogênio e fósforo são encontrados das mais diversas formas no meio ambiente. O método empregado na determinação desses parâmetros é o colorimétrico, baseado na Lei de Beer-Lambert. A utilização de amostras padrões serve como um procedimento de comparação, onde se analisa amostras que apresentem concentrações em uma faixa previamente estabelecida. A obtenção das curvas de calibração ocorre pelo método do ajuste de curva linear, cuja equação servirá como referência para determinações futuras de concentrações. Para cada curva, é gerado um coeficiente de correlação linear, o qual indica quão bom é o ajuste realizado. As curvas de calibração obtidas são de extrema importância, atuando como uma ferramenta na determinação das concentrações dos parâmetros.

Palavras-chave: Curva de calibração. Nitrogênio. Fósforo.

Abstract

By using mathematical modeling to determine calibration curves, equations and coefficients for chemical parameters, the aim is to facilitate laboratory work. The parameters nitrogen and phosphorus are found in many different forms in the environment. The method for determining these parameters is colorimetric, based on the Beer-Lambert Law. The use of standard samples serves as a comparison procedure, where analyzes samples showing concentrations over a range previously established. To obtain the calibration curves the method of linear curve fit used, the equation which will serve as references for future determinations of concentrations. For each curve, generates a linear correlation coefficient, which indicates how good the fit is performed. The calibration curves are extremely important, acting as a tool in determining concentrations of parameters.

Keywords: *Calibratin curve. Nitrogen. Phosphorus.*

1. Introdução

Atualmente, buscam-se ferramentas que facilitem e promovam agilidade na obtenção de concentração de parâmetros químicos, dos quais são analisados frequentemente em laboratórios. Os parâmetros químicos, nitrogênio e fósforo, estão presentes no meio ambiente nas mais diversas formas, sendo necessárias maneiras eficientes para sua quantificação.

O desenvolvimento de curvas de calibração torna-se de essencial importância no processo de quantificação das concentrações desses compostos. Para obtenção dessa curva é seguida a Lei de Beer-Lambert, a qual descreve a obrigatoriedade da concentração e a absorvância seguirem um padrão linear. Ainda, pode ser extraído um coeficiente que expresse a confiabilidade da mesma.

Primeiramente, no trabalho apresentam-se os fundamentos teóricos sobre os parâmetros a serem analisados, juntamente com a modelagem matemática. Em seguida, adotam-se as metodologias necessárias e realizam-se os procedimentos químicos com as amostras padrões. Com os dados obtidos, inicia-se o processo de análise dos dados, no qual se geram as curvas de calibração e suas equações lineares. Por fim, são expostos os resultados e as considerações finais.

2. Determinação das curvas de calibração do fósforo e nitrogênio

No processo de obtenção de uma curva de calibração precisa-se saber exatamente qual o composto que será analisado, visto que existem derivações das soluções que podem gerar erros em análises. A importância do nitrogênio e fósforo, tanto para o meio ambiente quanto para a criação da curva é notável, devido aos mesmos estarem presentes em diversos componentes usados e produzidos diariamente. Na fase inicial da obtenção da curva, deverá ser considerado o nível de confiança promovido pelo uso do ajuste linear simples, ou seja, estabelecer a precisão mínima da curva. Outro ponto a ser observado é em relação aos equipamentos utilizados, os quais deverão apresentar níveis de confiabilidade desejados.

2.1. Nitrogênio

O nitrogênio é um elemento que pode aparecer de diversas formas no meio ambiente. Um dos maiores contribuintes para o aumento nos níveis de nitrogênio na água é o esgoto sanitário, lançado na forma de nitrogênio orgânico. Outro contribuinte, não menos importante, são os efluentes industriais, visto que na maioria das vezes não existe um controle na concentração de nitrogênio que é despejado nos corpos hídricos. A atmosfera também é um contribuinte para o aumento da concentração, sendo esse realizado pelos processos de fixação biológica realizada por bactérias (CETESB, 2011).

O nitrogênio é um elemento de fundamental importância para o ecossistema, sendo após o carbono, o elemento mais exigido pelas células vivas. Ainda, a atmosfera tem na sua composição cerca de 80% de nitrogênio na forma gasosa (N_2) (DÖBEREINER, 1995).

Os compostos nitrogenados são nutrientes envolvidos em processos biológicos, como por exemplo, parte integrante da respiração humana. Esses compostos podem ser divididos em dois grupos, os nitratos e a amônia. Os nitratos são substâncias tóxicas e podem causar doenças, como por exemplo, a metahemoglobina infantil (nitrato reduzido a nitrito na corrente sanguínea, competindo o oxigênio livre). Pela resolução do Ministério da Saúde nº 2914 (2011), que rege a potabilidade das águas, o nitrato tem como limite 10 mg/l. A amônia é um composto bastante importante para regulação da vida aquática, visto que algumas espécies não toleram uma concentração acima de 5 mg/l. Esse composto ainda, pode causar um elevado consumo de oxigênio dissolvido nas águas naturais, sendo causado pelo processo de oxidação. A amônia normalmente é utilizada como parâmetro de determinação da qualidade da água (CETESB, 2011).

2.2. Fósforo

O fósforo predominante nas águas superficiais surge devido às descargas de esgotos sanitários. Os detergentes superfosfatados, que são empregados em grande escala domesticamente, constituem a principal fonte de contaminação, além da própria matéria fecal presente no esgoto. Os efluentes industriais também contribuem para a alta taxa de fósforo nas águas, visto que muitas empresas ainda não tratam de forma eficiente os seus resíduos da produção. Algumas indústrias apresentam quantidades expressivas em seus despejos de efluentes, entre elas: fertilizantes, conservas alimentícias, frigoríficos, abatedouros entre outras.

O fósforo é um parâmetro de extrema importância para o desenvolvimento das plantas. Esse elemento exerce papel importante na transferência de energia da célula, na respiração e na fotossíntese (GRANT, FLATEN, *et al.*, 2001).

Nas águas superficiais o fósforo pode aparecer de três formas diferentes, sendo elas, fosfatos orgânicos, ortofosfatos e polifosfatos. Os fosfatos orgânicos são a forma em que o fósforo compõe uma molécula orgânica. Os ortofosfatos são representados pelos radicais livres, que quando combinados com os cátions, formam sais inorgânicos nas águas. Os polifosfatos ou

fosfatos condensados são polímeros de ortofosfatos. Os polifosfatos são muito importantes nos estudos de qualidade das águas, pois esses, nas águas naturais sofrem hidrólise e convertem-se em ortofosfato (CETESB, 2011).

2.3. Determinação da Concentração dos Parâmetros

Os problemas causados por substâncias químicas em águas superficiais, como por exemplo, o uso em larga escala do nitrogênio e o fósforo pela indústria, pode gerar danos irreparáveis ao meio ambiente. Dessa forma, surge a necessidade de se determinar e/ou quantificar esses parâmetros, onde pode-se empregar diversos métodos analíticos. Assim, primeiramente precisa-se definir qual composto será determinado e qual método será utilizado. A adoção desse procedimento auxiliará para que posteriormente não ocorram erros referentes a reagentes e a metodologias.

O procedimento utilizado pela pesquisa para determinar o nitrogênio foi o método colorimétrico (espectrofotometria). Esse processo tem como objetivo medir as formas oxidadas do nitrogênio (nitrato e nitrito). Para a formação do composto nitrato exige-se um tratamento prévio, pois o mesmo necessita ser reduzido a forma de nitrito. O composto nitrito reage com a sulfanilamida e a etilenodiamida, conjuntamente, formando um complexo que obedece a lei da colorimetria, cuja leitura das concentrações será realizada mediante o uso do espectrofotômetro (CETESB, 2011).

Para o fósforo, a pesquisa utilizou o método colorimétrico. Nesse processo, os íons ortofosfato se combinam com um reagente mix (ácido ascórbico, molibdato de amônio e tartarato de antimônio e potássio) formando uma coloração azulada que obedece à lei de Beer-Lambert. Em seguida, esse método utiliza a leitura espectrofotométrica para determinar as concentrações.

2.4. Lei de Beer-Lambert

Os conceitos de transmitância e absorvância são validados pela lei de Beer-Lambert, a qual prega que a equação deve ser linear para determinados intervalos de concentração. Caso a mesma não tenha esse comportamento, o método empregado não estaria correto (BRITO, FERREIRA, *et al.*, 2012). Dessa forma, sempre que houver o aumento na concentração de um analito a absorvância irá aumentar linearmente, conforme a lei de Beer-Lambert. Abaixo segue a fórmula de cálculo da absorvância (A):

$$A = \epsilon l C$$

Onde:

ϵ : coeficiente de absorção molar

l: percurso óptico

C: concentração da solução

O valor de absorvância é obtido diretamente pelo uso do espectrofotômetro, onde se emprega um feixe de luz para determinar a absorvância.

2.5. Modelagem Matemática

Com o uso da modelagem matemática pode-se contribuir para as determinações dos parâmetros nitrogênio e fósforo, onde mediante o uso do ajuste linear simples busca-se produzir uma curva que melhor se adéqua as amostras padrões produzidas. O ajuste linear simples torna-se uma maneira objetiva e eficaz para profissionais da área matemática e química trabalhar em conjunto, na qual a obtenção de coeficientes de correlação poderá mostrar de forma clara o quão bom é a

curva produzida. A adoção desse método será descrito no trabalho em questão, cujo objetivo é facilitar o entendimento de leigos e profissionais.

2.5.1. Definição de ajuste de curvas

O método do Ajuste de Curvas apresenta-se como uma maneira eficiente, para produção de uma curva que melhor se aproxima dos dados levantados, sendo esses obtidos em laboratório ou em campo. Segundo Pescador (2012), ao observar um diagrama de dispersão, percebe-se a dificuldade de encontrar uma curva que passe exatamente pelos pontos dispostos no gráfico. Este método torna-se vantajoso, pois mediante o uso dele consegue-se prever valores futuros com aproximação aceitável e fora de um intervalo dado. Na Figura 1, encontram-se dois modelos de obtenção de uma função para determinados pontos. Na Imagem (a) apresenta-se uma interpolação, a qual a função abrange todos os pontos. Na Imagem (b) como se comporta o ajuste de curvas, que se aproxima dos pontos encontrados.

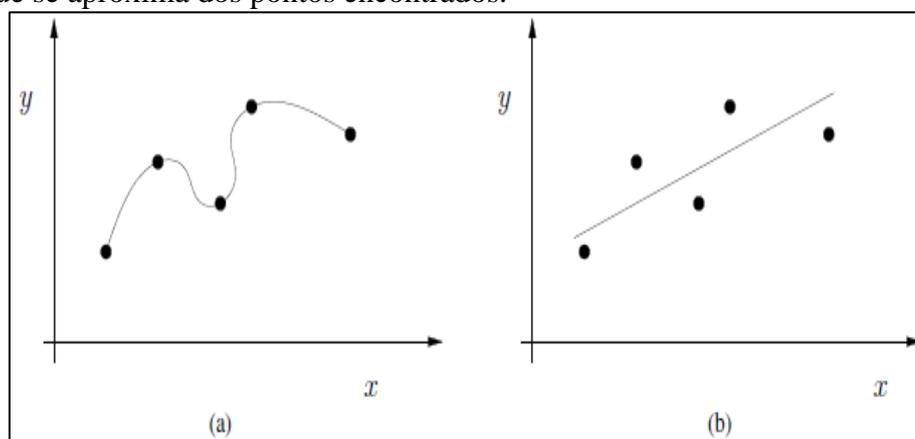


Figura 1 – Comportamento das Curvas (PEDROSA, 2005).

Os sistemas descritos por um conjunto de pontos podem ser chamados de casos discretos, um exemplo de caso discreto é o gráfico de dispersão. Entretanto, o problema de ajuste de curvas surge nos caso em que se tem uma tabela de vários pontos (x, y) , com valores de x pertencentes ao intervalo $[a, b]$, a qual consiste em dadas $(m + 1)$ funções $g_0(x), g_1(x), \dots, g_m(x)$, contínuas em $[a, b]$, obter $(m + 1)$ coeficientes $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_m$ de tal forma que em (1) apresenta-se a equação:

Onde, o coeficiente β_m refere-se ao valor numérico a ser encontrado pelo ajuste e g_m a função a qual pertencerá esse ajuste. A função (1) fornecerá os valores y_1, y_2, \dots, y_n dos pontos tabelados. O ajuste de curvas, mediante a técnica dos mínimos quadrados, torna-se uma ferramenta muito útil quando exigido a minimização dos desvios ao quadrado. Assim, ao observarmos um diagrama de dispersão ou dados tabelados, realiza-se os ajuste dos pontos de forma a fazer com que o erro seja mínimo. Abaixo se apresenta uma maneira, no qual se ajusta a função $f(x)$ aos pontos y_i . Assim, o erro ou o desvio: $d_i = y_i - f(x_i)$, vai ser mínimo para todo $i = 1, 2, \dots, n$. Na equação (2) mostra-se os somatórios dos desvio ao quadrado:

Na equação (3) vemos esse somatório aberto, onde dos valores de y experimentais diminui-se o coeficiente (β_m) multiplicado pela função $g_m(x)$, os quais são elevados ao quadrado objetivando-se a minimização do erro.

O processo de minimização ocorre da seguinte forma:

Faz-se as derivadas parciais em relação as variáveis independentes (4);

Igualam-se as derivadas parciais a zero;

Organizam-se os termos;

Obtêm-se um sistema linear, o qual se pode resolver por métodos numéricos.

$$\begin{aligned} \left(\sum g_0(x_i)^2\right) \beta_0 + \left(\sum g_1(x_i)g_0(x_i)\right) \beta_1 + \dots + \left(\sum g_0(x_i)g_m(x_i)\right) \beta_m &= \sum y_i g_0(x_i) \\ \left(\sum g_0(x_i)g_1(x_i)\right) \beta_0 + \left(\sum g_1(x_i)^2\right) \beta_1 + \dots + \left(\sum g_1(x_i)g_m(x_i)\right) \beta_m &= \sum y_i g_1(x_i) \\ &\vdots \\ \left(\sum g_0(x_i)g_m(x_i)\right) \beta_0 + \left(\sum g_1(x_i)g_m(x_i)\right) \beta_1 + \dots + \left(\sum g_m(x_i)^2\right) \beta_m &= \sum y_i g_m(x_i) \end{aligned} \quad (5)$$

As equações do sistema linear acima podem ser chamadas também de normais.

2.5.2. Coeficiente de Pearson

Para saber qual o melhor ajuste, calcula-se R^2 , o qual representa o coeficiente de correlação de Pearson. Assim, pode-se saber o quão bom é o seu ajuste, mediante o uso da fórmula abaixo:

Onde y_i equivale ao valores experimentais e y_{aj} equivale ao valor de y ajustado (objetivo). Quanto mais próximo o valor do R^2 (6) chegar de 1, melhor será esse ajuste e conseqüentemente melhor a equação de entrada. Esse coeficiente pode ser utilizado em todos ajustes, visto que o mesmo pode servir como uma forma de comparação de métodos.

2.5.3. Ajuste linear de curvas

Os conjuntos de dados, em situações reais, exigem uma curva que melhor se ajuste aos valores encontrados durante a compilação de dados. Para o ajuste de curvas de nitrogênio e fósforo, o método a ser utilizado será o Ajuste Linear Simples. A escolha pelo método dos mínimos quadrados ocorreu devido aos dados se ajustarem de forma eficaz e simples, sendo ainda regidas pela Lei de Beer-Lambert.

Considera-se a união de duas variáveis as quais formam uma equação, no caso, uma reta. Se o gráfico apresentar pontos que representem uma reta, então a mesma é linear, assim:

Assim, na equação (7) o valor de $g_0(x)$ torna-se 1 e o $g_1(x)$ igual a x . Utiliza-se o método dos mínimos quadrados, e após algumas etapas, as quais já foram observadas no item anterior, o sistema linear final do ajuste linear simples (8) é:

Ao encontrar os valores de β_0 e β_1 , retorna-se a equação original (7) e obtêm-se a função. Pode-se ainda calcular o coeficiente de correlação de Pearson para saber quão boa é a aproximação realizada.

3. Metodologia

Conforme Miranda (2008), a pesquisa se classifica como quantitativa, ou seja, tem atuação nos níveis de realidade e trata como objetivo a identificação e apresentação dos dados, indicadores e tendências observáveis. O método utilizado é caracterizado como um estudo de caso, onde Gil (2007) descreve como uma forma de delinear um contexto real onde o fenômeno e o contexto ao qual estão inseridos não são claramente percebidos. Os dados serão retirados das reações obtidas em laboratório, conforme o procedimento adotado.

3.1. Materiais

Toda a metodologia utilizada para realizar as curvas de nitrogênio e fósforo, diz respeito aos procedimentos descritos no APHA (1992) e (2005).

4. Resultados e discussões

O teste para gerar as curvas, inicia-se com a obtenção de uma amostra em branco. Ao produzir uma amostra em branco no laboratório, tem-se em mente diminuir a quantidade de erros referentes ao processo de obtenção da substância em questão, no caso o Nitrogênio e o Fósforo. Utiliza-se a água deionizada a qual está livre de substâncias que possam interferir na análise (sais), e adicionam-se os reagentes. Da mesma forma, ocorreria com uma amostra em teste, água superficial, por exemplo. Assim, o branco servirá como zero no espectrofotômetro pois estará livre de interferentes externos.

Ao misturar-se os reagentes em diferentes concentrações conhecidas da substância (P ou N) obtêm-se uma amostra padrão, na qual se sabe a concentração e procura-se a absorbância. Essa amostra padrão e sua respectiva absorbância irão gerar uma sequência de pontos que em seguida irão gerar a curva de calibração.

No cálculo realizado, considera-se a concentração como eixo X e a absorbância como eixo Y, as quais podem ser observadas a seguir nos gráficos.

Para obtenção da curva de calibração do nitrogênio utiliza-se uma solução de nitrato de sódio, que foi diluído em diversas concentrações (mg/L). Com as diluições é realizado o procedimento, denominado método de Nessler, baseado na metodologia empregada pelo (APHA, 1992). Conforme a Tabela 1 apresenta-se as concentrações com as respectivas absorbâncias.

<i>Concentração (mg/L)</i>	<i>Absorbância Média</i>
0	0
5	0,0705
15	0,153
25	0,242
50	0,442
75	0,6715
100	0,9185

Tabela 1 - Concentração e Absorbância do Nitrogênio.

No processo de construção da curva de calibração do fósforo emprega-se a solução de fosfato de sódio, a qual sofre seis diluições com concentrações diferenciadas (mg/L). Mediante o uso do procedimento do ácido ascórbico, segundo (APHA, 2005), na Tabela 2, apresenta-se a concentração pela absorbância.

<i>Concentração (mg/L)</i>	<i>Absorbância Média</i>
0	0
0,05	0,002
0,1	0,016
0,2	0,0465
0,3	0,0675
0,4	0,0915
0,5	0,1140

Tabela 2 - Concentração e Absorbância do Fósforo.

No intuito de determinar as curvas de calibração para os parâmetros de nitrogênio e fósforo, foi realizado o ajuste de curvas, o qual aproxima a curva dos pontos encontrados. Para os dois parâmetros foram obtidos os coeficientes de correlação de Pearson (R^2), para mostrar quão bom era o ajuste. Abaixo segue o Figura 2 associado ao ajuste realizado para o nitrogênio.

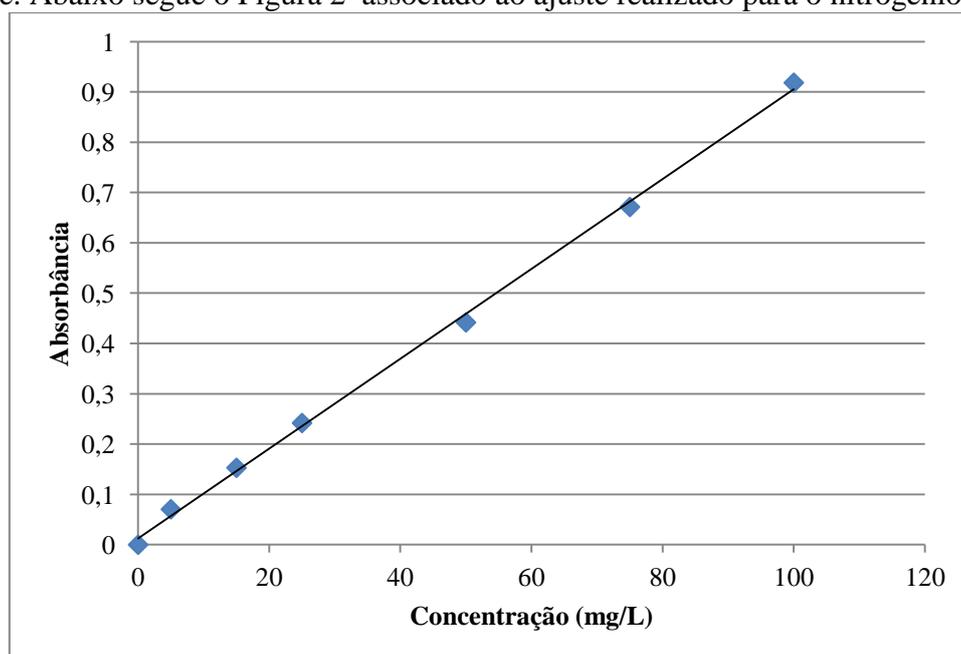


Figura 2 – Curva de calibração obtida experimentalmente para o parâmetro nitrogênio.

Para a equação do nitrogênio obteve-se a seguinte equação $y = 0,0089x + 0,0123$, onde essa atingiu um R^2 de 0,999, o qual apresenta correlação linear muito forte. Na Figura 3, apresenta-se a concentração pela absorbância do parâmetro fósforo, onde o ajuste utilizado foi o linear simples.

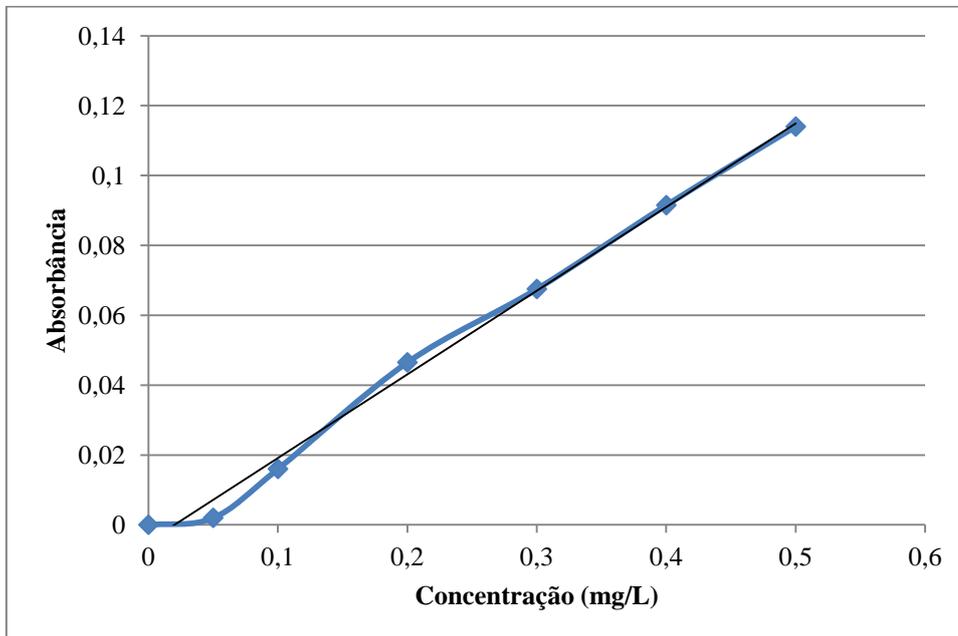


Figura 3 – Curva de calibração obtida experimentalmente para o parâmetro fósforo.

A Figura 3, representa a curva analítica do fósforo, onde foi obtida a seguinte equação: $y = 0,2395x - 0,0048$. O ajuste linear atingiu um valor de R^2 0,994, o que caracteriza uma correlação muito forte.

5. Considerações Finais

Ao se analisar parâmetros que estão presentes na natureza de forma precisa e coerente, deve-se levar em conta a importância ambiental dos mesmos, visto que estes apresentam valor decisivo na determinação da qualidade das águas. Ao se utilizar um procedimento para quantificação de parâmetros, mediante a Lei de Beer- Lambert necessita-se adotar um ajuste linear simples. Dessa forma, o nitrogênio e o fósforo, foco da pesquisa, apresentam equações lineares com coeficientes de correlação próximos a um. Ainda, vale resaltar que a exatidão do processo de ajuste linear deve estar intrinsecamente ligado ao alto grau de confiança entre a análise realizada e a curva estimada (padrão), por exemplo.

A obtenção de curvas de calibração dos parâmetros nitrogênio e fósforo tornam-se a partir de agora ferramentas úteis na determinação das concentrações de amostras testes, em águas superficiais por exemplo. A utilização dessas curvas, obtidas por ajuste linear simples, auxiliam no cotidiano laboratorial. Assim, quando conhecida a absorbância e mediante o uso da equação, poderá ser obtida a concentração da amostra.

Os resultados obtidos ao longo do trabalho mostram-se coerentes com as leis químicas e aplicáveis a modelagens matemáticas. Entende-se que modelagens matemáticas são de fundamental importância para agilizar e facilitar o trabalho na bancada do laboratório. Por fim, as curvas de calibração obtidas das amostras padrões, servirão como instrumento de determinação desses parâmetros, os quais serão analisados no laboratório de química de CEAVI- UDESC.

Referências

APHA. **American Public Health Association. Water Environment Federation, 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater analysis.** 19ª. ed. Washington, D.C.: American Public H, 1992.

_____. **American Public Health Association. Water Environment Federation, 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater analysis.** 21ª. ed. Washington, D.C.: American Public H, 2005.

BRITO, J. F. D. et al. Tratamento da Água de Purificação do Biodiesel Utilizando Eletrofloculação. **Química Nova**, Lavras, v. 35, n. 4, 2012.

CETESB. **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2010.** São Paulo: [recurso eletrônico], 2011.

DÖBEREINER, J. A Importância da Fixação Biológica de Nitrogênio para a. **Emprapa – CNPAB**, Seropédica, 1995.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social.** 5ª. ed. São Paulo: Atlas, 2007.

GRANT, C. A. et al. A importância. **Revista Associação Brasileira para Pesquisa da Potássio e do Fosfato**, Piracicaba, n. 95, Setembro 2001.

MC, M. D. S. **Portaria nº 2914 - Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.** Ministério da Saúde. Brasília. 2011.

MIRANDA, B. Método Quantitativo versus Método Qualitativo. **Adrodomus - Bruno Miranda**, 2008. Disponível em: <<http://adrodomus.blogspot.com.br/2008/06/mtodo-quantitativo-versus-mtodo.html>>. Acesso em: 1 Outubro 2012.

PEDROSA, D. P. F. **Apostila de Ajuste de Curvas.** Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Centro de Tecnologia Departamento de Engenharia de Computação e Automação: [s.n.], 2005.

PESCADOR, A. **Apostila de Cálculo Numérico - Notas de Aula.** Ibirama: Udesc - Ceavi, 2012.