



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA - CAMPUS I  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
CURSO BACHARELADO QUÍMICA INDUSTRIAL**

**JOSÉ YAGO RODRIGUES SILVA**

**QUANTIFICAÇÃO DE CAFEÍNA EM ÁGUA  
UTILIZANDO A ESPECTROSCOPIA NO UV-VISÍVEL E  
REGRESSÃO EM MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2014**

**JOSÉ YAGO RODRIGUES SILVA**

**QUANTIFICAÇÃO DE CAFEÍNA EM ÁGUA  
UTILIZANDO A ESPECTROSCOPIA NO UV-VISÍVEL E  
REGRESSÃO EM MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Química Industrial da Universidade  
Estadual da Paraíba, em cumprimento à  
exigência para obtenção do grau de  
Bacharel em Química Industrial.

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Simone da Silva Simões**

CAMPINA GRANDE – PB  
2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

S586q Silva, José Yago Rodrigues.

Quantificação de cafeína em água utilizando a espectroscopia no UV-visível e regressão em mínimos quadrados parciais [manuscrito] / José Yago Rodrigues Silva. - 2014.  
38 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2014.

"Orientação: Profa. Dra. Simone da Silva Simões, Departamento de Química".

1. Contaminantes emergentes. 2. Cafeína. 3. UV/vis. 4. Quimiometria. I. Título.

21. ed. CDD 628.3

**QUANTIFICAÇÃO DE CAFEÍNA EM ÁGUA UTILIZANDO A  
ESPECTROSCOPIA NO UV-VISÍVEL E REGRESSÃO EM MÍNIMOS  
QUADRADOS PARCIAIS**

APRESENTADO EM: 31 / 07 / 2014

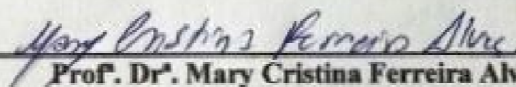
**BANCA EXAMINADORA**



**Profª Drª. Simone da Silva Simões**  
(Orientadora DQ/ UEPB)



**Prof. Dr. Rodrigo José de Oliveira**  
(Examinador DQ/ UEPB)



**Profª. Drª. Mary Cristina Ferreira Alves**  
(Examinadora - DQ/ UEPB)

Campina Grande – PB  
2014

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha amiga e companheira Ohanna Maria, que tanto me apoiou e me guiou nesse caminho. Aos meus familiares, a papai e a mamãe em especial, que sempre exigiu de mim.

Dedico também a pessoa que me escolheu, e confiou a mim a sua ideia, o “Plano A”, Professora Simone.

## **AGRADECIMENTOS**

A professora Simone, pela orientação, respeito e sinceridade nesse tempo percorrido. Agradeço pelos conselhos, por ter confiado a mim o “plano A”, e ter acreditado na minha capacidade.

Aos professores que busca em seus alunos, um crescimento intelectual e crítico do curso e da universidade, dedico a eles (Rodrigo, Ricardo, Simone e Mary).

A minha namorada, a quem me apoiou, me guiou e acompanhando o meu progresso, buscando o nosso melhor. A sua família que acreditou e me apoiou, em especial a Miguel Luksys a quem me espelhei.

A minha família, que acreditou nesse meu caminho. Mamãe e papai, que indiretamente lutou comigo, aos meus irmãos (Júlio, Virnna, Gustavo e Felipe) Aos amigos de laboratórios, de corredores e de salas de aulas, em especial, meu amigo Emanuel.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Processos do tratamento de água.....	14
Figura 2: Estrutura Molecular da Cafeína.....	17
Figura 3: Capitais brasileiras onde foi encontrada contaminação de cafeína em água potável .....	18
Figura 4: Absorção de luz.....	19
Figura 5: Partes que constituem um espectrômetro.....	20
Figura 6: Gráfico de resíduo em y versus influencia.....	27
Figura 7: Gráfico de resíduo x versus Influencia.....	27
Figura 8: Espectro de absorção molecular no UV/vis para a água pura (A) e para a água com cafeína em diferentes concentrações (B, C e D).....	28
Figura 9: Gráfico dos escores de PC1 vs PC2 para as amostras de água e cafeína em meio aquoso (Faixa de concentração de $10^{-6}$ a $10^{-5}$ molL <sup>-1</sup> ).....	29
Figura 10: Gráfico dos escores de PC1 vs PC2 para as amostras de água e cafeína em meio aquoso (Faixa de concentração de $10^{-8}$ a $10^{-9}$ molL <sup>-1</sup> ).....	29
Figura 11: Regiões espectrais avaliadas para construção dos modelos.....	30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros de caracterização da água pura e soluções contendo cafeína.....	25
Tabela 2: Parâmetros de avaliação dos modelos construídos utilizando as regiões I, II e IV, simultaneamente e diferentes pré-tratamentos espectrais.....	31
Tabela 3: Parâmetros de avaliação dos modelos construídos utilizando as regiões I e II, simultaneamente e diferentes pré-tratamentos espectrais .....	32
Tabela 4: Parâmetros de avaliação dos modelos construídos utilizando as regiões I em diferentes pré-tratamentos espectrais.....	33



## LISTA DE SIMBOLOS

ETA: Estação de Tratamento de Água

UV/VIS: Ultravioleta Visível

RMSEC: Root Mean Square Error Calibration

RMSEP: Root Mean Square Error Prediction

RMSECV: Root Mean Square Error of Cross-Validation

MSC: Multiplicative Signal Correction

PCA: Principal Component Analysis

PLS: Partial Least Squares

ANA: Agência Nacional de Águas ppm: partes por milhão ppb: partes por bilhão

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCP: Produtos de Cuidados Pessoais

CDE: Compostos de Desregulação Endócrina

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

INCTAA: Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas

PC: Componentes Principais

## RESUMO

As estações de tratamento de água (ETA) não foram idealizadas para o tratamento de contaminantes emergentes, como fármacos e constituintes químicos de produtos de higiene pessoal, deste modo os tratamentos atualmente realizados não são capazes de eliminá-los de maneira eficaz no tratamento dos efluentes. A presença de cafeína nestes efluentes vem sendo vista como um indicativo de contaminação ambiental e da ineficácia dos métodos de tratamento de efluentes atualmente utilizados. Um estudo recente comprovou a presença de cafeína em teores consideráveis em águas de abastecimento de diversas capitais brasileiras. O método de análise geralmente utilizado para análise de compostos em baixos teores, como é o caso dos contaminantes emergentes, é a cromatografia, que apesar de ser uma técnica bastante estabelecida, é também dispendiosa e laboriosa. Neste trabalho, foi desenvolvida uma metodologia baseada na espectroscopia Ultravioleta e Visível aliada a técnicas quimiométricas para a identificação e quantificação de cafeína em águas de abastecimento. A metodologia desenvolvida se apresenta como um método alternativo à cromatografia. A partir da análise em componentes principais foi possível distinguir entre a água não contaminada e as soluções contendo diferentes concentrações de cafeína. Para os modelos de quantificação, foram testadas diferentes faixas de trabalho e de acordo com os valores de raiz quadrada dos erros de calibração e previsão (RMSEC e RMSEP) as três faixas de trabalho testadas apresentaram resultados satisfatórios. No entanto a faixa de trabalho de ~190 a ~300 nm, apresentou um valor de RMSEP menor que os apresentados pelos modelos construídos utilizando as outras duas faixas. Os pré-processamentos espectrais que apresentaram melhor performance foram o MSC e a suavização utilizando o polinômio Savitzky-Golay e janela de 7 pontos.

Palavras-chave: contaminantes emergentes, cafeína, UV/vis, quimiometria

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	12
1.1 OBJETIVO GERAL .....	13
1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	13
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1 USO, QUALIDADE E TRATAMENTO DE ÁGUA.....	14
2.1.1 Contaminantes emergentes .....	16
2.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORBANCIA MOLECULAR .....	19
2.3 QUIMIOMETRIA .....	21
2.3.1 Calibração multivariada.....	22
3 METODOLOGIA.....	25
3.1 MATERIAIS E REAGENTES.....	25
3.2 AMOSTRAS.....	25
3.3 REGISTRO DOS ESPECTROS.....	26
3.5 SOFTWARE.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	27
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA PURA E DAS SOLUÇÕES CONTENDO.....	27
CAFEÍNA .....	27
4.2 ESTUDO DE AMOSTRAS ANÔMALAS.....	27
4.3 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA).....	28
4.4 CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA .....	31
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	37
REFERÊNCIAS .....	38

## 1 INTRODUÇÃO

A água é considerada o solvente universal, é a matéria mais abundante na superfície terrestre, sua presença é imprescindível para a sobrevivência humana e tem importância essencial na economia. A maior parte da água encontrada na superfície terrestre se encontra indisponível ou não potável.

A água potável é aquela cujos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos, atendem ao padrão de potabilidade, não oferecendo riscos à saúde. Os padrões de potabilidade adotados atualmente foram estabelecidos em 2011, portaria N° 2.914, deste modo, com a modernização da sociedade, novos contaminantes surgiram e limites mínimos ou formas de tratamento para estes contaminantes não foram incorporados a legislação. Neste sentido, um problema que vem sendo abordado são os contaminantes emergentes, que são substâncias químicas encontradas na água em concentrações na faixa de ppm a ppb, e que não são legisladas.

As estações de tratamentos de água (ETA's) não foram idealizadas para o tratamento destes contaminantes e deste modo os tratamentos atualmente realizados não são capazes de eliminá-los de maneira eficaz no tratamento dos efluentes. O tratamento não adequado e a incompleta eliminação destes contaminantes no tratamento de águas, leva a bioacumulação destes em animais e seres humanos, o que pode estar relacionado a problemas relacionados à saúde.

Em um estudo atual (2013) realizado pela equipe do professor Wilson Jardim do Instituto de Química da UNICAMP, foram coletadas amostras de águas de abastecimento de 15 capitais brasileiras e do Distrito Federal. Foi verificada a presença de cafeína em teores consideráveis em 92% das amostras analisadas. A cidade de João Pessoa foi uma das capitais que teve sua água coletada e analisada durante o estudo e, de acordo com os resultados obtidos, apresenta teores de cafeína e atrazina na água potável. Ainda de acordo com este estudo a cafeína pode ser considerada um ótimo indicativo de contaminação ambiental e de presença humana, já que a mesma é proveniente de esgotos domésticos.

O método utilizado para análise de compostos em baixos teores, como é o caso dos contaminantes emergentes, é a cromatografia, que apesar de ser uma técnica precisa, também é muito dispendiosa e laboriosa.

Neste trabalho, foi desenvolvida uma metodologia baseada na espectroscopia Ultravioleta e Visível (UV/VIS) aliada a técnicas quimiométricas para a identificação e quantificação de cafeína em águas de abastecimento. A metodologia desenvolvida se apresenta como um método alternativo à cromatografia, por ser de simples operação, pouco laborioso e de baixo custo.

### 1.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma metodologia utilizando a espectroscopia no UV/vis aliada a quimiometria para identificação e quantificação de cafeína em água.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Verificar se a análise de componentes principais é capaz de distinguir entre a água pura e aquela contendo baixas concentrações de cafeína.
- Testar o desempenho de diferentes faixas espectrais para a construção dos modelos de calibração
- Avaliar o desempenho de diferentes pré-tratamentos espectrais para a remoção de informação indesejada (ruído, deslocamento de linha de base, etc.) contida nos espectros.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 USO, QUALIDADE E TRATAMENTO DE ÁGUA

A água no planeta está classificada basicamente como água doce e água salgada. A água salgada é representada pelos mares e oceanos, constituindo 97% de toda água existente; já a água doce constitui 3% da água encontrada na crosta terrestre, sendo esta parcela, a soma de águas em geleiras (2,2%), águas subterrâneas (0,776%) e superficiais (0,024%) (VON SPERLING, 1996).

O Brasil possui quase 16% de toda a água no mundo, sendo distribuída desigualmente. Um exemplo pertinente disso, é a comparação entre a disponibilidade hídrica ( $m^3/s$ ) no nordeste, que é inferior a  $100 m^3/s$ , e na região hidrográfica da Amazônia, que alcança  $74.000 m^3/s$ . A Agência Nacional das Águas (ANA, 2010) realizou uma simulação para o ano de 2015, avaliando oferta/demanda e revelou que até 2015, 55% dos brasileiros terão abastecimento deficitário, decorrente de problemas com a oferta de águas dos mananciais, seja em relação a quantidade ou/e qualidade. No nordeste a porcentagem de pessoas com o abastecimento deficitário até 2015 será a maior dentre as regiões, chegando a 60%. De posse desta informação, fica fácil perceber que a água é um bem pouco acessível e por este motivo não deve ser contaminado e desperdiçado. Apesar disso, o que se pode notar é um crescente aumento na quantidade de resíduos, sejam estes industriais ou domésticos, que são despejados em mananciais sem o mínimo tratamento, causando danos ao meio ambiente e a saúde da população. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2007), mais de 1,1 bilhão de pessoas consomem água não potável. De acordo com Zhang (2012), a diarreia é um dos principais motivos de morte de crianças que ocorre em função da contaminação das águas potáveis por microrganismos patogênicos. Além disso, os contaminantes químicos, são uma ameaça crescente em muitos países em desenvolvimento. Em um estudo realizado nas águas do rio Olifants na África em relação a presença de contaminantes provenientes das atividades industrial, mineral e de agricultura, constatou-se a presença de uma grande carga microbiológica e química, capaz de causar doenças pelo consumo direto como acontece nas localidades mais pobres (GENTHE *et al.*, 2013).

No Brasil a qualidade da água é monitorada por órgãos como a ANA, que é uma iniciativa do governo federal, tendo como objetivo proporcionar a sustentabilidade e segurança dos recursos hídricos do país, sendo a mesma um fator importante no desenvolvimento econômico e social do país. A ANA (2010) destaca que a sucessão de eventos críticos de contaminação de mananciais com agentes químicos e biológicos nos últimos anos, no Brasil e no mundo, aumenta a gravidade dos problemas em relação a água potável.

De acordo com a portaria 2.914, de 12 de dezembro de 2011, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, água potável é toda água que não causa nenhum risco a saúde humana e toda água consumida por um ou mais indivíduos está sujeita a fiscalização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

O tratamento da água no Brasil é realizado, basicamente, de acordo com as seguintes etapas (SABESP, 2014), Figura 1:

Figura 1: Processos do tratamento de água



Fonte: Site da SABESP, 2014.

- Pré-cloração: O cloro é adicionado no início do processo, facilitando a remoção da matéria orgânica e metais.
- Pré-alcalinização: Onde a água recebe cal ou soda para ajustar o pH para valores exigidos em etapas posteriores.

- **Coagulação:** A adição do coagulante é feita com agitação violenta, para haver uma maior aglomeração das partículas.
- **Floculação:** Nesta etapa ocorre uma mistura lenta do coagulante com a água que provoca a formação dos flocos.
- **Decantação:** Os flocos aumentados são decantados, chamando isso de etapa de decantação.
- **Filtração:** A água é filtrada por filtros feitos de areia, pedras e carvão antracito.
- **Pós-alcalinização:** É feita a correção final do pH da água, para evitar a corrosão ou incrustação das tubulações.
- **Desinfecção:** Adiciona-se cloro na água tratada antes de sua saída da Estação de Tratamento, garantindo que a água fornecida chegue isenta de bactérias e vírus até a casa do consumidor.
- **Fluoretação:** Adiciona-se flúor, substância que ajuda a prevenir cáries.

### **2.1.1 Contaminantes emergentes**

Contaminante emergente, é toda substância química ou microrganismo detectado no ambiente, em que suas ações e efeitos no homem e/ou na natureza são desconhecidas (RAIMUNDO, 2011).

Há alguns anos, com a modernização das técnicas analíticas, foi possível identificar e quantificar os contaminantes presentes na água, até mesmo aqueles na escala de nanograma ou concentrações inferiores. Estes contaminantes, que geralmente são provenientes do alto consumo de surfactantes, medicamentos, produtos de cuidados pessoais (PCP), aditivos para polímeros, drogas ilícitas, aditivos de gasolina e muitos outros grupos de compostos químicos, são chamados de contaminantes emergentes, e atualmente representam uma grande preocupação ambiental devido a sua ocorrência em águas de rios, solos e lamas de depuração. A concentração destes contaminantes é extremamente baixa e, apesar de serem bioacumuláveis nos organismos vivos, a sua descarga no meio ambiente ou as quantidades mínimas permitidas ainda não são legislados (REYES-CONTRERAS; DOMÍNGUEZ; BAYONA, 2012). Deste modo, uma questão que preocupa os pesquisadores são os efeitos ou danos que estes contaminantes podem causar ao homem, pois sabe-se que alguns destes contaminantes



são compostos que provocam desregulação endócrina (CDE) (QUINTANILLA *et al.*, 2010).

Segundo Raimundo (2011) as agências ambientais e as organizações não governamentais de todo o mundo, classificam os CDE em três classes principais: os estrogênios naturais, estrogênios sintéticos e os xenoestrogênios. Os estrogênios sintéticos são os que apresentam maior capacidade de interferir no sistema endócrino humano.

As presenças desses CDE no meio ambiente, mesmo em concentrações baixas, produzem efeitos estrogênicos como a feminização, mudanças na reprodução e comportamento dos peixes, diminuição na quantidade de espermatozoides nos homens, aumento de câncer de mama em mulheres e aumento de certas anomalias no sistema reprodutivo humano (PEREIRA *et al.*, 2011).

Silva, Otero e Esteves (2012) explicam, de modo geral, como algumas substâncias interferem no funcionamento normal do sistema endócrino de seres humanos e animais selvagens e destacam as principais características-chaves destes compostos que contribuem para isto:

- (I) Mimetização dos efeitos de hormônios endógenos;
- (II) Antagonização dos efeitos das hormonas endógenas;
- (III) Interrupção da síntese e do metabolismo de hormonas endógenas, ou (IV) Perturbação da síntese dos receptores de hormonas específicas.

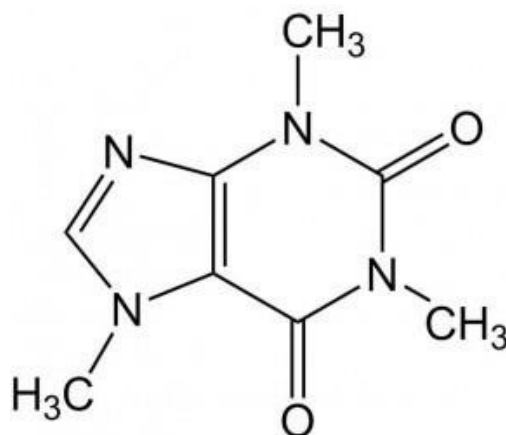
Os estrogênios naturais estrona (E1), 17 $\beta$ -estradiol (E2) e estriol (E3), juntamente com o estrogênio sintético 17 $\alpha$ -etenilestradiol (EE2), são os principais estrogênios encontrados em águas residuais. Estes hormônios acabam sendo encontrados no meio ambiente, geralmente por descarga de esgoto e/ou pela água de lançamento final das ETEs (SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012).

#### 2.1.1.1 Cafeína

A cafeína é um composto consumido há muito tempo, proveniente de fontes naturais. Seu consumo se deu inicialmente pelo chá, a bebida mais antiga que contém cafeína. Existem relatos de seu aparecimento na idade da pedra (600mil a.C.) ou na

antiga Abissínia (700 a.C.). Por volta do século XIV foram relatadas as primeiras plantações de café na península arábica, onde eram feitas bebidas que os árabes diziam ser bebida que previne o sono (REMIÃO, 2005).

Figura 2: Estrutura Molecular da Cafeína



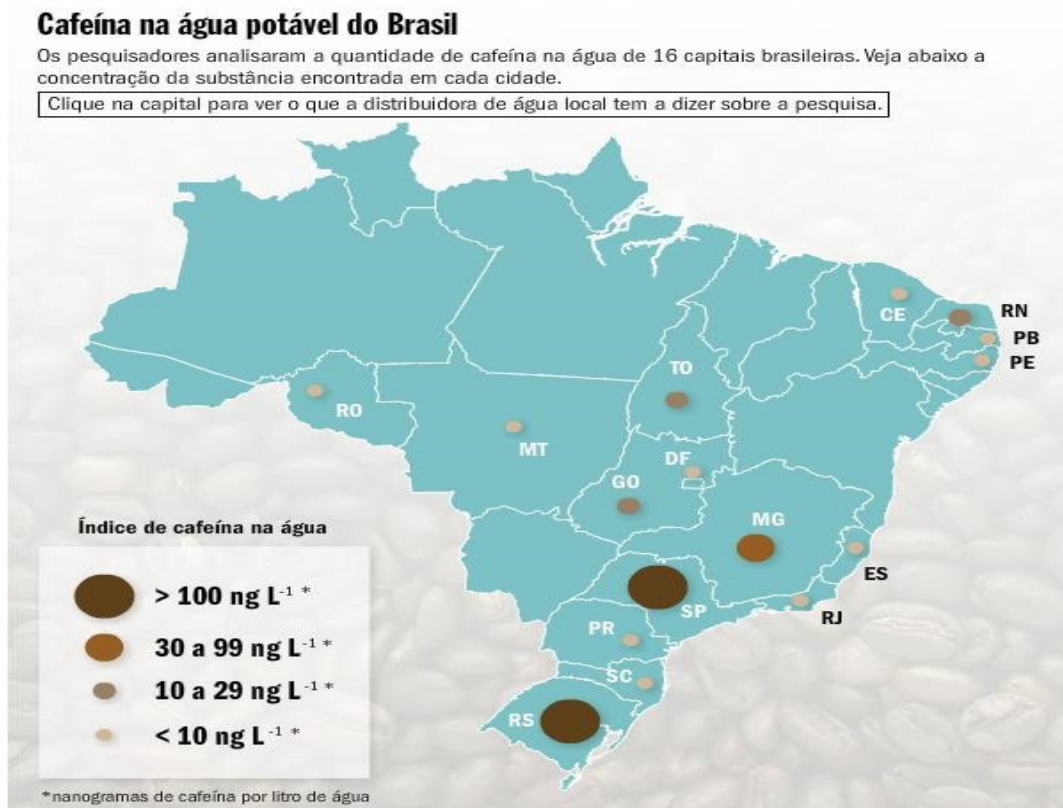
De acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), a cafeína é um composto orgânico do grupo dos alcaloides com nome científico 1,3,7-trimetilpurina-2,6-diona, fórmula molecular C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, massa molecular 194,19 unidades de massa atômica (u.m.a). É um composto solúvel em água e em solventes menos polares ou apolares, como álcool e benzeno. Apresenta ponto de fusão de 238 °C e pH de 5,5-6,5 em solução de 1%, a 20 °C. Tem uma estrutura molecular estável (Figura 2) que leva a baixa reatividade em condições normais de temperatura e pressão (CAS, 2002). Após ingerida, a cafeína é eliminada em cerca de 0,5 a 3%, de forma intacta, pela urina (ALTIMARI *et al.*, 2001).

Apesar de atualmente não existir estudos que comprovem a ação da cafeína como desruptor endócrino, a mesma pode ser considerada um indicador de contaminação ambiental. Há alguns anos, a cafeína vem sendo encontrada nas águas potáveis dos estados brasileiros, podendo ser um indicador ambiental e de presença de esgoto, o que pode estar relacionado a um tratamento ineficaz dos efluentes, já que a única origem da cafeína na água são esgotos domésticos, deste modo se existe a presença de cafeína no efluente tratado, com certeza também existirão outros produtos químicos (HIGA, 2013).

Em um artigo publicado na revista *Veja* (2012), foram listadas as capitais brasileiras onde foi registrada a contaminação da água com cafeína, de acordo com os resultados obtido pelo Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA), Figura 3. Pode-se notar que uma dessas capitais é João Pessoa.

Uma reportagem exibida no pbagora.com.br (2012), destaca a presença de cafeína e atrazina (uma espécie de agrotóxico carcinogênico) em águas potáveis de João Pessoa.

Figura 3: Capitais brasileiras onde foi encontrada contaminação de cafeína em água potável



Fonte (Revista Veja, 2012)

## 2.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORBANCIA MOLECULAR

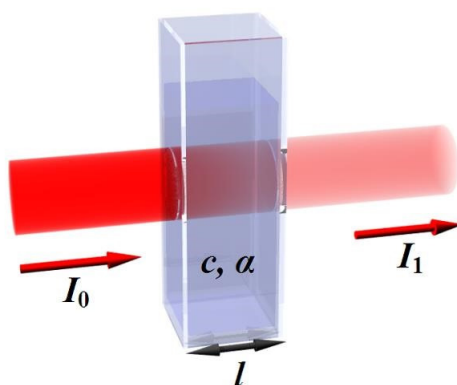
A espectrometria de absorção molecular, é um dos métodos instrumentais mais utilizados no mundo, tendo aplicação em várias áreas. É uma técnica pela qual é possível a identificação e quantificação de espécies inorgânicas, orgânicas e biológicas com boa precisão, baixo custo e de maneira rápida. Possui limites de detecções de  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup>, no entanto pode-se chegar a  $10^{-7}$  mol.L<sup>-1</sup>, dependendo do método. Sua seletividade vai de moderada a alta, pois como trata-se de medida de luz (frequência), os analitos absorvem comprimentos de onda específicos. É uma técnica que tem como base a luz transmitida ou absorvida pela amostra (SKOOG *et al.*, 2008).

A relação entre a luz emergente ou transmitida ( $I_1$ ) e a luz incidente ( $I_0$ ), é o que chamamos de transmitância (T). Que pode ser definida, em termos de absorbância (A) de acordo com a equação 1.

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I_1} \quad (1)$$

A atenuação do feixe incidente, se deve à absorção do feixe de radiação pelas moléculas ou átomos contidos na amostra (SKOOG, 2008). Como ilustra a Figura 4:

Figura 4 – Absorção de luz



Fonte: <http://library.kiwix.org:4213/A/Lei%20de%20Beer-Lambert.html>

$I_0$  = Feixe de luz Incidente

$I_1$  = Feixe de luz transmitido

$l$  = Espessura da Solução ou Caminho Óptico

De acordo com a lei de Beer, a concentração do analito é relacionada linearmente com a sua absorbância (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000), como mostra a equação 2.

$$A = \epsilon lc \quad (2)$$

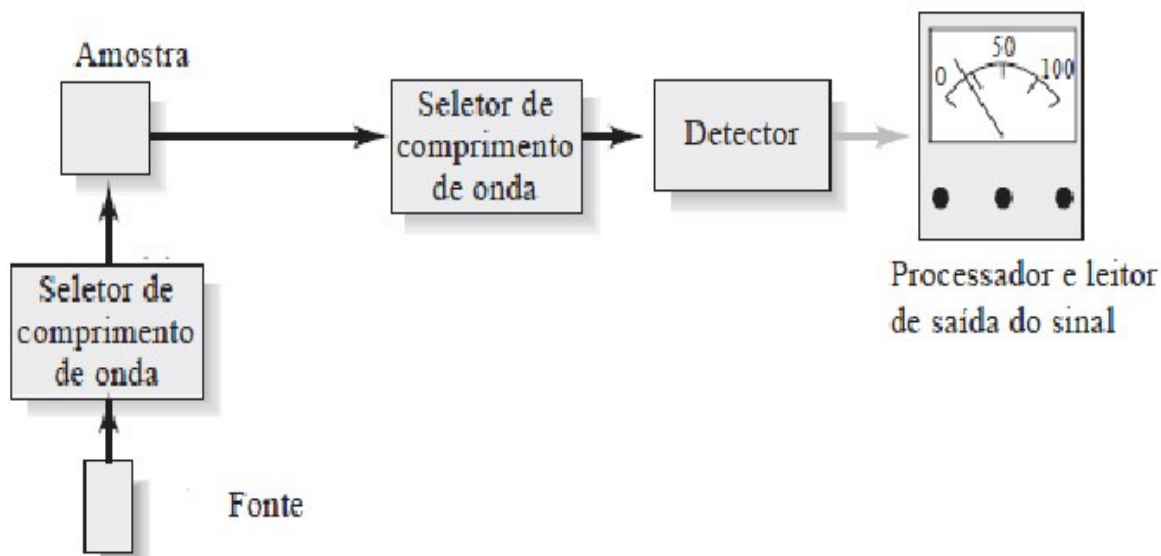
Onde: A = Absorbância c = Concentração do absorvente  $\epsilon$  = Absortividade molar

$l$  = Espessura da Solução ou Caminho Óptico

De maneira geral, um espectrofotômetro é constituído das seguintes partes, (Figura 5):

- (I) Fonte: que emite radiação na amostra;
- (II) Seletor de comprimento de onda;
- (III) Suporte para a amostra;
- (IV) Detector;
- (V) Processador e leitor de saída (SKOOG, 2008).

Figura 5: Partes que constituem um espectrômetro



Fonte: Skoog (2008)

### 2.3 QUIMIOMETRIA

A quimiometria, é uma ferramenta que envolve a aplicação de métodos estatístico, matemáticos e computacionais, para investigar e interpretar sinais instrumentais, com interesse químico. É hoje uma ferramenta multidisciplinar, inserida na química e utilizada em outras áreas também. Um exemplo de sua aplicabilidade, é o seu uso no controle de qualidade de produtos na indústrias (SOUZA; POPPI, 2012).

Entre as subáreas da quimiometria, existem 3 principais (SOUZA; POPPI, 2012):

- O planejamento de experimentos: procura encontrar as influências das variáveis que interferem no sistema.

- O reconhecimento de padrões: A partir de informações (medidas espectrais, por exemplo) dos objetos (amostras), ele encontra similaridades entre eles, para detectar tendência dos dados.
- Calibração multivariada: Relaciona uma série de medidas a suas propriedades químicas, criando um modelo de quantificação.

Inácio *et al.* (2013), quantificou antocianina em frutas intactas, com o auxílio da calibração multivariada, e obtendo resultados significativos.

### 2.3.1 Calibração multivariada

Nos desenvolvimentos de métodos analíticos atualmente, é comum o uso de ferramentas quimiométricas, como o uso de algoritmos para desenvolvimento de modelos de calibração multivariada. Existem algoritmos para o desenvolvimento de modelos de calibração multivariada, o PLS (Partial Least-Square Regression- Regressão por mínimos quadrados parciais), PCR (Principal Component Regression- Regressão dos Componentes Principais), e ILS (Inverse Least-Square- Regressão pelo inverso dos mínimos quadrados) são alguns exemplos (OLIVEIRA, 2006).

#### 2.3.1.1 PCA

A análise de componentes principais (Principal Component Analysis, PCA) é um dos métodos mais importantes e mais utilizados na Quimiometria. Esta técnica é a base para muitos métodos de classificação e calibração multivariada. De forma geral, a PCA é utilizada para visualizar a estrutura interna dos dados, encontrar similaridades entre amostras, detectar amostras anômalas (*outliers*) e reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados (SOUZA; POPPI, 2012).

A redução da dimensionalidade é uma das principais utilizações das componentes principais, e é realizada através da representação do conjunto de dados em um novo sistema de eixos, denominados (PC), o que permite a visualização da natureza multivariada dos dados em poucas dimensões. No espaço original de dados, as amostras são pontos localizados em um espaço n-dimensional, onde n é o número de variáveis. Com a redução de dimensionalidade dos dados, as amostras passam a ser pontos

localizados em espaços de dimensões reduzidas definidos pelas PCs (bi- ou tridimensionais). Em termos matemáticos, na PCA, a matriz  $\mathbf{X}$  é decomposta em um produto de duas matrizes, denominadas escores ( $\mathbf{T}$ ) e pesos ( $\mathbf{P}$ ), mais uma matriz de erros ( $\mathbf{E}$ ). Os escores representam as coordenadas das amostras no novo sistema de eixos formados pelos componentes principais. Cada componente principal é constituído pela combinação linear das variáveis originais e os coeficientes da combinação são denominados pesos. Os pesos são os cossenos dos ângulos entre as variáveis originais e os componentes principais (PC), representando, portanto, o quanto cada variável original contribui para uma determinada PC. A primeira componente principal (PC1) é traçada no sentido da maior variação no conjunto de dados; a segunda (PC2) é traçada ortogonalmente à primeira, com o intuito de descrever a maior variabilidade não explicada pela PC1 e assim por diante. Já os escores, representam as relações de similaridade entre as amostras. O número de componentes principais a ser utilizado no modelo PCA é determinado pela porcentagem de variância explicada. Assim, selecionase um número de componentes de tal maneira que a maior porcentagem da variação presente no conjunto de dados originais seja capturada (WOLD; ESBENSEN; GELADI, 1987).

### 2.3.1.2 PLS

A regressão em mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares* – PLS) é um método de calibração multivariada que se baseia em PCA para a redução da dimensionalidade do conjunto de dados e posterior correlação entre os espectros (matriz  $\mathbf{X}$ ) e as propriedades de interesse (vetor  $y$  ou matriz  $\mathbf{Y}$ ). A propriedade de interesse muitas vezes é a concentração de um analito, porém pode-se determinar propriedades físico-químicas relacionadas a composição da amostra. As matrizes  $\mathbf{X}$  e  $\mathbf{Y}$  são decompostas por PCA por meio das Equações 3 e 4 (SOUSA *et al.*, 2013).

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E} \quad (3)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}^T + \mathbf{F} \quad (4)$$

Onde:  $\mathbf{P}$  e  $\mathbf{Q}$  são os pesos de  $\mathbf{X}$  e  $\mathbf{Y}$ , respectivamente;  $\mathbf{T}$  e  $\mathbf{U}$  são os escores de  $\mathbf{X}$  e  $\mathbf{Y}$ , respectivamente e  $\mathbf{E}$  e  $\mathbf{F}$  representam as matrizes de resíduos de  $\mathbf{X}$  e  $\mathbf{Y}$ , respectivamente.

Os escores e pesos representam, respectivamente, as coordenadas das amostras no sistema de componentes principais e a contribuição relativa de cada variável original (comprimento de onda) para a formação dos mesmos.

Os valores dos escores nas matrizes T e U são alterados até que o melhor modelo linear seja estabelecido entre eles, ou seja, até que a maior covariância entre X e Y seja alcançada. Isso é feito em diversas etapas, repetidas para cada componente principal estimada por meio de um processo iterativo. No PLS existe um compromisso entre a explicação da variância em X e a obtenção da maior correlação com Y, já que no cálculo de cada componente principal os valores de concentração dos analitos também são levados em consideração. No PLS as componentes principais são chamadas de variáveis latentes (QUINTANILLA *et al.*, 2010).

O número de variáveis latentes a ser utilizado no modelo é normalmente determinado pelo procedimento de validação cruzada. Nesta etapa, o erro médio (RMSECV, Equação 5) é calculado para cada número de variáveis latentes empregado. O número de variáveis latentes a partir do qual não existe variação apreciável no valor de RMSECV é utilizado para determinar o número de variáveis latentes a ser utilizado no modelo (SOUSA *et al.*, 2013).

$$RMSECV = \frac{\sqrt{\sum(Y_p - Y_e)^2}}{n} \quad (5)$$

$Y_p$  = Representa o valor previsto de concentração

$Y_e$  = O valor esperado e  $n$  = o número de amostras de calibração.

O valor de RMSEC (*Root Mean Square Error of Calibration*) é calculado da mesma forma apresentada na equação 5, sendo que neste caso os valores previstos se referem às próprias amostras de calibração e o denominador “n” deve ser subtraído do número de variáveis latentes e de uma unidade, caso os dados tenham sido centrados na média.

Após a seleção do número de variáveis latentes, o modelo de regressão pode ser construído e deve ser validado empregando amostras que não participaram da calibração (validação externa). Estas amostras devem ter seus valores da propriedade de interesse



previamente conhecidos, para avaliar a real capacidade de previsão do modelo. Nesta etapa, um erro quadrático médio de previsão (RMSEP) é calculado, de maneira similar à Equação 5. Os valores previstos para essas amostras devem ser concordantes com os valores reais e, portanto, em um gráfico contendo estas duas grandezas, os valores das amostras devem estar próximos a uma reta com inclinação de 45°, intercepto próximo a zero (*bias*) e inclinação próxima à unidade. O coeficiente de determinação,  $R^2$ , também pode ser utilizado para avaliação do ajuste (SOUSA *et al.*, 2013).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 MATERIAIS E REAGENTES

- Espectrofotômetro Shimadzu, Modelo UV-1800,
- pHmetro (TECNOPON mPA 21)
- Condutivímetro (NI-CVM)
- Balança Analítica (Bioprecisa, FA-2104N)
- Cafeína de farmácia de manipulação (pureza de ~97%)
- Balões Volumétricos de 100mL e 1000mL
- Pipeta e Micropipeta
- Cubeta de Quartzo (1cm x 1cm)

#### 3.2 AMOSTRAS

Todas as soluções foram preparadas seguindo os padrões analítico.

Para preparar a solução estoque e as diluições foi utilizada água deionizada. A água utilizada foi caracterizada, de acordo com os parâmetros de pH, condutividade e temperatura.

Foram registrados espectros de absorção no UV/vis da água em dias diferentes, totalizando 10 amostras de água.

A solução estoque ( $1,94 \times 10^{-2}$  g/L), foi preparada diluindo-se 0,0194g de cafeína em 1000 ml de água deionizada. Diluições adequadas, foram realizadas de modo a se

obter uma faixa de concentrações de  $(1,94 \times 10^{-3} \text{ g/L})$  a  $(1,94 \times 10^{-7} \text{ g/L})$ . Cada uma dessas diluições foi preparada em triplicatas autênticas, totalizando 92 amostras.

### 3.3 REGISTRO DOS ESPECTROS

Os espectros de todas as amostras, foram registrados na faixa espectral de 190 nm a 1100 nm e com intervalo de 0,1 nm.

### 3.4 CONSTRUÇÃO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO

Para a construção dos modelos de calibração multivariada, cumpriu-se as seguintes etapas:

1-Avaliação e pré-tratamento dos espectros: Nesta etapa, os espectros foram visualizados, e a partir das características espectrais, foram selecionados os pré-tratamentos a serem testados.

2-Pré-processamento dos dados: Nesta etapa, diversos pré-tratamentos espectrais são utilizados para amenizar o efeito dos ruídos espectrais, deslocamento da linha de base, espelhamento do sinal e etc.

3-Seleção dos conjuntos de calibração e previsão: Para isso, foi utilizado o algoritmo SPXY (GALVÃO; ARAUJO; JOSE, 2005), para selecionar as amostras que compuseram os conjuntos de calibração e previsão.

4-Construção e validação do modelo de calibração: O modelo de calibração foi construído, utilizando a regressão em mínimos quadrados parciais (PLS). A validação do modelo construído foi feita por validação cruzada completa (*full cross validation*).

5- Uso do modelo validado para a previsão de amostras externas (conjunto de previsão): Nesta etapa o modelo validado será utilizado para prever a concentração de cafeína em amostras que não foram utilizadas na etapa de calibração.

### 3.5 SOFTWARE

O Unscrambler® foi o software utilizado, para as análises multivariada dos dados como PCA e PLS.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA PURA E DAS SOLUÇÕES CONTENDO

#### CAFEÍNA

Tanto a água pura, quanto algumas soluções contendo cafeína foram caracterizadas quanto ao pH, condutividade e temperatura, os resultados são apresentados na Tabela 1. Pode-se notar que as propriedades não se alteram com a adição da cafeína.

Tabela 1: Parâmetros de caracterização da água pura e soluções contendo cafeína.

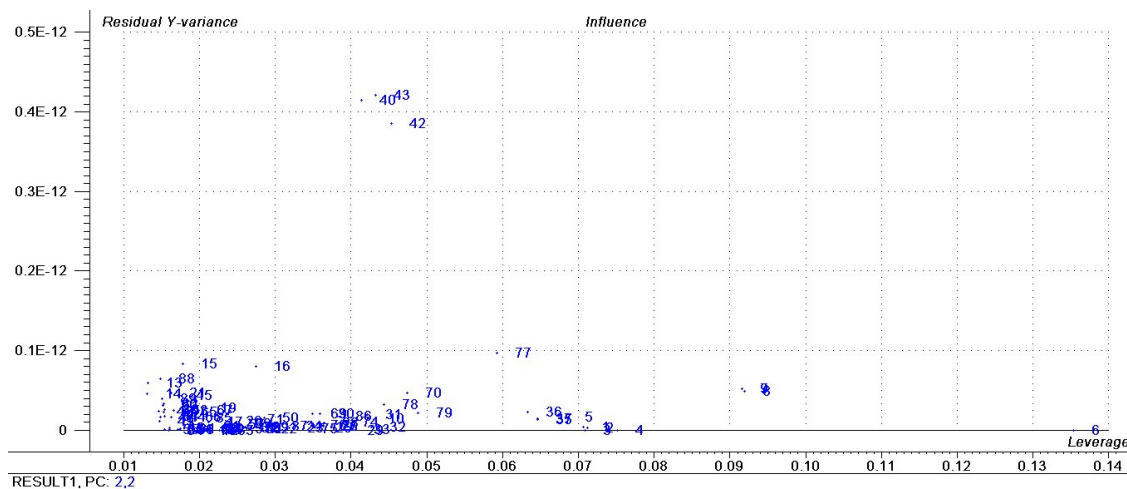
Amostra	pH	Condutividade( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Temperatura( $^{\circ}\text{C}$ )
Água deionizada	5.80	2.2	28.9
Solução de Cafeína $10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	5.79	2.2	28.9
Solução de Cafeína $10^{-7} \text{ molL}^{-1}$	5.80	2.2	28.8
Solução de Cafeína $10^{-9} \text{ molL}^{-1}$	5.81	2.2	28.9

Fonte: Própria

### 4.2 ESTUDO DE AMOSTRAS ANÔMALAS

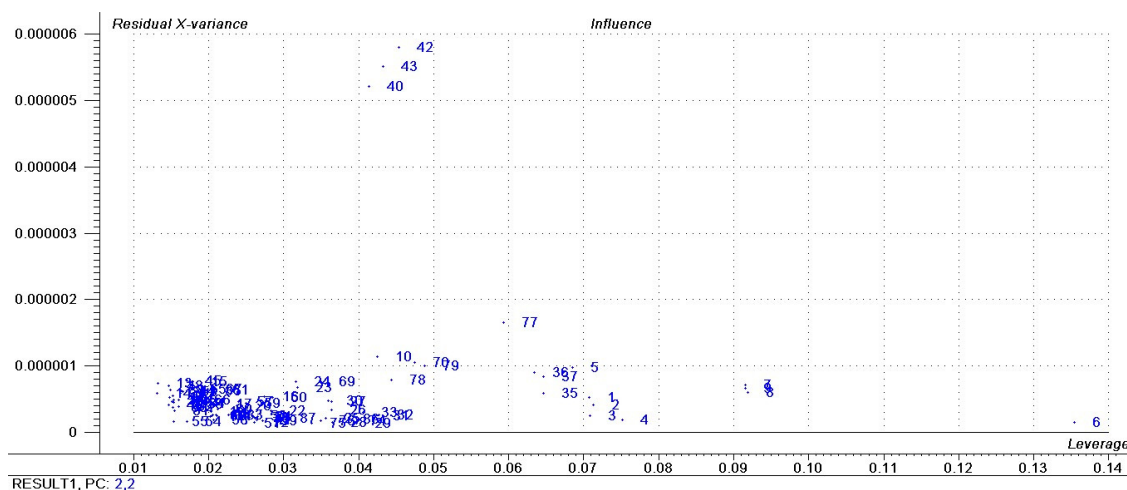
Antes de dar início ao tratamento e modelagem de dados foi realizado um estudo para verificar se havia entre as amostras alguma com comportamento anômalo, ou seja alto resíduo espectral, erro na determinação das concentrações, etc. Para isso criou-se um modelo prévio, com todas as amostras (eixo y) versus todos os comprimentos de onda (eixo X). Examinou-se o gráfico dos resíduos (em X ou y) versus a influência (Figura 6 e 7). Apesar das amostras 40, 42 e 43 apresentarem um resíduo superior as demais, as mesmas não são consideradas anômalas pois possuem baixa influência no modelo.

Figura 6: Gráfico de resíduo em y versus influencia.



Fonte: Própria

Figura 7: Gráfico de resíduo em X versus influencia.



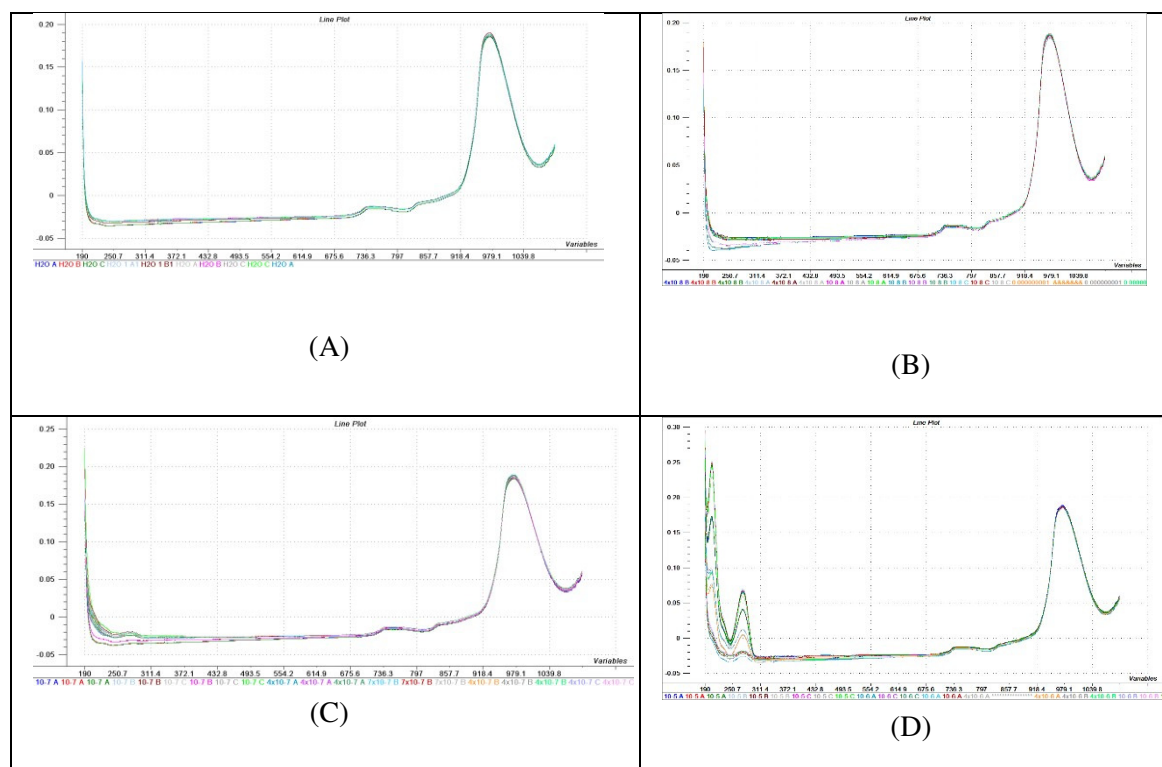
Fonte: Própria

#### 4.3 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

A Figura 8, mostra o espectro da água pura (A), com cafeína na concentração mais baixa  $1,94 \times 10^{-6}$  g/L a  $1,94 \times 10^{-7}$  g/L (B), concentração intermediária  $1,94 \times 10^{-5}$  (C) e na concentração mais alta,  $1,94 \times 10^{-3}$  a  $1,94 \times 10^{-4}$  (D). Pode-se observar que o pico característica da cafeína em  $\sim 273$  nm (MARIA; MOREIRA, 2007), está presente de forma bastante intensa e definida apenas na Figura 8(D) que representa a concentração mais alta de cafeína. Na Figura 8(B) não é possível observar o pico da cafeína pois a

mesma está em concentração muito baixa, assemelhando-se ao espectro da água pura Figura 8 (A).

Figura 8: Espectro de absorção molecular no UV/vis para a água pura (A) e para a água com cafeína em diferentes concentrações (B, C e D).

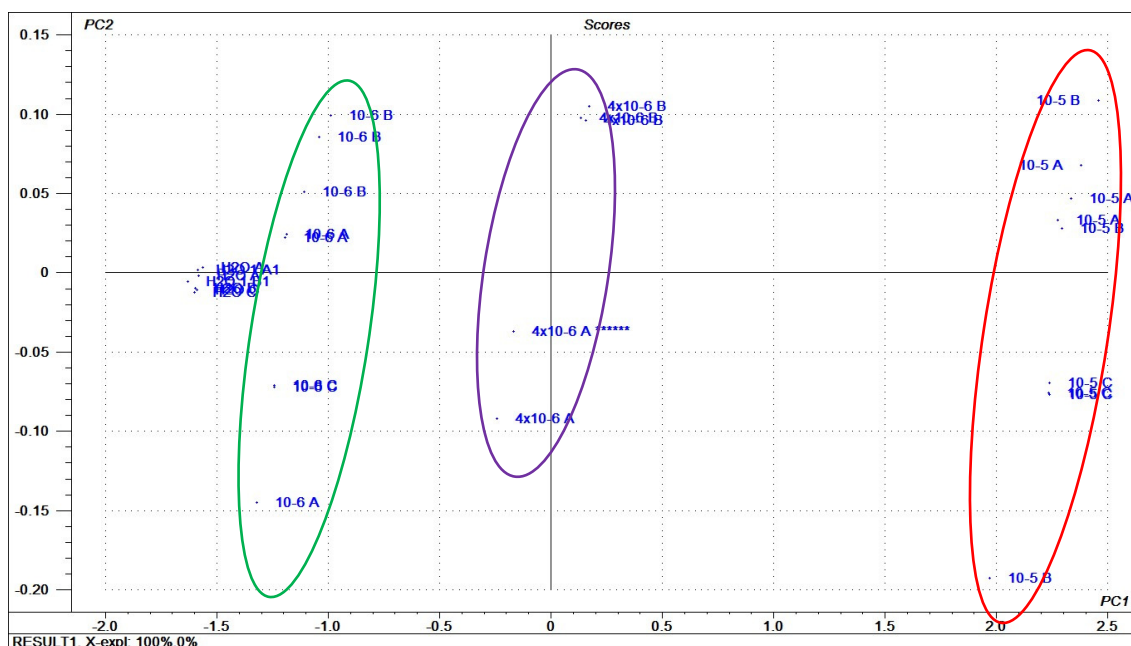


Fonte: Própria

A Figura 9 mostra a PCA do conjunto de dados contendo amostras de água pura e a cafeína em solução aquosa nas concentrações mais altas. Como pode ser observado há uma distinção entre o agrupamento das amostras de água pura e o agrupamento de amostras contendo cafeína em baixa concentração. Já a Figura 10 mostra a PCA para o conjunto de dados contendo amostras de água pura e de cafeína em solução aquosa nas concentrações mais baixas. Neste caso pode-se também notar uma distinção entre o agrupamento das amostras de água e aquelas contendo cafeína, mesmo que em concentrações bastante baixas. O que mostra que a PCA é capaz de distinguir amostras que não contem cafeína (água pura) e amostras contendo baixas concentrações de cafeína com base apenas nos espectros UV/vis.

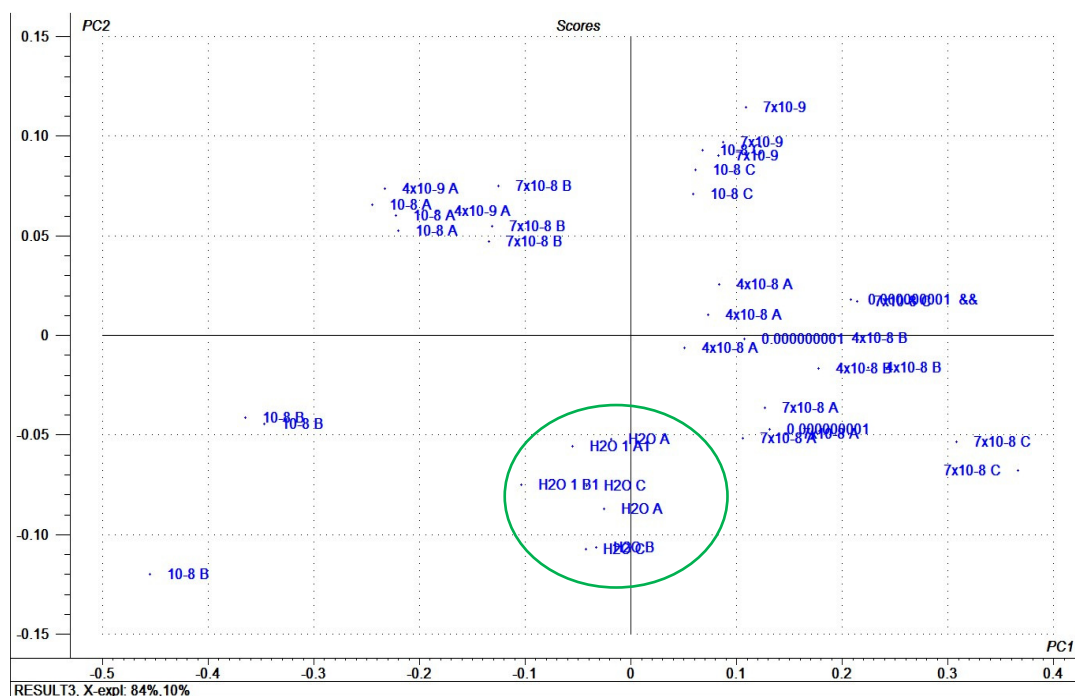
Figura 9: Gráfico dos escores de PC1 vs PC2 para as amostras de água e cafeína em

meio aquoso (Faixa de concentração de  $10^{-6}$  a  $10^{-5}$  molL $^{-1}$ ).



Fonte: Própria

Figura 10: Gráfico dos escores de PC1 vs PC2 para as amostras de água e café em meio aquoso (Faixa de concentração de  $10^{-8}$  a  $10^{-9}$  molL $^{-1}$ ).



Fonte: Própria

#### 4.4 CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

Toda medida instrumental é composta por uma porção de sinal e uma porção de ruído que pode prejudicar a modelagem dos dados. Deste modo a fim de minimizar a porção ruidosa dos espectros, os mesmos foram submetidos a alguns pré-tratamentos espectrais como: suavização, derivação, correção multiplicativa do sinal (MSC) entre outros.

Além disso foram construídos modelos para avaliar a importância de 3 regiões espectrais distintas. Deste modo o espectro das amostras analisadas foi dividido em 4 regiões (Figura 11), descritas abaixo:

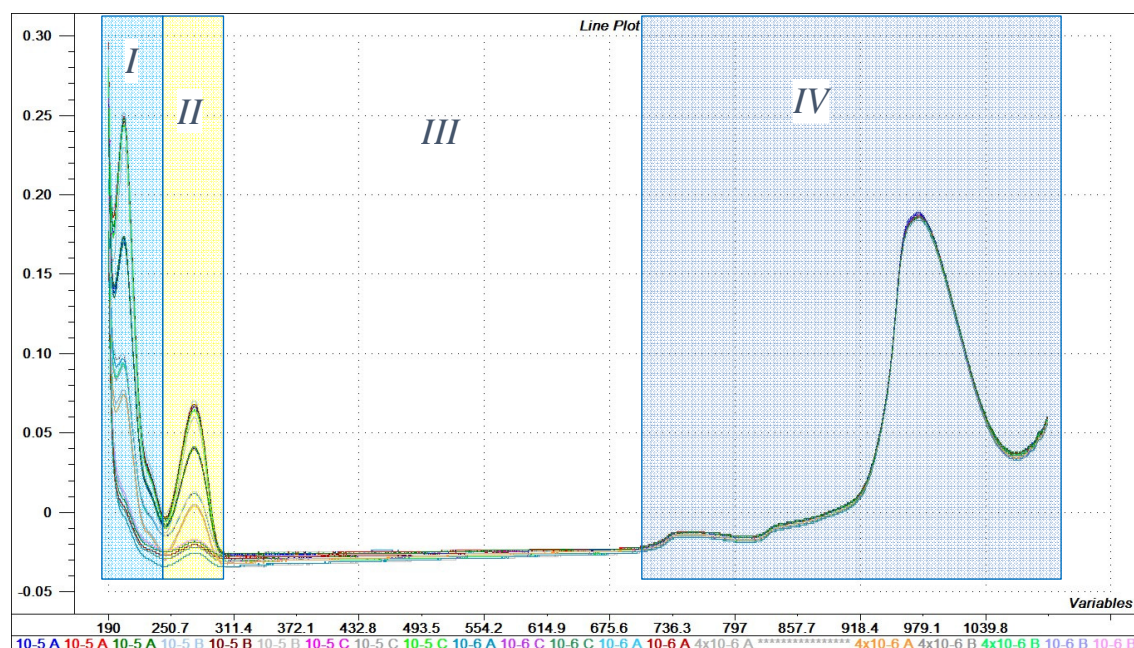
Região I: 190 a 245,8nm, que se refere ao produto de degradação da cafeína (TASSINARY; BIANCHETTI; REMPEL, 2011)

Região II: 245,8 a 299,8nm, que se refere a banda de absorção característica da cafeína (MARIA; MOREIRA, 2007)

Região III: 299,9 a 699,9nm, Região espectral sem informação espectral

Região IV: 700 a 1100nm, banda de absorção característica da água (SAKUDO; BABA; IKUTA, 2012)

Figura 11: Regiões espectrais avaliadas para construção dos modelos.



Fonte: Própria

A região III foi excluída de todas as modelagens pois apresentava uma baixa relação sinal ruído, não trazendo informação espectral importante.

Os modelos construídos foram comparados em relação a parâmetros como a raiz quadrada dos erros de calibração, validação cruzada e predição (RMSEC, RMSECV e RMSEP, respectivamente) e alguns dos melhores resultados são mostrados nas Tabelas 2, 3 e 4.

A Tabela 2, mostra RMSEC, RMSECV, RMSEP e  $r^2$  dos modelos construídos utilizando as regiões I, II e IV simultaneamente e alguns dos pré-processamentos avaliados. O pré-tratamento que apresentou melhor performance foi o MSC. O modelo construído utilizando os dados pré-tratados com MSC mostraram uma boa concordância entre os valores de RMSEC e RMSECV. Os modelos de calibração foram construídos utilizando apenas 2 variáveis latentes. Além disso, mostram um baixo erro na etapa de previsão (RMSEP) e um valor de correlação próximo a unidade (0,9999).

Como a região IV se refere a banda absorção da água e tem-se como objetivo quantificar-se cafeína, testou-se construir um modelo excluindo esta região. A Tabela 3, mostra RMSEC, RMSECV, RMSEP e  $r^2$  dos modelos construídos utilizando apenas as regiões I e II e alguns dos pré-processamentos avaliados. O pré-tratamento que apresentou melhor performance foi a suavização utilizando polinômio Savitzky-Golay, com janela de 7 pontos e polinômios de 1ª e 2ª ordem. Os modelos construídos utilizando os referidos dados pré-tratados mostraram uma boa concordância entre os valores de RMSEC e RMSECV. Os modelos de calibração foram construídos utilizando apenas 2 variáveis latentes. Além disso, mostram um baixo erro na etapa de previsão (RMSEP) e um valor de correlação próximo a unidade (0,9999).

Também foi estudada a performance de modelos construídos utilizando apenas a banda da cafeína (região II). A tabela 4, mostra RMSEC, RMSECV, RMSEP e  $r^2$  dos modelos construídos utilizando apenas as regiões I e II e alguns dos pré-processamentos avaliados. O pré-tratamento que apresentou melhor performance foi a suavização utilizando polinômio Savitzky-Golay, com janela de 7 pontos e polinômios de 1ª e 2ª ordem. Os modelos construídos utilizando os referidos dados pré-tratados mostraram uma boa concordância entre os valores de RMSEC e RMSECV. Os modelos de calibração foram construídos utilizando apenas 2 variáveis latentes. Além disso, mostram um baixo erro na etapa de previsão (RMSEP) e um valor de correlação próximo a unidade (0,9999).



Tabela 2: Parâmetros de avaliação dos modelos construídos utilizando as regiões I, II e IV, simultaneamente e diferentes pré-tratamentos espectrais.

Faixa de Trabalho	(nm)	Pré-Tratamento	VL	RMSEC	r <sup>2</sup>	RMSECV	r <sup>2</sup>	RMSEP	r <sup>2</sup>
I+II+IV		Nenhum	2	1.068x10 <sup>-7</sup>	0.9991	1.253 x10 <sup>-7</sup>	0.9988	1.466 x10 <sup>-7</sup>	0.9978
I+II+IV		MSC	2	7.666 x10 <sup>-8</sup>	0.9996	8.212 x10 <sup>-8</sup>	0.9995	6.615 x10 <sup>-8</sup>	0.9996
I+II+IV		Derivada 1 <sup>o</sup> ordem	2	1.256 x10 <sup>-7</sup>	0.9988	1.960 x10 <sup>-7</sup>	0.9974	1.376 x10 <sup>-7</sup>	0.9887
I+II+IV		Suavização, janela de 7 pontos e polinômio 1 <sup>o</sup> Ordem	2	1.099 x10 <sup>-7</sup>	0.9990	1.265 x10 <sup>-7</sup>	0.9986	1.509 x10 <sup>-7</sup>	0.9977
I+II+IV		Suavização, janela de 7 pontos e polinômio 2 <sup>o</sup> Ordem	2	1.098 x10 <sup>-7</sup>	0.9990	1.251 x10 <sup>-7</sup>	0.9988	1.509 x10 <sup>-7</sup>	0.9977
I+II+IV		SNV	2	1.595 x10 <sup>-7</sup>	0.9980	1.738 x10 <sup>-7</sup>	0.9975	1.199 x10 <sup>-7</sup>	0.9985

Fonte: Própria

Tabela 3: Parâmetros de avaliação dos modelos construídos utilizando as regiões I e II, simultaneamente e diferentes pré-tratamentos espectrais.

Faixa de Trabalho								
(nm)	Pré-tratamento	VL	RMSEC	r <sup>2</sup>	RMSECV	r <sup>2</sup>	RMSEP	r <sup>2</sup>
I + II	Nenhum	2	5.108 x10 <sup>-8</sup>	0.9999	5.476 x10 <sup>-8</sup>	0.9998	2.945 x10 <sup>-8</sup>	0.9999
I + II	MSC	2	9.030 x10 <sup>-8</sup>	0.9994	9.896 x10 <sup>-8</sup>	0.9993	8.092 x10 <sup>-8</sup>	0.9993
I + II	Derivada 1° Ordem	2	1.120 x10 <sup>-7</sup>	0.9991	1.245 x10 <sup>-7</sup>	0.9990	1.222 x10 <sup>-7</sup>	0.7644
I + II	Suavização, janela de 7 pontos e polinômio 1° Ordem	2	4.876 x10 <sup>-8</sup>	0.9998	5.502 x10 <sup>-8</sup>	0.9998	2.877 x10 <sup>-8</sup>	0.9999
I + II	Suavização, janela de 7 pontos e polinômio 2° Ordem	2	4.871 x10 <sup>-8</sup>	0.9998	5.392 x10 <sup>-8</sup>	0.9998	2.878 x10 <sup>-8</sup>	0.9999
I + II	SNV	2	1.743x10 <sup>-7</sup>	0.9976	1.935 x10 <sup>-7</sup>	0.9970	1.686 x10 <sup>-7</sup>	0.9971

Fonte: Própria

Tabela 4: Parâmetros de avaliação dos modelos construídos utilizando as regiões I em diferentes pré-tratamentos espectrais.

Faixa de Trabalho(nm)	Pré-tratamento	VL	RMSEC	r <sup>2</sup>	RMSECV	r <sup>2</sup>	RMSEP	r <sup>2</sup>
II Nenhum	2		3.740 x10 <sup>-8</sup>	0.9999	3.939 x10 <sup>-8</sup>	0.9999	3.653 x10 <sup>-8</sup>	0.9999
II MSC	2		3.041 x10 <sup>-7</sup>	0.9924	3.110 x10 <sup>-7</sup>	0.9923	2.72 x10 <sup>-7</sup>	0.9929
II Derivada 1° Ordem	2		1.021 x10 <sup>-7</sup>	0.9992	2.014 x10 <sup>-7</sup>	0.9969	7.039 x10 <sup>-8</sup>	0.9120
	Suavização, janela de	7						
II pontos e polinômio	1° Ordem	2	3.654x10 <sup>-8</sup>	0.9999	3.896 x10 <sup>-8</sup>	0.9999	3.885 x10 <sup>-8</sup>	0.9999
	Suavização, janela de	7						
II pontos e polinômio	2° Ordem	2	3.688 x10 <sup>-8</sup>	0.9999	3.892 x10 <sup>-8</sup>	0.9999	3.822 x10 <sup>-8</sup>	0.9999
II SNV	2		3.314 x10 <sup>-7</sup>	0.9911	3.444 x10 <sup>-7</sup>	0.9907	3.043 x10 <sup>-7</sup>	0.9911

Fonte: Própria

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4, pode-se notar que de forma geral os modelos construídos apresentam resultados satisfatórios, ou seja, baixos erros; concordância entre os valores de RMSEC, RMSECV e RMSEP; correlação próxima a unidade. No entanto a capacidade preditiva dos modelos para a faixa de concentrações mais baixas ( $1,94 \times 10^{-4}$  a  $1,94 \times 10^{-6}$  g/L) poderia ser melhorada com uso de técnicas cromatográficas para a determinação da matriz de concentrações. Pois, como neste trabalho utilizou-se os valores de diluições para compor a matriz de concentrações (y), a mesma está exposta a muitas fontes de erros que podem afetar a capacidade preditiva dos modelos construídos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A metodologia desenvolvida apresentou resultados satisfatórios para a identificação e quantificação de cafeína em águas. A partir da análise em componentes principais foi possível fazer a distinção entre a água pura e as soluções contendo diferentes concentrações de cafeína. De acordo com os valores de RMSEC e RMSEP as três faixas de trabalho testadas apresentaram resultados satisfatórios. No entanto a faixa de trabalho de ~190 a ~300 nm (que compreende a banda da cafeína e seu produto de degradação), apresentou um valor de RMSEP menor que os apresentados pelos modelos construídos utilizando as outras duas faixas. O modelo construído utilizando apenas a banda da água apresentou o maior erro de previsão. Em relação aos pré-processamento utilizados os que apresentaram melhor performance foi o MSC e a suavização utilizando o polinômio Savitzky-Golay e janela de 7 pontos. Os resultados obtidos para os modelos de quantificação desenvolvido foram bastante satisfatórios para concentrações de  $1,94 \times 10^{-3}$  a  $7,77 \times 10^{-5}$  g/L. No entanto, para concentrações inferiores a  $7,77 \times 10^{-5}$  g/L a capacidade preditiva poderia ser melhorada utilizando técnicas cromatográficas para a determinação das concentrações, já que neste trabalho, a matriz de concentrações (y) foi determinada pelos valores das diluições que estão sujeitas a diversas fontes de erro, o que pode afetar o desempenho dos modelos construídos.

## REFERÊNCIAS

Agencia Nacional das águas (ANA), 2010

ALTIMARI, Leandro Ricardo *et al.* Cafeína: ergogênico nutricional no esporte. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Londrina, v. 9, n. 3, p.57-64, jul. 2001.

BEEBE, Kenneth R; PELL, Randy J.; SEASHOLTZ, Mary Beth. **Chemometric: A Pratical Guide**. Canada: A Wiley-interscience Publication, 1998. 347 p.

CAS:58-08-2, Paris, mar. 2002

CIENFUEGOS, Freddy; VAITSMAN, Delmo. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

GALVÃO, R.K.H; ARAUJO, M.C.U; JOSE, G.E, *et al.*; A method for calibration and validation subset partitioning, *Talanta*, 67:736, 2005.

GENTHE, B. *et al.* Health risk implications from simultaneous exposure to multiple environmental contaminants. **Ecotoxicology And Environmental Safety**. Pretoria, p. 171-179. 14 mar. 2013.

GOWEN, A. A. *et al.* Vibrational Spectroscopy for Analysis of Water for Human Use and in Aquatic Ecosystems: Vibrational Spectroscopy for Water Quality Analysis. **Critical Reviews In Environmental Science And Technology**, London, v. 42, n. 23, p.2546-2573, 12 nov. 2012. Disponível em: <[http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389.2011.592758#.U1M\\_rfldVps](http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389.2011.592758#.U1M_rfldVps)>. Acesso em: 14 ago. 2013.

HIGA, Felipe Massahiro. **Contaminante emergente é grave ameaça presente na água tratada: Estudo aponta componentes ignorados por empresas de saneamento**. 2013. Disponível em: <<http://www.usp.br/aun/exibir.php?id=5169>>. Acesso em: 02 jul. 2014.

INÁCIO, Maria Raquel Cavalcanti *et al.* Total anthocyanin content determination in intact açai (Euterpe oleracea Mart.) and palmitero-juçara (Euterpe edulis Mart.) fruit using near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate calibration. **Food Chemistry**, Natal, v. 136, n. 4, p.1160-1164, fev. 2013.

MARIA, Carlos A. B. de; MOREIRA, Ricardo F. A.. CAFEÍNA: REVISÃO SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISE. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 30, p.99-105, fev. 2007.

PBagora. **Água da Cagepa tem cafeína e agrotóxicos**. 2012. Disponível em: <<http://www.pbagora.com.br/conteudo.php?id=20120626085215&cat=paraiba&keys=agua-cagepa-temcafeina-agrotoxicos>>. Acesso em: 02 jul. 2014.

PEREIRA, Renata Oliveira *et al.* Removal of estrogens through water disinfection processes and formation of by-products. **Chemosphere**, São Paulo, v. 82, n. 6, p.789-799, fev. 2011.

QUINTANILLA, Victor Yangali *et al.* A QSAR model for predicting rejection of emerging contaminants (pharmaceuticals, endocrine disruptors) by nanofiltration membranes. **Water Research: Emerging Contaminants in water: Occurrence, fate, removal and assessment in the water cycle (from wastewater to drinking water)**. Delft, p. 373-384. jan. 2010.

RAIMUNDO, Cassiana Carolina Montagner. **CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUA TRATADA E SEUS MANANCIAS:SAZONALIDADE, REMOÇÃO E ATIVIDADE ESTROGÊNICA**. 2011. 203 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Departamento de Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011. Cap. 1.

REMIÃO, Fernando. **Cafeína**. 2005. Disponível em:

<<http://cafeina.com.sapo.pt/cafeina/Frames.htm>>. Acesso em: 02 jul. 2014.

REYES-CONTRERAS, Carolina; DOMÍNGUEZ, Carmen; BAYONA, Josep M.. Determination of nitrosamines and caffeine metabolites in wastewaters using gas chromatography mass spectrometry and ionic liquid stationary phases. **Journal Of Chromatography A**. Barcelona, p. 164-170. 30 maio 2012.

ROSA, Guilherme. **Água de 15 capitais tem sinal de contaminação, diz estudo**: Pesquisadores analisam a água de cidades nas cinco regiões do país e encontram um poderoso indicador dos chamados poluentes emergentes. 2012. Disponível em: <<http://veja.abril.com.br/noticia/saude/ameaca-invisivel>>. Acesso em: 02 jul. 2014.

SAKUDO, Akikazu; BABA, Koichi; IKUTA, Kazuyoshi. Analysis of Vis-NIR spectra changes to measure the inflammatory response in the nasal mucosal region of influenza A and B virus-infected patients. **Journal Of Clinical Virology**. Osaka, p. 334-338. dez. 2012

SILVA, Carla Patrícia; OTERO, Marta; ESTEVES, Valdemar. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: A review. **Environmental Pollution**, Aveiro, v. 165, p.38-58, jun. 2012.

SOUZA, André Marcelo de; POPPI, Ronei Jesus. 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**, Campinas, v. 35, p.223-229, fev. 2012.

SOUSA, André Marcelo *et al.* EXPERIMENTO DIDÁTICO DE QUIMIOMETRIA PARA CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA NA DETERMINAÇÃO DE PARACETAMOL EM COMPRIMIDOS COMERCIAIS UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO: UM TUTORIAL, PARTE II. **Química Nova**, Campinas, v. 36, p.1057-1065, abr. 2013.

Tsenkova, R., (2009) **Introduction Aquaphotomics: dynamic spectroscopy of aqueous and biological systems describes peculiarities of water**, J. Near Infrared Spectroscopy 17 p. 303-313.

VON SPERLING, Marcos. Noções de qualidade das águas. In: VON SPERLING, Marcos. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2. ed. Belo Horizonte: Segrac, 1996. Cap. 1. p. 11-19.

Wold, S.; Esbensen, K.; Geladi, P.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **1987**, 2, 37.

ZHANG, Jing. The impact of water quality on health: Evidence from the drinking water infrastructure program in rural China. **Journal Of Health Economics**. Beijing, p. 122-134. jan. 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167629611001172>>. Acesso em: 05 jun. 2014.