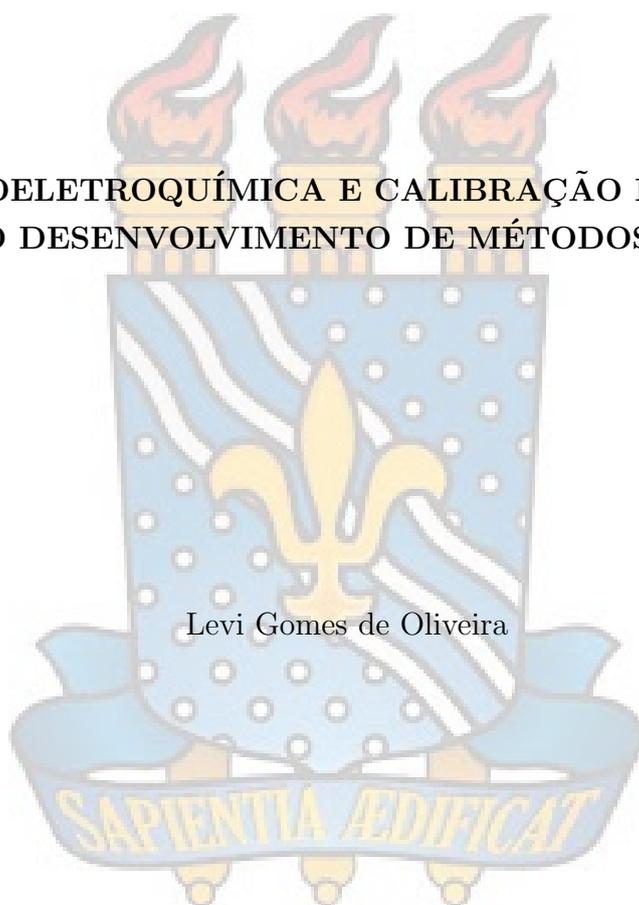




UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ESPECTROELETROQUÍMICA E CALIBRAÇÃO DE SEGUNDA  
ORDEM NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS



Levi Gomes de Oliveira

João Pessoa - PB

Março de 2022



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

ESPECTROELETROQUÍMICA E CALIBRAÇÃO DE SEGUNDA  
ORDEM NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Levi Gomes de Oliveira

Tese apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Química da  
Universidade Federal da Paraíba  
como requisito para a obtenção do  
título de doutor.

**Orientador:** Dr. Wallace Duarte Fragoso

**Co-Orientador:** Dr. Sherlan Guimarães Lemos

João Pessoa - PB

Março de 2022

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

O48e Oliveira, Levi Gomes de.  
Espectroeletróquímica e calibração de segunda ordem  
no desenvolvimento de métodos analíticos / Levi Gomes  
de Oliveira. - João Pessoa, 2022.  
121 f. : il.

Orientação: Wallace Duarte Fragoso.  
Coorientação: Sherlan Guimarães Lemos.  
Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN.

1. Espectroeletróquímica. 2. PARAFAC. 3. U-PLS/RBL.  
4. Degenerescência. I. Fragoso, Wallace Duarte. II.  
Lemos, Sherlan Guimarães. III. Título.

UFPB/BC

CDU 543.4(043)

# Espectroeletróquímica e calibração de segunda ordem no desenvolvimento de métodos analíticos.

Tese de Doutorado apresentada pelo aluno Levi Gomes de Oliveira e aprovada pela banca examinadora em 28 de março de 2022.

Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso  
UFPB – JPA-PB  
Orientador/Presidente

Prof. Dr. Sherlan Guimarães Lemos  
UFPB – JPA-PB  
2º. Orientador

Prof. Dr. José Gonzales-Rodriguez  
University of Lincoln - UK  
Examinador

Prof. Dr. Alejandro C Olivieri  
CNICT - Argentina  
Examinador

Prof. Dr. Marcelo Martins de Sena  
UFMG – Belo Horizonte-MG  
Examinador

Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva  
UFPB – JPA-PB  
Examinador

Assinaturas da Banca realizadas em modo Webconferência em 28/03/2022, digitalizadas e certificadas pela Prof. Dr. Wallace Duarte Fragoso (SIAPE 1352049 em 28/03/2022).

*Emitido em 07/04/2022*

**ATA Nº 01/2022 - PPGQ (11.01.14.55)**  
**(Nº do Documento: 1)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

*(Assinado digitalmente em 07/04/2022 14:15 )*  
EDVAN CIRINO DA SILVA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
1228750

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufpb.br/documentos/> informando seu número: **1**,  
ano: **2022**, documento (espécie): **ATA**, data de emissão: **07/04/2022** e o código de verificação: **169fce94e6**

## **Dedicatória**

Aos meus pais Altanir  
Rocha e Leone Gomes e a  
minha irmã Lívia Gomes.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde, disposição e sabedoria concedidas para que eu pudesse enfrentar os desafios.

A meus Pais, Altanir e Leone. E minha irmã, Lívia.

Aos meus orientadores Wallace Fragoso e Sherlan Lemos, pelos ensinamentos, orientação e amizade.

A minha namorada, Patrícia, pelo suporte e paciência.

A Josilene e Nagel pela amizade e encorajamento.

Aos muitos amigos que encontrei ao longo dessa jornada, em especial aos colegas do LEQA/GEAQA, pelo suporte, amizade e os 'cafés' que muito ajudaram na realização do projeto.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram nessa caminhada.

As bancas de Seminário Geral, Qualificação e Defesa de Tese pelas contribuições significativas.

Ao PPGQ-UFPB e ao CNPq pela bolsa concedida.

---

## Sumário

---

<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>18</b>
1.1	Objetivos . . . . .	19
1.1.1	Objetivos gerais . . . . .	19
1.1.2	Objetivos específicos . . . . .	19
<b>2</b>	<b>Fundamentação Teórica</b>	<b>21</b>
2.1	Surgimento da Espectroeletróquímica . . . . .	21
2.2	Alguns arranjos experimentais para espectroeletróquímica . . . . .	23
2.3	Calibração e ordem superior . . . . .	26
2.4	Métodos de calibração de segunda ordem . . . . .	29
2.4.1	Histórico do uso de dados multivas . . . . .	29
2.4.2	Análise de Fatores Paralelos - PARAFAC . . . . .	30
2.4.3	Resolução Multivariada de Curvas - MCR . . . . .	35
2.4.4	Mínimos Quadrados Parciais Desdobrados com Bilinearização Residual - U-PLS/RBL . . . . .	35
2.5	Voltabsortometria derivativa linear e voltabsortometria derivativa cíclica	37
2.6	Aplicações qualitativas da espectroeletróquímica e ordem superior . . .	38
2.7	Aplicações quantitativas da espectroeletróquímica e ordem superior . .	41
<b>3</b>	<b>Materiais e métodos</b>	<b>47</b>
3.1	Instrumentação . . . . .	47
3.2	Reagentes e soluções . . . . .	51
3.3	Metodologia . . . . .	51
3.3.1	Espectroeletróquímica do ferrocianeto de potássio . . . . .	51
3.3.2	Espectroeletróquímica dos isômeros do benzenodiol . . . . .	52

3.3.3	Espectroeletróquímica da o-tolidina . . . . .	53
3.3.4	Espectroeletróquímica da dopamina e epinefrina . . . . .	54
3.4	Softwares utilizados . . . . .	54
3.5	Geração de dados simulados . . . . .	55
<b>4</b>	<b>Resultados e Discussão</b>	<b>57</b>
4.1	Espectroeletróquímica do ferrocianeto de potássio . . . . .	57
4.2	Espectroeletróquímica do ferrocianeto de potássio utilizando dados derivados . . . . .	60
4.3	Espectroeletróquímica dos isômeros do benzenodiol . . . . .	62
4.3.1	Algumas considerações sobre o sinal espectroeletróquímico e trilinearidade . . . . .	69
4.4	Espectroeletróquímica dos isômeros do benzenodiol utilizando dados derivados . . . . .	73
4.5	Conjuntos de dados simulados e degenerescência de soluções . . . . .	75
4.5.1	Conjunto de dados n <sup>o</sup> 1 . . . . .	76
4.5.2	Conjunto de dados n <sup>o</sup> 2 . . . . .	79
4.5.3	Conjunto de dados n <sup>o</sup> 3 . . . . .	82
4.5.4	Conjunto de dados n <sup>o</sup> 4 . . . . .	84
4.5.5	Conjunto de dados n <sup>o</sup> 5 . . . . .	87
4.5.6	Degenerescência de soluções em dados experimentais . . . . .	90
4.6	Espectroeletróquímica da o-tolidina por espectroscopia de reflectância sobre eletrodo impresso de carbono . . . . .	92
4.7	Espectroeletróquímica da dopamina e da epinefrina por espectroscopia de reflectância sobre eletrodo impresso de carbono . . . . .	95
<b>5</b>	<b>Conclusões</b>	<b>99</b>
	<b>Apêndice A Diferenciação numérica com Polinômios de Lagrange</b>	<b>101</b>
	<b>Apêndice B Alguns conceitos algébricos</b>	<b>103</b>
B.1	Posto de Kruskal . . . . .	103
B.2	Posto de tensores de ordem superior . . . . .	104
B.3	Deficiência de posto . . . . .	104
	<b>Apêndice C Funções utilizadas na geração dos conjuntos de dados simulados</b>	<b>106</b>
C.1	Função sigmoide . . . . .	106
C.2	Função gaussiana . . . . .	107

<b>Apêndice D Códigos Matlab</b>	<b>108</b>
D.1 Script createData . . . . .	108
D.2 Função Gaussiana . . . . .	110
D.3 Função gerarSigmoide . . . . .	111
<b>Referências</b>	<b>112</b>

---

## Lista de Figuras

---

2.1	(a) Esquema de célula espectroeletróquímica composta por uma cubeta de quartzo de caminho óptico reduzido na qual é possível acoplar um eletrodo de grade, (b) imagem de uma célula espectroeletróquímica comercial . . . . .	23
2.2	Célula espectroeletróquímica para medidas de transmitância com eletrodos impressos transparentes . . . . .	24
2.3	(a) Célula espectroeletróquímica para medidas de reflectância com eletrodos impressos opacos e (b) célula espectroeletróquímica para medidas empregando espectroscopia Raman . . . . .	24
2.4	(a) Eletrodos de grade de ouro e platina, (b) eletrodo opticamente transparente, o qual consiste em uma camada de ITO depositada sobre um substrato de quartzo e (c) eletrodo impresso comercial . . . . .	25
2.5	(a) Equipamento comercial para medidas espectroeletróquímicas empregando espectroscopia de reflectância na região do UV-Vis, (b) porta cubetas para medidas envolvendo espectroscopia de absorção ou fluorescência	26
2.6	Sinal analítico para um padrão de ferrocianeto de potássio $0,6 \text{ mmolL}^{-1}$	27
2.7	Agrupamento de matrizes e tensor de dados . . . . .	28
2.8	Espectros deconvoluídos (a esquerda) e perfis de concentração (a direita) das espécies envolvidas na oxidação do 2,5-dialquil(para-fenileno-etinileno)	38
2.9	Ilustração de célula espectroeletróquímica utilizada por Pfaffeneder-Kmen e colaboradores . . . . .	39
2.10	Perfis (a) eletroquímicos e (b) espectrais deconvoluídos através do MCR-ALS reportados por Pfaffeneder-Kmen e colaboradores . . . . .	40
2.11	(a) Spelec Raman DropSens e (b) Curva de calibração para o ácido cítrico reportada por Perales-Rondon e colaboradores . . . . .	40

2.12	Sinal espectroeletroquímico para uma mistura de o-tolidina $3,2 \times 10^{-5} molL^{-1}$ e ferrocianeto de potássio $3,0 \times 10^{-3} molL^{-1}$ reportado por Herrero e colaboradores . . . . .	42
2.13	Perfis (a) eletroquímicos e (b) espectrais deconvoluídos para o sistema dopamina e catecol . . . . .	43
2.14	Sinal espectroeletroquímico de uma amostra de acetaminofen . . . . .	43
2.15	Deconvolução de um conjunto de dados utilizado na determinação de acetaminofen em amostras de Novafen . . . . .	44
2.16	(a) Esquema de eletrodo impresso de nanotubos de carbono reportado por Garoz-Ruiz e colaboradores, (b) Arranjo experimental reportado por Garoz-Ruiz e colaboradores . . . . .	45
3.1	(a) Eletrodo de grade de platina e (b) eletrodo de referência de Ag/AgCl	48
3.2	(a) Eletrodo impresso Metrohm DRP110 (b) eletrodo impresso sobre a cela de teflon . . . . .	48
3.3	(a) Esquema do arranjo experimental empregado nos estudos sobre a espectroeletroquímica do ferrocianeto de potássio e dos isômeros do benzenodiol (b) fotografia do arranjo experimental . . . . .	49
3.4	(a) Esquema do arranjo experimental empregado nos estudos sobre a espectroeletroquímica da o-tolidina, dopamina e epinefrina (b) fotografia do arranjo experimental . . . . .	50
3.5	Fluxograma do processo de geração dos conjuntos de dados simulados .	55
4.1	Sinal analítico obtido para uma solução de $K_4[Fe(CN)_6]$ $0,6 mmolL^{-1}$ durante a oxidação do ferrocianeto de potássio a ferricianeto de potássio	58
4.2	(a) Modo B e (b) modo C do PARAFAC, e (c) voltametria de varredura linear a uma velocidade de $5,0 mVs^{-1}$ em KCl $1,0 molL^{-1}$ . . . . .	59
4.3	Curva pseudo-univariada construída para o ferrocianeto de potássio . .	60
4.4	Sinal derivado para uma solução de $K_4[Fe(CN)_6]$ $0,6 mmolL^{-1}$ . . . .	61
4.5	(a) Modo B e (b) modo C obtidos através do PARAFAC para os dados derivados . . . . .	62
4.6	(a) Espectros de absorvância para soluções de HQ, CAT e RES, (b) voltamogramas de pulso diferencial para o sistema e (c) voltabsortogramas normalizados para soluções de HQ em 245 nm, CAT em 275 nm e RES em 272 nm . . . . .	63
4.7	Sinal analítico obtido para uma solução de (a) HQ, (b) CAT, (c) RES e (d) uma mistura equimolar de HQ, CAT, RES . . . . .	63
4.8	(a) Modo B e (b) Modo C obtidos utilizando o PARAFAC . . . . .	64
4.9	Espectros da CAT e o-BQ . . . . .	67

4.10	Espectros da HQ e p-BQ . . . . .	68
4.11	Esquema de um tensor de dados de três vias . . . . .	70
4.12	Modo C para os dados derivados obtido através do PARAFAC . . . . .	75
4.13	Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n <sup>o</sup> 1 . . . . .	76
4.14	Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 1 . . . . .	77
4.15	Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente	77
4.16	Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n <sup>o</sup> 2 . . . . .	80
4.17	Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 2 . . . . .	80
4.18	Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente	81
4.19	Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n <sup>o</sup> 3 . . . . .	82
4.20	Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 3 . . . . .	83
4.21	Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente	83
4.22	Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n <sup>o</sup> 4 . . . . .	85
4.23	Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 4 . . . . .	85
4.24	Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente	86
4.25	Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n <sup>o</sup> 5 . . . . .	88
4.26	Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 5 . . . . .	89
4.27	Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente	89

4.28	Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos para a HQ através do PARAFAC utilizando 2 componentes . . . . .	91
4.29	Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos para o CAT através do PARAFAC utilizando 2 componentes . . . . .	91
4.30	(a) Sinal espectroeletróquímico de um padrão de o-tolidina com concentração de $4,0 \times 10^{-4} molL^{-1}$ e (b) voltamograma de varredura linear para um padrão de o-tolidina $4,0 \times 10^{-4} molL^{-1}$ . . . . .	93
4.31	Perfis (a) espectral e (b) voltabsortométrico obtidos através do PARAFAC	94
4.32	Sinal espectroeletróquímico para um padrão de (a) dopamina $2,00 mmolL^{-1}$ e (b) epinefrina $2,00 mmolL^{-1}$ . Voltamogramas dos padrões de (c) dopamina e (d) epinefrina . . . . .	95
4.33	Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos deconvoluídos para a dopamina (linhas vermelhas) e epinefrina (linhas pretas) . . . . .	96

---

## Lista de Tabelas

---

3.1	Soluções de teste utilizadas na validação dos modelos para os isômeros do benzenodiol. . . . .	53
3.2	Concentrações analíticas de dopamina e epinefrina nas amostras de teste. . . . .	54
4.1	Predições obtidas para os analitos HQ, CAT e RES através do PARAFAC . . . . .	65
4.2	Predições obtidas para os analitos HQ, CAT e RES através do U-PLS/RBL . . . . .	66
4.3	Predições obtidas através do PARAFAC para os analitos HQ, CAT e RES utilizando os dados derivados . . . . .	74
4.4	Predições obtidas através do U-PLS/RBL para os analitos HQ, CAT e RES utilizando os dados derivados . . . . .	75
4.5	Valores de CORCONDIA, $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados nº 1 . . . . .	78
4.6	Valores de CORCONDIA, $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados nº 2 . . . . .	82
4.7	Valores de CORCONDIA, $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados nº 3 . . . . .	84
4.8	Valores de CORCONDIA, $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados nº 4 . . . . .	87
4.9	Valores de CORCONDIA, $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados nº 5 . . . . .	90
4.10	Previsões obtidas através do PARAFAC para as soluções de teste contendo dopamina e epinefrina . . . . .	97

## RESUMO

O presente trabalho tem por objetivos demonstrar a possibilidade de se empregar a espectroeletroquímica na aquisição de dados de segunda ordem e avaliar estratégias de pré-processamento e tratamento aplicadas a esses dados. Dois arranjos experimentais foram empregados na aquisição dos dados. O primeiro combina espectroscopia de absorção molecular e técnicas voltamétricas. O segundo combina espectroscopia de reflectância com voltametria de varredura linear. Ferrocianeto de potássio e o-tolidina foram empregados como sistemas modelos na validação do primeiro e segundo arranjos, respectivamente. Após a verificação dos arranjos foram propostas duas aplicações. A espectroeletroquímica dos isômeros hidroquinona, catecol e resorcinol foi estudada como aplicação do primeiro arranjo experimental. Duas estratégias de calibração foram utilizadas na modelagem dos dados obtidos por meio do primeiro arranjo experimental. Na primeira estratégia, os dados não tratados foram utilizados na calibração. RMSEPs de 0,03, 0,06 e 0,07  $mmolL^{-1}$  foram obtidos através dos modelos PARAFAC para hidroquinona, catecol e resorcinol, respectivamente. Para os modelos U-PLS/RBL foram obtidos RMSEPs de 0,03, 0,05 e 0,10  $mmolL^{-1}$  para hidroquinona, catecol e resorcinol, respectivamente. Na segunda estratégia, dados pré-processados através do cálculo da primeira derivada em relação ao potencial foram utilizados. RMSEPs de 0,05 e 0,06  $mmolL^{-1}$  foram obtidos através dos modelos PARAFAC para hidroquinona e catecol, respectivamente. Já para os modelos U-PLS/RBL foram obtidos RMSEPs de 0,07, 0,07 e 0,04  $mmolL^{-1}$  para hidroquinona, catecol e resorcinol, respectivamente. A espectroeletroquímica da dopamina e da epinefrina foi estudada como aplicação do segundo arranjo experimental. Os dados desse sistema foram modelados empregando o PARAFAC. As previsões com amostras de teste resultaram em RMSEPs de 0,04 e 0,05  $mmolL^{-1}$  para dopamina e epinefrina, respectivamente. Durante os estudos sobre a espectroeletroquímica dos isômeros do benzenodiol verificou-se a ocorrência de degenerescência de soluções na modelagem utilizando PARAFAC. Em um estudo teórico realizado para investigar os efeitos da degenerescência verificou-se que a degenerescência está associada ao fato de que um analito pode estar presente em ao menos duas formas, cuja concentração total é constante. A degenerescência acaba se relacionando a unicidade de soluções e adequada determinação do número de fatores no modelo. O estudo teórico evidenciou alguns possíveis efeitos da degenerescência de soluções sobre os resultados qualitativos e o papel das restrições na modelagem.

**PALAVRAS-CHAVE:** Espectroeletroquímica, PARAFAC, U-PLS/RBL, degenerescência

## ABSTRACT

This work aims to demonstrate the possibility of using spectroelectrochemistry in the acquisition of second-order data, and to evaluate pre-processing and treatment strategies applied to these data. Two experimental setups were used in the acquisition of experimental data. The first experimental setup combines molecular absorption spectroscopy and voltammetric techniques. The second setup combines reflectance spectroscopy with linear scanning voltammetry. Potassium ferrocyanide and *o*-tolidine were used as model systems in the validation of the first and second experimental setups, respectively. After verifying the experimental setups, two applications were proposed. As a first application, the spectroelectrochemistry of the benzenediol isomers hydroquinone, catechol and resorcinol was studied through the first experimental setup. Two calibration strategies were used to model the data obtained through the first experimental setup. In the first strategy, untreated data were used for calibration. RMSEPs of 0.03, 0.06 and 0.07  $mmolL^{-1}$  were obtained through PARAFAC models for hydroquinone, catechol and resorcinol, respectively. For the U-PLS/RBL models, RMSEPs of 0.03, 0.05 and 0.10  $mmolL^{-1}$  were obtained for hydroquinone, catechol and resorcinol, respectively. In the second strategy, data pre-processed by calculating the first derivative in relation to the potential were used. RMSEPs of 0.05 and 0.06  $mmolL^{-1}$  were obtained through PARAFAC models for hydroquinone and catechol, respectively. For the U-PLS/RBL models, RMSEPs of 0.07, 0.07 and 0.04  $mmolL^{-1}$  were obtained for hydroquinone, catechol and resorcinol, respectively. As a second application, the spectroelectrochemistry of dopamine and epinephrine was studied through the second experimental setup. Data from this system were modeled using PARAFAC. Predictions with test samples resulted in RMSEPs of 0.04 and 0.05  $mmolL^{-1}$  for dopamine and epinephrine, respectively. In studies on the spectroelectrochemistry of benzenediol isomers, degenerate solutions were found in PARAFAC models. A theoretical study was conducted to investigate the effects of degeneracy. It was found that degeneracy is associated with the fact that an analyte can be present in at least two forms, whose total concentration is constant. Degeneracy ends up being related to the uniqueness of solutions and adequate determination of the number of factors in the model. The theoretical study showed some possible effects of the degeneracy of solutions in the qualitative results and the role of restrictions in the modeling.

**Keywords:** Spectroelectrochemistry, PARAFAC, U-PLS/RBL, degeneracy

# CAPÍTULO 1

---

## Introdução

---

Catecol (1,2-benzenediol), resorcinol (1,3-benzenediol) e hidroquinona (1,4-benzenediol) são isômeros do benzenediol comumente encontrados em plásticos, corantes, cosméticos, produtos farmacêuticos e agentes flavorizantes. Diversos estudos avaliaram os potenciais riscos à saúde e ao meio-ambiente oriundos desses isômeros. O catecol, por exemplo, é classificado como possivelmente carcinogênico pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer [1]. No meio ambiente, esses compostos se distribuem principalmente em compartimentos aquáticos.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) [2] e cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas (GC-MS) [3] são empregadas como técnicas de referência na determinação desses analitos. A busca por metodologias alternativas mais rápidas e baratas tem motivado o desenvolvimento de métodos espectroscópicos [4,5] e eletroanalíticos [6,7] para determinação desses compostos. Recentemente, um método quantitativo para determinação de catecol e hidroquinona através de espectroscopia de impedância foi desenvolvido [8]. Os três isômeros atuam como interferentes nos modos espectral e eletroquímico, o que torna o desenvolvimento de tais métodos bastante desafiador.

Dopamina e epinefrina pertencem a um grupo de catecolaminas que participam da regulação de diversos processos fisiológicos [9–11].

A determinação de catecolaminas em condições fisiológicas de pH é de grande importância prática [12]. Anormalidades nos níveis de concentração de dopamina podem desencadear diversas doenças como depressão, esquizofrenia e doença de Parkinson [13]. O mesmo ocorre em relação a epinefrina, níveis anormais dessa substância podem acarretar problemas como hipotensão postural e deficiência hormonal da tire-

oide [12].

Diversas técnicas instrumentais tem sido utilizadas no estudo desses analitos. Em função da facilidade de oxidação, ambos os analitos são comumente estudados através de métodos eletroanalíticos. Uma das dificuldades envolvidas nessa abordagem é a proximidade dos potenciais de oxidação de ambas as espécies. Além disso, os mecanismos de oxidação envolvidos não são simples e podem conduzir a formação de intermediários [9–11, 13].

Nesse trabalho, dois arranjos experimentais distintos foram propostos para investigar essa problemática. O primeiro arranjo experimental, utilizado no estudo da espectroeletroquímica dos isômeros do benzenodiol, combina espectroscopia de absorvância com técnicas voltamétricas. O segundo, utilizado no estudo da espectroeletroquímica da dopamina e epinefrina, combina espectroscopia de reflectância com técnicas voltamétricas.

Através do uso da espectroeletroquímica associada a métodos de calibração de segunda ordem pretende-se superar os desafios decorrentes das interferências verificadas entre esses analitos e avaliar os impactos da vantagem de segunda ordem na determinação desses compostos.

## 1.1 Objetivos

### 1.1.1 Objetivos gerais

Desenvolver e avaliar metodologias de calibração de ordem superior aplicadas a dados espectroeletroquímicos.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Propor arranjos experimentais adequados à aquisição de dados espectroeletroquímicos de segunda ordem;
- Avaliar os arranjos experimentais propostos através do estudo da espectroeletroquímica dos sistemas modelo ferrocianeto de potássio e o-tolidina;
- Construir conjuntos de calibração e investigar os impactos da vantagem de segunda ordem na quantificação dos analitos: hidroquinona, catecol, resorcinol, dopamina e epinefrina;
- Avaliar os algoritmos utilizados em metodologias de calibração de ordem superior aplicados a dados espectroeletroquímicos;
- Avaliar o impacto de técnicas de pré-processamento no tratamento de dados espectroeletroquímicos;

## Capítulo 1

---

- Investigar a degenerescência de soluções e suas implicações para estudos envolvendo espectroeletróquímica.

#### 2.1 Surgimento da Espectroeletróquímica

A espectroeletróquímica consiste na associação de duas técnicas instrumentais bastante consolidadas: a espectroscopia e a eletróquímica. A maioria dos estudos em espectroeletróquímica se concentra na caracterização espectroscópica da superfície do eletrodo e das espécies geradas eletróquimicamente em solução [14].

Os primeiros trabalhos em espectroeletróquímica surgiram com o objetivo de monitorar intermediários de reação formados eletróquimicamente. Austen e colaboradores [15], por exemplo, conduziram a eletrólise do antraceno, benzofenona e antraquinona por polarografia e monitoraram os radicais formados durante a reação por intermédio da espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR). Nesse trabalho as determinações espectroscópicas foram realizadas *ex situ*, isto é, em determinados intervalos de tempo alíquotas eram retiradas da célula eletróquímica para que espectros fossem adquiridos.

Com o surgimento dos eletrodos opticamente transparentes (OTE), na década de 1960, a espectroeletróquímica se consolidou como um novo campo de pesquisas. A ideia de desenvolver um OTE surgiu por volta de 1950 quando Ralph Adams e Ted Kuwana realizaram estudos sobre a oxidação da o-tolidina. Essa reação eletróquímica resultava na formação de compostos de coloração amarelo intensa [14]. Essa observação motivou os pesquisadores a imaginar um eletrodo que permitisse identificar, por espectroscopia, as espécies coloridas que estariam sendo formadas ao longo do processo eletróquímico. Alguns anos mais tarde Ted Kuwana conheceu David Kearnes, um físico-químico que trabalhava com fotocondução de cristais orgânicos. Na época Kear-

nes estava desenvolvendo um dispositivo que consistia em um cristal confinado entre duas peças de vidro revestidas com óxido de estanho. Esse cristal foi a base para a construção do primeiro eletrodo opticamente transparente (OTE) para análises *in situ*, cujo primeiro trabalho seria publicado em 1964 [16]. Nesse trabalho abordou-se a oxidação da o-tolidina utilizando um OTE como eletrodo de trabalho, construído utilizando vidro semicondutor de óxido de estanho revestido com pasta de prata. A oxidação da o-tolidina foi conduzida por meio de cronoamperometria. Simultaneamente ao processo eletroquímico eram feitas medidas de absorvância em função do tempo. Os resultados alcançados demonstraram a possibilidade de investigar processos na superfície de eletrodos através da espectroeletroquímica.

Estudos subsequentes se dedicaram ao desenvolvimento de aparatos para análises *in situ*, dado que a principal motivação para o surgimento da espectroeletroquímica residia na possibilidade de identificar intermediários de reação, os quais podem ser instáveis inviabilizando as análises *ex situ*.

Ainda na década de 1960 OTE dopados em Sb [17], Au e Pt [18] foram empregados em estudos espectroeletroquímicos. Demonstrou-se também a possibilidade de estudar a cinética e os mecanismos dos processos redox através da espectroeletroquímica [19, 20]. Paralelamente aos avanços experimentais, foram desenvolvidos modelos matemáticos que relacionam as propriedades ópticas com parâmetros cinéticos das reações [21].

Diversas técnicas espectroscópicas vem sendo empregadas em espectroeletroquímica, entre elas: a espectroscopia de absorção no UV-VIS [22,23] e IR [24–26]; espectroscopia Raman [27–32]; técnicas de ressonância magnética [33,34]; espectroscopia de absorção de raios-X [35] e espectroscopia de luminescência na região do UV-VIS [36,37].

Nas últimas décadas, a espectroeletroquímica se consolidou como uma importante técnica no que diz respeito à investigação de mecanismos, cinética e termodinâmica de reações. Buscando o termo '*spectroelectrochemistry*' em uma base de dados encontram-se milhares de artigos (5.365 publicações encontradas pelo *Web of Science* entre 1971 e 2022). A bibliografia sobre o tema é bastante expressiva e inclui artigos de revisão [38–41] e a capítulos [42] e livros dedicados [43–45].

Várias classes de matrizes e analitos já foram estudadas empregando espectroeletroquímica, entre elas: sistemas biológicos [46, 47], complexos [48, 49], porfirinas [50–52], fármacos [53], etc. Grande parte desses estudos utiliza a espectroeletroquímica apenas como uma ferramenta de investigação fenomenológica. No entanto, sendo originada da fusão de duas técnicas de reconhecido potencial analítico tanto qualitativo quanto quantitativo, foi bastante natural o surgimento de aplicações da espectroeletroquímica no desenvolvimento de métodos analíticos [13, 54–57].

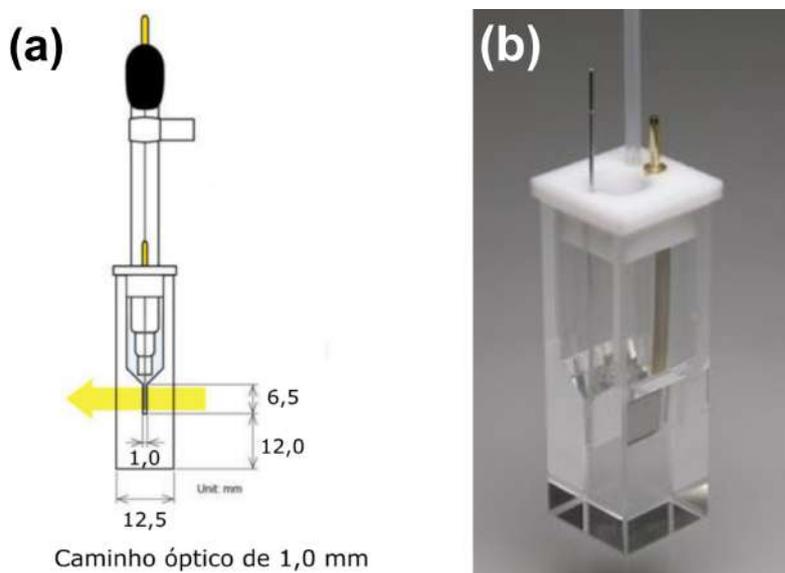
## 2.2 Alguns arranjos experimentais para espectroeletroquímica

Por se tratar da associação de duas técnicas instrumentais bastante flexíveis, há uma grande número de possibilidades de arranjos experimentais em espectroeletroquímica. Pela própria natureza das medidas, os experimentos geram dois tipos de sinais: os espectroscópicos e os eletroquímicos. A maioria dos estudos em espectroeletroquímica, lida com a porção espectroscópica dos sinais, muito embora não exista nenhum impedimento em utilizar ambos os sinais.

Do ponto de vista espectroscópico há, basicamente, duas configurações através das quais o feixe de luz incide sob a superfície do eletrodo e interage com a amostra e suas vizinhanças: a) incidência normal a superfície do eletrodo de trabalho e b) incidência em paralelo à superfície do eletrodo de trabalho [58]. Segundo alguns autores, as informações químicas que se obtêm através dessas medidas são distintas, o que tem possibilitado o aparecimento de trabalhos empregando a chamada espectroeletroquímica bidimensional [59–61], onde ambas as configurações são utilizadas simultaneamente.

O tipo de eletrodo e a técnica espectroscópica a serem utilizados dependem do analito em estudo e da configuração através da qual o feixe de luz interage com o eletrodo. Eletrodos de grade e OTE prestam-se à espectroscopia de transmissão e absorção. Nesse tipo de medida o feixe de luz atravessa o eletrodo e a solução, ver Figura 2.1(a). Na Figura 2.1(b) é possível observar um esquema de uma célula espectroeletroquímica de caminho óptico reduzido na qual é possível acoplar um eletrodo de grade (eletrodos de grade de platina e ouro são comercialmente disponíveis).

Figura 2.1: (a) Esquema de célula espectroeletroquímica composta por uma cubeta de quartzo de caminho óptico reduzido na qual é possível acoplar um eletrodo de grade, (b) imagem de uma célula espectroeletroquímica comercial



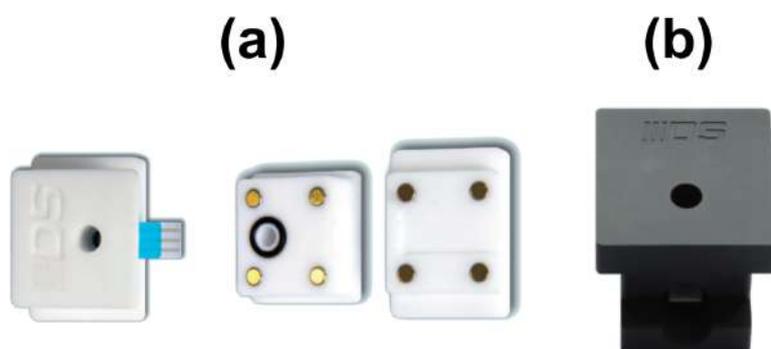
A Figura 2.2 ilustra uma célula espectroeletróquímica e eletrodos impressos transparentes para medições de transmitância. Nesse arranjo, os feixes de luz são conduzidos por fibras ópticas acopladas à célula espectroeletróquímica.

Figura 2.2: Célula espectroeletróquímica para medidas de transmitância com eletrodos impressos transparentes



Eletrodos opacos costumam ser utilizados associados à espectroscopia por reflectância, em células semelhantes à ilustrada na Figura 2.3a e espectroscopia de luminescência ou técnicas de espalhamento como Raman, em células apropriadas como a mostrada na Figura 2.3b.

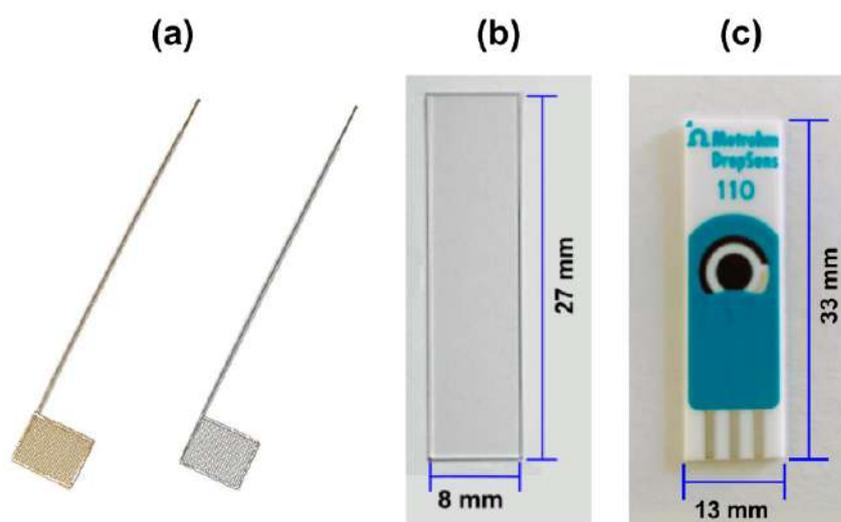
Figura 2.3: (a) Célula espectroeletróquímica para medidas de reflectância com eletrodos impressos opacos e (b) célula espectroeletróquímica para medidas empregando espectroscopia Raman



Do ponto de vista da eletroanalítica as técnicas mais utilizadas são a voltametria (linear e cíclica), amperometria e coulometria [42]. Geralmente se emprega um arranjo de três eletrodos: o de trabalho, o de referência e o contra eletrodo. Os eletrodos de trabalho comumente utilizados podem ser divididos em três categorias, são elas:

1. a dos eletrodos de grades, os quais consistem em uma malha metálica (Pt, Au, Ag, Ni, etc) com cerca de 100 a 2.000 fios por polegada, como mostrado na Figura 2.4a;
2. a dos eletrodos construídos a partir de um substrato opticamente transparente (vidro, plástico, quartzo, etc) sobre o qual se deposita um filme de material condutivo (Pt, Au,  $SnO_2$ , C), como o eletrodo de óxido de índio dopado com estanho (ITO) mostrado no esquema da Figura 2.4b; e
3. a dos eletrodos impressos, que consistem em um substrato sobre o qual se imprimem os eletrodos de trabalho, referência e contra eletrodo, conforme demonstrado na Figura 2.4c. Esses eletrodos podem ser opacos ou transparentes.

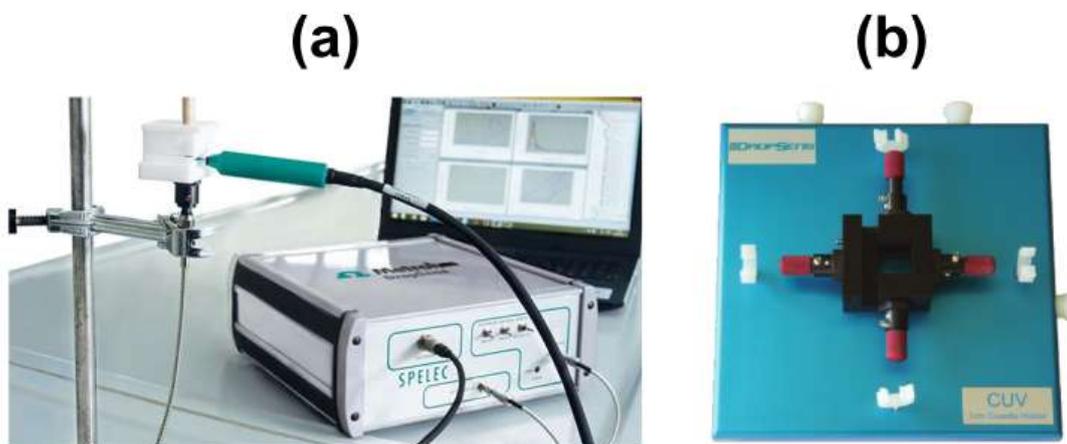
Figura 2.4: (a) Eletrodos de grade de ouro e platina, (b) eletrodo opticamente transparente, o qual consiste em uma camada de ITO depositada sobre um substrato de quartzo e (c) eletrodo impresso comercial



Muitos dos estudos em espectroeletroquímica são desenvolvidos utilizando arranjos experimentais *homemade*. Apesar disso, já existem soluções comerciais (Figura 2.5a) que incluem fontes e detectores capazes de operar em diversas regiões espectrais como UV-Vis e NIR, eletrodos, células espectroeletroquímica adequadas a diversos tipos de medida (Figura 2.5b) e *softwares*. Há um número considerável de fabricantes desses sistemas, entre eles: Metrohm/Avantes, Metrohm/DropSens (Figuras 2.1b, 2.3a, 2.3b, 2.5a), Gamry Instruments, BASi, etc.

Os equipamentos comercialmente disponíveis foram desenvolvidos para aplicações de investigação fenomenológica e de propriedades dos sistemas estudados, e não para estudos de finalidade quantitativa. Deste modo, ajustes nas montagens experimentais podem ser necessários para aplicações quantitativas em química analítica, visto que a reprodutibilidade do arranjo é um fator a ser considerado.

Figura 2.5: (a) Equipamento comercial para medidas espectroeletróquímicas empregando espectroscopia de reflectância na região do UV-Vis, (b) porta cubetas para medidas envolvendo espectroscopia de absorção ou fluorescência



### 2.3 Calibração e ordem superior

A calibração é um procedimento que permite relacionar respostas instrumentais e informações químicas do sistema, como concentração de uma dada espécie [62]. Em matrizes complexas e sistemas reais há, geralmente, uma grande quantidade de interferentes conhecidos e desconhecidos tornando necessário o uso dos mais diversos métodos de calibração.

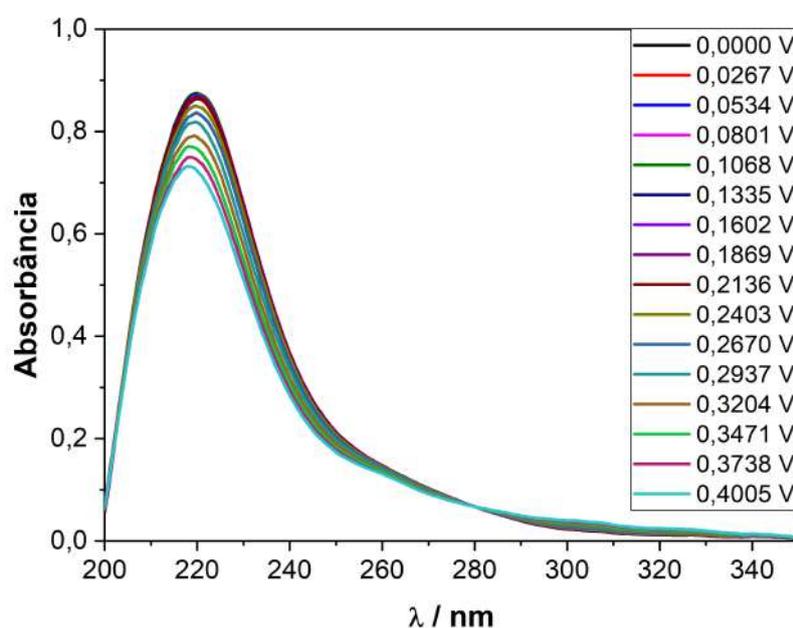
Os métodos de calibração podem ser classificados quanto à dimensionalidade dos dados empregados [63, 64]. Na calibração de ordem zero emprega-se uma única resposta da medida por amostra, isto é, um escalar. Do ponto de vista algébrico um escalar é visto como um tensor de ordem zero, derivando daí o nome calibração de ordem zero. Em calibração de primeira ordem um vetor, ou tensor de primeira ordem é empregado. Esse raciocínio pode ser expandido para dimensionalidades mais altas. Na calibração de segunda ordem a resposta empregada consiste em uma matriz de dados por amostra.

É importante destacar que a ordem do método de calibração não depende somente da resposta instrumental, mas também da estratégia de calibração empregada. Por exemplo, matrizes resultantes de sinais de excitação-emissão medidos em espectrometria de fluorescência constituem dados de segunda ordem. Apesar disso, estratégias de calibração de ordem zero e primeira ordem também poderiam ser utilizadas dependendo da aplicação desejada. Caso se desejasse trabalhar com calibração de ordem zero, a resposta utilizada poderia ser o máximo de um pico que corresponderia a comprimentos de onda de excitação e emissão fixados. Para calibração de primeira ordem, por outro lado, pode-se fixar um comprimento de onda de excitação e adquirir o espectro

de emissão nessa condição.

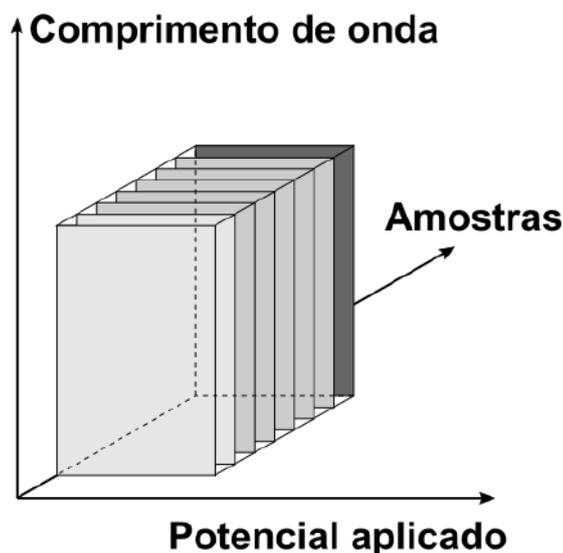
Em espectroeletróquímica os dados experimentais são intrinsecamente de segunda ordem. A Figura 2.6 ilustra o sinal analítico para uma amostra de ferrocianeto de potássio  $0,6 \text{ mmolL}^{-1}$ . Na Figura 2.6 observa-se uma sequência de espectros adquiridos ao longo da oxidação do ferrocianeto de potássio. Individualmente, os espectros colecionados ao longo da varredura voltamétrica são vetores. Ao agrupar esses espectros em diferentes potenciais gera-se uma matriz de dados por amostra e por consequência dados de segunda ordem.

Figura 2.6: Sinal analítico para um padrão de ferrocianeto de potássio  $0,6 \text{ mmolL}^{-1}$



A classificação conforme a ordem não é única em uso. Outra possibilidade consiste em classificar os dados experimentais em vias [65]. Nessa abordagem considera-se o número de dimensões necessárias para a representação do conjunto de dados formado ao se agrupar os dados experimentais de um conjunto de amostras. Dados de segunda ordem, por exemplo, equivalem a dados de três vias, pois ao se agrupar as matrizes bidimensionais referentes a cada amostra forma-se um tensor de dados, que necessita de três dimensões para ser representado, por exemplo, comprimento de onda *versus* potencial aplicado *versus* amostras, conforme Figura 2.7.

Figura 2.7: Agrupamento de matrizes e tensor de dados



Uma vez escolhida a estratégia de calibração adequada ao problema, devem-se utilizar algoritmos adequados ao tratamento dos dados experimentais. A conjuntos de dados de ordem zero/uma via aplicam-se métodos de calibração univariados, nos quais os dados são ajustados a uma curva por meio de mínimos quadrados [66]. Uma das limitações dos métodos univariados está associada à necessidade de garantir que o sinal analítico seja seletivo ao analito, o que muitas vezes não é factível. Metodologias multivariadas de calibração constituem alternativas a essa desvantagem.

Empregando metodologias de primeira ordem é possível compensar possíveis interferências, desde que os interferentes estejam presentes no conjunto de calibração. Essa peculiaridade é conhecida como vantagem de primeira ordem [67, 68] e funciona bem em ambientes onde é possível garantir que as composições das amostras a serem preditas são semelhantes as composições das amostras do conjunto de calibração.

Apesar de a calibração de primeira ordem ampliar o campo de aplicações possíveis, não é possível tratar o problema de interferentes desconhecidos, bastante recorrente no estudo de matrizes complexas como as ambientais. Os métodos de calibração de segunda ordem permitem abordar esse problema devido à chamada vantagem de segunda ordem [65, 69], que consiste na possibilidade de quantificar o analito na presença de interferentes desconhecidos e por consequência não modelados. Os algoritmos comumente empregados em calibração de segunda ordem como Análise de Fatores Paralelos (PARAFAC) [70, 71], Resolução de Curvas Multivariadas (MCR) [72], Mínimos Quadrados Parciais Desdobrados com Bilinearização Residual (U-PLS/RBL) [73–75], entre outros, apresentam a vantagem de segunda ordem.

### 2.4 Métodos de calibração de segunda ordem

#### 2.4.1 Histórico do uso de dados multivias

As primeiras publicações empregando dados multivias provêm da psicometria, um ramo da psicologia que aplica técnicas de estatística multivariada em suas investigações [76].

R. Cattell foi um dos pioneiros na área tendo introduzido conceitos fundamentais como o de matriz multivias aplicadas à psicologia [77]. Na década de 1960, outro importante psicometrista, L. Tucker abordou a decomposição de matrizes de três vias [78]. Esse trabalho trouxe grandes avanços, entre os quais podem-se destacar a introdução da ideia de 'modo' e o aprofundamento das discussões sobre a álgebra das matrizes multivias. Outro texto contemporâneo, bastante relevante, foi publicado por J. Levin, no qual a semelhança entre o método de Tucker e a decomposição de valores singulares é abordada [79].

Os métodos de Decomposição Canônica (CANDECOMP, *Canonical Decomposition*) e Análise de Fatores Paralelos (PARAFAC, *Parallel Factor analysis*) surgiram na década de 1970. Os métodos são matematicamente equivalentes, entretanto foram publicados de maneira independente por J. Carroll e J. Chang [70], e R. Harshman [71].

As primeiras aplicações em química só ocorreriam ao final da década de 1970. Warner e colaboradores, por exemplo, estudaram dados multivias obtidos através de espectroscopia de fluorescência [80, 81]. Os autores conseguiram obter os perfis dos componentes puros através da solução de problemas de autovalores/autovetores utilizando mínimos quadrados. Ho e colaboradores efetuaram a quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) utilizando o método de análise de fatores por aniquilação de posto (RAFA, *Rank Annihilation Factor Analysis*).

Appelhof e Davidson foram provavelmente os primeiros a empregar o método CANDECOMP em química [82]. Os dados experimentais foram obtidos através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção espectrofluorimétrica. A decomposição dos dados conforme o modelo CANDECOMP foi realizada com o algoritmo de mínimos quadrados iterativos não lineares (NILES, *Nonlinear Iterative Least Squares*).

Russel e colaboradores também empregaram o método CANDECOMP em uma sequência de três artigos publicados em 1987. O método foi chamado de PCFA (*Principal Component Factor Analysis*) [83–85]. No primeiro dos três artigos diversos detalhes matemáticos são abordados. No segundo, dados simulados de tempo de vida de excitação-emissão foram utilizados para avaliar a metodologia proposta. No último artigo, dados reais de misturas de porfirinas de Pt, Pd e Rh, cujos comportamentos espectrais eram bem conhecidos, foram utilizados em conjunto com o PCFA.

Sanchez e Kowalski forneceram grandes contribuições à calibração tensorial de primeira e segunda ordem [86, 87]. O Método Generalizado de Aniquilação de Posto (GRAM, *Generalized Rank Annihilation Method*) [88] e o método de Decomposição Trilinear Direta (DTLD, *Direct Trilinear Decomposition*) [89] foram propostos pelos autores. O método GRAM possibilita a decomposição dos dados em autovetores, entretanto a dimensão no sentido dos objetos deve ser igual a dois [76], sendo essa uma das limitações. O método DTLD foi desenvolvido visando superar essa desvantagem e possibilitar a calibração com múltiplas amostras.

No final dos anos 80 e início dos anos 90 o método de Resolução Multivariada de Curvas (MCR, *Multivariate Curve Resolution*) [72] e os métodos baseados em mínimos quadrados parciais (PLS, *Partial Least Squares*) [73, 90, 91] foram aplicados a dados de ordem superior.

Diversos artigos de revisão [67, 69, 92–94] elencam e comparam metodologias de calibração. Há, também, livros dedicados do tema [66, 95, 96]. A maioria das aplicações se concentram na espectroscopia de fluorescência total, que é uma técnica intrinsecamente de segunda ordem e trilinear, e em técnicas hifenadas a exemplo da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detecção espectral por arranjo de diodos (HPLC-DAD). Apesar de a espectroeletróquímica poder ser utilizada na obtenção de dados de segunda ordem, o número de publicações envolvendo espectroeletróquímica e ordem superior ainda é reduzido. Dentre os milhares de artigos envolvendo espectroeletróquímica, pouco mais de uma dezena usou metodologias de calibração de ordem superior havendo um grande potencial de desenvolvimento nessa temática.

### 2.4.2 Análise de Fatores Paralelos - PARAFAC

É um método de calibração de segunda ordem adequado ao tratamento de dados com estrutura trilinear. Matematicamente, a trilinearidade é expressa através da Equação (2.1) [94, 97].

$$\mathbf{X} = \sum_{p=1}^F \mathbf{a} \otimes \mathbf{b} \otimes \mathbf{c} \quad (2.1)$$

Onde:  $F$  é o número de fatores no modelo,  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$  são vetores e  $\otimes$  é o produto externo.

PARAFAC/CANDECOMP são tentativas de interpretar os resultados da decomposição de um tensor<sup>1</sup> de três vias nas matrizes  $\mathbf{A}$ ,  $\mathbf{B}$  e  $\mathbf{C}$ , as quais chamaremos de

---

<sup>1</sup>Na realidade, a ideia matemática por trás da decomposição tensorial remonta a 1927 com o trabalho de F. Hitchcock [98], o qual é, de nosso conhecimento, o trabalho mais antigo nesse contexto. Nesse trabalho, Hitchcock mostra que um tensor pode ser expresso como uma soma finita de produtos tensoriais. Decomposições tensoriais matematicamente equivalentes tem surgido com nomes distintos ao longo tempo. PARAFAC e CANDECOMP são algumas delas.

modos A, B e C. Essas matrizes são compostas pelos vetores  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$ , cada uma delas possuindo  $F$  colunas. Esses modos estão associados aos perfis instrumentais. Vamos considerar, a título de ilustração, matrizes de excitação-emissão obtidas por espectroscopia de fluorescência. Um dos modos estaria associado aos espectros de excitação dos componentes puros, denotaremos por modo B. Outro modo estaria associado aos espectros de emissão dos componentes puros, poderíamos denominar modo C. Por fim, o terceiro modo estaria associado a concentração analítica dos componentes puros, denotemos por modo A. As matrizes A, B e C possuem  $F$  colunas, onde cada coluna está associada a uma espécie química. Em geral, em uma decomposição com o PARAFAC os modos instrumentais B e C estão normalizados e não guardam informações referentes as concentrações dos componentes puros. Essas informações ficam contidas no modo A, o qual é utilizado na construção dos modelos de calibração pseudo-univariados.

A Equação (2.1) traz algumas considerações implícitas, são elas: (1) os sinais analíticos de cada fonte de variação contribuem de forma aditiva para o sinal analítico da amostra, (2) as magnitudes dos sinais são proporcionais a concentração do analito que se deseja calibrar e (3) para cada analito os sinais analíticos são comuns em todas as amostras. [67]

Em geral, a Equação (2.1) é resolvida por mínimos quadrados alternados (ALS, *Alternating Least Squares*). A solução requer estimativas iniciais dos modos A, B e C. Essas estimativas podem ser obtidas através de métodos como GRAM, DTLTD, inicialização das matrizes com valores aleatórios ou até mesmo o fornecimento dos espectros normalizados dos componentes puros.

O algoritmo ALS utiliza estimativas de dois modos para atualizar as estimativas do terceiro. Por exemplo, para atualizar  $\mathbf{A}$  utilizam-se os valores atuais de  $\mathbf{B}$  e  $\mathbf{C}$ , para atualizar  $\mathbf{B}$  são utilizados os valores de  $\mathbf{A}$  e  $\mathbf{C}$  e para calcular  $\mathbf{C}$  usam-se os valores de  $\mathbf{A}$  e  $\mathbf{B}$  [95]. Cada atualização das estimativas de um modo é tratada como um problema de mínimos quadrados típico. Esse procedimento iterativo é repetido até que o critério de convergência seja atingido.

O objetivo final é minimizar os resíduos deixados pelo modelo. Durante o processo iterativo é possível aplicar restrições ao modelo, as mais comuns são: não-negatividade, ortogonalidade e unimodalidade.

Um dos desafios na construção de modelos empregando PARAFAC consiste em determinar o número de componentes. Não há um critério definitivo para a escolha do número de componentes [95]. Uma possibilidade consiste em empregar o teste de consistência de núcleo CORCONDIA (*Core Consistency Diagnostic*) [99].

O CORCONDIA utiliza o fato de que o PARAFAC pode ser visto como um caso restrito do método de Tucker3 com uma matriz central superidentidade [76]. Havendo consistência trilinear a matriz central obtida ao efetuar a modelagem com o

método Tucker3 deveria se aproximar de uma matriz superidentidade. Matematicamente, esse conceito é expresso através da Equação (2.2).

$$CORCONDIA = 100 * \left( 1 - \frac{\sum_{d=1}^F \sum_{e=1}^F \sum_{f=1}^F (g_{def} - h_{def})^2}{\sum_{d=1}^F \sum_{e=1}^F \sum_{f=1}^F h_{def}^2} \right) \quad (2.2)$$

Onde  $g_{def}$  é um elemento da matriz central do modelo Tucker3,  $h_{def}$  é um elemento da matriz superidentidade e  $F$  o número de fatores do modelo.

Valores de CORCONDIA próximos a 100% indicam consistência trilinear. Um valor próximo a 50% pode indicar uma deficiência de trilinearidade. Por fim, valores próximos a zero, ou negativos indicam inconsistência trilinear. [99]

Um aspecto importante do método PARAFAC é que as amostras do conjunto de calibração e as amostras de teste são deconvoluídas simultaneamente. A calibração é realizada em uma etapa posterior, sendo esse um contraste em relação aos métodos baseados em PLS, por exemplo.

### 2.4.2.1 Considerações acerca da unicidade de soluções e sistemas degenerados

Em muitos casos é possível encontrar soluções únicas para a Equação (2.1). Antes de prosseguir com as discussões sobre a unicidade de soluções e seus impactos é preciso definir o significado de unicidade.

Um modelo é único quando existe uma única solução associada a uma determinado ajuste do modelo, isto é, não é possível modificar os parâmetros do modelo sem alterar a qualidade do ajuste. Modelos bilineares, por exemplo, admitem infinitas soluções que levam ao mesmo ajuste. Para obter soluções únicas em modelos bilineares é necessário impor restrições. Por exemplo, uma análise de componentes principais (PCA) fica unicamente definida pela imposição da ortogonalidade. Em outras palavras, um modelo é único quando não é necessário impor restrições adicionais a fim de definir o modelo.

No conceito de unicidade aqui apresentado não estão sendo consideradas a não unicidade decorrente de escala ou permutação. Diversos trabalhos na literatura abordam a unicidade de soluções. De nosso conhecimento, a primeira discussão sobre unicidade de soluções envolvendo o PARAFAC se deve a Harshman [100], o qual demonstrou a unicidade de soluções para sistemas com um número de fatores igual a 1. Provavelmente, a condição suficiente e mais geral sobre unicidade de soluções é o que hoje se conhece como Teorema de Kruskal [101]. Esse teorema aparece em um trabalho publicado em 1977 e expresso matematicamente através da Equação (2.3).

$$k_A + k_B + k_C \geq 2N + 2 \quad (2.3)$$

Onde  $k_A$ ,  $k_B$  e  $k_C$  são os postos de Kruskal das matrizes  $A$ ,  $B$  e  $C$  (mais detalhes são fornecidos no Apêndice B.1), respectivamente e  $N$  representa o número de componentes no modelo.

As demonstrações desse teorema, aparentemente simples, são bastante desafiadoras. Há trabalhos relativamente recentes que investigam esse teorema e tentam apresentar uma demonstração mais acessível [102].

O Teorema de Kruskal é, em geral, condição suficiente para a unicidade. Para um sistema com  $N = 2$  e  $N = 3$ , o teorema de Kruskal é condição suficiente e necessária para a unicidade [103]. Ten Berge e Sidiropoulos [103] conjecturaram que o teorema seria condição suficiente e necessária para  $N > 3$  em situações onde o posto das matrizes associadas aos modos coincidisse com o posto de Kruskal, entretanto, essa conjectura foi refutada posteriormente [104]. O teorema de Kruskal foi generalizado por Sidiropoulos e Bro para dados N-vias [105].

Em muitas situações de interesse prático, a modelagem através do PARAFAC pode ser impactada por um problema conhecido como degenerescência. Em espectroeletróquímica, a degenerescência de soluções tem origem na própria natureza do fenômeno. Uma medida espectroeletróquímica envolve a utilização de uma técnica espectroscópica e uma técnica eletroquímica. Através da técnica espectroscópica obtém-se uma coleção de propriedades, isto é, espectros das espécies que compõem o meio reacional. A técnica eletroquímica é utilizada na condução do processo redox. Os dados obtidos através desse modo correspondem ao monitoramento de um processo. A depender das condições experimentais empregadas o sinal analítico pode conter contribuições não só do analito (reagente) como dos produtos da reação redox. As proporções entre os reagentes e produtos variam ao longo do tempo, entretanto a concentração total é constante. Sistemas desse tipo podem ser impactados pela degenerescência de soluções.

Essa degenerescência, do ponto de vista matemático, se reflete na dificuldade de ajustar o modelo corretamente. Ao invés de uma única solução, podemos ter diversas soluções, as quais são equivalentes, mas nem sempre correspondem à interpretação física do problema. As soluções degeneradas podem prejudicar a obtenção dos perfis dos componentes puros, pois em muitos casos as soluções obtidas consistem em combinações lineares de outras soluções. Em geral, admite-se que a degenerescência de soluções não impacta nos resultados quantitativos.

Do ponto de vista mais formal, ao tentar ajustar um modelo PARAFAC estamos tentando minimizar a Equação (2.4) [94, 97].

$$F(\hat{\mathbf{X}}) = \|\mathbf{X} - \sum_{p=1}^F \mathbf{a} \otimes \mathbf{b} \otimes \mathbf{c}\|^2 \quad (2.4)$$

Um dos detalhes implícitos na Equação (2.4) reside no fato de que os vetores  $\mathbf{a}(p)$ ,  $\mathbf{b}(p)$  e  $\mathbf{c}(p)$  são funções do número de fatores do modelo, o qual está associado ao posto do tensor de dados. Não há um método simples para determinação do posto do tensor (mais detalhes sobre essa questão são fornecidos no Apêndice B.2). Isto é, a correta estimativa dos perfis representados pelos vetores  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$  depende da modelagem com o número adequado de componentes. Além disso, as soluções obtidas através do PARAFAC para diferentes números de fatores não são cumulativas (*nested*) [106]. Na prática, uma solução com  $F$  fatores pode ser bastante distinta de uma solução com  $F - 1$  fatores.

Em geral, estamos lidando com soluções aproximadas da Equação (2.4). Essas soluções aproximadas podem, inclusive, não existir [107]. Um dos motivos conhecidos que levam a ocorrência de soluções degeneradas está associada a tentativa de obter uma solução para Equação (2.4) utilizando um número de componentes menor que o posto do tensor de dados [94], matematicamente  $F < \text{rank}(\mathbf{X})$ . Em princípio, se poderia supor que utilizando  $F = \text{rank}(\mathbf{X})$  o problema estaria resolvido, mas, como já mencionado, não há uma forma trivial de se determinar o posto do tensor de dados. Interessante notar que essa problemática tangencia a questão da correta determinação do número de fatores. Por outro lado, utilizar  $F > \text{rank}(\mathbf{X})$  também pode acarretar problemas, pois tensores de posto elevado muitas vezes não admitem decomposição única [94]. Em alguns casos, é possível lidar com a ocorrência de múltiplas soluções através da imposição de restrições.

A unicidade de soluções e o problema de degenerescência ainda são questões em aberto e objeto de estudos em quimiometria avançada. Três aspectos relacionados a unicidade de soluções e degenerescência merecem maior atenção. O primeiro aspecto diz respeito a unicidade de soluções, a qual é uma condição especial. O segundo aspecto está associado à dificuldade em lidar com matrizes complexas. Em amostras complexas, a incorreta determinação do número de fatores pode impossibilitar a extração dos perfis de todas as espécies participantes e ainda induzir a soluções degeneradas através de uma aproximação na forma  $F < \text{rank}(\mathbf{X})$ . Por fim, o terceiro aspecto está associado ao fato de que a degenerescência advém da natureza do fenômeno em estudo, a qual se soma a questões associadas a modelagem matemática, fazendo com que a abordagem dessa questão seja bastante desafiadora.

### 2.4.3 Resolução Multivariada de Curvas - MCR

Na década de 1990, o método de resolução multivariada de curvas foi estendido para o tratamento de dados de segunda ordem [72]. O MCR efetua a decomposição da matriz de dados em um modelo bilinear, conforme a Equação(2.5).

$$\mathbf{X}_{aug} = \mathbf{B}_{aug}\mathbf{C}^T + \mathbf{E} \quad (2.5)$$

Onde  $\mathbf{X}_{aug}$  é a matriz de dados aumentada,  $\mathbf{B}_{aug}$  é a matriz de concentrações relativas e,  $\mathbf{C}$  contém os perfis instrumentais dos componentes puros e  $\mathbf{E}$  a matriz de resíduos.

Considerando dados de segunda ordem com dimensões  $J \times K$ , as matrizes  $\mathbf{X}_{aug}$ ,  $\mathbf{B}_{aug}$  e  $\mathbf{C}$  apresentam dimensões  $IJ \times K$ ,  $IJ \times N$  e  $K \times N$ , respectivamente, sendo  $I$  o número de amostras.

A Equação (2.5) é solucionada através do algoritmo ALS. Uma característica do MCR-ALS está associada a existência de múltiplas soluções para a Equação (2.5). Essa característica é conhecida como ambiguidade rotacional [108]. Em alguns casos a aplicação de restrições e o uso de boas estimativas iniciais para as matrizes  $\mathbf{B}$  e  $\mathbf{C}$  podem mitigar a ambiguidade rotacional. Apesar disso, em alguns casos a aplicação de restrições não é suficiente para a solução do problema. Outras estratégias são descritas na literatura [109].

Com respeito às estimativas iniciais, estratégias como Análise de Fatores Evolucionários (EFA, *Evolving Factor Analysis*) e Análise de Componentes Principais (PCA, *Principal component analysis*) têm sido empregadas na construção de modelos MCR. As restrições mais comuns são: não-negatividade, unimodalidade, balanço de massa (*closure*, imposição de soma constante para os perfis de concentrações de um grupo de analitos), seletividade, trilinearidade, inclusão de informações fenomenológicas através de *hard modeling*, entre outras. [110]

O MCR é um dos métodos de calibração e resolução de curvas mais flexíveis, visto que pode ser aplicado aos mais variados conjuntos de dados. Além disso, é possível efetuar a resolução, identificação e quantificação dos analitos em uma mistura de interesse.

### 2.4.4 Mínimos Quadrados Parciais Desdobrados com Bilinearização Residual - U-PLS/RBL

O método de Mínimos Quadrados Parciais Desdobrados consiste na associação do algoritmo U-PLS [73] com o algoritmo de bilinearização residual (RBL, *Residual Bilinearization*) [74, 75].

O U-PLS é uma variante do PLS tradicional desenvolvida para aplicação em

dados de segunda ordem. Para isso, os dados de segunda ordem são desdobrados (*unfolded*) na forma de uma matriz com dimensões  $JK \times I$ , onde  $J$  e  $K$  representam o número de sensores nos modos instrumentais e  $I$  representa ao número de amostras. O U-PLS decompõe os dados através da Equação (2.6).

$$\mathbf{X}_{PLS} = \mathbf{P}\mathbf{T}^t + \mathbf{E}_{PLS} \quad (2.6)$$

Onde  $\mathbf{X}_{PLS}$  é a matriz de dados desdobrada,  $\mathbf{P}$  é a matriz de pesos,  $\mathbf{T}$  é matriz de escores e  $\mathbf{E}_{PLS}$  a matriz de resíduos.

Individualmente, o método U-PLS não permite a obtenção da vantagem de segunda ordem. Na presença de interferentes, a matriz de resíduos  $\mathbf{E}_{PLS}$  apresenta valores com magnitudes superiores ao ruído instrumental decorrentes dos interferentes não modelados. O objetivo da bilinearização residual é minimizar a norma da matriz de resíduos. Para isso, a contribuição dos interferentes presentes na matriz de resíduos é modelada considerando uma estrutura bilinear. O algoritmo RBL atua como uma espécie de filtro, 'retirando' os efeitos dos interferentes presentes nas amostras de teste [66].

Dois parâmetros são cruciais na modelagem com U-PLS/RBL: o número de fatores do modelo U-PLS ( $N_{PLS}$ ) e o número de fatores do modelo RBL ( $N_{RBL}$ ). A quantidade de componentes do modelo U-PLS pode ser estimada por validação cruzada *leave one out*. Já o número de fatores RBL está associado aos interferentes presentes na amostra de teste. Incrementos em  $N_{RBL}$  tendem a reduzir e estabilizar os resíduos do modelo.

Diferentemente do que ocorre em algoritmos como PARAFAC, no algoritmo U-PLS/RBL informações sobre a concentração são utilizadas na etapa de calibração. A solução das equações é atingida através de um processo iterativo. O U-PLS/RBL é um dos métodos de calibração de segunda ordem mais flexíveis, podendo lidar com dados não trilineares do Tipo 1 (quando a perda de trilinearidade ocorre em um dos modos instrumentais) e do Tipo 2 (quando a perda de trilinearidade ocorre nos dois modos instrumentais) [66].

Apesar de ser bastante flexível, a utilização do U-PLS/RBL também tem suas desvantagens. Uma delas está associada a interpretação qualitativa dos dados. Através do U-PLS/RBL pode não ser possível recuperar os perfis dos componentes puros [66], pois os pesos e escores são combinações lineares dos perfis reais. [74]

## 2.5 Voltabsortometria derivativa linear e voltabsortometria derivativa cíclica

As curvas voltamétricas  $i - E$  para um sistema reversível em camada delgada podem ser calculadas através da Equação (2.7) [56, 111].

$$i(E) = \frac{n^2 F^2}{RT} \frac{dE}{dt} V c \frac{P(E)}{(1 + P(E))^2} \quad (2.7)$$

Onde  $P(E) = \exp\left[\frac{nF}{RT}(E - E^0)\right]$ ,  $n$  é o número de elétrons envolvidos no processo,  $F$  a constante de Faraday,  $R$  a constante dos gases,  $T$  a temperatura,  $dE/dt$  a taxa de varredura,  $V$  o volume da célula eletroquímica e  $c$  a concentração no seio da solução.

As técnicas de voltabsortometria derivativa linear (DLVA - *Derivative Linear voltabsorptometry*) e voltametria derivativa cíclica (DCVA - *Derivative Cyclic voltabsorptometry*) surgiram nas décadas de 1980 e 1990 como uma forma de relacionar a taxa de variação da absorbância com as curvas voltamétricas [112–114].

Zamponi e colaboradores [111] mostram que a taxa de variação da absorbância em relação ao tempo, para estudos espectroeletroquímicos em camada delgada, é dada pela Equação (2.8).

$$\frac{dA}{dt} = \frac{nF(A_{OXI} - A_{RED})}{RT} \frac{dE}{dt} V c \frac{P(E)}{(1 + P(E))^2} \quad (2.8)$$

Onde  $A_{OXI}$  e  $A_{RED}$  são as absorbâncias das espécies oxidadas e reduzidas, respectivamente, em um comprimento de onda fixado.

Observando as Equações (2.7) e (2.8) pode-se verificar que as curvas são morfologicamente equivalentes [112]. Alguns autores afirmam que a utilização de dados obtidos através de DLVA e DCVA pode ser vantajosa, dado que as medidas de absorbância não são influenciadas por processos não-faradaicos, não contendo, portanto, sinais de fundo. [111, 112, 114]

Nos estudos que empregam as técnicas DLVA e DCVA, os cálculos da taxa de variação da absorbância com respeito ao tempo são realizados para um comprimento de onda fixo, o que reflete o fato de que essas técnicas foram desenvolvidas em um contexto de calibração univariada e abre caminho para expansões dessas técnicas para um contexto de calibração de ordem superior.

## 2.6 Aplicações qualitativas da espectroeletróquímica e ordem superior

A calibração de ordem superior pode ser utilizada tanto do ponto de vista quantitativo quanto qualitativo. As análises qualitativas são bastante úteis quando se deseja obter os perfis instrumentais dos componentes puros. É importante perceber que ao se realizar experimentos em espectroeletróquímica monitora-se um processo (conduzido eletroquimicamente) através de espectroscopia. Os espectros obtidos representam combinações dos espectros dos componentes puros. Nesse contexto faz-se oportuna a utilização de ferramentas de análise multivariada de dados de ordem superior para decompor o conjunto de dados nos sinais dos componentes puros gerados ao longo do processo.

A espectroeletróquímica do 2,5-dialquil(para-fenileno-etinileno) foi estudada por Evans e colaboradores [115]. Nesse estudo os autores adquiriram espectros de absorção ao longo do processo oxidativo e realizaram a decomposição dos dados empregando o algoritmo ITTFA (*Iterative target transformation factor analysis*). Alguns resultados da deconvolução são mostrados na Figura 2.8. Os autores afirmam que somente através da deconvolução foi possível observar a existência da quarta espécie na mistura.

Figura 2.8: Espectros deconvoluídos (a esquerda) e perfis de concentração (a direita) das espécies envolvidas na oxidação do 2,5-dialquil(para-fenileno-etinileno)

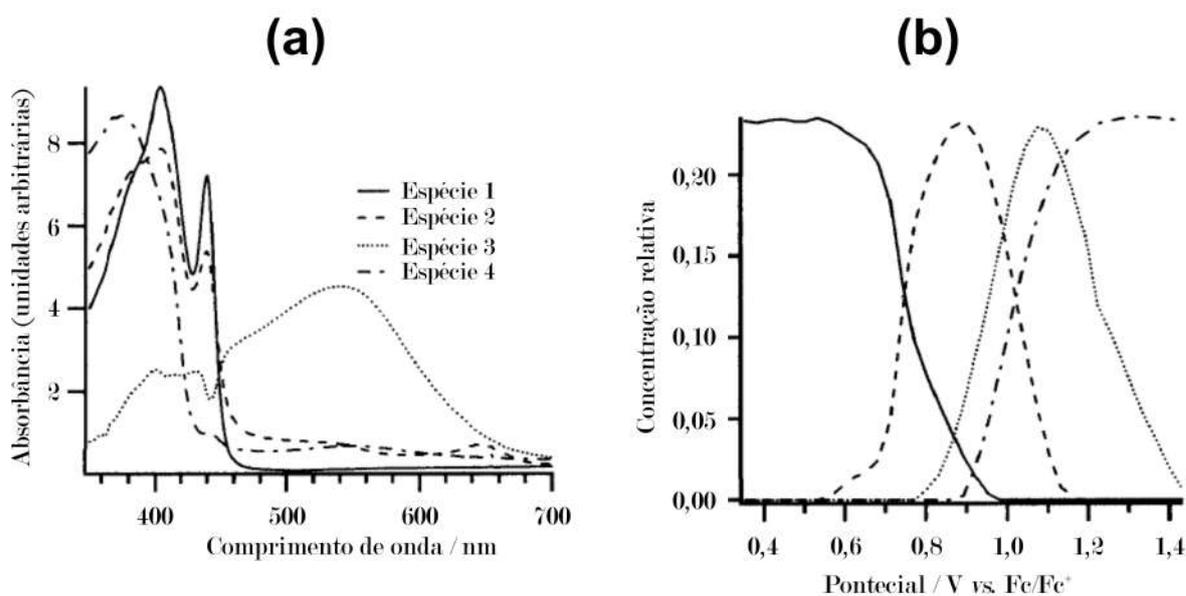


Imagem adaptada de [115]

Uibel e Harris [116] adquiriram dados espectroeletróquímicos utilizando espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS, *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*). Os dados foram modelados através do método de resolução de curvas SMCR (*Self-Modeling Curve Resolution*) e foi possível realizar investigações fenomenológicas sobre a formação e dessorção de monocamadas policristalinas de hexanotiolato.

O mecanismo de redução da 9,10-antraquinona e propriedades eletroquímicas foram estimadas por Shamsipur et al. [117] utilizando dados de segunda ordem obtidos por espectroeletróquímica. Os dados espectroscópicos foram adquiridos na região do UV-Vis utilizando eletrodos opticamente transparentes. Através da deconvolução foram obtidos os espectros puros das três espécies envolvidas no processo redox.

Recentemente a redução do óxido de grafeno foi estudada empregando as técnicas de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) e voltametria cíclica [54]. Uma ilustração da célula empregada pode ser observada na Figura 2.9. Utilizou-se um cristal de ZnSe, o qual foi revestido com uma grade de ouro visando aumentar a seletividade. As análises foram realizadas *in situ* visando elucidar o mecanismo da oxidação do grafeno.

Figura 2.9: Ilustração de célula espectroeletróquímica utilizada por Pfaffeneder-Kmen e colaboradores

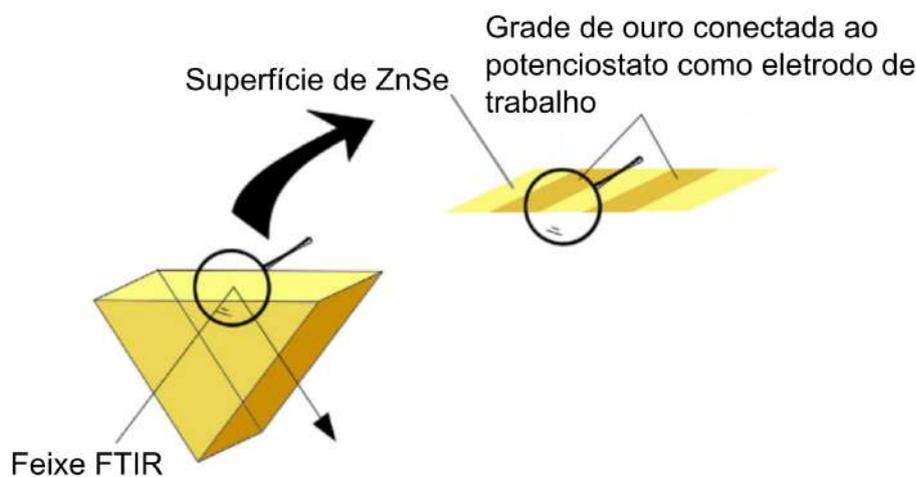
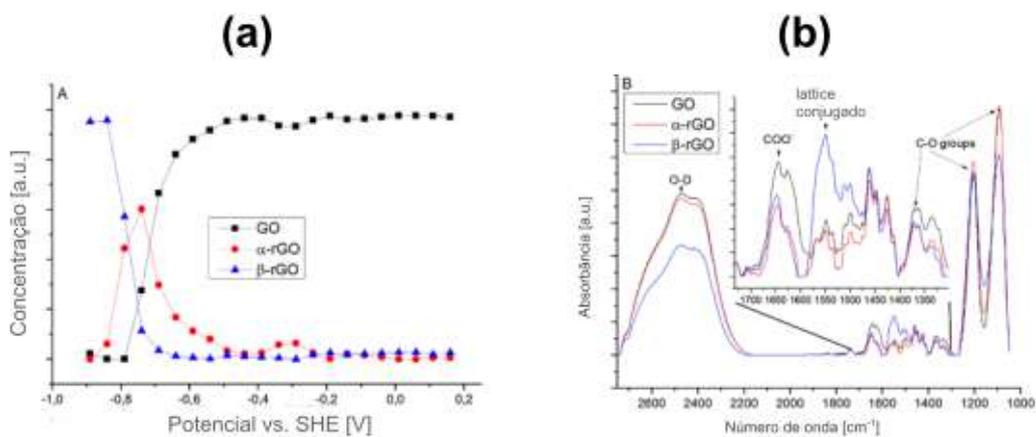


Imagem adaptada de [54]

Os dados obtidos foram deconvoluídos utilizando o algoritmo MCR-ALS. As restrições de não-negatividade (em ambos os modos) e balanço de massa foram empregadas. Foi possível obter os perfis instrumentais dos componentes puros (GO,  $\alpha$ -rGO e  $\beta$ -rGO), conforme ilustrado na Figura 2.10.

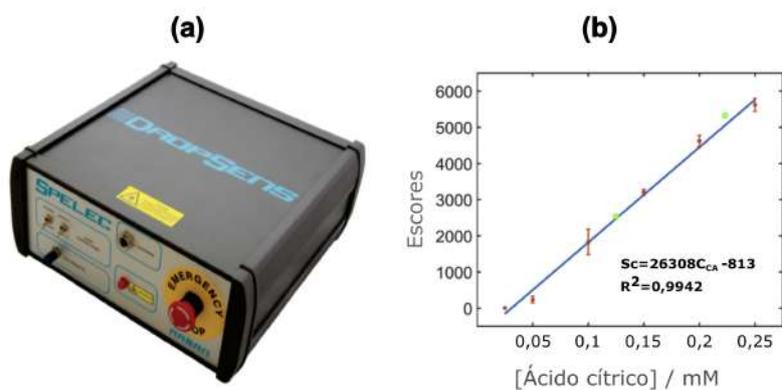
Figura 2.10: Perfis (a) eletroquímicos e (b) espectrais deconvoluídos através do MCR-ALS reportados por Pfaffeneder-Kmen e colaboradores



Imagens adaptadas de [54]

Perales-Rondon e colaboradores [55] estudaram a espectroeletroquímica do ácido úrico empregando espectroscopia Raman e voltametria de varredura linear. Para isso foi utilizado um equipamento comercial (Spelec Raman) fabricado pela DropSens, ilustrado na Figura 2.11(a), o qual reúne em um único equipamento a fonte de luz, o detector e o potenciostato. Segundo os autores, os dados obtidos são trilineares e foram tratados empregando PARAFAC. Nesse trabalho também é demonstrada a possibilidade de empregar esse arranjo experimental, em estudos quantitativos. Para isso, os autores construíram uma curva de calibração para o ácido cítrico e efetuaram previsões em duas amostras de teste, como pode ser observado na Figura 2.11(b).

Figura 2.11: (a) Spelec Raman DropSens e (b) Curva de calibração para o ácido cítrico reportada por Perales-Rondon e colaboradores



Imagens adaptadas de [55]

Alguns estudos de finalidade qualitativa e/ou fenomenológica envolvendo espectroeletróquímica bidimensional tem sido publicados nos últimos anos [59–61]. Em 2015, Garoz-Ruiz e colaboradores [60] demonstraram a potencialidade da espectroeletróquímica bidimensional através da aquisição de dados espectroeletróquímicos para ferroceno utilizando OTEs a base de nanotubos de carbono e uma cela espectroeletróquímica, ambos confeccionados pelo grupo de trabalho. Tanto na medição com o feixe de luz normal, quanto na medição com o feixe de luz paralelo foi utilizada a espectroscopia de transmitância. Além disso, nesse trabalho os autores também apresentam a metodologia para transferência dos nanotubos de carbono para diferentes substratos como: PET, vidro, quartzo, ITO, alumínio, etc. Em 2017, em outro trabalho do grupo, Izquierdo e colaboradores [61] empregaram um arranjo experimental semelhante na análise do comportamento espectroeletróquímico de um complexo de o-vanilina-cobre(II). Nesse estudo, para a medida do sinal espectroscópico com o feixe incidindo de forma normal a superfície utilizou-se a espectroscopia de reflectância. Ao passo que as medidas com o feixe incidindo paralelamente à superfície foram realizadas com espectroscopia de absorvância. Ambos os estudos possuem enfoque fenomenológico. Apesar disso, ficam evidentes as possibilidades que a espectroeletróquímica bidimensional pode proporcionar não só do ponto de vista experimental, como também em relação à modelagem desse sinal mais rico.

### 2.7 Aplicações quantitativas da espectroeletróquímica e ordem superior

As aplicações quantitativas ainda são reduzidas e constituem uma área com grande potencial para desenvolvimento. Há pouco mais de uma dezena de trabalhos envolvendo espectroeletróquímica e aplicações quantitativas de calibração de ordem superior.

Herrero e colaboradores [56] utilizaram dados espectroeletróquímicos para avaliar a capacidade de detecção de estratégias de calibração univariadas frente a metodologias de calibração de ordem superior, as quais apresentaram um melhor desempenho. Os autores apresentam também uma proposta de demonstração acerca da trilinearidade de dados obtidos através da combinação da espectroscopia de absorção e voltametria em sistemas reversíveis. Dados espectroeletróquímicos, como os ilustrados na Figura 2.12, foram obtidos para a o-tolidina e ferrocianeto de potássio (interferente) de modo a avaliar a vantagem de segunda ordem, a qual foi alcançada para o sistema avaliado. O artigo também aborda questões fenomenológicas importantes como a relação entre  $dA/dt$  (taxa de variação da absorvância com relação ao tempo) e os perfis voltamétricos.

Figura 2.12: Sinal espectroeletróquímico para uma mistura de *o*-tolidina  $3,2 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$  e ferrocianeto de potássio  $3,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  reportado por Herrero e colaboradores

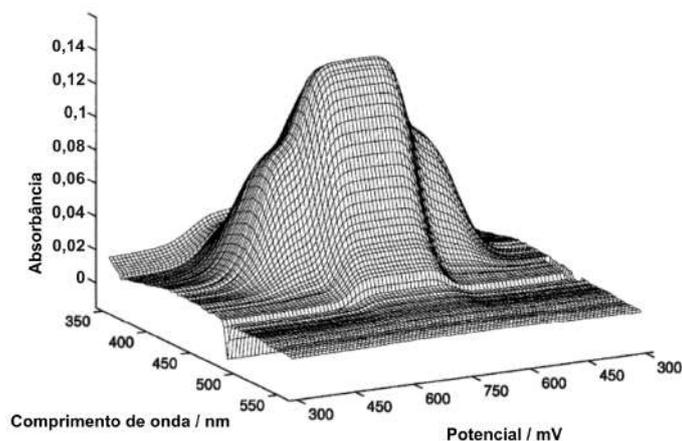


Imagem adaptada de [56]

Eletrodos impressos DropSens DRP-110 foram utilizados na determinação de dopamina através de espectroeletróquímica [13]. As medidas foram realizadas através de espectroscopia de reflectância na região do UV-VIS. O processo eletroquímico foi conduzido por voltametria de varredura linear. Em um primeiro momento, os dados foram tratados através MCR-ALS. Segundo os autores foi possível recuperar os espectros dos componentes puros e os perfis de concentração. Em um segundo momento, visando avaliar a vantagem de segunda ordem, os autores efetuaram a determinação da dopamina na presença de catecol (interferente no modo eletroquímico) utilizando o PARAFAC. Os perfis eletroquímicos e espectrais deconvoluídos podem ser observados nas Figuras 2.13(a) e 2.13(b), respectivamente. Os autores afirmam que os voltamogramas do sistema dopamina e catecol apresentam sobreposições que inviabilizariam a utilização de estratégias de calibração univariadas envolvendo somente os sinais eletroquímicos. Interessante notar que o gráfico da Figura 2.13a, associado ao modo eletroquímico, mantém essa sobreposição, entretanto no modo espectroscópico os perfis dos dois analitos diferem bastante. Essa riqueza de informações, inerente à espectroeletróquímica, permite a deconvolução matemática e possibilita alcançar da vantagem de segunda ordem.

Os autores reportam predições para uma amostra de teste contendo  $3,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$  de dopamina e  $5,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  de catecol. Foram obtidas predições de  $2,88 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$  (recuperação de 96%) para a dopamina e  $5,5 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  para catecol (recuperação de 110%).

Figura 2.13: Perfis (a) eletroquímicos e (b) espectrais deconvoluídos para o sistema dopamina e catecol

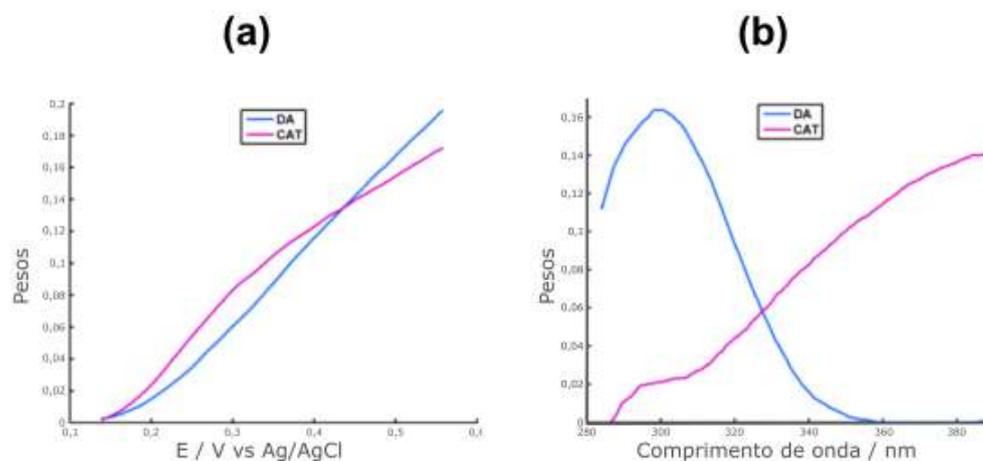


Imagem adaptada de [13]

A vantagem de segunda ordem já foi explorada na determinação de acetaminofen em amostras Novafen [57]. As determinações foram efetuadas através da combinação da espectroscopia de absorção na região do UV-VIS com a voltametria cíclica. Foram obtidos dados de segunda ordem como ilustrado na Figura 2.14. Um eletrodo de malha de carbono modificado com nanotubos foi utilizado como eletrodo de trabalho.

Figura 2.14: Sinal espectroeletroquímico de uma amostra de acetaminofen

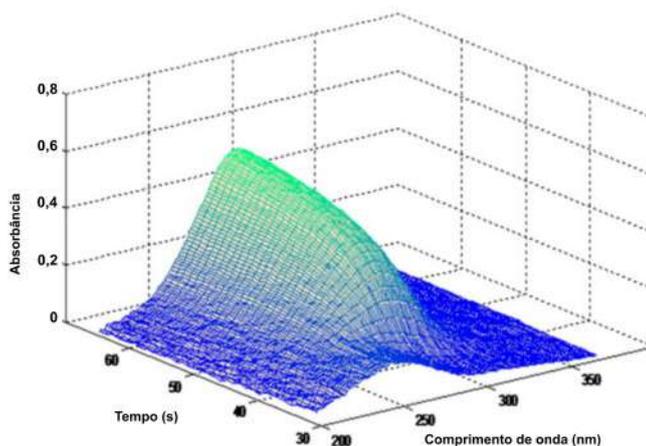


Imagem adaptada de [57]

Ao empregar o algoritmo MCR-ALS deve-se efetuar o aumento da matriz em um dos modos instrumentais. Os autores efetuaram testes empregando ambos os modos, porém o desdobramento no modo espectral conduziu a melhores resultados. A Figura 2.15 ilustra os resultados obtidos. Na Figura 2.15a são mostrados os perfis obtidos para modo espectral (modo aumentado) e na Figura 2.15b os perfis cinéticos (modo não aumentado). A linha em vermelho foi atribuída a um interferente desconhecido.

Figura 2.15: Deconvolução de um conjunto de dados utilizado na determinação de acetaminofen em amostras de Novafen

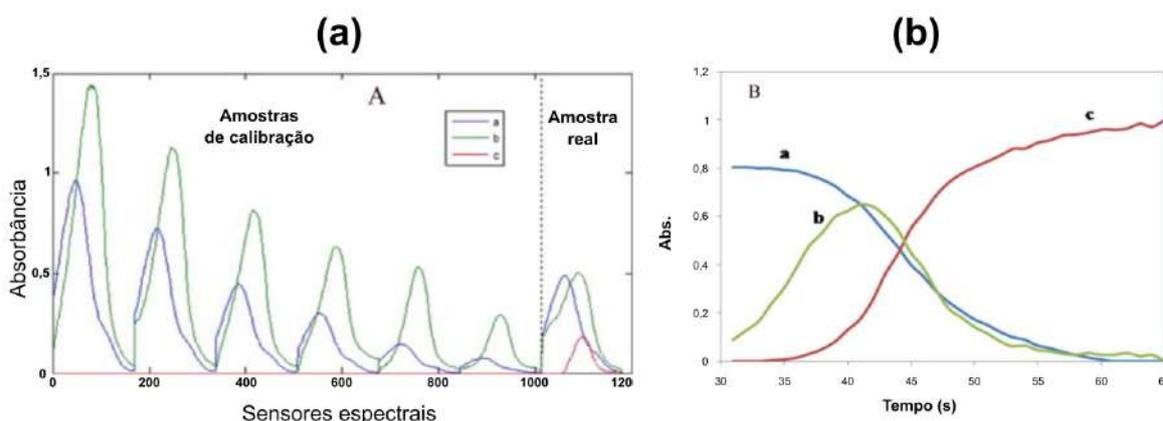


Imagem adaptada de [57]

A deconvolução matemática dos dados fornece os perfis puros dos componentes da mistura. Aliando os resultados da deconvolução com os conhecimentos químicos sobre o sistema pode-se relacionar os perfis aos possíveis componentes e/ou interferentes presentes na amostra. Nesse trabalho os autores obtiveram três perfis. O perfil que aparece em vermelho na Figura 2.15 foi atribuído a um interferente, o que é corroborado pelo gráfico na parte superior da mencionada figura. Pode-se notar que esse componente não estava presente no conjunto de calibração (curva vermelha horizontal), aparecendo somente na amostra real. Os demais componentes (curvas azul e verde) foram utilizados na tentativa de levantar curvas de calibração. Os autores apresentam duas curvas de calibração, porém somente a curva gerada a partir do componente em azul conduziu a boas predições. Não são realizadas inferências sobre a natureza desses componentes, isto é, a quais espécies poderiam estar associados. Recuperações médias de 94,95 % foram obtidas para as amostras de teste modeladas utilizando o componente em azul.

Em 2017 Garoz-Ruiz [118] e colaboradores publicaram um artigo onde apresentam a ideia de espectroeletróquímica *In Vivo*. Nesse trabalho os autores realizaram a determinação direta de ácido ascórbico em toranja. Diversas novidades são ilustradas

nesse trabalho, entre elas a confecção do eletrodo impresso de nanotubos de carbono realizada pelos autores, o qual pode ser visto na Figura 2.16a e o interessante arranjo experimental utilizado na medida, mostrado na Figura 2.16b.

Figura 2.16: (a) Esquema de eletrodo impresso de nanotubos de carbono reportado por Garoz-Ruiz e colaboradores, (b) Arranjo experimental reportado por Garoz-Ruiz e colaboradores

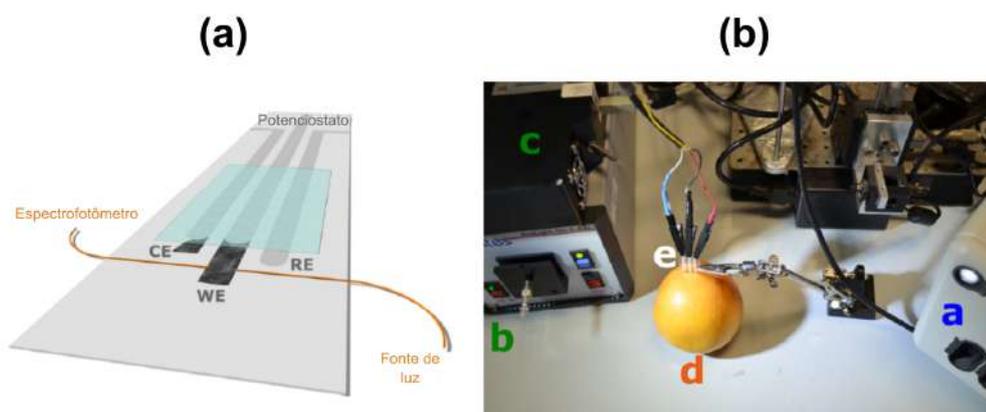


Imagem adaptada de [118]

As determinações foram feitas utilizando metodologias multivariadas baseadas em PLS, tendo sido possível efetuar quantificações na faixa de concentrações entre  $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$  e  $3,5 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ . No artigo menciona-se a intenção de aplicar outros métodos de calibração, como PARAFAC, futuramente.

Recentemente, Garoz-Ruiz e colaboradores [119] efetuaram a determinação de misturas binárias de catecol/dopamina e dopamina/epinefrina utilizando estratégias de calibração de segunda ordem. Os dados espectroeletróquímicos para os dois pares de analitos foram adquiridos e modelados separadamente. O conjunto de dados da mistura catecol/dopamina foi adquirido utilizando eletrodos modificados de nanotubos de carbono, os quais foram confeccionados pelos pesquisadores utilizando uma metodologia desenvolvida pelo próprio grupo [60]. O conjunto de dados da dopamina/epinefrina foi adquirido empregando eletrodos impressos comerciais de carbono (Metrohm DRP-110). Espectroscopia de absorvância com o feixe de luz incidindo paralelamente a superfície do eletrodo de trabalho foi utilizada em ambos os conjuntos. As interferências entre os pares de analitos foram resolvidas utilizando o PARAFAC como estratégia de calibração de segunda ordem. Para isso, foram construídos dois conjuntos de calibração, um para dopamina/catecol e o outro para dopamina/epinefrina. Para cada conjunto foram realizados 16 experimentos contendo misturas desses analitos. Nesse trabalho, as concentrações analíticas se situaram na faixa entre  $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  e  $1,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ . Os modelos construídos pelos autores apresentaram boa capacidade

preditiva.

Seguindo uma ideia anteriormente apresentada [55], Hernandez e colaboradores [120] efetuaram a determinação de ácido úrico em amostras sintéticas de urina utilizando espectroscopia Raman amplificada por superfície e voltametria cíclica. Nesse trabalho foi possível construir uma curva de calibração para o ácido úrico na faixa de 50 a 150  $\mu\text{molL}^{-1}$ .

Olmo e colaboradores [121] efetuaram a determinação de dopamina, ácido ascórbico e ácido úrico empregando dados derivados em conjunto com calibração de segunda ordem. É uma estratégia inovadora, porém diferentemente das técnicas DLVA e DCVA onde os dados são derivados com respeito ao potencial, nesse trabalho os dados foram derivados com respeito aos comprimentos de onda visando ressaltar diferenças no comportamento espectroeletróquímico. Os dados derivados de espectroeletróquímica em camada delgada foram deconvoluídos através do PARAFAC. Uma amostra de teste foi empregada para avaliar as predições para os três analitos. Foram obtidos bons resultados, o limite de detecção para o modelo construído foi da ordem de  $10^{-5}\text{molL}^{-1}$ .

Grande parte dos trabalhos envolvendo espectroeletróquímica e calibração de segunda ordem reportam determinações em concentrações na faixa de  $10^{-5}\text{molL}^{-1}$  e  $10^{-3}\text{molL}^{-1}$ . Essas concentrações acabam sendo definidas pela técnica espectroscópica empregada. Havendo necessidade de trabalhar em uma faixa de concentrações distinta podem-se utilizar técnicas espectroscópicas compatíveis com a faixa de concentrações desejada.

#### 3.1 Instrumentação

Todos os voltamogramas foram adquiridos utilizando um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT101.

Nos estudos sobre a espectroeletroquímica do ferrocianeto de potássio e dos isômeros do benzenodiol, foi utilizado um arranjo de três eletrodos, composto por um eletrodo de grade de platina como eletrodo de trabalho (ver Figura 3.1(a)), um fio de platina como contra-eletrodo e um eletrodo de Ag/AgCl como eletrodo de referência (ver Figura 3.1(b)). Nesse arranjo experimental o feixe de luz atravessa o eletrodo de grade de platina, sendo adequado à realização de medidas de transmitância. A cubeta de quartzo, ALS 013510, usada nas medidas é específica para estudos de espectroeletroquímica e contém uma fenda com caminho óptico de 1,0 mm onde o eletrodo de grade é acomodado. O arranjo de três eletrodos e a cubeta utilizados são de fabricação da ALS Co., Ltd.

Nos estudos sobre a espectroeletroquímica da o-tolidina, dopamina e epinefrina foram utilizados eletrodos impressos Metrohm DRP-110. Os eletrodos impressos constituem uma célula eletroquímica completa, sendo compostos por um eletrodo de trabalho de carbono com 4 mm de diâmetro, um eletrodo auxiliar de carbono e um eletrodo de referência de Ag/AgCl. A Figura 3.2(a) ilustra o eletrodo utilizado. Por se tratar de um eletrodo opaco foi utilizado nos estudos envolvendo espectroscopia de reflectância. O eletrodo era acomodado dentro de uma cela de teflon própria para medidas de reflectância fabricada pela Dropsens. Na Figura 3.2(b) é possível observar o eletrodo impresso sobre a cela de teflon.

### Capítulo 3

Figura 3.1: (a) Eletrodo de grade de platina e (b) eletrodo de referência de Ag/AgCl

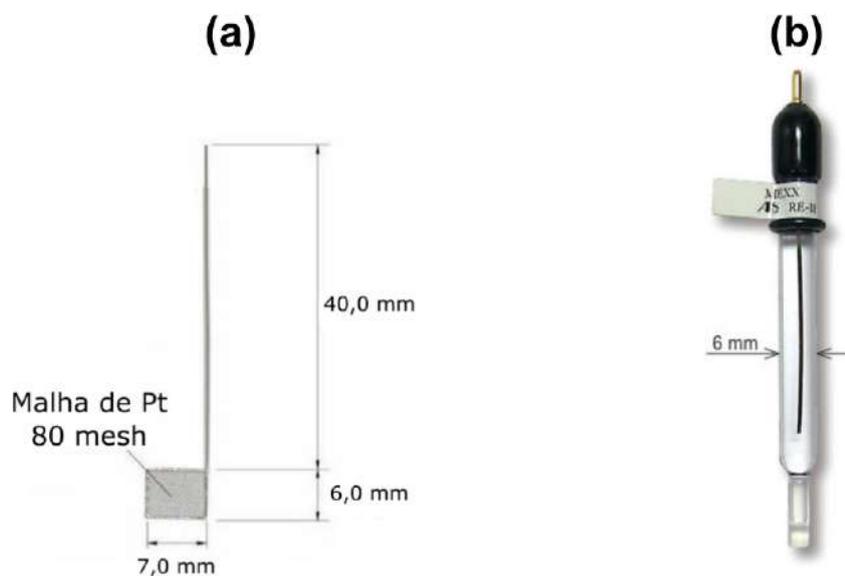
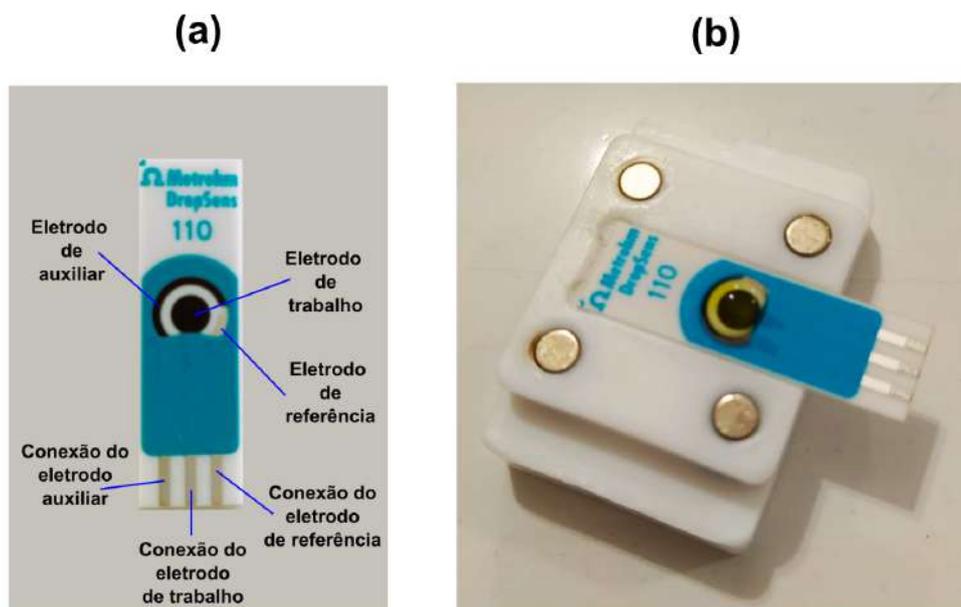


Figura 3.2: (a) Eletrodo impresso Metrohm DRP110 (b) eletrodo impresso sobre a cela de teflon



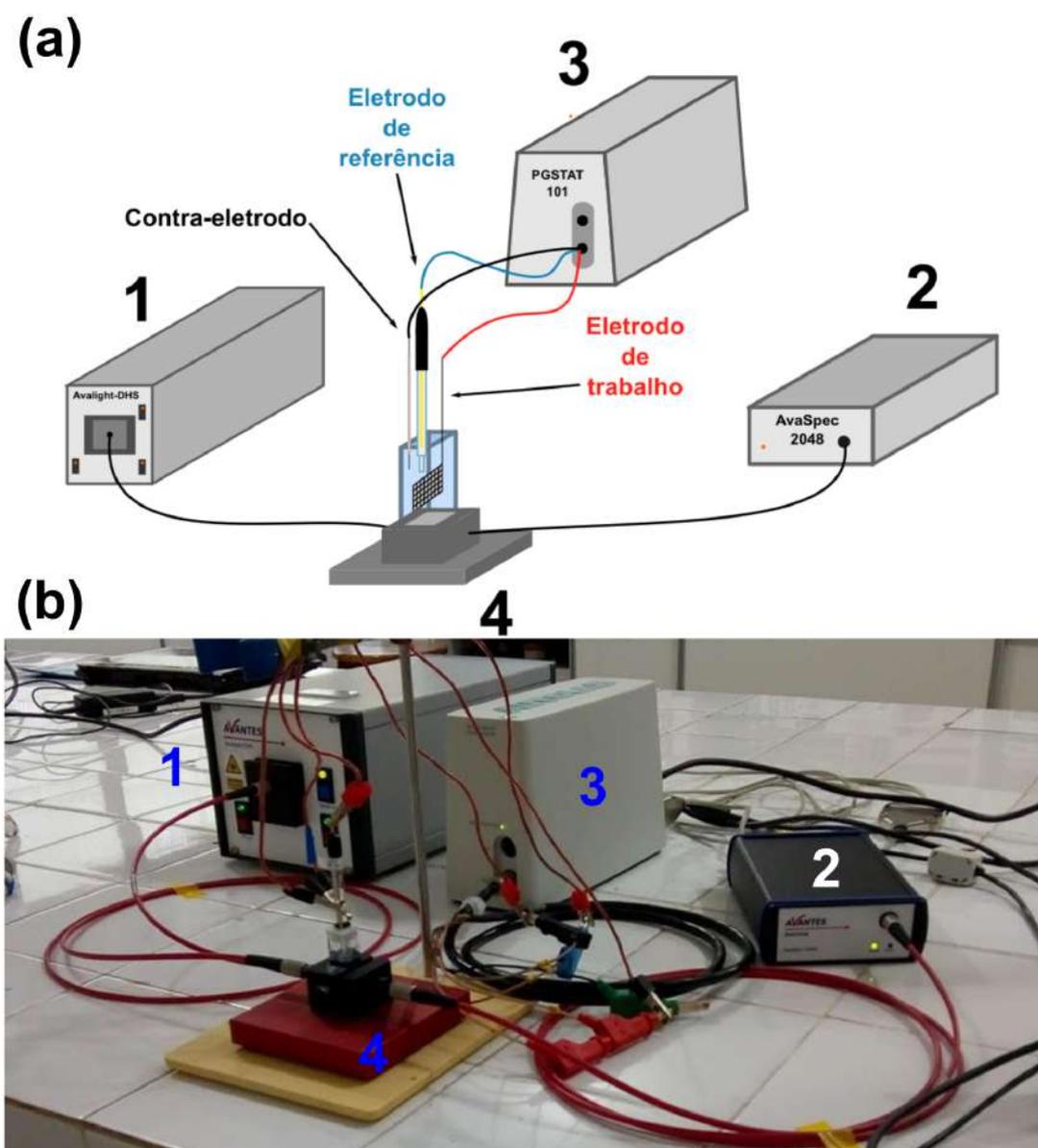
Os espectros foram adquiridos utilizando um sistema da Avantes constituído por um detector CCD Starline AvaSpec 2048 e uma fonte de luz Avalight-DHS.

Fibras ópticas adequadas a cada arranjo experimental foram utilizadas na transmissão do feixe de luz. Para os estudos envolvendo medidas de transmitância utilizou-se um conjunto de 2 fibras ópticas Avantes FC-UV200-2. No estudo de reflectância utilizou-se o probe Avantes FCR-7UVIR200-2.

### Capítulo 3

A Figura 3.3(a) traz um esquema do arranjo experimental utilizado nos estudos sobre a espectroeletroquímica do ferrocianeto de potássio e dos isômeros do benzenodiol. Os números 1, 2, 3 e 4 representam a fonte de luz, o detector, o potenciostato e a célula espectroeletroquímica, respectivamente. Na Figura 3.3(b) é possível observar uma fotografia do arranjo experimental.

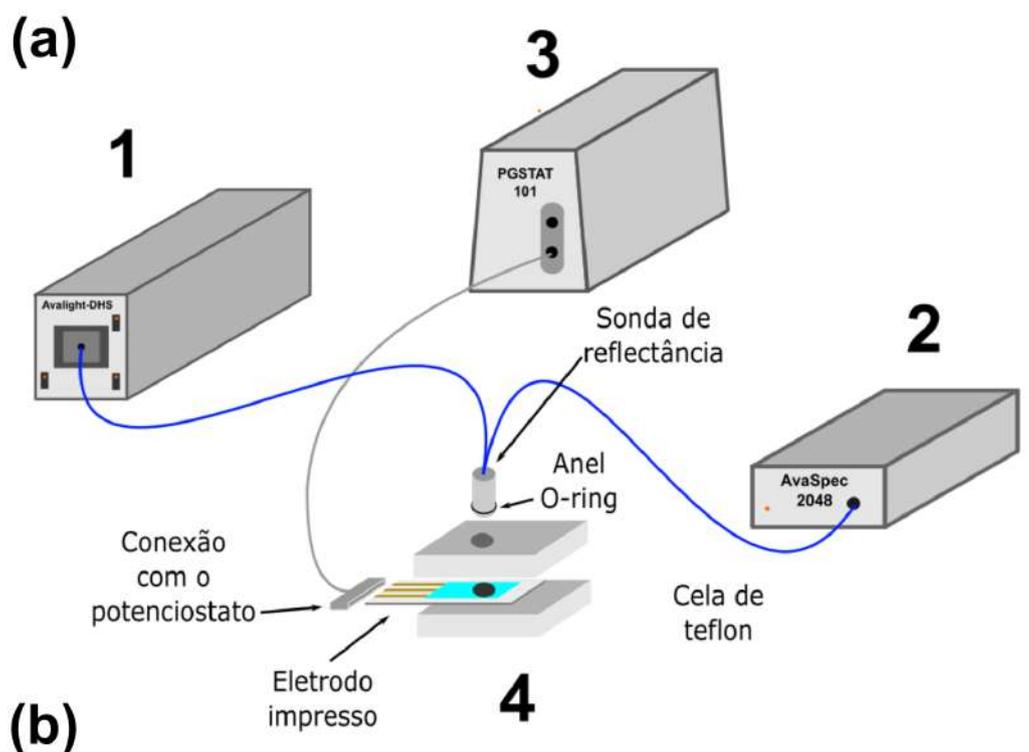
Figura 3.3: (a) Esquema do arranjo experimental empregado nos estudos sobre a espectroeletroquímica do ferrocianeto de potássio e dos isômeros do benzenodiol (b) fotografia do arranjo experimental



### Capítulo 3

A Figura 3.4(a) traz um esquema do arranjo experimental utilizado nos estudos sobre a espectroeletroquímica da o-tolidina, dopamina e epinefrina. Os números 1, 2, 3 e 4 representam a fonte de luz, o detector, o potenciostato e a célula espectroeletroquímica, respectivamente. Na Figura 3.4(b) é possível observar uma fotografia do arranjo experimental.

Figura 3.4: (a) Esquema do arranjo experimental empregado nos estudos sobre a espectroeletroquímica da o-tolidina, dopamina e epinefrina (b) fotografia do arranjo experimental



Os diversos equipamentos foram interligados utilizando cabo Trigger TTL. O controle e sincronização das medidas foi realizado utilizando o Software Nova 2.1.

### 3.2 Reagentes e soluções

Reagentes de grau analítico foram utilizados em todos os experimentos descritos nesse texto. Salvo indicação contrária, as soluções foram preparadas com água deionizada de um sistema de purificação Millipore Milli-Q<sup>®</sup> com resistência específica de  $18,2 M\Omega \cdot cm$ , a  $25^{\circ}C$ . O tampão Briton-Robinson pH 5,0, utilizado no estudo sobre a espectroeletróquímica dos isômeros do benzenodiol, foi preparado através da mistura de volumes iguais de soluções  $0,2 molL^{-1}$  de ácido acético ( $CH_3COOH$ ),  $0,2 molL^{-1}$  de ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) e  $0,2 molL^{-1}$  de ácido ortofosfórico ( $H_3PO_4$ ). O pH foi ajustado através de adições de NaOH. As soluções estoque de hidroquinona (HQ), catecol (CAT) e resorcinol (RES) foram preparadas a partir de reagentes Sigma-Aldrich. O-tolidina (CAS 119-93-7)<sup>1</sup>, dopamina e epinefrina também foram adquiridas da Sigma-Aldrich. O tampão fosfato salino pH = 7,0 foi preparado pela mistura de iguais volumes de soluções de fosfato dissódico ( $Na_2HPO_4$ )  $0,30 molL^{-1}$  e fosfato monopotássico ( $KH_2PO_4$ )  $0,20 molL^{-1}$ . Todas as soluções eram preparadas ao início do dia de trabalho.

### 3.3 Metodologia

#### 3.3.1 Espectroeletróquímica do ferrocianeto de potássio

A voltametria de varredura linear (LSV) foi empregada como técnica electroanalítica nos estudos sobre a espectroeletróquímica do ferrocianeto de potássio,  $K_4[Fe(CN)_6]$ . A oxidação do ferrocianeto a ferricianeto de potássio foi conduzida na janela de potencial de 0,0 a 0,4 V. As varreduras foram realizadas em uma taxa de  $5,0 mVs^{-1}$ .

Cinco padrões em duplicata com concentrações variando de 0,2 a  $1,0 mmolL^{-1}$  foram empregados na construção do conjunto de calibração. O eletrólito-suporte foi o KCl  $1,0 molL^{-1}$ .

Os espectros de absorção foram adquiridos na região compreendida entre 200 e 340 nm, com tempo de integração de 1,05 ms. Um novo espectro era registrado a cada 0,0244 V totalizando 16 espectros ao final da varredura. Cada uma dos 16 espectros é resultado da média de 100 espectros registrados pelo detector. O espectro do eletrólito-suporte foi utilizado como espectro de referência.

---

<sup>1</sup>Não confundir a o-tolidina com o-toluidina. A o-tolidina tem fórmula  $[-C_6H_3(CH_3)-4-NH_2]_2$ , a o-toluidina, por outro lado, tem fórmula  $CH_3C_6H_4NH_2$

Antes de cada medida era realizada a limpeza e condicionamento do eletrodo de trabalho. A limpeza do eletrodo de grade de platina era realizada eletroquimicamente por intermédio de uma série de varreduras de voltametria cíclica na janela entre -0,2 e 1,2 V utilizando uma solução de  $H_2SO_4$   $0,5 \text{ molL}^{-1}$ . O condicionamento era realizado através de uma série de varreduras de voltametria cíclica utilizando o eletrólito-suporte. As varreduras eram realizadas na janela de 0,0 a 0,4 V até a estabilização da linha de base. O volume de solução empregado nas medidas foi de 2,0 mL.

### 3.3.2 Espectroeletroquímica dos isômeros do benzenodiol

No estudo sobre a espectroeletroquímica dos isômeros hidroquinona, catecol e resorcinol do benzenodiol utilizou-se a voltametria de pulso diferencial (DPV) como técnica eletroanalítica. A janela de potencial utilizada foi de -0,1 a 1,0 V, com incremento de potencial de 10 mV, amplitude de pulso de 50 mV, tempo de pulso de 0,05 s e taxa de varredura de  $20 \text{ mVs}^{-1}$ .

Um conjunto de calibração individual foi construído para cada analito. Foram utilizados sete padrões com concentrações variando entre 0,0 e  $1,2 \text{ mmolL}^{-1}$ . O tampão Briton-Robinson (TBR) pH = 5,0 à temperatura ambiente foi utilizado como solução eletrolítica.

Os espectros de absorção foram adquiridos na faixa de 200 a 400 nm. A cada 100 mV um novo espectro era adquirido utilizado a média de 100 espectros e tempo de integração de 1,05 ms. Ao final da varredura um total de 10 espectros era registrado para cada medida. O espectro da solução eletrolítica foi utilizado como espectro de referência.

A limpeza foi realizada seguindo mesmo procedimento descrito no item 3.3.1. O condicionamento também foi realizado de maneira análoga ao descrito na seção 3.3.1, porém utilizando o tampão TBR nas varreduras de voltametria cíclica na janela de potencial compreendida entre -0,1 a 1,0 V. O volume de solução empregado nas medidas foi de 2,0 mL.

Para a validação dos modelos foram feitas previsões utilizando 8 soluções de teste preparadas em água de torneira. As concentrações dos analitos nas soluções de teste podem ser vistas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Soluções de teste utilizadas na validação dos modelos para os isômeros do benzenodiol.

Benzodiol Sample	HQ/ $mmolL^{-1}$	CAT/ $mmolL^{-1}$	RES/ $mmolL^{-1}$
B1	0,7	-	-
B2	-	0,7	-
B3	-	-	0,7
B4	0,5	0,5	-
B5	0,5	-	0,5
B6	-	0,5	0,5
B7	0,5	0,5	0,5
B8	0,3	0,4	0,3

#### 3.3.3 Espectroeletróquímica da o-tolidina

A espectroeletróquímica da o-tolidina foi estudada empregando espectroscopia de reflectância em conjunto com voltametria de varredura linear (LSV). A janela de potencial empregada nas medidas voltamétricas foi de 0,0 a 0,8 V com taxa de de varredura foi de 0,01  $Vs^{-1}$ . As soluções de o-tolidina empregadas nos experimentos foram preparadas utilizando  $H_2SO_4$  0,5  $molL^{-1}$  como solução eletrolítica.

Os espectros de reflectância foram adquiridos entre 350 e 600 nm. A cada 0,06 V um novo espectro era adquirido utilizado a média de 25 espectros. Ao final de cada medida 13 espectros eram registrados. O primeiro espectro de cada medida foi utilizado como espectro de referência. Os espectros foram adquiridos utilizando um tempo de integração de 50 ms. Os espectros de reflectância foram numericamente convertidos para espectros de absorbância.

Para a realização das medidas 50  $\mu L$  de solução eram adicionados sobre a superfície do eletrodo de trabalho. A utilização de 50  $\mu L$  garante o preenchimento de toda a área geométrica do eletrodo e possibilita que o probe esteja em contato com a amostra. Em seguida o eletrodo era colocado dentro de uma célula de teflon própria para medidas de reflectância. Por fim, era feita a conexão com o potenciostato e a fibra óptica era posicionada sobre a superfície do eletrodo com o auxílio da célula de teflon. Visando garantir a constância do caminho óptico, um anel *o-ring* foi acoplado ao probe de reflectância, como mostrado na Figura 3.4(a).

O conjunto de calibração utilizado nesse estudo contém 6 padrões de o-tolidina com concentrações variando entre 0 e 0,5  $mmolL^{-1}$ . Para a validação dos modelos foram preparadas duas soluções de teste, O1 e O2, com concentrações de o-tolidina de 0,33  $mmolL^{-1}$  e 0,43  $mmolL^{-1}$ , respectivamente.

### 3.3.4 Espectroeletróquímica da dopamina e epinefrina

A oxidação dos analitos foi realizada em uma janela de potencial de 0,0 a 1,0 V utilizando uma taxa de varredura de  $10,0 \text{ mVs}^{-1}$  e incremento de potencial de 0,00244 V. Tampão fosfato salino pH 7,0 foi utilizado como solução eletrolítica. Para cada medição foi utilizado um volume de  $50 \mu\text{L}$  de solução. Os espectros de reflectância foram adquiridos na região de 280 a 600 nm, com tempo de integração de 15 ms. A cada 0,0244 V um novo espectro era adquirido utilizado a média de 100 espectros. O primeiro espectro foi utilizado como referência para as medidas de reflectância. Os espectros de reflectância foram numericamente convertidos para espectros de absorbância.

Foram construídos dois conjuntos de calibração individuais, um para a dopamina e outro para a epinefrina. O conjunto de calibração da dopamina foi construído utilizando padrões de dopamina com concentrações variando entre 0,8 e  $5,0 \text{ mmolL}^{-1}$ . O conjunto de calibração da epinefrina, por sua vez, utilizou padrões com concentrações entre 0,5 e  $4,0 \text{ mmolL}^{-1}$ .

Os dados foram modelados através do PARAFAC. A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada através da previsão utilizando soluções de teste cujas concentrações são mostradas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2: Concentrações analíticas de dopamina e epinefrina nas amostras de teste.

Amostra	Dopamina $/\text{mmolL}^{-1}$	Epinefrina $/\text{mmolL}^{-1}$
t1	4,15	1,20
t2	3,60	1,45
t3	4,85	1,75
t4	2,15	3,40

## 3.4 Softwares utilizados

O controle e sincronização dos experimentos foi realizado por meio do software Autolab Nova 2.1. A modelagem do conjunto de dados foi realizada empregando o algoritmo PARAFAC, implementado no N-Way toolbox para Matlab [122] e executado através do programa e interface gráfica MVC2 [123], o qual dispõe de uma janela gráfica amigável e integra os principais algoritmos de calibração de segunda ordem. Os modelos U-PLS/RBL também foram construídos usando o MVC2. O MVC2 foi executado através do Matlab 2010a.

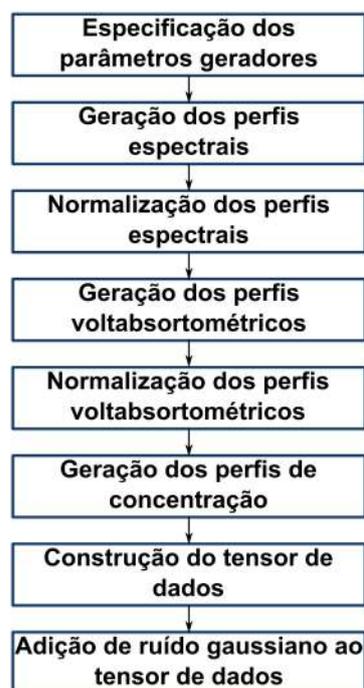
### 3.5 Geração de dados simulados

Os conjuntos de dados simulados foram gerados a partir de 3 scripts Matlab (disponíveis no Apêndice D) desenvolvidos no escopo desse trabalho. São eles:

- *createdata* script principal onde o tensor de dados é construído a partir da definição dos parâmetros geradores do conjunto de dados, tais como: número de sensores dos modos espectral e eletroquímico, percentual de ruído, parâmetros dos perfis espectrais e voltabsortométrico, perfis de concentração, etc;
- *gaussiana* função responsável pela geração dos perfis espectrais (ver Apêndice C). Quatro parâmetros devem ser fornecidos a essa função, são eles: o número de sensores, a altura da gaussiana, a posição do centro da curva e a largura;
- *gerarSigmoid* função responsável pela geração dos perfis voltabsortométricos através da definição dos parâmetros da função sigmoide (ver Apêndice C). Três parâmetros devem ser fornecidos, a saber: o número de sensores, a posição da inflexão da curva e um fator de escala.

O fluxograma do processo de geração dos conjuntos de dados está ilustrado na Figura 3.5

Figura 3.5: Fluxograma do processo de geração dos conjuntos de dados simulados



A normalização dos perfis espectrais e voltabsortométricos foi realizada através da norma euclidiana. Os perfis voltabsortométricos e de concentrações foram gerados para simular situações de degenerescência. No caso dos perfis voltabsortométricos, para cada analito foi gerado um par de curvas complementares sujeitas a restrição de soma constante. Essa abordagem objetiva simular o comportamento eletroquímico das espécies oxidada e reduzidas em um processo redox. Nos perfis de intensidade, um único vetor de coeficientes foi gerado para as espécies oxidada e reduzida referentes a um mesmo analito

Os estudos foram realizados utilizando 5 conjuntos de dados distintos, os quais são descritos a seguir.

- Conjunto de dados n<sup>o</sup> 1 - simulação de um sistema espectroeletroquímico onde as formas oxidada e reduzida não apresentam sobreposição espectral;
- Conjunto de dados n<sup>o</sup> 2 - simulação de um sistema espectroeletroquímico onde as formas oxidada e reduzida apresentam sobreposição parcial;
- Conjunto de dados n<sup>o</sup> 3 - simulação de um sistema espectroeletroquímico onde as formas oxidada e reduzida apresentam sobreposição total;
- Conjunto de dados n<sup>o</sup> 4 - simulação de um sistema espectroeletroquímico onde o interferente não participa do processo redox;
- Conjunto de dados n<sup>o</sup> 5 - simulação de um sistema espectroeletroquímico onde o analito e o interferente participam do processo redox.

Em todos os casos adicionou-se 1,0% de ruído normalmente distribuído ao tensor de dados.

Modelos PARAFAC foram construídos para os 5 conjuntos de dados. Os três primeiros conjuntos foram modelados utilizando 2 componentes. O conjunto de dados n<sup>o</sup> 04 foi modelado com 3 componentes. Por fim, o conjunto de dados n<sup>o</sup> 05 foi modelado com 4 componentes. Duas estratégias de modelagem foram empregadas. Na primeira estratégia, a qual chamaremos de modelo 1, foram construídos modelos sem a aplicação de restrições adicionais ao PARAFAC. Na segunda, a qual chamaremos de modelo 2, aplicou-se a restrição de não-negatividade aos 3 modos.

Os conjuntos de calibração de cada um dos conjuntos de dados estudados continham 16 padrões. Os conjuntos de teste possuíam 50 amostras de teste, as quais foram empregadas na avaliação da capacidade preditiva dos modelos. Os vetores de concentração das amostras de teste foram gerados aleatoriamente no intervalo utilizado na construção do conjunto de calibração.

---

### Resultados e Discussão

---

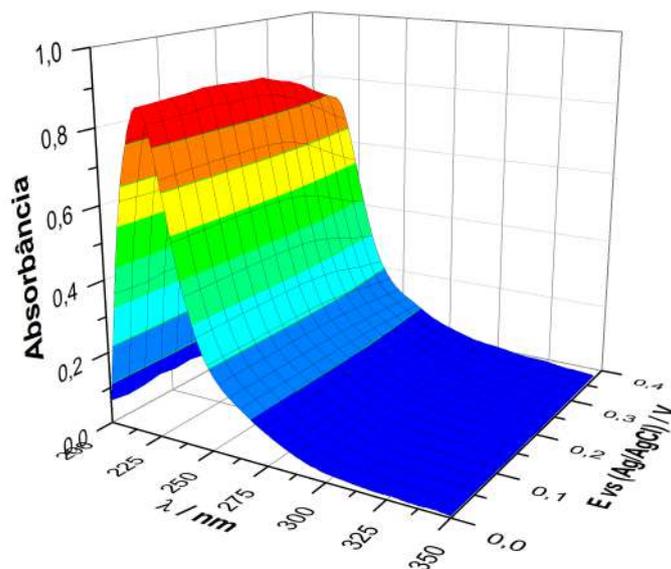
Esse capítulo foi subdividido em sete seções nas quais são apresentados resultados e discussões sobre os sistemas estudados. As seções 4.1 e 4.2 tratam da espectroeletroquímica do ferrocianeto de potássio utilizado como sistema modelo na avaliação de um dos arranjos experimentais propostos. Esse sistema foi tratado empregando duas estratégias de calibração distintas. Na seção 4.1 aborda-se a calibração utilizando os dados não tratados. Na seção 4.2, ilustra-se a calibração utilizando os dados espectroeletroquímicos pré-processados através do cálculo da primeira derivada em relação ao potencial. As seções 4.3 e 4.4 trazem resultados da aplicação do arranjo experimental empregado nas duas seções anteriores. Trata-se de um estudo sobre a espectroeletroquímica dos isômeros do benzenodiol HQ, CAT e RES utilizando as duas estratégias de calibração já mencionadas. A seção 4.5 é dedicada a um estudo teórico onde foram abordadas questões ligadas a degenerescência de soluções e seus impactos na modelagem de dados espectroeletroquímicos. Em seguida, na seção 4.6 é apresentado um estudo sobre a espectroeletroquímica da o-tolidina. A o-tolidina foi utilizada como sistema modelo para avaliar o segundo arranjo experimental proposto. Por fim, como aplicação desse segundo arranjo, são apresentados na seção 4.7 os resultados do estudo da espectroeletroquímica da dopamina e epinefrina.

#### 4.1 Espectroeletroquímica do ferrocianeto de potássio

O  $K_4[Fe(CN)_6]$  foi usado como sistema modelo para avaliar um dos arranjos experimentais propostos. Esse sistema apresenta comportamento eletroquímico e espectroscópico bastante conhecido. Nesse experimento a oxidação do ferrocianeto de

potássio a ferricianeto de potássio foi conduzida através da voltametria de varredura linear (LSV). Espectros de absorção na região do UV-Vis foram coletados ao longo da corrida voltamétrica. Na Figura 4.1 pode-se observar o tipo de sinal analítico obtido nos ensaios.

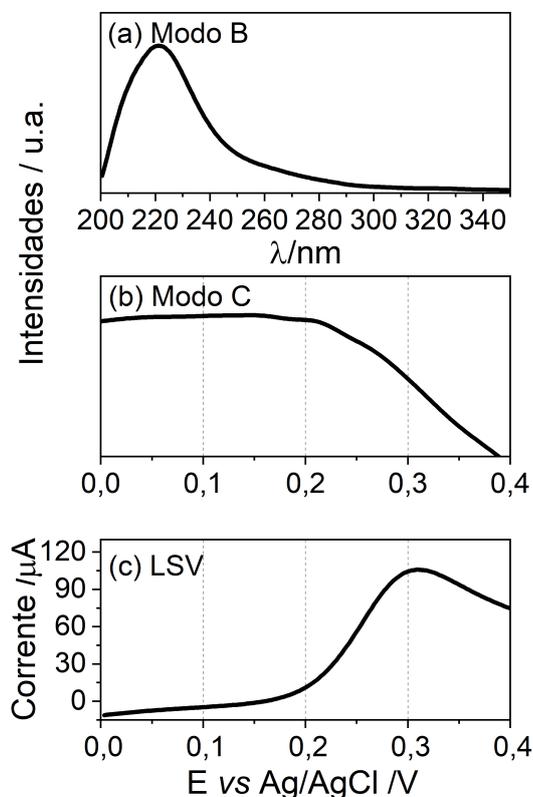
Figura 4.1: Sinal analítico obtido para uma solução de  $K_4[Fe(CN)_6]$   $0,6 \text{ mmolL}^{-1}$  durante a oxidação do ferrocianeto de potássio a ferricianeto de potássio



Na Figura 4.1 observa-se um perfil espectral que se modifica ao longo da varredura voltamétrica. Por volta de  $220 \text{ nm}$  observa-se um pico cuja intensidade diminui ao longo da varredura. Por volta de  $300 \text{ nm}$  observa-se um incremento sutil nos valores de absorbância. Provavelmente a diminuição da intensidade do pico por volta de  $200 \text{ nm}$  está relacionada ao consumo de ferrocianeto de potássio. Já os incrementos, em  $300 \text{ nm}$ , devem estar associados à formação de ferricianeto de potássio.

Herrero e colaboradores demonstraram a trilinearidade para conjuntos de dados obtidos através de espectroeletróquímica por LSV e espectroscopia de absorção em sistemas eletroquimicamente reversíveis e que obedecem à Lei de Lambert-Beer [56]. Como o sistema em estudo atende a todas as características descritas por Herrero e colaboradores, foi feita a suposição de trilinearidade e efetuou-se a deconvolução utilizando o algoritmo PARAFAC. A decomposição foi realizada considerando 1 componente, pois a utilização de mais componentes acarretava redução abrupta da consistência de núcleo. Para o modelo com 1 componente, a consistência de núcleo foi de 99,93% indicando um bom ajuste trilinear. A variância explicada com 1 componente foi de 99,5%. O resultado da decomposição utilizando o PARAFAC está ilustrado na Figura 4.2.

Figura 4.2: (a) Modo B e (b) modo C do PARAFAC, e (c) voltametria de varredura linear a uma velocidade de  $5,0 \text{ mV s}^{-1}$  em  $\text{KCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$



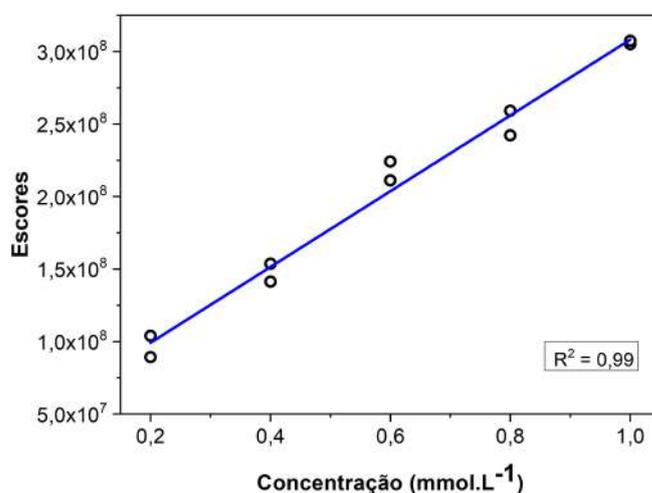
A Figura 4.2(a) mostra o Modo B, onde foi recuperado o espectro do ferrocianeto de potássio. A Figura 4.2(b) ilustra o Modo C, onde se recupera o perfil voltabsorptométrico. Esse perfil ilustra a forma como a intensidade do sinal de absorvância varia ao longo da corrida de potencial. Como absorvância e concentração são proporcionais, pode-se interpretar a Figura 4.2(b) como uma representação da variação da composição do sistema ao longo da corrida voltamétrica.

Observando o voltamograma de varredura linear do sistema, Figura 4.2(c), percebe-se que por volta de  $0,2 \text{ V}$  ocorre um rápido aumento da corrente devido à reação eletroquímica de conversão do ferrocianeto de potássio em sua forma oxidada. Esse processo eletroquímico se reflete nos dados espectroscópicos através da redução da absorvância observada na Figura 4.2(b) próximo de  $0,2 \text{ V}$ . A diminuição da absorvância está associada ao consumo de ferrocianeto de potássio decorrente do processo redox.

É importante mencionar que os modos B e C, mostrados nas Figuras 4.2(a) e 4.2(b), estão normalizados. Como consequência dessa normalização, esses modos não guardam informações sobre a concentração analítica das espécies. Essas informações são recuperadas através do Modo A, cujos escores apresentam intensidades relacionadas

as concentrações analíticas. A curva de calibração pseudo-univariada mostrada na Figura 4.3 foi construída calibrando o escores contidos no Modo A do PARAFAC contra as concentrações analíticas dos padrões. A curva apresentou um  $R^2 = 0,99$ .

Figura 4.3: Curva pseudo-univariada construída para o ferrocianeto de potássio



Para avaliar o poder preditivo do modelo foram realizadas previsões utilizando soluções de teste. Duas soluções de teste foram preparadas com  $0,35 \text{ mmolL}^{-1}$  (S1) e  $0,85 \text{ mmolL}^{-1}$  (S2) de  $K_4[Fe(CN)_6]$ . Foram obtidas previsões de  $0,37 \text{ mmolL}^{-1}$  para S1 e  $0,88 \text{ mmolL}^{-1}$  para S2.

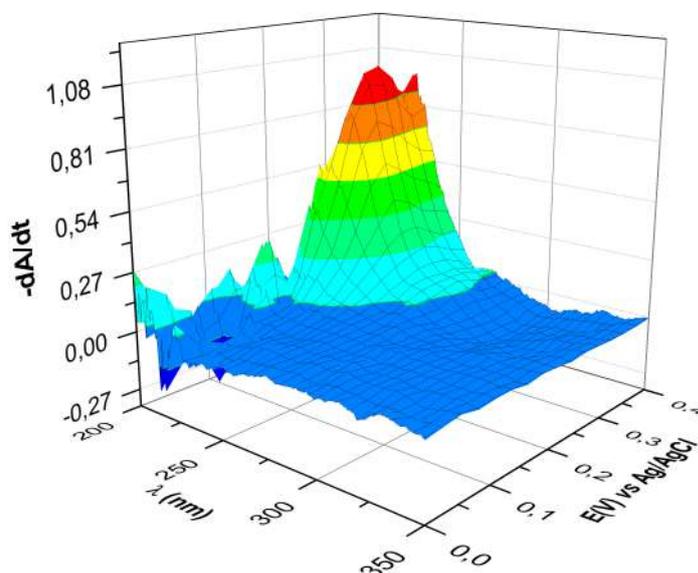
## 4.2 Espectroeletróquímica do ferrocianeto de potássio utilizando dados derivados

Nessa seção serão apresentados alguns resultados obtidos através da calibração de dados espectroeletróquímicos pré-processados empregando o cálculo da primeira derivada em relação ao potencial. Trata-se de uma tentativa de expandir os conceitos envolvidos nas técnicas DLVA e DCVA a dados de segunda ordem.

Para isso, foi feita a derivação das matrizes de dados correspondentes a cada amostra em relação ao potencial. Embora na Equação (2.8) a derivada esteja relacionada ao tempo, o potencial e o tempo apresentam uma relação linear em voltametria de varredura linear e voltametria cíclica. Assim sendo, as curvas derivadas em relação ao tempo ou potencial tem a mesma forma. As derivadas foram calculadas empregando o polinômio interpolador de Lagrange, ver Apêndice A.

Na Figura 4.4 o sinal derivado para uma solução de ferrocianeto de potássio (a mesma solução cujos dados brutos estão mostrados na Figura 4.1) é ilustrado.

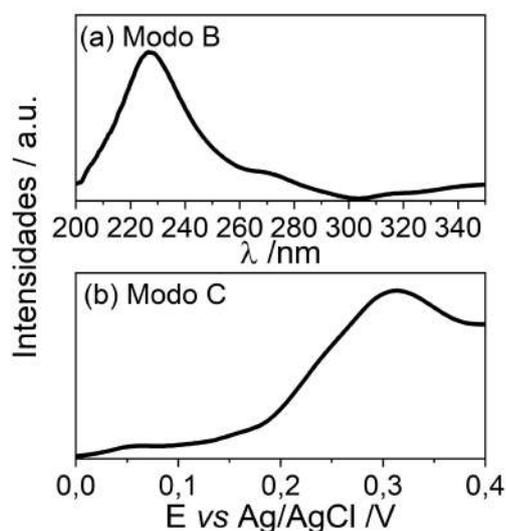
Figura 4.4: Sinal derivado para uma solução de  $K_4[Fe(CN)_6]$   $0,6 \text{ mmolL}^{-1}$



Na Figura 4.4 o gráfico foi refletido, isto é, traçou-se o gráfico da superfície  $-dA/dE$ , ao invés de  $dA/dE$ . Nas Equações (2.7) e (2.8) os termos  $\frac{n^2 F^2 V_c}{RT}$  e  $\frac{nF}{RT}$  são positivos. O termo  $P(E) = \exp\left[\frac{nF}{RT}(E - E^0)\right]$  é comum a ambas as equações. Desse modo, a orientação relativa entre as curvas depende do sinal do termo  $(A_{OXI} - A_{RED})$  em um determinado comprimento de onda. Deve-se enfatizar que o sinal de absorbância medido ao longo da corrida voltamétrica depende das concentrações das espécies oxidadas e reduzidas. No sistema em estudo, inicialmente só há ferrocianeto de potássio. Ao longo da corrida voltamétrica ocorre a formação de ferricianeto de potássio. A formação do ferricianeto ocasiona uma redução da absorbância nas proximidades do pico em  $220 \text{ nm}$ , ver Figura 4.1b, pg. 58. A forma oxidada, ferricianeto de potássio, apresenta uma menor absorbância nessa região. Desse modo  $(A_{OXI} - A_{RED}) < 0$ . Visando obter uma curva semelhante ao voltamograma do sistema em estudo foi feita a reflexão dos dados a serem utilizados na calibração.

Os dados derivados também foram deconvoluídos utilizando o PARAFAC. A Figura 4.5 mostra os modos B e C do PARAFAC obtidos após a deconvolução. A consistência de núcleo foi de 100%, indicando um bom ajuste trilinear. A variância explicada foi de 98%. Nessa abordagem os modos B e C são associados, respectivamente, ao espectro do ferrocianeto de potássio e uma curva que se assemelha ao voltamograma do sistema. Foram feitas previsões utilizando os dados derivados. As previsões obtidas foram de  $0,32 \text{ mmolL}^{-1}$  para a amostra de teste S1 e  $0,88 \text{ mmolL}^{-1}$  para S2.

Figura 4.5: (a) Modo B e (b) modo C obtidos através do PARAFAC para os dados derivados



### 4.3 Espectroeletróquímica dos isômeros do benzenodiol

A espectroeletróquímica dos isômeros do benzenodiol: CAT, HQ e RES foi estudada empregando o mesmo arranjo utilizado no estudo da espectroeletróquímica do ferrocianeto de potássio. Esses isômeros apresentam grande sobreposição tanto no modo espectral, quanto eletroquímico. Trata-se, portanto, de um sistema bastante desafiador onde é possível avaliar os impactos da vantagem de segunda ordem.

Na Figura 4.6(a) e 4.6(b) são mostrados, respectivamente, os espectros e os voltamogramas dos analitos CAT, HQ e RES. Os espectros do CAT e RES têm uma forte sobreposição na região de 260 *nm* a 290 *nm*. O espectro da hidroquinona apresenta duas bandas, uma mais intensa em 240 *nm* e outra menos intensa em 289 *nm*. Nos voltamogramas de pulso diferencial são observados três picos de oxidação cujos potenciais de pico de 0,38 V, 0,45 V e 0,78 V correspondem às oxidações de HQ, CAT e RES, respectivamente. Na Figura 4.6(c) são mostrados os voltabsortogramas normalizados para comprimento igual a 1 de padrões de HQ em 245 nm, CAT em 275 nm e RES em 272 nm. Observando a Figura 4.6 fica evidente que a determinação simultânea desses isômeros utilizando técnicas espectroscópicas ou eletroanalíticas, individualmente, pode ser bastante desafiadora devido às interferências químicas próprias do sistema. A utilização da espectroeletróquímica associada à calibração de segunda ordem permite tratar esse problema. As Figuras 4.7(a-d) ilustram o tipo de sinal obtido nas medidas espectroeletróquímicas.

Figura 4.6: (a) Espectros de absorvância para soluções de HQ, CAT e RES, (b) voltamogramas de pulso diferencial para o sistema e (c) voltabsortogramas normalizados para soluções de HQ em 245 nm, CAT em 275 nm e RES em 272 nm

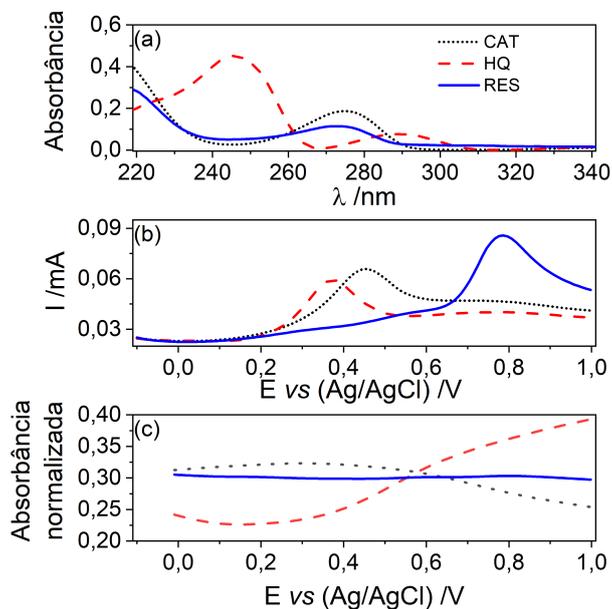
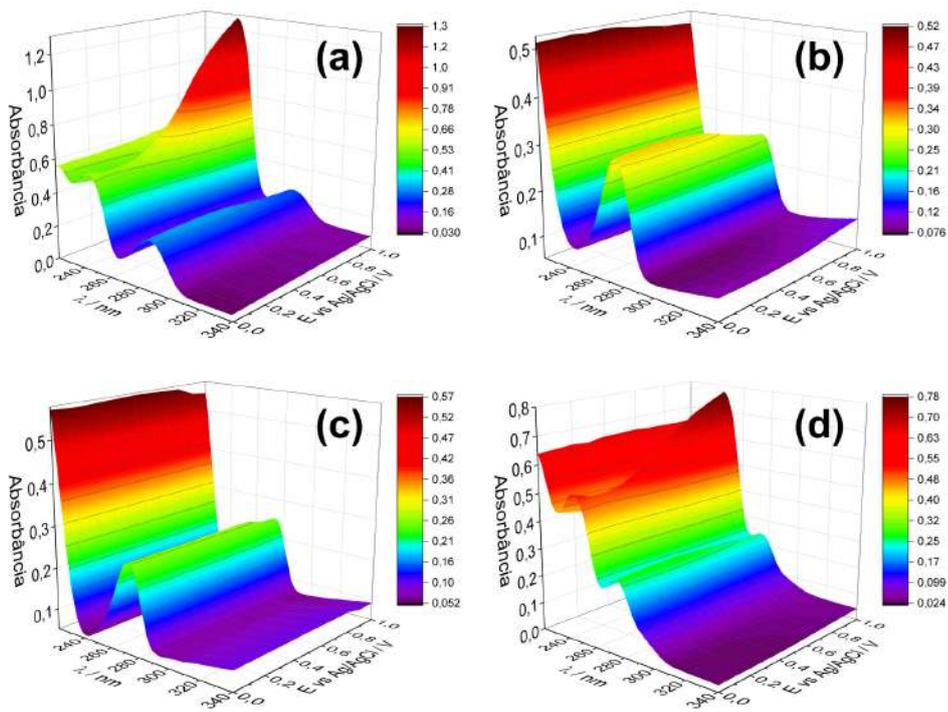
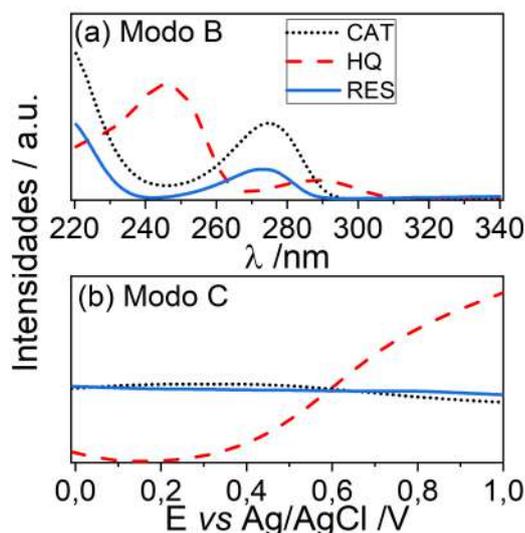


Figura 4.7: Sinal analítico obtido para uma solução de (a) HQ, (b) CAT, (c) RES e (d) uma mistura equimolar de HQ, CAT, RES



Primeiramente foram feitas tentativas de calibração empregando o PARAFAC. Os modos B e C recuperados através do PARAFAC podem ser vistos na Figura 4.8.

Figura 4.8: (a) Modo B e (b) Modo C obtidos utilizando o PARAFAC



Os conjuntos de calibração de cada analito foram modelados utilizando 1 componente. As consistências de núcleo foram superiores a 90% para os três analitos. As variâncias explicadas foram de 96%, 98% e 95% para HQ, CAT e RES, respectivamente. Na Figura 4.8(a) são mostrados os perfis espectrais recuperados no Modo B, os quais são bastante semelhantes aos espectros apresentados na Figura 4.6(a). O Modo C, Figura 4.8(b), representa os perfis voltabsortométricos. O perfil voltabsortométrico recuperado para a HQ é bastante semelhante ao voltabsortograma mostrado na Figura 4.6(c). No caso do CAT a variação de intensidade no voltabsortograma da Figura 4.6(c) é mais pronunciada que a observada na Figura 4.8(b). O perfil voltabsortométrico recuperado para o resorcinol é bastante semelhante ao mostrado no voltabsortograma da Figura 4.6(c), em ambos os casos há pouca variação no sinal do resorcinol. Visando avaliar a capacidade preditiva dos modelos e a vantagem de segunda ordem, foram feitas previsões utilizando um conjunto de teste composto por 8 soluções preparadas em água de torneira. Importante ressaltar que os conjuntos de calibração foram construídos utilizando água deionizada, em contraste com as amostras de teste preparadas utilizando água de torneira. Os resultados de previsões obtidos empregando o PARAFAC são mostrados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Predições obtidas para os analitos HQ, CAT e RES através do PARAFAC

Analito	Amostra	Referência/ $mmolL^{-1}$	Predição/ $mmolL^{-1}$	
HQ	B1	0,70	0,74	
	B4	0,50	0,50	
	B5	0,50	0,50	
	B7	0,50	0,50	
	B8	0,30	0,34	
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,03	
	REP (%)		2,5	
CORCONDIA		>90%		
CAT	B2	0,70	0,62	
	B4	0,50	0,44	
	B6	0,50	0,59	
	B7	0,50	0,48	
	B8	0,40	0,45	
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,06	
	REP (%)		5,0	
CORCONDIA		>90%		
RES	B3	0,70	0,76	
	B5	0,50	0,53	
	B6	0,50	0,60	
	B7	0,50	0,53	
	B8	0,30	0,40	
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,07	
	REP (%)		5,8	
CORCONDIA		>90%		

O menor valor de RMSEP ocorreu para a HQ. Esse resultado provavelmente está associado ao fato de que a HQ apresenta o comportamento bem distinto em relação aos outros dois analitos (ver Figura 4.8). Os valores de RMSEP obtidos para CAT e RES foram de 0,06 e 0,07  $mmolL^{-1}$ . Esses valores mais altos em relação aos obtidos para a HQ podem estar associados a menor variação no sinal analítico para esses analitos ao longo da varredura voltamétrica. Além da sobreposição espectral, ao se observar o perfil voltabsortométrico na Figura 4.8(b) verifica-se que os sinais do RES e do CAT praticamente se sobrepõem. Nesses casos, mesmo em um sistema com alta consistência de núcleo, é comum o PARAFAC não apresentar o melhor desempenho, já que uma das vias pode não ser suficientemente discriminante para separar os componentes da mistura. Por essa razão, avaliou-se também o algoritmo U-PLS/RBL que é mais robusto sob essas condições. A Tabela 4.2 mostra os resultados de previsão do U-PLS/RBL para as mesmas soluções de teste. A construção de modelos utilizando o U-PLS/RBL requer a especificação de 2 parâmetros, o número de variáveis latentes,  $N$ , e o número de componentes RBL,  $RBL$ . O número de variáveis latentes foi definido

através de validação cruzada *leave one out* utilizando o conjunto de calibração. Para definir o *RBL* foram construídos diversos modelos incrementando o valor de *RBL* até se observar a estabilização dos resíduos do modelo. Como mostrado nas Tabelas 4.1 e 4.2, resultados quantitativos aceitáveis foram obtidos através dos modelos PARAFAC e U-PLS/RBL.

Tabela 4.2: Predições obtidas para os analitos HQ, CAT e RES através do U-PLS/RBL

Analito	Amostra	Referência/ $mmolL^{-1}$	Predição/ $mmolL^{-1}$	$N_{PLS}$	$N_{RBL}$
HQ	B1	0,70	0,64	2	1
	B4	0,50	0,46		3
	B5	0,50	0,50		3
	B7	0,50	0,52		1
	B8	0,30	0,29		1
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,03		
REP (%)		2,5			
CAT	B2	0,70	0,64	2	1
	B4	0,50	0,45		1
	B6	0,50	0,52		1
	B7	0,50	0,44		3
	B8	0,40	0,44		3
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,05		
REP (%)		4,2			
RES	B3	0,70	0,62	1	1
	B5	0,50	0,49		4
	B6	0,50	0,66		3
	B7	0,50	0,48		3
	B8	0,30	0,17		3
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,10		
REP (%)		8,3			

O RMSEP obtido para a HQ utilizando U-PLS/RBL foi equivalente ao obtido através do PARAFAC. No caso do CAT observa-se uma pequena diminuição no RMSEP. Entretanto, no caso do RES a utilização do U-PLS/RBL não conduziu a melhorias no valor do RMSEP.

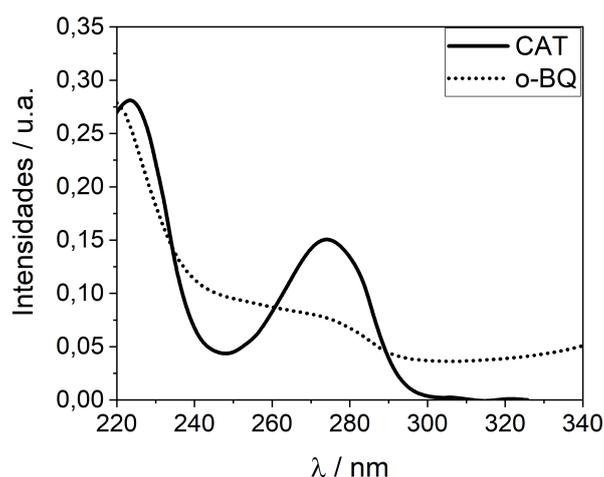
Os maiores valores de RMSEP verificados para o RES na modelagem com PARAFAC e U-PLS/RBL podem estar associados a pouca variação no sinal espectro-eletróquímico observada para essa espécie. O RES tem o potencial de oxidação mais alto dentre às três espécies estudadas, cerca de 0,78 V. Assim sendo, não são esperadas variações no sinal espectroeletróquímico dessa espécie antes desse potencial. Por volta de 0,78 V nota-se uma pequena redução na absorvância (ver 4.7(c)), entretanto essa redução é sutil. A m-benzoquinona, um dos possíveis produtos de oxidação do resorcinol, é apontada em alguns estudos como sendo termodinamicamente instável [124,125]. Além disso, o RES tem mecanismos de oxidação consideravelmente distintos dos ob-

servados para o CAT e HQ [126]. Essas características podem estar associadas a pouca variação observada no sinal espectroeletróquímico.

Ainda tratando sobre os perfis voltabsortométricos (ver Figura 4.8(b)), a pequena variação no sinal deconvoluído do CAT chama atenção. Uma hipótese seria a degenerescência de soluções. Em um processo redox, dependendo das condições experimentais empregadas é possível que o sinal analítico contenha contribuições não só do reagente, mas também do(s) produto(s). Em um caso como esse, as variações nas concentrações de cada espécie não são independentes. Um possível efeito da degenerescência seria a obtenção de perfis que não representassem os perfis dos componentes puros, mas sim combinações lineares dos perfis das espécies envolvidas. Os sinais de absorvância são proporcionais a concentração. Desse modo, espera-se que o perfil voltabsortométrico da forma reduzida indique uma redução da absorvância ao longo da varredura voltamétrica. No caso da forma oxidada espera-se o oposto, isto é, um perfil voltabsortométrico que indique um aumento da absorvância e conseqüentemente da concentração. A degenerescência leva a combinação desses dois perfis acarretando a recuperação de um perfil aproximadamente constante como o mostrado na Figura 4.8(b) para o CAT. O primeiro passo para avaliar essa hipótese consiste em verificar se os reagentes e produtos apresentam sinal analítico na janela espectral empregada.

Na Figura 4.9 são mostrados os espectros normalizados do CAT e do possível produto de oxidação, a *o*-benzoquinona (*o*-BQ) [127].

Figura 4.9: Espectros da CAT e *o*-BQ



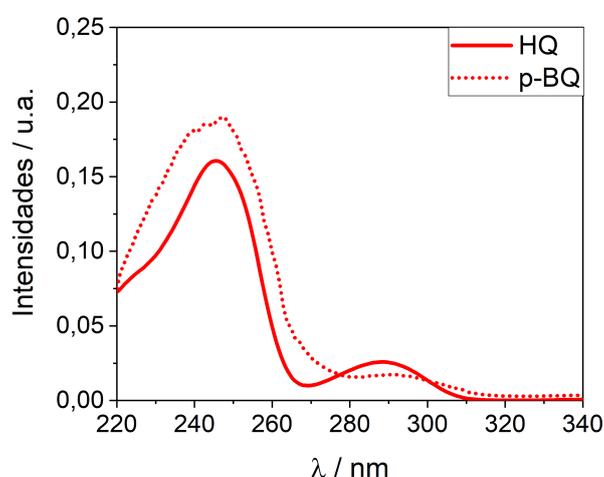
A Figura 4.9 evidencia a presença de sinal analítico das duas espécies na região espectral estudada. Ao longo do processo redox do CAT (ver Figura 4.7(b)) ocorre um incremento nos valores de absorvância por volta de 240 nm e uma redução por volta de 275 nm. Essas observações são consonantes com os espectros das formas oxidada e reduzidas mostradas na Figura 4.9. As reduções na absorvância decorrentes do consumo

de CAT são compensadas pela formação da o-BQ. É possível que essa característica tenha influenciado a obtenção de um perfil voltabsortométrico com variação sutil para o CAT.

Em princípio a degenerescência de soluções tem impacto sobre os resultados qualitativos. Do ponto de vista quantitativo não são esperados impactos, visto que a solução degenerada é uma solução matematicamente válida.

Nas Figuras 4.10 são mostrados os espectros normalizados da HQ e do possível produto de oxidação, a p-benzoquinona (p-BQ) [128].

Figura 4.10: Espectros da HQ e p-BQ



A HQ e seu possível produto de oxidação, a p-benzoquinona (p-BQ), também apresentam sinal espectral na janela utilizada nos estudos. Observando a Figura 4.7(a) nota-se que por volta de 245 nm ocorre um aumento na absorbância ao longo da varredura voltamétrica. Esse incremento é decorrente da formação do produto de reação. Olhando atentamente também é possível notar uma redução na absorbância por volta de 280 nm, a qual provavelmente está associada ao fato de que a hidroquinona está sendo consumida ao longo do processo redox e o produto de reação (p-BQ) apresenta menor absorvidade molar nessa região. O perfil voltabsortométrico recuperado para a HQ é claramente um perfil associado a formação de espécies (ver Figura 4.8(b)). Entretanto, o perfil espectral recuperado é mais próximo do perfil esperado para a HQ (ver Figura 4.8(a)), evidenciando que os perfis qualitativos observados consistem na mistura dos sinais da HQ e p-BQ.

A hipótese da degenerescência de soluções será revisitada na seção 4.5. Antes disso é interessante tecer algumas observações sobre essa hipótese.

### 4.3.1 Algumas considerações sobre o sinal espectroeletroquímico e trilinearidade

A principal motivação para se utilizar o PARAFAC como estratégia de calibração em dados espectroeletroquímicos de segunda ordem está associada a conjectura de que esses dados seguem uma estrutura trilinear. Herrero e colaboradores [56] apresentaram uma proposta de demonstração bastante interessante sobre a suposta trilinearidade. Nessa seção essa discussão será ampliada tendo como ponto de partida a demonstração de Herrero e colaboradores [56].

Primeiramente, consideremos um processo eletroquímico reversível cuja reação seja descrita pela Equação (4.1).



As concentrações das formas oxidada e reduzida são funções do potencial. A concentração total do analito nas formas oxidada e reduzida é constante, isto é, as espécies são naturalmente sujeitas a restrição de balanço de massa. Assim, pode-se escrever a Equação (4.2)

$$c_t = c_{Red} + c_{Ox} \quad (4.2)$$

O quociente de reação é uma função do potencial e pode ser descrito por meio da Equação (4.3).

$$Q = \frac{c_{Red}}{c_{Ox}} \quad (4.3)$$

Combinando as Equações (4.2) e (4.3) chega-se à Equação (4.4).

$$c_{Red} = \frac{c_t Q}{1 + Q} \quad (4.4)$$

A fração molar da forma reduzida é dada pela Equação (4.5).

$$x_{Red} = \frac{Q}{1 + Q} \quad (4.5)$$

Como o somatório das frações molares é igual à unidade, pode-se escrever a Equação (4.6) para a fração molar da forma oxidada.

$$x_{Ox} = \frac{1}{1 + Q} \quad (4.6)$$

Em Herrero e colaboradores [56] encontramos a Equação (4.7).

$$c_t = c_t \frac{Q}{1+Q} + c_t \frac{1}{1+Q} \quad (4.7)$$

A equação (4.7) pode ser expressa na forma da (4.8), a qual será um pouco mais útil para o entendimento dos passos subsequentes.

$$c_t = c_{Red} + c_{Ox} = c_t x_{Red} + c_t x_{Ox} \quad (4.8)$$

Nos passos seguintes será admitido um arranjo experimental em que o sinal espectroeletróquímico tenha sido obtido por espectroscopia de absorção em condições experimentais nas quais a lei de Lambert-Beer seja válida. A lei de Lambert-Beer pode ser expressa através da Equação (4.9).

$$A = cl\varepsilon \quad (4.9)$$

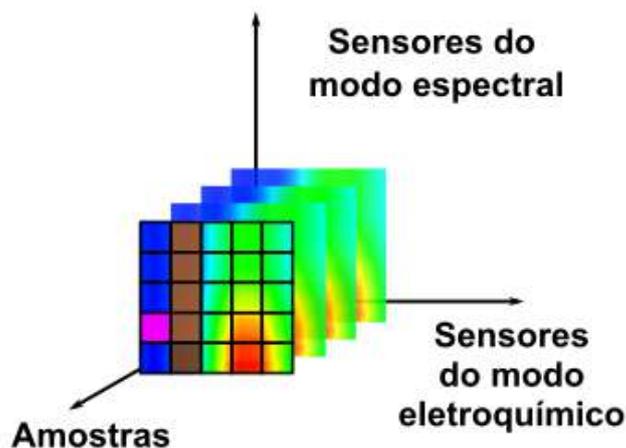
Onde:  $A$  representa a absorvância,  $c$  a concentração de uma determinada espécie química,  $l$  o caminho óptico e  $\varepsilon$  a absorvância molar.

Os sinais de absorvância são aditivos. Supondo  $N$  espécies no seio da solução a absorvância da mistura poderia ser expressa por meio da Equação (4.10).

$$A_t = l \sum_{i=1}^N c_i \varepsilon_i \quad (4.10)$$

De posse dessas considerações pode-se tecer alguns comentários sobre o sinal espectroeletróquímico. Na Figura 4.11 um tensor de três vias composto pelo empilhamento de  $k$  matrizes foi esquematizado.

Figura 4.11: Esquema de um tensor de dados de três vias



Cada uma dessas matrizes corresponderia a uma medida experimental. Essas matrizes teriam  $i$  linhas e  $j$  colunas, onde as  $i$  linhas estariam associadas aos sensores espectrais e as  $j$  colunas associadas aos sensores eletroquímicos. Cada elemento de uma matriz contendo as medidas experimentais corresponderia a um ponto da superfície que se obteria ao traçar o gráfico para o sinal de uma amostra.

A absorvância de um ponto,  $A_{ijk}$  (ver quadrado rosa na Figura 4.11) poderia ser modelada através da Equação (4.11).

$$A_{ijk} = c_{Red}l\varepsilon_{i_{Red}} + c_{Ox}l\varepsilon_{i_{Ox}} \quad (4.11)$$

Onde:  $l$  representa o caminho óptico, o subscrito  $ijk$  representa que estamos fixando esses índices e  $\varepsilon_i$  representa a absorvância molar de uma espécie em um determinado comprimento de onda,  $\lambda$ .

Caso se desejasse modelar um espectro, isto é, uma coluna da matriz de dados (ver coluna marrom Figura 4.11) seria necessário colecionar as absorvâncias molares de cada espécie nos comprimentos de onda em estudo em um vetor. Assim,  $\varepsilon = (\varepsilon_1, \varepsilon_2, \dots, \varepsilon_i)$  e a coluna da matriz de dados poderia ser modelada através da Equação (4.12).

$$\mathbf{A}_{jk} = c_{Red}l\varepsilon_{Red} + c_{Ox}l\varepsilon_{Ox} \quad (4.12)$$

O subscrito  $jk$  foi colocado para enfatizar que estamos fixando um sensor eletroquímico e uma determinada amostra.

O próximo passo seria descrever uma fatia do tensor de dados (ver malha quadriculada). Para isso seria interessante expressar  $c_{Red}$  e  $c_{Ox}$  como vetores, uma vez que seus valores variam ao longo da medida conforme o potencial aplicado. Para isso, pode-se utilizar o resultado expresso Equação (4.8). Os vetores seriam da forma  $\mathbf{C}_{Red} = c_t(x_{1_{Red}}, x_{2_{Red}}, \dots, x_{j_{Red}}) = c_t\mathbf{x}_{Red}$  e  $\mathbf{C}_{Ox} = c_t(x_{1_{Ox}}, x_{2_{Ox}}, \dots, x_{j_{Ox}}) = c_t\mathbf{x}_{Ox}$ . Para descrever a matriz de dados poderia-se utilizar a Equação (4.13).

$$\mathbf{A}_k = c_t\mathbf{x}_{Red}l\varepsilon_{Red} + c_t\mathbf{x}_{Ox}l\varepsilon_{Ox} \quad (4.13)$$

Ainda resta o subscrito  $k$  na Equação (4.13), pois a mesma só descreve uma fatia  $k$ . Antes de generalizar essa equação para o tensor de dados é necessário fazer alguns comentários. O primeiro comentário diz respeito a Equação (4.13). Observando essa equação percebe-se que a mesma representa um modelo bilinear. Isso é bastante razoável, dado que supondo a trilinearidade, as matrizes de cada amostra individualmente devem ser bilineares [92]. O segundo comentário diz respeito a uma hipótese implícita a estrutura de dados trilineares. Para que a generalização seja possível, os perfis contidos nos vetores  $\mathbf{x}$  e  $\varepsilon$  e referentes aos analitos devem ser comuns nas diversas

amostras do tensor de dados. É razoável supor isso em relação a  $\boldsymbol{\varepsilon}$ , pois as absorptividades molares são propriedades das moléculas. No caso dos perfis voltabsortométricos é necessário conhecer o sistema em estudo para verificar se a hipótese é razoável.

Para generalizar a Equação (4.13) ao tensor de dados, basta colecionar as concentrações de cada espécie nas várias amostras em vetores. Desse modo,  $c_t$  que até o momento tem sido tratado como escalar, passa a ser um vetor na forma  $\mathbf{C}_t = (c_{1t}, c_{2t}, \dots, c_{k_t})$ . Matematicamente, pode-se escrever a Equação (4.14).

$$\mathbf{A} = l\mathbf{c}_t \otimes \mathbf{x}_{Ox} \otimes \boldsymbol{\varepsilon}_{Oxi} + l\mathbf{c}_t \otimes \mathbf{x}_{Red} \otimes \boldsymbol{\varepsilon}_{Red} \quad (4.14)$$

A Equação (4.14) é a base da demonstração proposta por Herrero e colaboradores [56]. A Equação (4.14) expressa um modelo trilinear para um sistema com 2 componentes.

Devemos lembrar que, em geral, nas decomposições com PARAFAC, os modos B e C são normalizados. Matematicamente, teríamos a Equação (4.15).

$$\begin{aligned} \mathbf{A} = & l\mathbf{c}_t \|\mathbf{x}_{Ox}\| \|\boldsymbol{\varepsilon}_{Ox}\| \otimes \frac{\mathbf{x}_{Ox}}{\|\mathbf{x}_{Ox}\|} \otimes \frac{\boldsymbol{\varepsilon}_{Ox}}{\|\boldsymbol{\varepsilon}_{Ox}\|} \\ & + l\mathbf{c}_t \|\mathbf{x}_{Red}\| \|\boldsymbol{\varepsilon}_{Red}\| \otimes \frac{\mathbf{x}_{Red}}{\|\mathbf{x}_{Red}\|} \otimes \frac{\boldsymbol{\varepsilon}_{Red}}{\|\boldsymbol{\varepsilon}_{Red}\|} \end{aligned} \quad (4.15)$$

Na Equação (4.15), os termos  $l\mathbf{c}_t \|\mathbf{x}_{Ox}\| \|\boldsymbol{\varepsilon}_{Ox}\|$  e  $l\mathbf{c}_t \|\mathbf{x}_{Red}\| \|\boldsymbol{\varepsilon}_{Red}\|$  correspondem aos vetores do modo A,  $\frac{\mathbf{x}_{Ox}}{\|\mathbf{x}_{Ox}\|}$  e  $\frac{\mathbf{x}_{Red}}{\|\mathbf{x}_{Red}\|}$  aos vetores do modo C e  $\frac{\boldsymbol{\varepsilon}_{Ox}}{\|\boldsymbol{\varepsilon}_{Ox}\|}$  e  $\frac{\boldsymbol{\varepsilon}_{Red}}{\|\boldsymbol{\varepsilon}_{Red}\|}$  aos vetores do modo B.

De posse da Equação (4.15) podemos ampliar a discussão sobre essa demonstração. Na construção dos modelos PARAFAC são utilizados escores proporcionais a concentração do analito e contidos nos vetores do modo A. Desse modo, sendo possível obter através da deconvolução os perfis puros na forma da Equação (4.15), deveria ser possível calibrar qualquer uma das espécies. Outro detalhe, mais sutil, não apontado por Herrero e colaboradores [56] é que os vetores que compõem o modo A são colineares, supondo validade da Equação (4.15). Na prática, o posto da matriz associada ao modo A não seria igual ao número de componentes. Isso poderia contribuir para a obtenção de soluções degeneradas.

Essas observações são a base das escolhas feitas no estudo apresentado na seção 4.5.

### 4.4 Espectroeletróquímica dos isômeros do benzenodiol utilizando dados derivados

O procedimento de derivação, descrito na seção 4.2, também foi aplicado aos dados espectroeletróquímicos dos isômeros do benzenodiol. É importante ressaltar que a técnica eletroquímica utilizada na obtenção dos dados dos isômeros do benzenodiol foi a voltametria de pulso diferencial. De nosso conhecimento, só há na literatura o cálculo de curvas  $dA/dE$  (ou  $dA/dt$ ) para dados obtidos através de voltametria de varredura linear e voltametria cíclica. A aplicação do pré-processamento através do cálculo da primeira derivada aos dados dos isômeros do benzenodiol tem dois objetivos: observar os impactos dessa abordagem na obtenção dos perfis espectral e voltabsortométricos recuperados e na predição das concentrações dos analitos, em especial do RES, que apresentou o menor desempenho de previsão nas modelagens mostradas nas Tabelas 4.1 e 4.2.

O sinal do RES é menos intenso na via espectral, ver Figura 4.6(a) e está sobreposto pelo CAT em ambos os modos, espectral e eletroquímico (Figura 4.8), por isso um menor desempenho do modelo de previsão é esperado. No entanto, como o sinal do RES no voltamograma é bastante distinto dos dois outros analitos (Figura 4.6(b)), a derivação poderia ressaltar a inflexão correspondente no perfil voltabsortométrico, evidenciando as diferenças entre CAT e RES e aumentando o poder de previsão do modelo para esse analito.

Considerando essas hipóteses, modelos PARAFAC foram construídos utilizando os dados derivados. Os modelos foram avaliados utilizando o mesmo conjunto de testes das Tabelas 4.1 e 4.2. As predições realizadas através do PARAFAC para os dados derivados podem ser vistas na Tabela 4.3.

Para a HQ o RMSEP foi de  $0,05 \text{ mmolL}^{-1}$  e para o CAT de  $0,06 \text{ mmolL}^{-1}$ . Para o RES o modelo PARAFAC falhou em prever as concentrações do analito nas amostras de teste, gerando valores de previsão fora da faixa de concentrações utilizadas na calibração. Observa-se também uma consistência de núcleo de inferior a 40%, indicando uma perda de trilinearidade. No caso do resorcinol, o sinal espectroeletróquímico apresenta pouca variação. A derivação do mesmo acabou resultando em uma redução na relação sinal-ruído em comparação com o observado para HQ e CAT. Essa questão pode ter afetado a capacidade preditiva dos modelos.

Tabela 4.3: Predições obtidas através do PARAFAC para os analitos HQ, CAT e RES utilizando os dados derivados

Analito	Amostra	Referência/ $mmolL^{-1}$	Predição/ $mmolL^{-1}$	
HQ	B1	0,70	0,74	
	B4	0,50	0,43	
	B5	0,50	0,50	
	B7	0,50	0,43	
	B8	0,30	0,24	
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,05	
	REP (%)		4,2	
CORCONDIA		>90%		
CAT	B2	0,70	0,61	
	B4	0,50	0,54	
	B6	0,50	0,47	
	B7	0,50	0,59	
	B8	0,40	0,44	
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,06	
	REP (%)		5,0	
CORCONDIA		>90%		
RES	B3	0,70	-	
	B5	0,50	0,43	
	B6	0,50	0,59	
	B7	0,50	-	
	B8	0,30	-	
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		-	
	REP (%)		-	
CORCONDIA		<40%		

A Figura 4.12 mostra os perfis voltabsortométricos derivados (Modo C do PARAFAC) obtidos através da deconvolução. Ao contrário do observado na Figura 4.8(b), os perfis derivados dos três analitos são bastante distintos entre si e guardam alguma semelhança com os voltamogramas. Para o CAT e RES foram calculadas as curvas  $-dA/dt$ , de modo a fazer com que as curvas derivadas coincidam em orientação com os voltamogramas. Foram observados deslocamentos consideráveis nos picos mostrados na Figura 4.12 em relação aos potenciais de oxidação dos analitos ilustrados na Figura 4.6(b), entretanto, uma melhor correspondência entre os perfis voltabsortométricos após a derivação e os voltamogramas não era necessariamente esperada.

Considerando que para o RES a consistência de núcleo foi inferior a 40%, optou-se por construir modelos U-PLS/RBL visando verificar os impactos dessa abordagem na capacidade preditiva. Apesar desse problema só ter ocorrido com o RES, foram feitas previsões para os outros dois analitos utilizando o U-PLS/RBL. A Tabela 4.4 apresenta os resultados de previsão utilizando os dados derivados. Melhorias significativas são observadas para o analito RES.

Figura 4.12: Modo C para os dados derivados obtido através do PARAFAC

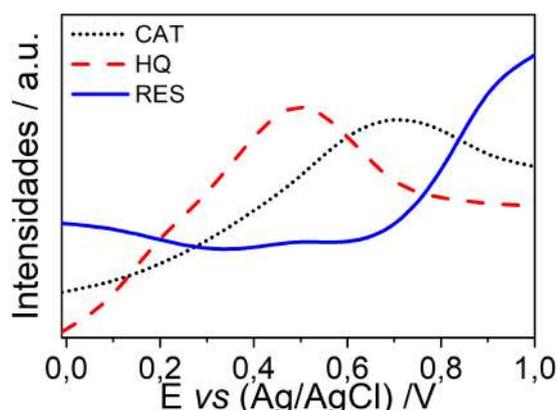


Tabela 4.4: Predições obtidas através do U-PLS/RBL para os analitos HQ, CAT e RES utilizando os dados derivados

Analito	Amostra	Referência/ $mmolL^{-1}$	Predição/ $mmolL^{-1}$	$N_{PLS}$	$N_{RBL}$
HQ	B1	0,70	0,57	2	1
	B4	0,50	0,50		3
	B5	0,50	0,48		2
	B7	0,50	0,58		2
	B8	0,30	0,27		1
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,07		
REP (%)		5,8			
CAT	B2	0,70	0,59	1	1
	B4	0,50	0,48		2
	B6	0,50	0,41		2
	B7	0,50	0,55		1
	B8	0,40	0,34		2
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,07		
REP (%)		5,8			
RES	B3	0,70	0,64	1	2
	B5	0,50	0,50		1
	B6	0,50	0,49		1
	B7	0,50	0,44		4
	B8	0,30	0,28		2
	RMSEP/ $mmolL^{-1}$		0,04		
REP (%)		3,3			

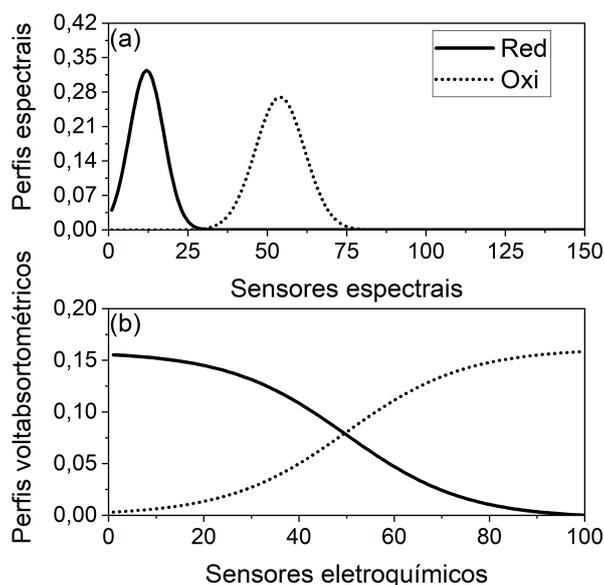
## 4.5 Conjuntos de dados simulados e degenerescência de soluções

Nessa seção investigaremos os possíveis impactos da degenerescência de soluções na modelagem de dados espectroeletróquímicos através do PARAFAC. Para isso, foram realizados estudos teóricos utilizando 5 conjuntos de dados distintos, os quais são descritos na seção 3.5. Esses conjuntos de dados foram desenhados visando mimetizar situações que se poderia observar em estudos espectroeletróquímicos.

### 4.5.1 Conjunto de dados n<sup>o</sup> 1

No estudo de caso 1 simula-se o comportamento espectroeletróquímico ao longo de um processo redox no sentido da oxidação em que as formas oxidada e reduzida do analito não apresentam sobreposição espectral. As curvas geradoras normalizadas empregadas nesse estudo são mostradas na Figura 4.13.

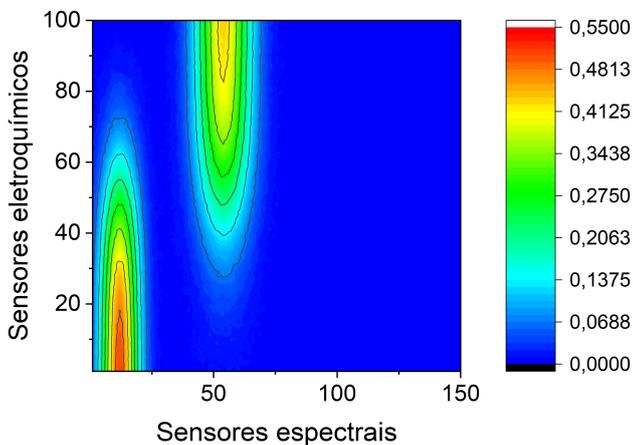
Figura 4.13: Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n<sup>o</sup> 1



A Figura 4.13(a) apresenta o perfil espectral da forma reduzida (linha preta contínua) e oxidada (linha preta pontilhada). Ambas as espécies apresentam um comportamento unimodal. As bandas espectrais das espécies reduzida e oxidada estão centradas nos sensores 12 e 54, respectivamente. Os perfis voltabsortométricos utilizados são mostrados na Figura 4.13(b). A forma reduzida (linha preta) é consumida ao longo do processo redox. A forma oxidada (linha pontilhada) vai sendo formada ao longo do processo. Ambos os perfis voltabsortométricos apresentam ponto de inflexão no sensor 50 e as curvas empregadas estão sujeitas a restrição de soma constante. A curva de nível da Figura 4.14 ilustra o comportamento espectroeletróquímico simulado para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 1. Como mostrado na Figura 4.14, no início do processo redox só há a presença da banda espectral da espécie reduzida, centrada no sensor espectral 12. À medida que essa espécie vai sendo consumida, essa banda sofre uma diminuição em sua intensidade e a banda da espécie oxidada (sensor espectral 54) começa a se desenvolver. O aparecimento da banda da espécie oxidada ocorre próximo ao sensor eletroquímico 50, o qual corresponde ao ponto de inflexão dos perfis voltabsortométricos. Trata-se, portanto, de um sistema

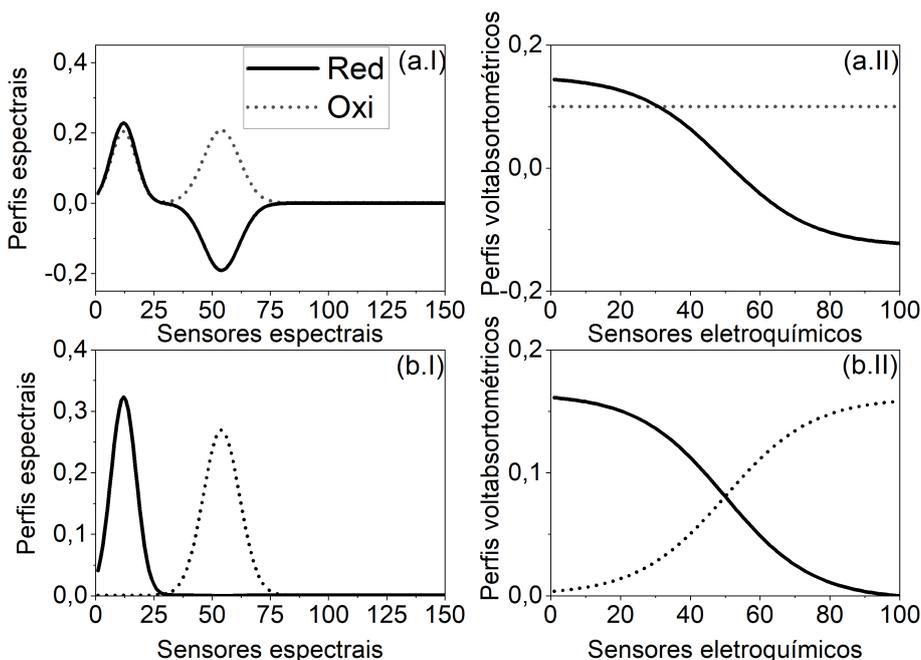
sem sobreposição espectral entre os analitos.

Figura 4.14: Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 1



Modelos PARAFAC foram construídos para esse conjunto de dados utilizado as estratégias de calibração apresentadas na seção 3.5. Os resultados qualitativos dessa modelagem são mostrados na Figura 4.15.

Figura 4.15: Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente



Imediatamente, notamos que os perfis obtidos através dos modelos 1 e 2 são distintos, isto é, não foi obtida solução única. Importante mencionar que o modelo 1 foi construído sem a aplicação de restrições adicionais. O modelo 2, por sua vez, foi construído aplicando a restrição de não-negatividade aos 3 modos. Isso não é inesperado, uma vez que os postos de Kruskal são  $k_A = 1$ ,  $k_B = 2$ ,  $k_C = 2$  e o teorema de Kruskal não é satisfeito como condição suficiente para a unicidade, matematicamente  $1 + 2 + 2 \geq 2 \times 2 + 2 \Rightarrow 5 \geq 6$ . Poderia-se imaginar que a inclusão da restrição de soma constante levaria a um abaixamento no posto da matriz do Modo C. Entretanto, como mencionado,  $k_C = 2$ . Alguns detalhes algébricos sobre esse resultado são abordados no Apêndice B.3. Na verdade, é no modo A que ocorre um abaixamento no posto da matriz, pois as duas colunas da matriz não são linearmente independentes.

Como mostrado nas Figuras 4.15(a.I) e 4.15(a.II), os resultados qualitativos do modelo 1 não são corretos. Nos perfis espectrais, Figura 4.15(a.I), são observados valores negativos e vales. Fica evidente a transferência de informações entre as espécies oxidada e reduzida, as quais deveriam ter comportamento unimodal. Isso é interessante, pois nesse caso não há sobreposição espectral. Nos perfis voltabsortométricos, Figura 4.15(a.II), observa-se que a espécie oxidada apresentou um perfil aproximadamente constante devido à degenerescência de soluções.

Os resultados qualitativos do modelo 2 são mostrados nas Figuras 4.15(b.I) e 4.15(b.II). Os perfis voltabsortométricos recuperados, Figura 4.15(b.II), são compatíveis com as curvas geradoras. Com relação aos perfis espectrais, Figura 4.15(b.I), as posições das bandas espectrais e a razão entre as intensidades das bandas das espécies reduzida e oxidada são corretamente recuperadas.

A capacidade preditiva do modelo foi avaliada através de previsões utilizando 50 amostras de teste com concentrações geradas aleatoriamente no intervalo da curva de calibração. Alguns parâmetros de desempenho dos modelos podem ser vistos na Tabela 4.5.

Tabela 4.5: Valores de CORCONDIA,  $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados n<sup>o</sup> 1

Deconvolução	CORCONDIA (%)	$s_{fit}$	Var. (%)	REP (%)
Modelo 1	100,00	0,0032	99,99	8,48
Modelo 2	2,77	0,0034	99,99	8,48

Como mostrado na Tabela 4.5, o modelo 1 apresentou o maior valor de consistência de núcleo, CORCONDIA. O modelo 2, por sua vez, apresentou um valor de CORCONDIA inferior a 50,00 % indicando uma perda de trilinearidade. Esse resultado mostra que pode não haver uma correspondência direta entre a coerência dos resultados da deconvolução e a métrica CORCONDIA, isto é, os resultados do modelo 2 são qua-

litativamente corretos, mas os valores de CORCONDIA indicam uma possível perda de trilinearidade apesar de o conjunto de dados ter sido gerado considerando um modelo trilinear. Os valores de  $s_{fit}$  e variância explicada foram idênticos para os dois modelos. Nesse ponto é importante discorrer um pouco sobre os impactos da degenerescência. Os valores de  $s_{fit}$  aproximadamente iguais não são acidentais, isso ocorre porque do ponto de vista do ajuste dos dados, esses dois modelos são equivalentes, o que é precisamente a degenerescência de soluções. Nos estudos simulados utilizou-se 1% de ruído. Os valores de  $s_{fit}$  são inferiores ao ruído instrumental, desse modo as informações contidas nos resíduos são referentes ao ruído instrumental e não a informações não modeladas. O mesmo valor de REP foi obtido nos dois modelos. Como se observa na Tabela 4.5, reportamos um único valor de REP por modelo, apesar de termos duas componentes referentes ao analito. Procedemos dessa maneira, pois os valores de REP obtidos calibrando tanto a forma reduzida (calibração direta), quanto a oxidada (calibração indireta) foram equivalentes. Previsões com erros relativos mais elevados ocorrem em toda a faixa de concentrações empregada, não tendo sido observada nenhuma relação entre o erro relativo e a concentração das amostras. Considerando o exposto, pode-se dizer que as previsões quantitativas foram satisfatórias.

### 4.5.2 Conjunto de dados nº 2

Diferentemente do conjunto de dados nº 1 onde não havia sobreposição espectral entre as formas oxidada e reduzida do analito, no conjunto de dados nº 2 simula-se o comportamento espectroeletróquímico ao longo de um processo redox no sentido da oxidação em que as formas oxidada e reduzida do analito apresentam uma sobreposição espectral parcial. As curvas geradoras normalizadas empregadas nesse estudo são mostradas na Figura 4.16.

Como mostrado na Figura 4.16(a), ambas as formas apresentam comportamento espectral unimodal. A forma reduzida tem banda espectral centrada no sensor espectral 12. A forma oxidada tem banda espectral centrada no sensor espectral 20. A sobreposição nesse caso é parcial. Os perfis voltabsortométricos empregados são os mesmos já apresentados no estudo de caso nº 1, ver Figura 4.16(b). A curva de nível da Figura 4.17 ilustra o comportamento espectroeletróquímico simulado para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 2.

Por conta da sobreposição espectral, o sinal resultante apresenta a aparência de uma sela, ver Figura 4.17. Isso ocorre, pois, a banda centrada no sensor espectral 12 tem sua intensidade reduzida ao longo do processo redox. A banda centrada no sensor 20, por outro lado, se desenvolve ao longo do processo.

Figura 4.16: Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n<sup>o</sup> 2

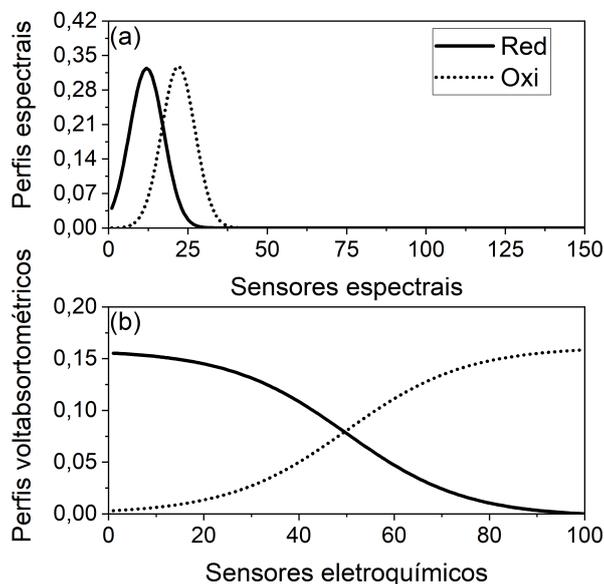
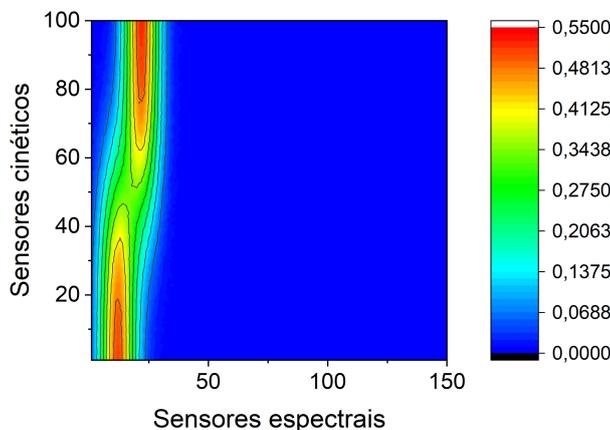


Figura 4.17: Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 2



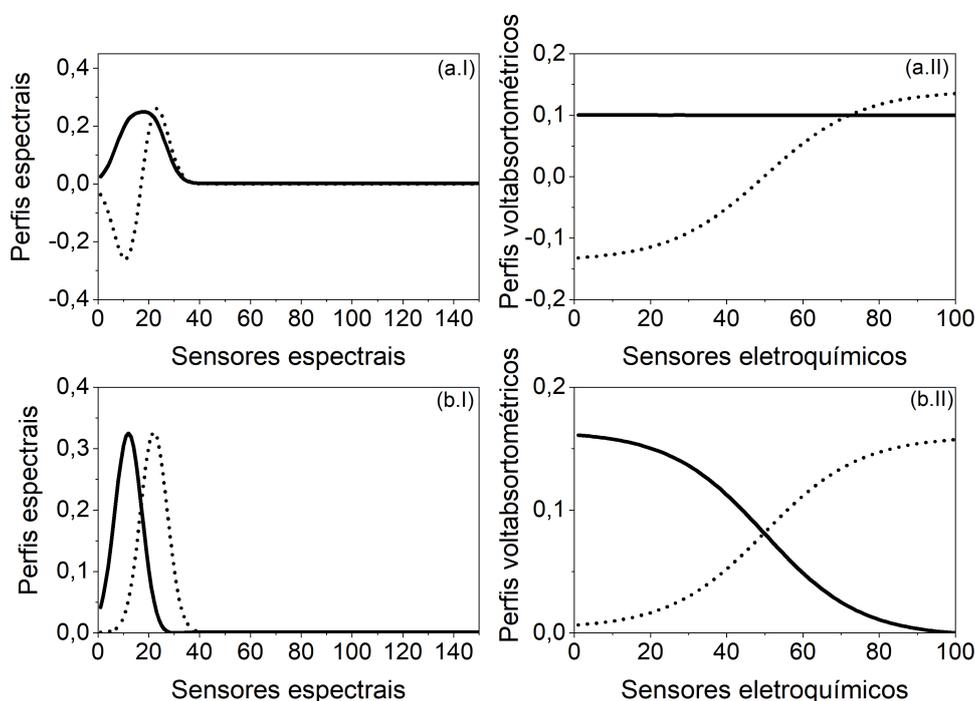
Dois modelos PARAFAC, cujas estratégias de calibração são apresentadas na seção 3.5, foram construídos para esse conjunto de dados. Os resultados qualitativos dessa modelagem são mostrados na Figura 4.18.

O teorema de Kruskal para esse sistema também não é satisfeito, pois  $k_A = 1$ ,  $k_B = 2$ ,  $k_C = 2$ .

No caso do modelo 1, Figuras 4.18(a.I) e 4.18(a.II), observam-se valores negativos, os quais não são compatíveis com as curvas geradoras utilizadas. No perfil espectral, Figura 4.18(a.I), vemos um comportamento interessante, a largura da gaus-

siana da espécie reduzida foi alargada e apresentou sua banda espectral centrada no sensor 18 (a curva geradora tem banda espectral centrada no sensor 12). No caso da espécie oxidada, seu perfil também é mais largo, entretanto o que mais chama atenção é a presença de um vale. Os perfis voltabsortométricos das espécies, Figura 4.18(a.II), também foram afetados. A espécie reduzida apresentou um perfil aproximadamente constante, provavelmente fruto da combinação linear das curvas cinéticas das formas oxidada e reduzida.

Figura 4.18: Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente



No caso do modelo 2, Figuras 4.18(b.I) e 4.18(b.II), foram obtidos resultados qualitativamente corretos. Os perfis voltabsortométricos recuperados, Figura 4.18(b.II), são satisfatórios. Com relação aos perfis espectrais, Figura 4.18(b.I), ambas as formas apresentaram comportamento unimodal, como esperado. Além disso, as bandas espectrais estão centradas nos sensores corretos.

A capacidade preditiva do modelo foi avaliada através de previsões utilizando as 50 amostras de teste do conjunto de dados. Alguns parâmetros de desempenho dos modelos podem ser observados na Tabela 4.6.

Os comentários já tecidos sobre CORCONDIA,  $s_{fit}$  e variância explicada para o conjunto de dados nº 1 também se aplicam aos dados da Tabela 4.6. Mais uma vez vemos que do ponto de  $s_{fit}$  e do REP, os modelos 1 e 2 tem performances equivalentes, sendo a diferença entre os mesmos de natureza qualitativa. Mais uma vez foi possível

calibrar utilizando tanto a forma oxidada, quanto a reduzida.

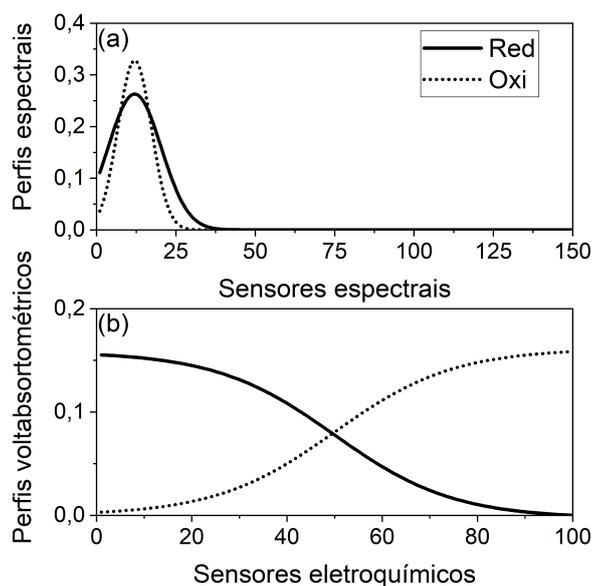
Tabela 4.6: Valores de CORCONDIA,  $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados n<sup>o</sup> 2

Deconvolução	CORCONDIA (%)	$s_{fit}$	Var. (%)	REP (%)
Modelo 1	100,00	0,0033	99,99	8,49
Modelo 2	10,64	0,0034	99,99	8,49

### 4.5.3 Conjunto de dados n<sup>o</sup> 3

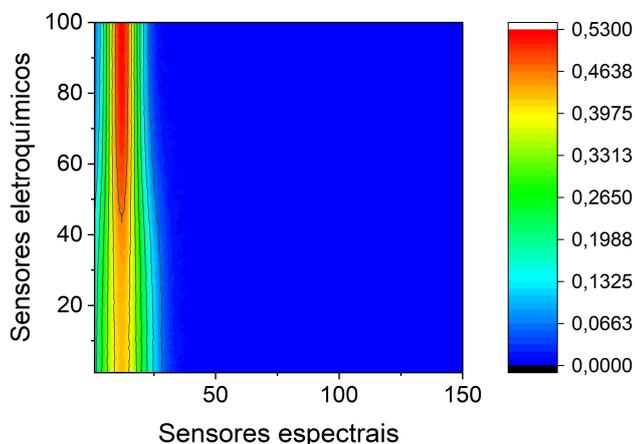
O conjunto de dados n<sup>o</sup> 3 visa investigar um sistema espectroeletroquímico onde há sobreposição total entre as formas oxidada e reduzida do analito. As curvas geradoras normalizadas empregadas nesse estudo são mostradas na Figura 4.19.

Figura 4.19: Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n<sup>o</sup> 3



Como mostrado na Figura 4.19(a), ambas as espécies apresentam comportamento espectral unimodal, com bandas espectrais centradas no sensor 12. A forma reduzida apresenta uma banda espectral mais larga. Os perfis voltabsortométricos, Figura 4.19(b), são os mesmos já empregados nos conjuntos de dados n<sup>o</sup> 1 e n<sup>o</sup> 2. A curva de nível da Figura 4.20 ilustra o comportamento espectroeletroquímico simulado para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 3.

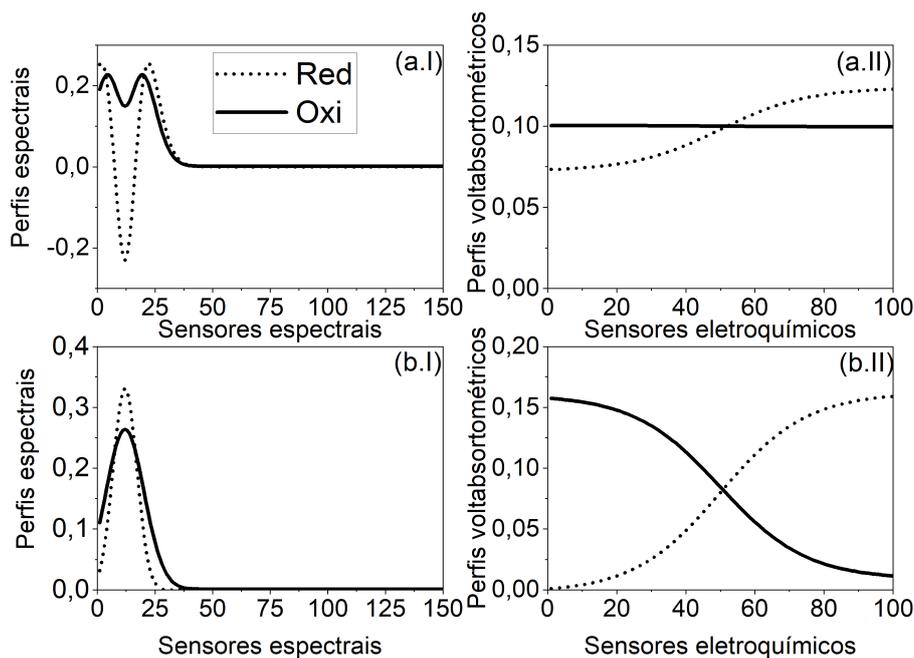
Figura 4.20: Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 3



A largura da banda espectral centrada no sensor 12 é reduzida ao longo do processo eletroquímico. Isso ocorre, pois, a espécie oxidada apresenta uma banda espectral mais estreita. Adicionalmente, a intensidade da banda espectral centrada no sensor 12 aumenta devido à formação da espécie oxidada.

Os modelos PARAFAC construídos para esse sistema são mostrados na Figura 4.21.

Figura 4.21: Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente



O teorema de Kruskal não é satisfeito como condição suficiente, pois  $k_A = 1$ ,  $k_B = 2$ ,  $k_C = 2$ .

Como é possível observar nas Figuras 4.21(a.I) e 4.21(a.II), os resultados qualitativos do modelo 1 não são corretos. Os perfis espectrais (ver 4.21(a.I)) recuperados apresentaram um comportamento bimodal. Com relação aos perfis voltabsortométricos (Figura 4.21(a.II)), a espécie reduzida apresentou perfil aproximadamente constante.

Os resultados do modelo 2 são mostrados nas Figuras 4.21(b.I) e 4.21(b.II). Através do modelo 2 foi possível obter resultados qualitativamente corretos.

A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada através de previsões utilizando as 50 amostras de teste do conjunto de dados. Alguns parâmetros de desempenho dos modelos são mostrados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7: Valores de CORCONDIA,  $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados n<sup>o</sup> 3

Deconvolução	CORCONDIA (%)	$s_{fit}$	Var. (%)	REP (%)
Modelo 1	100,00	0,0033	99,99	8,49
Modelo 2	10,21	0,0033	99,99	8,49

O primeiro modelo, sem restrições adicionais, apresentou uma consistência de núcleo de 100%. No modelo 2, onde perfis qualitativos foram corretamente recuperados, a consistência de núcleo foi inferior a 50%. Os comentários já tecidos sobre  $s_{fit}$  e variância explicada para os conjuntos de dados n<sup>o</sup> 1 e n<sup>o</sup> 2 também se aplicam aos dados da Tabela 4.7. Ambos os modelos apresentaram um  $s_{fit} = 0,0033$ . Os valores de REP para os dois modelos foram de 8,49 %.

#### 4.5.4 Conjunto de dados n<sup>o</sup> 4

Através do conjunto de dados n<sup>o</sup> 4 investigou-se efeito da presença de um interferente não reativo, isto é, que não participa do processo redox. Um sistema como esse poderia ocorrer caso o potencial de oxidação do interferente não estivesse presente na janela de potencial. Imaginemos, como exemplo, que o estudo sobre os isômeros do benzenodiol tivesse sido conduzido em uma janela de potencial entre 0,0 e 0,6 V. Nessa janela, o resorcinol não seria oxidado, mas estaria presente no sinal espectral.

As curvas geradoras normalizadas empregadas nesse estudo são mostradas na Figura 4.22.

Na Figura 4.22(a) são mostrados os perfis espectrais utilizados. As curvas mostradas nas cores preta e vermelha se referem ao analito e ao interferente, respectivamente. O analito está presente nas formas oxidada (linha pontilhada) e reduzida (linha contínua). O interferente, por não participar do processo, está presente em uma única forma. A sobreposição entre os sinais espectrais dos analitos é parcial. As bandas

espectrais das formas reduzida e oxidada estão centradas nos sensores 12 e 22, respectivamente. A banda espectral do interferente está centrada no sensor 35, havendo uma sobreposição parcial com ambas as formas do analito. A Figura 4.22(b) mostra os perfis voltabsortométricos empregados. No caso do analito, os perfis voltabsortométricos utilizados são os mesmos já empregados nos conjuntos anteriores. O interferente foi modelado utilizando um perfil constante, pois não sofre oxidação ao longo do processo eletroquímico. A curva de nível da Figura 4.23 ilustra o comportamento espectroeletroquímico simulado para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 4.

Figura 4.22: Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n<sup>o</sup> 4

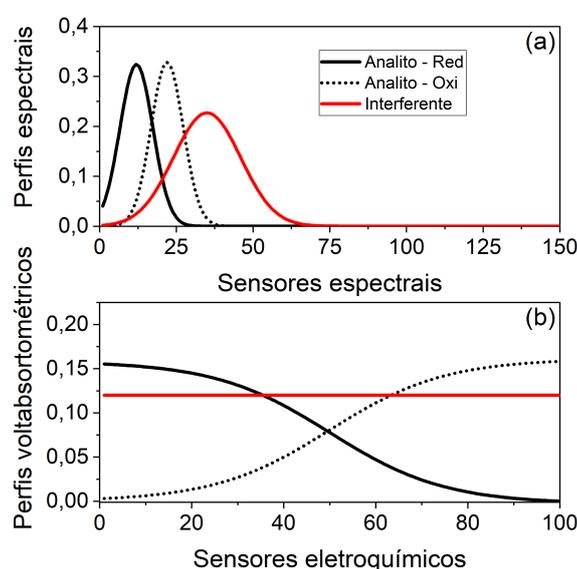
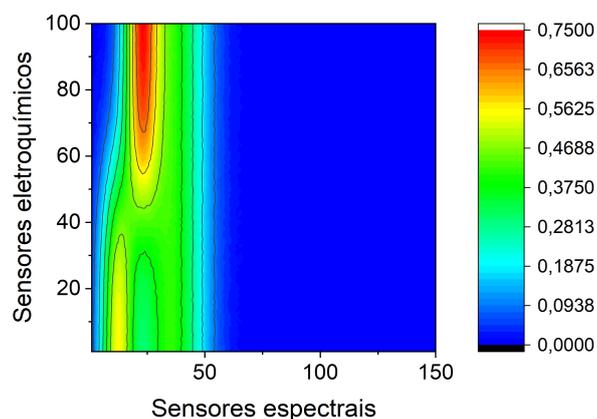


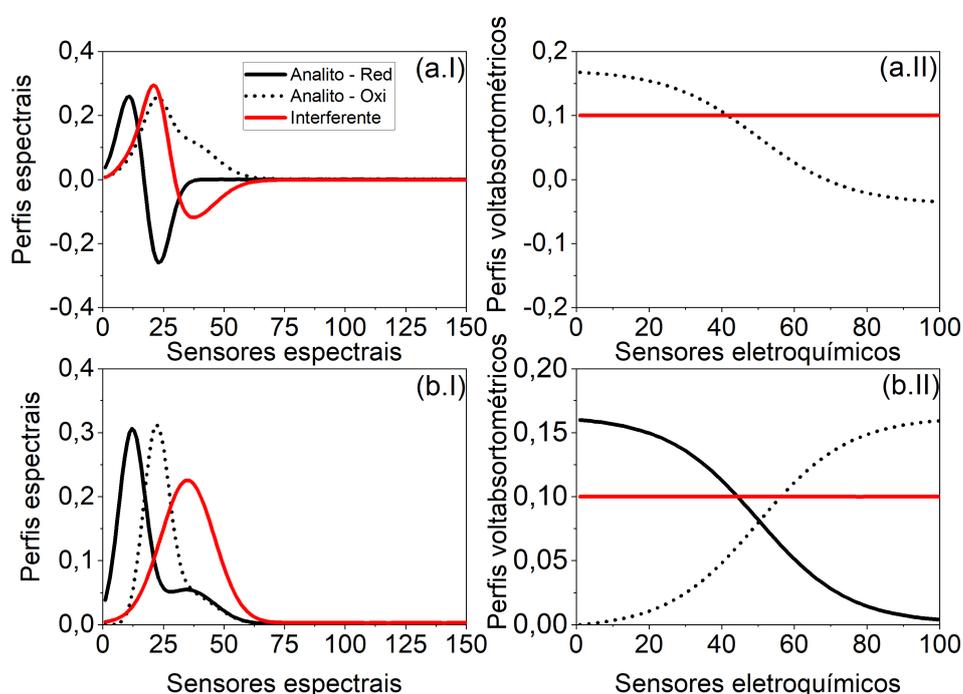
Figura 4.23: Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 4



Como pode ser observado na Figura 4.23, o sinal típico para esse conjunto de dados apresenta três bandas espectrais. Ao longo do processo redox, ocorre uma redução na intensidade da banda espectral centrada no sensor 12 e o desenvolvimento da banda centrada no sensor 22. A intensidade da banda espectral referente ao interferente não sofre variações.

Os modelos PARAFAC construídos para esse sistema são mostrados na Figura 4.24.

Figura 4.24: Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente



Os resultados qualitativos do modelo 1 são mostrados nas Figuras 4.24(a.I) e 4.24(a.II). Os sinais da degenerescência são bastante claros nesse caso. Nos perfis espectrais, Figura 4.24(a.I), percebe-se a presença de vales e valores negativos, os quais são inconsistentes com as curvas geradoras. Nos perfis voltabsortométricos, Figura 4.24(a.II), a sobreposição entre os perfis voltabsortométricos do analito em sua forma reduzida e do interferente ilustram a transferência de informações. É interessante notar que as distorções nos perfis espectrais e voltabsortométricos não são independentes. Pelo fato de os perfis voltabsortométricos, Figura 4.24(a.II), do analito em sua forma reduzida e do interferente apresentarem um perfil constante surgem vales nos perfis espectrais. Esses vales, provavelmente, são uma forma que o algoritmo utiliza para compensar a não recuperação de uma curva de consumo para a forma reduzida.

Os resultados qualitativos do modelo 2 são mostrados nas Figuras 4.24(b.I) e 4.24(b.II). Nos perfis espectrais, Figura 4.24(b.I), não há vales. Isso é consequência da imposição das restrições de não-negatividade. Apesar disso, os perfis recuperados não são estritamente corretos. As posições das bandas espectrais são corretas, entretanto a intensidade normalizada do pico do analito em sua forma oxidada é ligeiramente maior que o esperado. Adicionalmente, pode-se observar uma segunda banda nos perfis espectrais do analito nas formas oxidada e reduzida. Todas as espécies simuladas nesse conjunto de dados tem comportamento espectral unimodal. Com relação aos perfis voltabsortométricos, Figura 4.24(b.II), os resultados são bem interessantes. Os perfis referentes ao analito atendem a restrição de soma constante e ambas as curvas se cruzam no sensor 50, como esperado. A única distorção observada está associada a intensidade do perfil associado ao interferente. A intensidade original é de aproximadamente 0,12 u.a. e no perfil recuperado foi obtida uma intensidade de 0,10 u.a. Pode-se dizer que os perfis espectrais e voltabsortométricos recuperados através do modelo 2 são adequados e satisfatórios.

A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada através de previsões utilizando as 50 amostras de teste do conjunto de dados. Alguns parâmetros de desempenho dos modelos podem ser vistos na Tabela 4.8.

Tabela 4.8: Valores de CORCONDIA,  $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados n<sup>o</sup> 4

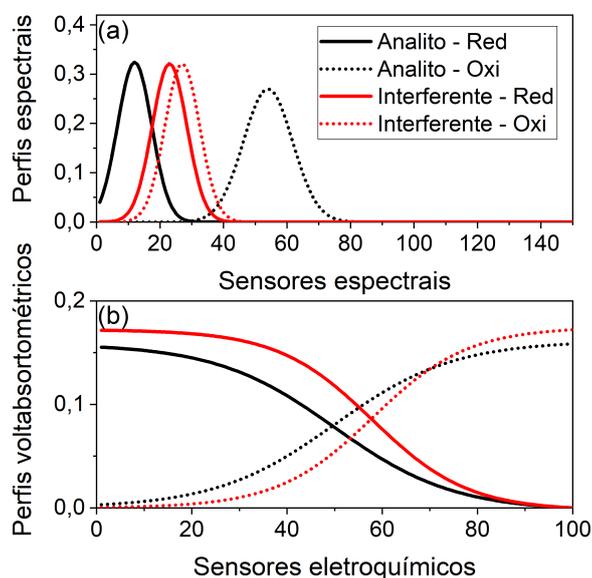
Deconvolução	CORCONDIA (%)	$s_{fit}$	Var. (%)	REP (%)
Modelo 1	89,33	0,0029	99,99	8,48
Modelo 2	84,26	0,0029	99,99	8,48

Interessante observar na Tabela 4.8 que diferentemente do que ocorreu com os conjuntos de dados anteriores, nesse conjunto os valores de CORCONDIA para os modelos 1 e 2 são relativamente próximos e superiores a 50 %. Mais uma vez, os valores de  $s_{fit}$  são os mesmos, indicando a equivalência entre os modelos. Os valores de variância explicada e REP também são equivalentes. Assim como nos demais casos, temos um REP da ordem de 8 %.

### 4.5.5 Conjunto de dados n<sup>o</sup> 5

Com o conjunto de dados n<sup>o</sup> 5 avaliou-se o efeito da presença de um interferente que participa do processo redox. Trata-se de outra espécie que também está presente em ao menos duas formas, a oxidada e a reduzida. As curvas geradoras normalizadas empregadas nesse estudo são mostradas na Figura 4.25.

Figura 4.25: Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos utilizados na construção do conjunto de dados simulados n<sup>o</sup> 5

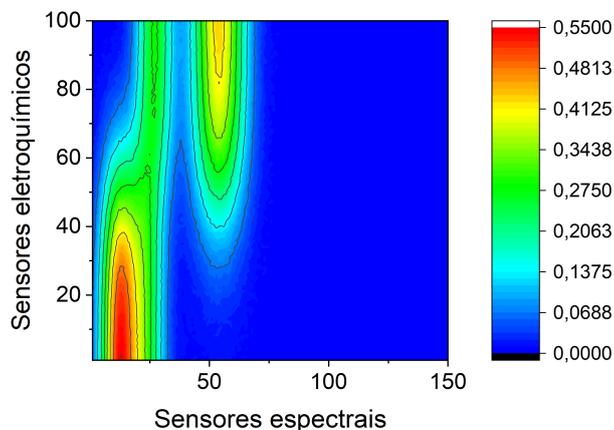


Na Figura 4.25, os perfis referente ao analito foram ilustrados com curvas na cor preta. O interferente foi representado com curvas na cor vermelha. Existe uma sobreposição espectral parcial entre todos os componentes, como mostrado na Figura 4.25(a). As bandas espectrais das formas reduzida e oxidada do analito estão centradas nos sensores 12 e 54. As bandas espectrais das formas reduzida e oxidada do interferente estão centradas nos sensores 23 e 27.

Os perfis voltabsortométricos podem ser vistos na Figura 4.25(b). O ponto de inflexão das curvas associadas ao analito estão localizados no sensor 50, ao passo que as curvas associadas ao interferente tem inflexão no sensor 58. As amplitudes das curvas do analito são distintas das do interferente. A curva de nível da Figura 4.26 ilustra o comportamento espectroeletróquímico simulado para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 5.

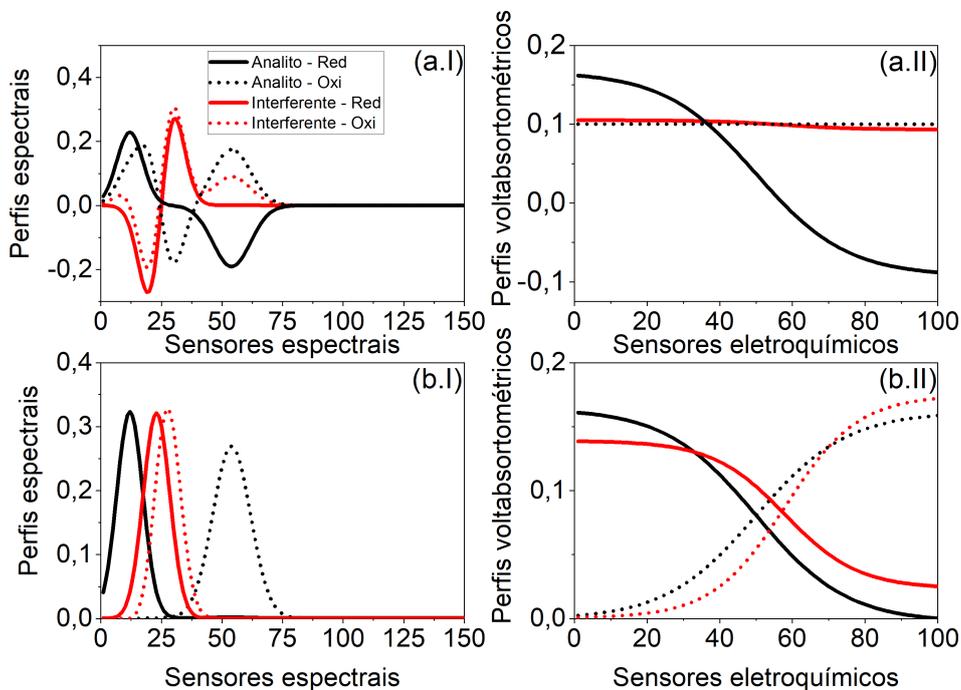
Interessante tecer um comentário de natureza algébrica. Considerando o modo C, cujos vetores estão ilustrados na Figura 4.25(b) é importante observar que a matriz do modo C tem posto 3 e posto de Kruskal 3. Devemos lembrar que ambas as formas do analito estão sujeitas a restrição de balanço de massa. O mesmo ocorre entre as duas formas do interferente. Em decorrência dessa peculiaridade se observa que o posto da matriz do modo C é 3 (maiores detalhes são fornecidos no Apêndice B.3). Esse abaixamento de posto pode impactar na unicidade de soluções.

Figura 4.26: Curva de nível para a amostra 1 do conjunto de calibração do estudo de caso 5



Os modelos PARAFAC construídos para esse sistema são mostrados na Figura 4.27.

Figura 4.27: Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos através do PARAFAC. Onde a e b referem aos modelos 1 e 2, respectivamente. Os números I e II se referem aos perfis espectrais e voltabsortométricos, respectivamente



Os resultados referentes ao modelo 1 estão mostrados nas Figuras 4.27(a.I) e 4.27(a.II). Imediatamente, nota-se que os perfis deconvoluídos não são coerentes com as curvas geradoras. Nos perfis espectrais, 4.27(a.I), notam-se valores negativos e va-

les. Fica também caracterizada a transferência de informações entre as espécies, uma vez que todos os perfis espectrais utilizados na geração do conjunto são unimodais. Com relação aos perfis voltabsortométricos, 4.27(a.II), a obtenção de perfis aproximadamente constantes e sobrepostos para a forma oxidada do analito e as duas formas do interferente caracterizam a degenerescência de soluções.

As Figuras 4.27(b.I) e 4.27(b.II) ilustram os resultados referentes ao modelo 2. Os perfis espectrais recuperados, ver Figura 4.27(b.I), são adequados. As bandas espectrais estão centradas nos sensores corretos e as intensidades dos perfis deconvoluídos são condizentes com o esperado. Os perfis voltabsortométricos, Figura 4.27(b.II), não são perfeitamente recuperados. Desvios em relação à soma constante, tanto para o analito, quanto para o interferente, podem ser observados. Há também distorções relacionadas as intensidades nos perfis recuperados. Observando a Figura 4.25(b), percebe-se que nas curvas originais, as amplitudes das sigmóides associadas ao interferente são maiores. Nos perfis recuperados, isso não ocorre.

A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada através de previsões utilizando as 50 amostras de teste do conjunto de dados. Alguns parâmetros de desempenho dos modelos podem ser vistos na Tabela 4.9.

Tabela 4.9: Valores de CORCONDIA,  $s_{fit}$ , variância explicada (%) e REPs para o conjunto de dados n<sup>o</sup> 5

Deconvolução	CORCONDIA (%)	$s_{fit}$	Var. (%)	REP (%)
Modelo 1	11,91	0,0031	99,99	8,48
Modelo 2	2,19	0,0032	99,99	8,51

Interessante notar que o modelo 1, sem restrições adicionais, apresentou um valor de CORCONDIA baixo. Esse comportamento é distinto do observado nos conjuntos de dados anteriores. Na Tabela 4.9 o REP reportado para o modelo 1 é referente ao analito. Diferentemente do que ocorreu nos outros conjuntos de dados, nesse conjunto só foi possível calibrar a forma reduzida do analito. Ao tentar calibrar a forma oxidada, muitos pontos apresentaram previsões negativas. Esse problema não aconteceu com o modelo 2, em que a restrição de não-negatividade foi aplicada aos 3 modos. Ambos os modelos apresentaram valores equivalentes de  $s_{fit}$  e variância explicada.

### 4.5.6 Degenerescência de soluções em dados experimentais

Como já mencionado HQ, CAT, p-BQ e o-BQ possuem sinal espectral na janela estudada. Os resultados que serão apresentados a seguir visam corroborar a influência da degenerescência nos perfis qualitativos obtidos. Nas Figuras 4.28 e 4.29 são mostrados os perfis qualitativos que se obteria ao tentar modelar o conjunto de dados utilizando 2 componentes ao invés de 1.

Figura 4.28: Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos para a HQ através do PARAFAC utilizando 2 componentes

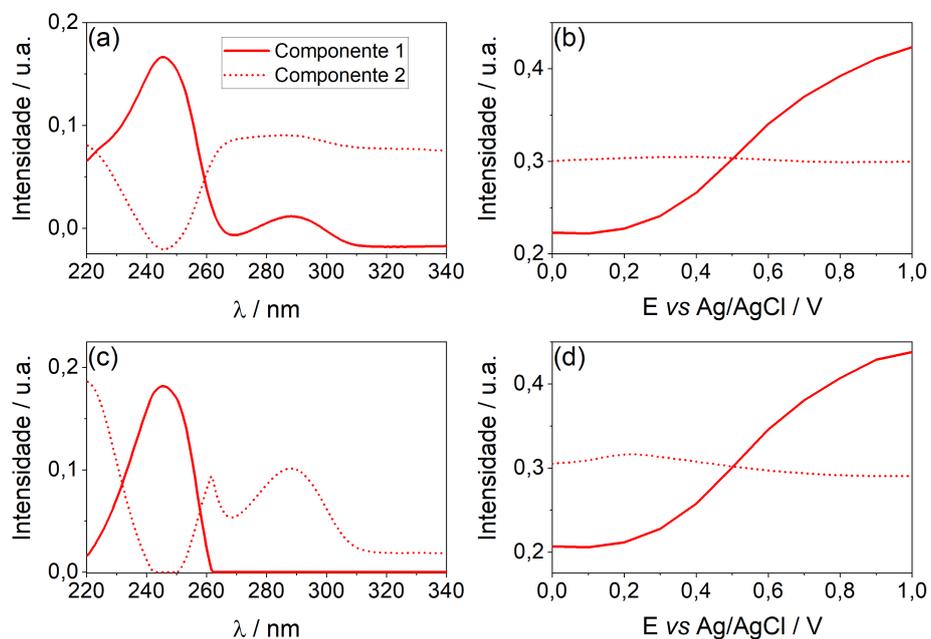
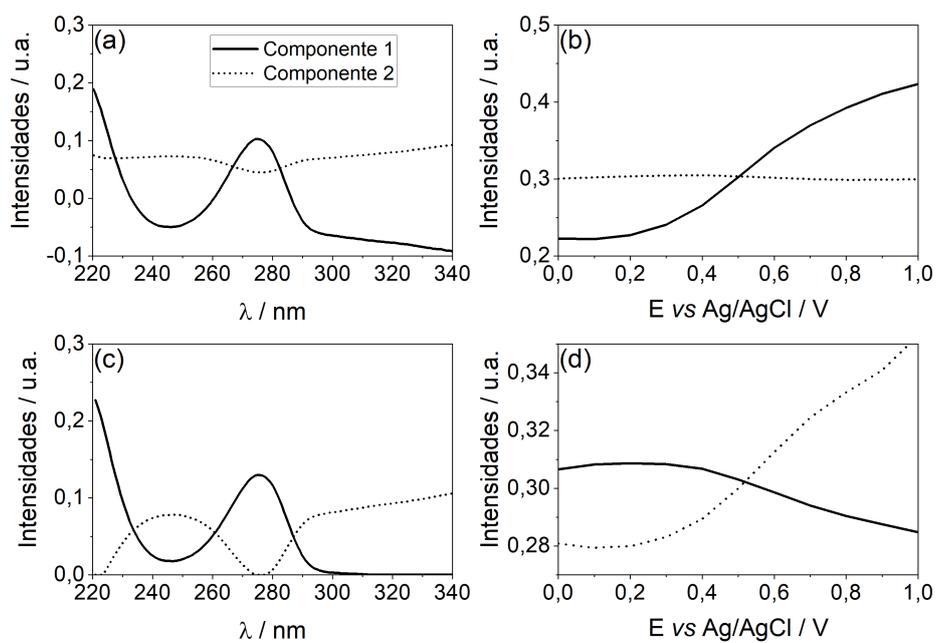


Figura 4.29: Perfis espectrais e voltabsortométricos obtidos para o CAT através do PARAFAC utilizando 2 componentes



Observado as Figuras 4.28 e 4.28 e considerando os espectros apresentados nas Figuras 4.10 e 4.9 fica evidente que a inclusão de mais um componente não resolve a questão. Esses resultados estão sendo mostrados para ilustrar os possíveis efeitos que a degenerescência de soluções podem acarretar. Os perfis voltabsortométricos mostrados nas Figuras 4.28(d) e 4.29(d) lembram em alguma medida curvas de formação e consumo. Interessante notar que esses perfis aparecem mesmo sem ter sido imposta uma restrição de balanço de massa. No caso do catecol, por exemplo, o potencial de pico é de 0,45 V e os perfis voltabsorométricos (Figura 4.29(b)) se cruzam por volta de 0,5 V. Embora não seja possível modelar corretamente os perfis, aparentemente o algoritmo consegue perceber a presença de mais de 1 componente. O impacto da adição de um componente extra é sutil do ponto de vista da variância explicada. No caso da hidroquinona, a adição de um componente extra acarretou um aumento da variância explicada de 96% para 99%. No caso do catecol, o aumento é de 98% para 99%. Apesar de dois componentes terem sido utilizados na modelagem, só foi possível calibrar o primeiro componente. Importante ressaltar que esses efeitos nem sempre estarão presentes em medidas espectroeletróquímicas. A ocorrência dos mesmos depende da presença de sinal dos reagentes e produtos na janela espectral utilizada. Um analista poderia, por exemplo, efetuar a calibração utilizando uma região onde somente o sinal de uma espécie estivesse presente.

### 4.6 Espectroeletróquímica da o-tolidina por espectroscopia de refletância sobre eletrodo impresso de carbono

Nessa seção serão apresentados resultados sobre a espectroeletróquímica da o-tolidina utilizando o arranjo experimental ilustrado na Figura 3.4 (ver seção 3.1). Trata-se da busca por outras possibilidades de arranjo experimental. A utilização de eletrodos impressos confere maior flexibilidade ao arranjo, dado que existem eletrodos impressos confeccionados nos mais diversos materiais. Além das opções comerciais é possível desenvolver eletrodos e efetuar modificações. Esse arranjo também pode contribuir para uma maior frequência analítica, visto que os eletrodos empregados são, em princípio, descartáveis. Para avaliar esse arranjo experimental, foi feito o estudo da espectroeletróquímica da o-tolidina.

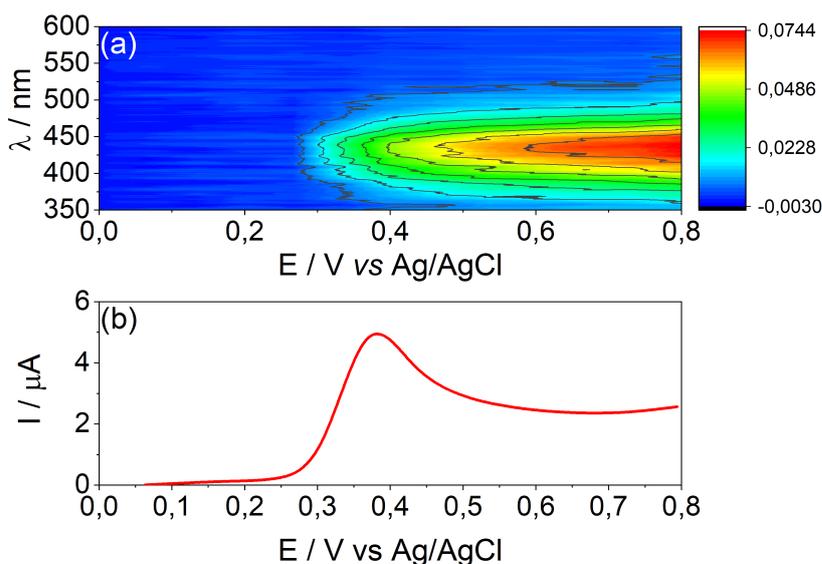
A o-tolidina é uma amina aromática frequentemente empregada como sistema modelo em estudos espectroeletróquímicos. Trata-se de uma espécie ligeiramente solúvel em água, solúvel em éter, álcool e em soluções ácidas. A oxidação da o-tolidina em meio ácido acarreta a formação de um composto amarelo, geralmente atribuído a quinonadiimina, com uma banda de absorção em 437 nm [19].

A maior dificuldade envolvendo esse arranjo experimental está associada a

reprodutibilidade da montagem entre as medidas. Para contornar essa questão foram utilizadas duas estratégias. A primeira consistiu em acoplar um *o-ring* a sonda de reflectância, o qual possibilitou uma maior estabilidade na montagem do arranjo e garantiu um caminho óptico constante (ver Figura 3.4(a)). A segunda medida consistiu em utilizar o primeiro espectro de cada medida como espectro de referência. Trata-se de uma estratégia de pré-processamento. Na prática, a referência é atualizada a cada remontagem do arranjo experimental.

Na Figura 4.30(a) é mostrado o sinal espectroeletróquímico obtido para um padrão de *o*-tolidina com concentração de  $4,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ . Os valores de reflectância medidos foram convertidos para valores de absorbância. Na Fig 4.30(b) é mostrado um voltamograma característico para esse sistema.

Figura 4.30: (a) Sinal espectroeletróquímico de um padrão de *o*-tolidina com concentração de  $4,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$  e (b) voltamograma de varredura linear para um padrão de *o*-tolidina  $4,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$



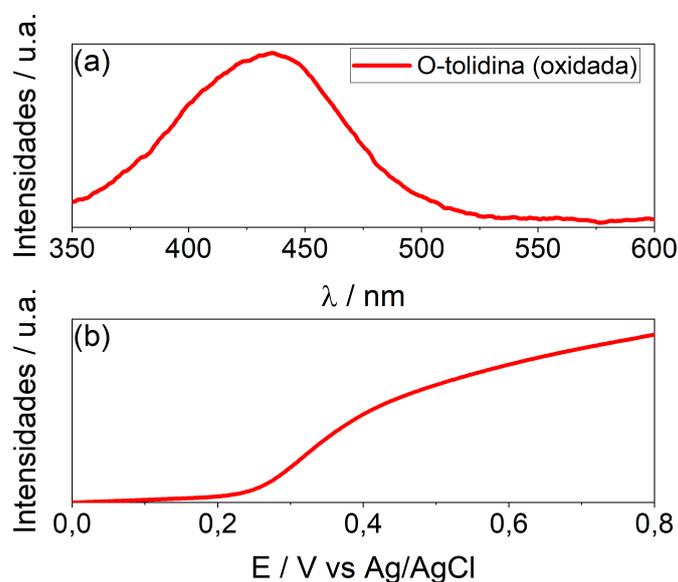
Como é possível observar na Figura 4.30(a), a intensidade do sinal obtido é relativamente baixa. Entretanto, isso é esperado, considerando que o caminho óptico empregado em uma medida dessa natureza é bastante reduzido.

Nas condições empregadas no estudo a *o*-tolidina tem potencial de oxidação de 0,35 V, como pode ser observado na Figura 4.30(b). Observando a Figura 4.30(a), nota-se que próximo ao potencial de 0,3 V se inicia o desenvolvimento de uma banda espectral por volta de 435 nm. O desenvolvimento dessa banda é consonante com o voltamograma ilustrado na Figura 4.30(b).

Os dados espectroeletróquímicos da *o*-tolidina foram deconvoluídos utilizando PARAFAC. A modelagem foi feita com 1 componente e foram aplicadas as restrições

de não-negatividade nos três modos. Na Figura 4.31 são mostrados os perfis espectral e voltabsortométrico obtidos através da deconvolução.

Figura 4.31: Perfis (a) espectral e (b) voltabsortométrico obtidos através do PARAFAC



Na janela espectral utilizada, a formação do produto de oxidação é a fonte de variação responsável pelo sinal espectroeletróquímico observado na Figura 4.30. Trata-se de uma situação onde não há degenerescência de soluções. O perfil espectral deconvoluído é mostrado na Figura 4.31(a). No estudo pioneiro de T. Kuwana, a espectroeletróquímica da o-tolidina foi estudada empregando um eletrodo de platina como eletrodo de trabalho. Ressalvando-se a diferença entre os eletrodos de trabalho utilizados, como hipótese pode-se atribuir o perfil espectral recuperado a quinonadiimina. No presente trabalho o máximo de absorção ocorreu em 435 nm, bastante próximo dos 437 nm encontrado na literatura para a quinonadiimina [19]. O perfil voltabsortométrico mostrado na Figura 4.31(b) é compatível com uma curva de formação corroborando a atribuição desse perfil a formação da quinonadiimina. Ainda tratando do perfil voltabsortométrico, Figura 4.31(b), observa-se que o ponto de inflexão ocorre por volta de 0,35 V sendo compatível com o voltamograma do sistema.

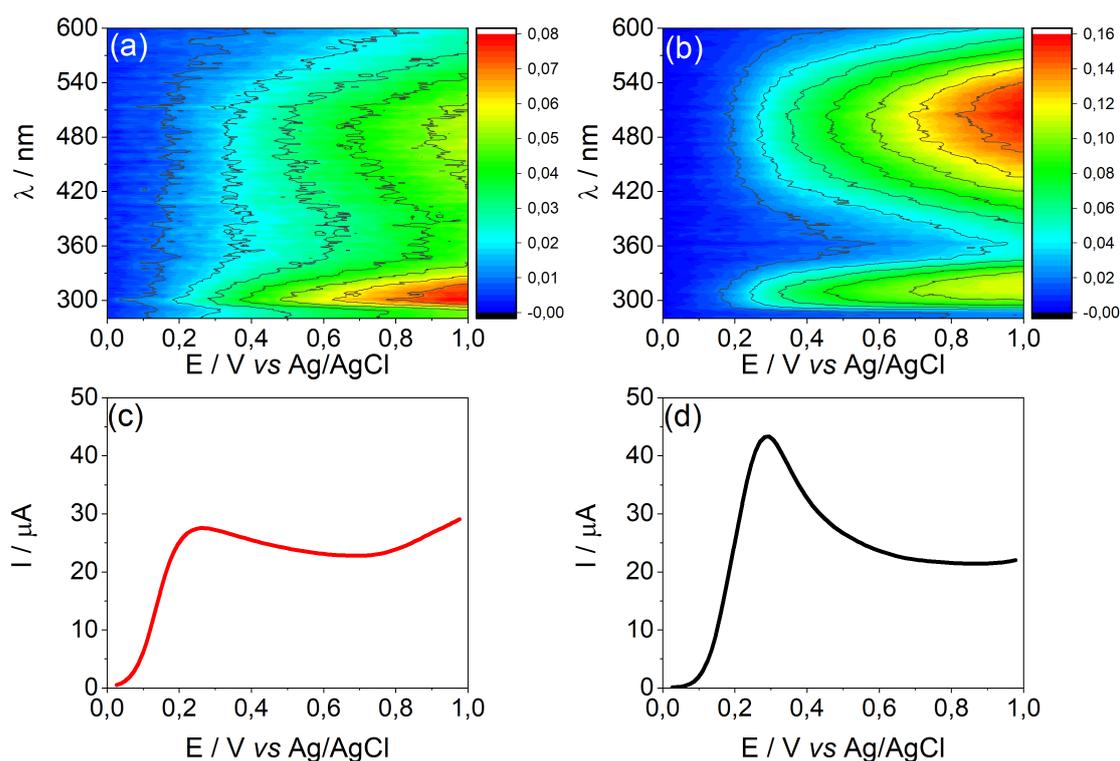
A consistência de núcleo foi de 100 % e a variância explicada de 94,4 %. Foram feitas previsões com duas soluções de teste preparadas com 0,32  $mmolL^{-1}$  (O1) e 0,43  $mmolL^{-1}$  (O2) de o-tolidina. Foram obtidas previsões de 0,33  $mmolL^{-1}$  para O1 e 0,43  $mmolL^{-1}$  para O2. Apesar de se tratar de um sistema simples, cujo objetivo era verificar o arranjo experimental, as previsões obtidas foram satisfatórias.

## 4.7 Espectroeletróquímica da dopamina e da epinefrina por espectroscopia de reflectância sobre eletrodo impresso de carbono

No estudo da espectroeletróquímica da dopamina e da epinefrina foi utilizado o mesmo arranjo experimental apresentado na seção 4.6. Esse par de analitos foi escolhido pelo fato de atuarem como interferentes nos modos espectral e eletroquímico, como pode ser observado na Figura 4.32. Assim é possível avaliar a vantagem de segunda ordem.

Na Figura 4.32 são ilustrados os sinais espectroeletróquímicos e voltamétricos para padrões de dopamina e epinefrina com concentrações analíticas de  $2,00 \text{ mmolL}^{-1}$ .

Figura 4.32: Sinal espectroeletróquímico para um padrão de (a) dopamina  $2,00 \text{ mmolL}^{-1}$  e (b) epinefrina  $2,00 \text{ mmolL}^{-1}$ . Voltamogramas dos padrões de (c) dopamina e (d) epinefrina



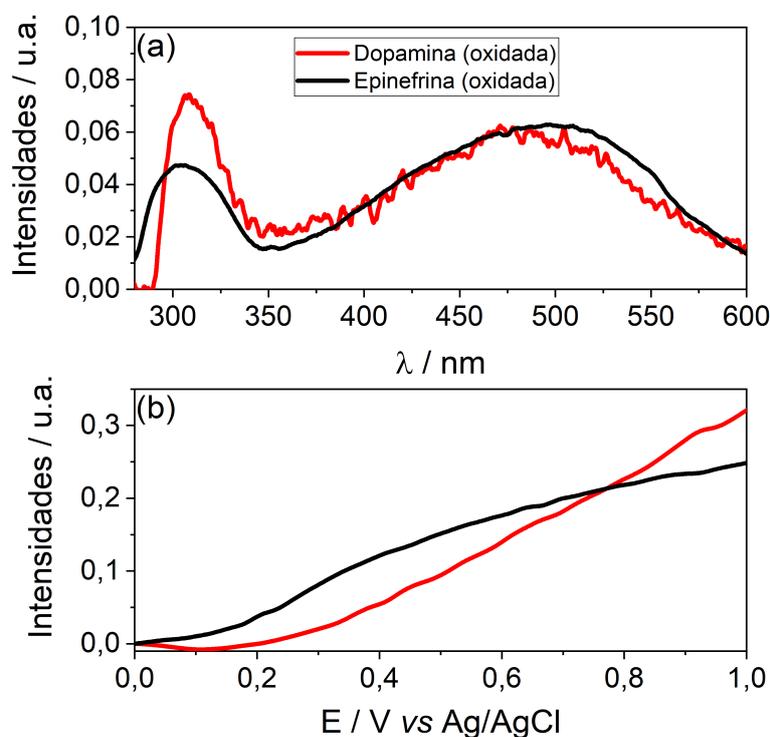
Comparando as Figuras 4.32(a) e 4.32(b) percebe-se a semelhança entre os sinais espectroeletróquímicos da dopamina e da epinefrina. Em ambos os casos ocorrem a formação de duas bandas espectrais ao longo das varreduras voltamétricas. No caso da dopamina (ver Figuras 4.32(a)) observam-se duas bandas espectrais por volta de 307 nm e 470 nm. No caso epinefrina (ver Figuras 4.32(b)) observam-se bandas espectrais por volta de 304 nm e 495 nm. O aparecimento dessas bandas é consonante com os

voltamogramas apresentados nas Figuras 4.32(c) e 4.32(d), onde é possível observar potenciais de oxidação de 0,24 e 0,29 V para dopamina e epinefrina, respectivamente.

O conjunto de dados da dopamina apresentou uma relação sinal-ruído mais elevada. Comparando as Figuras 4.32(a) e 4.32(b) onde são mostrados padrões de dopamina e epinefrina de mesma concentração, percebe-se que a dopamina apresenta um sinal com intensidade mais baixa.

Ambos os conjuntos de dados foram deconvoluídos utilizando PARAFAC. A restrição de não-negatividade foi aplicada aos três modos. Na Figura 4.33 é possível observar os perfis espectrais e voltabsortométricos deconvoluídos.

Figura 4.33: Perfis (a) espectrais e (b) voltabsortométricos deconvoluídos para a dopamina (linhas vermelhas) e epinefrina (linhas pretas)



Em ambos os casos a consistência de núcleo foi de 100 % e as variâncias explicadas por cada um desses componentes foram superiores a 98 %.

Na Figura 4.33(a) é possível observar os perfis espectrais. Como se pode perceber, o sinal espectral deconvoluído para a dopamina absorveu um pouco do ruído experimental, o que não é inesperado considerando o arranjo experimental empregado. Até o momento os analitos estão sendo denotados por dopamina e epinefrina, entretanto, nesse caso os sinais recuperados através da deconvolução são referentes aos produtos de oxidação desses dois analitos. Dopamina e epinefrina absorvem na região

do UV-Vis por dos 280 nm. Interessante lembrar que estamos utilizando o primeiro espectro como referência. Se houvesse uma diminuição significativa em alguma das bandas de absorção nessa região, isso poderia acarretar o aparecimento de vales nessa região. Não foram observados vales por volta de 280 nm. O que se observa é o aparecimento de bandas voltamétricas ao longo do processo eletroquímico. Assim sendo, os sinais espectrais recuperados estão associados aos espectros dos produtos de reação. Essa afirmação é consonante com os perfis voltabsortométricos mostrados na Figura 4.33(b). As curvas obtidas indicam formação de espécies químicas. Tanto no caso da dopamina, quanto no caso da epinefrina observa-se que por volta de 0,2 V ocorre um aumento na intensidade do sinal espectral, o que está em conformidade com os voltamogramas do sistema.

O arranjo experimental empregado nesse estudo é equivalente ao utilizado por Gonzalez-Diéguez e colaboradores [13] para estudar a espectroeletroquímica da dopamina. Conforme os autores, a oxidação da dopamina (em condições equivalentes às utilizadas nesse trabalho) leva a formação do dopaminocromo como principal produto, cujo máximo de absorção ocorre em 305 nm [13]. O sinal espectroeletroquímico obtido para a dopamina é compatível com o reportado por Gonzalez-Diéguez e colaboradores. Com relação à oxidação da epinefrina, há trabalhos na literatura que abordam os mecanismos de oxidação e os possíveis produtos. Cui e colaboradores [10], por exemplo, estudaram os mecanismos de oxidação da epinefrina em eletrodos de carbono vítreo utilizando espectroeletroquímica. Conforme os autores, a epinefrina seria oxidada a uma quinona e parte dessa quinona sofreria uma reação de ciclização formando adrenocromo. Os sinais espectroeletroquímicos aqui obtidos são compatíveis com os reportados por Cui e colaboradores [10]. Essa hipótese é razoável dada a semelhança entre o sinal deconvoluído através do PARAFAC e os espectros reportados para o adrenocromo na literatura [129].

Visando avaliar a capacidade preditiva dos modelos construídos, foi feita a previsão utilizando as amostras de teste mencionadas na Tabela 3.2. Os resultados das previsões são mostrados na Tabela 4.10.

Tabela 4.10: Previsões obtidas através do PARAFAC para as soluções de teste contendo dopamina e epinefrina

	Dopamina $mmolL^{-1}$		Epinefrina $mmolL^{-1}$	
	Referência	Previsão	Referência	Previsão
t1	4,15	4,17	1,20	1,21
t2	3,60	3,66	1,45	1,52
t3	4,85	4,81	1,75	1,73
t4	2,15	2,17	3,40	3,32
	RMSEP	0,04	RMSEP	0,05

Na Tabela 4.10 são mostradas as concentrações de referência e as previstas e os RMSEPs obtidos. As previsões para as amostras de teste foram satisfatórias considerando os desafios inerentes ao sistema em estudo. Foram obtidos RMSEPs de  $0,04 \text{ mmolL}^{-1}$  e  $0,05 \text{ mmolL}^{-1}$  para dopamina e epinefrina, respectivamente. Pode-se dizer que foi possível alcançar a vantagem de segunda ordem.

## CAPÍTULO 5

---

### Conclusões

---

Através da espectroeletróquímica do ferrocianeto de potássio foi possível verificar a montagem do arranjo experimental e constatar a capacidade de aquisição de dados espectroeletróquímicos. Embora esse não seja um sistema de interesse analítico, seu estudo possibilitou um primeiro contato com dados espectroeletróquímicos de segunda ordem. Esse conjunto de dados foi modelado utilizando duas estratégias distintas. Na primeira estratégia, foram utilizados os dados não tratados. Na segunda, foi empregada uma estratégia de pré-processamento através da qual é possível empregar os conceitos das técnicas DLVA e DCVA em calibração de ordem superior. Em ambos os casos foram obtidos bons resultados quantitativos.

Através do estudo da espectroeletróquímica dos isômeros do benzenodiol foi feita a primeira tentativa de aplicação em um sistema de interesse analítico. Nesse estudo foi utilizada a voltametria de pulso diferencial como técnica eletroanalítica. De nosso conhecimento, foi a primeira aplicação dessa técnica eletroanalítica em estudos de espectroeletróquímica e ordem superior.

O conjunto de dados dos isômeros do benzenodiol foi modelado utilizando os dados não tratados e os dados derivados. Foram construídos modelos utilizando PARAFAC e U-PLS/BRL. Para os dados não tratados, os modelos construídos através do PARAFAC e do U-PLS/RBL apresentaram desempenho satisfatório. Nos dados derivados, o modelo construído através do PARAFAC para o RES não obteve bom desempenho. A utilização do U-PLS em conjunto com os dados derivados levou a um melhor desempenho de predições no caso do RES.

Através do estudo da espectroeletróquímica da o-tolidina verificou-se o segundo arranjo experimental proposto. Nesse arranjo são utilizados eletrodos impressos

comerciais e espectroscopia de reflectância. Nesse sistema, o uso do anel o-ring acoplado ao probe de reflectância em conjunto com a utilização do primeiro espectro como referência possibilitou a obtenção de dados espectroeletróquímicos suficientemente reprodutíveis para aplicações de natureza quantitativa. Entre as vantagens desse arranjo pode-se citar: a utilização de pequenos volumes de amostra, uma maior frequência analítica proveniente do fato de que os eletrodos são descartáveis e a grande flexibilidade conferida pelo arranjo, dada a diversidade de eletrodos impressos disponíveis no mercado e a possibilidade de modificar os mesmos.

Por fim, esse arranjo experimental possibilitou a determinação de dopamina e epinefrina em amostras binárias. Nesses últimos dois estudos, a modelagem foi feita utilizando o PARAFAC. Esses sistemas não foram impactados pela degenerescência de soluções, visto que a calibração foi efetuada em uma janela onde os sinais presentes são referentes aos produtos das reações.

Nas duas aplicações apresentadas a vantagem de segunda ordem foi preponderante na obtenção de resultados satisfatórios. Os sistemas estudados eram bastante desafiadores. Além das interferências de natureza química, a modelagem desses sistemas não é trivial, como ficou demonstrado.

Ao longo dos estudos envolvendo o conjunto de dados dos isômeros do benzenodiol verificou-se a ocorrência de degenerescência de soluções. De nosso conhecimento, não há na literatura relatos sobre degenerescência de soluções em dados espectroeletróquímicos. Os impactos observados foram de natureza qualitativa. Apesar disso, foi feito um estudo teórico sobre a degenerescência de soluções e suas implicações.

O estudo teórico permitiu verificar a relação entre a degenerescência de soluções e a unicidade das mesmas. Evidenciou também a importância da aplicação de restrições capazes de guiar o algoritmo na busca de modelos com interpretação física. Em sistemas degenerados contendo um analito presente em duas formas, a aplicação da restrição de não-negatividade foi suficiente para guiar o algoritmo na busca de um modelo adequado. No sistema contendo analito mais um interferente não reativo, a aplicação da restrição de não-negatividade conduziu a um modelo satisfatório do ponto de vista prático, mas ainda com sinais de degenerescência. No sistema contendo analito e interferente reativos mesmo com a imposição da restrição de não-negatividade não foi possível calibrar uma das formas do analito.

Os resultados do estudo teórico indicam que a colinearidade entre os vetores do modo A impacta na unicidade de soluções e pode acarretar dificuldades de modelagem. Adicionalmente, observou-se que em sistemas com mais de um analito presentes em mais de uma forma sujeitas a restrições de balanço de massa pode haver abaixamento de posto dificultando a garantia da unicidade de soluções.

## APÊNDICE A

---

### Diferenciação numérica com Polinômios de Lagrange

---

Considerando um conjunto de pares ordenados  $P_0, P_1, P_2, \dots, P_n$ , sendo  $x_i \neq x_j$  se  $i \neq j$ , define-se o polinômio ilustrado na Equação (A.1).

$$L_i(x) = \prod_{\substack{k=0 \\ k \neq i}}^n \left( \frac{x - x_k}{x_i - x_k} \right) \quad (\text{A.1})$$

Observando a definição da Equação (A.1) percebe-se que  $L_i(x_j) = 1$  quando  $i = j$  e  $L_i(x_j) = 0$  quando  $i \neq j$ .

O polinômio interpolador de Lagrange é definido através da Equação (A.2).

$$f(x) \approx P(x) = \sum_{i=0}^n L_i(x) f(x_i) = L_0(x) f(x_0) + L_1(x) f(x_1) + \dots + L_n(x) f(x_n) \quad (\text{A.2})$$

Note-se que  $P(x_i) = y_i$  para todo  $i = 0, 1, 2, \dots, n$ , sendo a Equação (A.2) uma função de interpolação para os pares ordenados  $P_0, P_1, P_2, \dots, P_n$ .

Nesse trabalho a diferenciação numérica foi realizada utilizando um polinômio de Lagrange de grau 2, de modo que a função de interpolação é dada por

$$\begin{aligned} f(x) \approx P(x) &= \sum_{i=0}^2 L_i(x) f(x_i) \\ &= L_0(x) f(x_0) + L_1(x) f(x_1) + L_2(x) f(x_2) \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

A derivada da função  $f(x)$  representada na Equação (A.3) é:

$$\frac{df(x)}{dx} \approx f(x_0) \frac{dL_0(x)}{dx} + f(x_1) \frac{dL_1(x)}{dx} + f(x_2) \frac{dL_2(x)}{dx} \quad (\text{A.4})$$

Os polinômios  $L_0$ ,  $L_1$  e  $L_2$  são calculados através das Equações (A.5), (A.6) e (A.7)

$$L_0 = \frac{x - x_1}{x_0 - x_1} \frac{x - x_2}{x_0 - x_2} \quad (\text{A.5})$$

$$L_1 = \frac{x - x_0}{x_1 - x_0} \frac{x - x_2}{x_1 - x_2} \quad (\text{A.6})$$

$$L_2 = \frac{x - x_0}{x_2 - x_0} \frac{x - x_1}{x_2 - x_1} \quad (\text{A.7})$$

As derivadas  $\frac{dL_0(x)}{dx}$ ,  $\frac{dL_1(x)}{dx}$  e  $\frac{dL_2(x)}{dx}$  são calculados através das Equações (A.8), (A.9) e (A.10).

$$\frac{dL_0(x)}{dx} = \frac{2x - x_1 - x_2}{(x_0 - x_1)(x_0 - x_2)} \quad (\text{A.8})$$

$$\frac{dL_1(x)}{dx} = \frac{2x - x_0 - x_2}{(x_1 - x_0)(x_1 - x_2)} \quad (\text{A.9})$$

$$\frac{dL_2(x)}{dx} = \frac{2x - x_0 - x_1}{(x_2 - x_0)(x_2 - x_1)} \quad (\text{A.10})$$

Para conjuntos de pontos igualmente espaçados,  $x_{i+1} - x_i = h$ , onde  $h$  é o passo. Desse modo, a derivada da função  $f(x)$  considerando um polinômio de Lagrange de grau 2 fica sendo

$$\begin{aligned} \frac{df(x)}{dx} \approx & \frac{f(x_0)(2x - x_1 - x_2)}{2h^2} \\ & - \frac{2f(x_1)(2x - x_0 - x_2)}{2h^2} + \frac{f(x_2)(2x - x_0 - x_1)}{2h^2} \end{aligned} \quad (\text{A.11})$$

As matrizes de dados experimentais foram derivadas utilizando a Equação (A.11).

Nesse trabalho para cada amostra obtém-se uma matriz de dados com comprimentos de onda no sentido das linhas e potenciais no sentido das colunas. As derivadas foram calculadas com respeito ao potencial, isto é, no sentido das colunas.

---

## Alguns conceitos algébricos

---

### B.1 Posto de Kruskal

A definição de posto utilizada no teorema de Kruskal é distinta da definição usual. Desse modo, é interessante definirmos o conceito de posto de Kruskal (*k-rank*).

**Definição:** O posto de Kruskal de uma matriz  $\mathbf{A}$ , denotado por  $k_A$ , é o maior número inteiro tal que qualquer conjunto de  $r$  colunas de  $\mathbf{A}$  sejam linearmente independentes. Daí, infere-se facilmente que  $k_A \leq \text{rank}(A)$ , onde  $\text{rank}(A)$  é o posto de matriz  $\mathbf{A}$  em sua definição usual.

A título de ilustração, consideremos a matriz  $\mathbf{B}$  mostrada abaixo.

$$\mathbf{B} = \begin{bmatrix} 1 & 3 & 6 \\ 3 & 5 & 10 \end{bmatrix}$$

No caso da matriz  $\mathbf{B}$ ,  $\text{rank}(B) = 2$ , uma vez que temos duas colunas linearmente independentes. O posto de Kruskal, por outro lado, é  $k_B = 1$  como consequência do fato de que as duas últimas colunas não são linearmente independentes.

Naturalmente, pela própria definição há casos onde o posto de Kruskal é igual ao posto da matriz. Considere agora a matriz  $\mathbf{C}$  definida abaixo.

$$\mathbf{C} = \begin{bmatrix} 1 & 3 & 11 \\ 2 & 7 & 19 \\ 4 & 5 & 39 \end{bmatrix}$$

No caso de  $\mathbf{C}$ ,  $\text{rank}(C) = k_C = 3$ .

## B.2 Posto de tensores de ordem superior

Não há uma forma simples para determinar o posto de um tensor de ordem superior [130]. O posto de um tensor  $(I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N)$  de ordem  $n$  não é limitado na forma  $\min(I_1, I_2, \dots, I_N)$ . Como apontado por Lathauwer [130], a determinação do posto de um tensor de ordem superior é normalmente conduzida por tentativa e erro, isto é, considerando-se um tensor  $\mathbf{X}$ , busca-se por componentes que dado um posto  $R$  minimizem a soma residual quadrática ilustrada na Equação (B.1).

$$F(\hat{\mathbf{X}}) = \|\mathbf{X} - \hat{\mathbf{X}}\|^2 \quad (\text{B.1})$$

A importância dessa observação reside no fato de que o teorema de Kruskal é comumente escrito como  $k_A + k_B + k_C \geq 2N + 2$  e se assume  $N$  como sendo o número de componentes do modelo. Do ponto de vista matemático,  $N$  é o posto do tensor de ordem superior formado pelo empilhamento das matrizes do conjunto de dados. Naturalmente, temos que  $\text{rank}(A) \leq N$ ,  $\text{rank}(B) \leq N$  e  $\text{rank}(C) \leq N$ . É importante perceber que a verificação da unicidade é feita considerando um certo número de fatores. Conseqüentemente, a incorreta determinação do número de fatores pode levar a conclusões incorretas sobre a avaliação da unicidade de soluções. Além disso, vale lembrar que as soluções obtidas para um modelo PARAFAC não são aninhadas [106], isto é, os perfis deconvoluídos considerando números de fatores distintos podem ser substancialmente diferentes.

## B.3 Deficiência de posto

Primeiro vale recordar o conceito de deficiência de posto. Sendo  $\mathbf{X}$  uma matriz  $m \times n$ , diz-se que a matriz tem posto completo (*full-rank*) se  $\text{rank}(\mathbf{X}) = \min\{m, n\}$ . Por outro lado, diz-se que uma matriz é posto deficiente se  $\text{rank}(\mathbf{X}) < \min\{m, n\}$ .

Nessa seção faremos alguns comentários sobre a deficiência de posto. Como foi mencionado na seção de resultados sobre conjuntos de dados simulados, o modo C nos estudos de caso 01, 02 e 03 foram criados utilizando um par de curvas complementares, entretanto a matriz associada ao modo C possui  $\text{rank}(\mathbf{C}) = 2$ . Apresentaremos a seguir alguns aspectos algébricos sobre esse resultado.

Seja  $\mathbf{c}_1 = (c_{11}, c_{12}, c_{13}, \dots, c_{1n})$  um vetor contendo o perfil voltabsortométrico da espécie 1 (reagente). Em seguida, imagine que o perfil voltabsortométrico da espécie 2 (produto) tenha sido construído obedecendo à restrição de soma constante. Sendo  $a = \max(\mathbf{c}_1)$ , o vetor contendo os perfis de concentração da espécie 2 é  $\mathbf{c}_2 = a - \mathbf{c}_1 = (a - c_{11}, a - c_{12}, a - c_{13}, \dots, a - c_{1n})$ . Esses vetores seriam linearmente dependentes se houvesse uma solução diferente da trivial para a Equação (B.2).

$$\lambda_1 \mathbf{c}_1 + \lambda_2 \mathbf{c}_2 = \mathbf{0} \quad (\text{B.2})$$

Onde:  $\lambda_1$  e  $\lambda_2$  são constantes.

A solução trivial implica  $\lambda_1 = \lambda_2 = 0$ . Nesse caso, os vetores  $\mathbf{c}_1$  e  $\mathbf{c}_2$  contém os perfis sigmoidais. São vetores não-nulos <sup>1</sup>. Nesse caso, temos que  $a \neq 0$ . Desse modo, a Equação (B.2) só aceita solução trivial. Desse modo os vetores são linearmente independentes e o posto da matriz  $\mathbf{C} = [\mathbf{c}_1 \ \mathbf{c}_2]$  é 2, como observado nos estudos teóricos. Vale mencionar que estamos falando sobre posto de matrizes. Naturalmente, os perfis  $\mathbf{c}_1$  e  $\mathbf{c}_2$  são correlacionados, porém, não há deficiência de posto na matriz  $\mathbf{C}$ .

Imaginemos agora uma situação distinta. Considere um sistema composto por 2 reagentes que sofrem oxidação acarretando a formação das formas oxidada e reduzida. Sejam  $\mathbf{c}_{1a}$ ,  $\mathbf{c}_{1b}$ ,  $\mathbf{c}_{2a}$  e  $\mathbf{c}_{2b}$  os perfis voltabsortométricos das 4 espécies que compõem a matriz do modo C. Os subscritos 1 e 2 estão associados aos analitos 1 e 2. Os subscritos a e b estão associados as formas oxidada e reduzida. A matriz do modo C poderia ser expressa através da Equação (B.3)

$$\mathbf{C} = \begin{bmatrix} \mathbf{c}_{1a} & \mathbf{c}_{1b} & \mathbf{c}_{2a} & \mathbf{c}_{2b} \end{bmatrix} \quad (\text{B.3})$$

Supondo que cada par de espécies esteja sujeito a restrição de balanço de massa. Em qualquer instante de tempo, a soma  $\mathbf{c}_{1a} + \mathbf{c}_{1b}$  resulta em um valor constante. O mesmo ocorre para a soma de  $\mathbf{c}_{2a} + \mathbf{c}_{2b}$ . Assim sendo, é possível escrever uma relação como a mostrada na Equação (B.4) [95].

$$\mathbf{c}_{1a} + \mathbf{c}_{1b} = \beta(\mathbf{c}_{2a} + \mathbf{c}_{2b}) \quad (\text{B.4})$$

O que implica

$$\mathbf{c}_{1b} = \beta(\mathbf{c}_{2a} + \mathbf{c}_{2b}) - \mathbf{c}_{1a} \quad (\text{B.5})$$

Desse modo

$$\mathbf{C} = \begin{bmatrix} \mathbf{c}_{1a} & (\beta(\mathbf{c}_{2a} + \mathbf{c}_{2b}) - \mathbf{c}_{1a}) & \mathbf{c}_{2a} & \mathbf{c}_{2b} \end{bmatrix} \quad (\text{B.6})$$

A matriz  $\mathbf{C}$  representada na Equação (B.6) apresenta deficiência de posto (não é *full-rank*). Importante perceber que essa peculiaridade está associada ao sistema.

---

<sup>1</sup>Se um dos vetores fosse nulo, teríamos dependência linear

---

Funções utilizadas na geração dos conjuntos de dados simulados

---

**C.1 Função sigmoide**

Os perfis voltabsortométricos foram representadas através da função logística. A função logística é um tipo de função sigmoide muito comum e é matematicamente expressa através da Equação C.1 [131].

$$S(x) = \frac{e^x}{1 + e^x} = \frac{1}{1 + e^{-x}}, \quad x \in (-\infty, +\infty) \quad (\text{C.1})$$

Trata-se de uma função limitada (*bounded*), diferenciável e definida no domínio dos números reais. É convexa para valores menores que zero e côncava para valores maiores que zero. Além disso, é uma função monotônica, cuja primeira derivada apresenta forma de ‘sino’ (bell shaped). A derivada da função sigmoide é dada pela Equação (C.2).

$$\frac{dS(x)}{dx} = \frac{e^x}{(1 + e^x)^2}, \quad x \in (-\infty, +\infty) \quad (\text{C.2})$$

As curvas voltamétricas para sistemas reversíveis em difusão infinita podem ser representadas pela Equação (C.3) [56].

$$i(E) = \frac{n^2 F^2 V cdE/dt}{RT} \frac{P(E)}{[1 + P(E)]^2} \quad (\text{C.3})$$

Onde:  $P(E) = e^{\frac{nF}{RT}(E-E^0)}$ .

Em alguns trabalhos [56, 111] reporta-se que a taxa de variação da absorvância com relação tempo é dada pela Equação (C.4).

$$\frac{dA}{dt} = \frac{nF(A_0 - A)dE/dt}{RT} \frac{P(E)}{[1 + P(E)]^2} \quad (\text{C.4})$$

Analisando as Equações (C.2), (C.3) e (C.4) constata-se que todas representam a derivada da função logística com respeito a variável independente. As Equações (C.3) e (C.4) fundamentam as técnicas de DLVA e DCVA [112–114], nas quais dados espectroeletróquímicos são diferenciados visando a obtenção de curvas que assemelham a voltamogramas e a partir das quais é possível extrair informações eletroquímicas a partir de um sinal espectral. Pelo exposto, optou-se por utilizar a função logística para representar os perfis voltabsortométricos.

### C.2 Função gaussiana

A função gaussiana pode ser representada pela Equação (C.5).

$$G(x) = ae^{-\frac{(x-b)^2}{2c^2}} \quad (\text{C.5})$$

Onde: o parâmetro  $a$  é a altura da curva,  $b$  a posição do centro da curva e  $c$  controla a largura da curva. A função gaussiana apresenta forma de sino.

A função gaussiana foi utilizada na simulação dos dados espectroscópicos. A presença de mais de um pico espectral foi simulada através de combinações lineares das funções gaussianas.

# APÊNDICE D

---

## Códigos Matlab

---

A seguir serão apresentados os *m-files* utilizados na geração dos dados simulados.

### D.1 Script createData

O script createData mostrado a seguir foi utilizado na geração do primeiro conjunto de dados. A estrutura dos scripts utilizados na criação dos demais conjuntos é bastante semelhante.

```
1 % Example of the createData script. This script was used in ...
   creating dataset 1.
2 clc
3 clear all
4 close all
5
6 % Spectral profiles
7
8 sensorsB=150; % Number of sensors in the spectral profile
9 B = [gaussiana(sensorsB, 2.0, 12, 58)', ...
10      gaussiana(sensorsB, 1.7, 54, 120)'];
11
12 [n,colB] = size(B);
13 for i=1:colB
14     B(:,i) = B(:,i)/norm(B(:,i));
15 end
16
```

## Apêndice

---

```
17 % Voltabsorptometric Profiles
18
19 sensorsC = 100; % Number of sensors in the kinetic profile
20 c1 = gerarSigmoide(sensorsC, 50, 0.08)';
21 c1 = c1/norm(c1);
22 C = [max(c1)-c1,c1];
23
24 % Intensities
25
26 samples = 16; % Number of samples
27
28 A = linspace(10, 45,samples); % Concentrations in the range of 10 ...
    and 45 a.u.
29
30 % Noise
31 noise = 1;
32
33 % Data tensor creation
34 for i=1:samples
35     X(:,:,i) = A(i)*(B(:,1)*C(:,1)') + A(i)*(B(:,2)*C(:,2)');
36     X(:,:,i) = X(:,:,i) + rand(sensorsB,sensorsC)*noise/100;
37 end
38
39 % Saving simulated data
40
41 numbers = 1:samples;
42 temp=zeros(sensorsB,sensorsC);
43
44 for cont=1:samples
45     temp(:, :) = X(:,:,cont);
46     nome = strcat(strcat('cal_',num2str(numbers(cont))),'.txt');
47     dlmwrite(nome, temp, 'delimiter', ' ', 'precision', 10);
48     clear temp nome
49 end
50
51
52 simulated.data.Tensor3D = X;
53 simulated.data.noise = noise;
54 simulated.data.ModeA = A;
55 simulated.data.ModeB = B;
56 simulated.data.ModeC = C;
57
58 % Clearing some woskpace variables
59 clear c1 cont numbers colB i A B C X noise samples sensorsB sensorsC
60
61 % Saving the data structure
```

```
62 save simulated_data.mat
```

### D.2 Função Gaussiana

```
1 function B = gaussiana(sensors, scaleFactor, b, c)
2 %
3 % This function creates a Gaussian curve.
4 % For this, four parameters must be provided: sensors, ...
   scaleFactor, b and
5 % c.
6 % Sensors => represents the number of spectral sensors.
7 % scaleFactor => it is a pre-exponential multiplicative factor.
8 % b => is the coordinate of the sensor where the Gaussian peak is
9 % centered.
10 % c=> is a parameter proportional to the width of the Gaussian.
11 %
12 % As an example, run the following codes to generate a gaussian ...
   curve and
13 % its graph
14 %
15 % B = gaussiana(150, 2.0, 12, 30);
16 % plot(B)
17 %
18 % It is possible to generate linear combinations of Gaussead ...
   curves. As an
19 % example, run the following code.
20 %
21 % B = gaussiana(150, 1.2, 12, 55) + gaussiana(150, 1.7, 54, 120);
22 % plot(B)
23 %
24 % Additionally, it is possible to generate more than one Gaussian ...
   curve.
25 % As an example, run the following code.
26 %
27 % B = [gaussiana(150, 2.0, 12, 58)', gaussiana(150, 1.2, 12, 55)' ...
   + gaussiana(150, 1.7, 54, 120)'];
28 % plot(B)
29 %
30 % Note that the output of the Gaussian function has been ...
   transposed. This
31 % was done for plot visualization purposes.
32 %
33 peaks = length(scaleFactor);
```

## Apêndice

---

```
34 x = 1:sensors;
35 B=zeros(1,sensors);
36 for cont=1:peaks
37 B = B + scaleFactor(cont)*exp(-(x-b(cont)).^2/c(cont));
38 end
39
40 end
```

### D.3 Função gerarSigmoide

```
1 function f_sig = gerarSigmoide(numSen, center, rescale)
2 % This function generates a sigmoid curve.
3 % For this, three parameters must be provided: numSen, center, ...
   rescale.
4 % numSen => is the number of kinetic sensors
5 % center => center represents the coordinate where the concave and ...
   convex
6 % parts of the sigmoid curve meet.
7 % rescale => is a scaling factor
8 %
9 % As an example, run the following codes to generate a sigmoid and its
10 % graph.
11 %
12 % C = gerarSigmoide(100, 50, 0.08);
13 % plot(C)
14 %
15 x_ini = 1:numSen;
16 x = x_ini - center;
17 x = x*rescale;
18 f_sig = 1./(1+exp(-x));
19
20 end
```

---

## Referências

---

- [1] IARC. *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, volume 71. IARC, 1999.
- [2] X. Luo, H. Zheng, Z. Zhang, M. Wang, B. Yang, L. Huang e M. Wang. Cloud point extraction for simultaneous determination of 12 phenolic compounds by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Microchemical Journal*, 137:148 – 154, 2018.
- [3] S. C. Moldoveanu e M. Kiser. Gas chromatography/mass spectrometry versus liquid chromatography/fluorescence detection in the analysis of phenols in mainstream cigarette smoke. *Journal of Chromatography A*, 1141:90 – 97, 2007.
- [4] M. F. Pistonesi, M. S. Di Nezio, M. E. Centurión, M. E. Palomeque, A. G. Lista e B. S. F. Band. Determination of phenol, resorcinol and hydroquinone in air samples by synchronous fluorescence using partial least-squares (pls). *Talanta*, 69:1265 – 1268, 2006.
- [5] M. F. Pistonesi, M. S. Di Nezio, M. E. Centurión, A. G. Lista, W. D. Fragoso, M. J. C. Pontes, M. C. U. Araújo e B. S. F. Band. Simultaneous determination of hydroquinone, resorcinol, phenol, m-cresol and p-cresol in untreated air samples using spectrofluorimetry and a custom multiple linear regression-successive projection algorithm. *Talanta*, 83:320 – 323, 2010.
- [6] M. Aragón, C. Ariño, A. Dago, J. M. Díaz-Cruz e M. Esteban. Simultaneous determination of hydroquinone, catechol and resorcinol by voltammetry using graphene screen-printed electrodes and partial least squares calibration. *Talanta*, 160:138 – 143, 2016.

- [7] A. Ayala, M. Stoytcheva, R. Zlatev, Z. Velkova, V. Gochev, B. Valdez e G. Montero. Simultaneous determination of hydroquinone and catechol by differential alternative pulses voltammetry. *Electroanalysis*, 30:1913–1917, 2018.
- [8] D. R. Rodrigues, A. C. Olivieri, W. D. Fragoso e S. G. Lemos. Complex numbers-partial least-squares applied to the treatment of electrochemical impedance spectroscopy data. *Analytica Chimica Acta*, 1080:1 – 11, 2019.
- [9] R. P. Bacil, L. Chen, S. H. P. Serrano e R. G. Compton. Dopamine oxidation at gold electrodes: mechanism and kinetics near neutral pH. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 22:607–614, 2020.
- [10] H. Cui, L. Wu, J. Chen e X. Lin. Multi-mode in situ spectroelectrochemical studies of redox pathways of adrenaline. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 504:195–200, 2001.
- [11] R. P. Bacil, P. H. M. Garcia e S. H. P. Serrano. New insights on the electrochemical mechanism of epinephrine on glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 908:116111, 2022.
- [12] M. E. Ghica e C. M. A. Brett. Simple and efficient epinephrine sensor based on carbon nanotube modified carbon film electrodes. *Analytical Letters*, 46:1379–1393, 2013.
- [13] N. González-Diéguez, A. Colina, J. López-Palacios e A. Heras. Spectroelectrochemistry at screen-printed electrodes: Determination of dopamine. *Analytical Chemistry*, 84:9146–9153, 2012.
- [14] W. R. Heineman e W. B. Jensen. *Electrochemistry, Past and Present*, volume 390 of *ACS Symposium Series*, p. 442–457. American Chemical Society, 1989.
- [15] D. E. G. Austen, P. H. Given, D. J. E. Ingram e M. E. Peover. Electron resonance study of the radicals produced by controlled potential electrolysis of aromatic substances. *Nature*, 182:1784 – 1786, 1958.
- [16] T. Kuwana, R. K. Darlington e D. W. Leedy. Electrochemical studies using conducting glass indicator electrodes. *Analytical Chemistry*, 36:2023–2025, 1964.
- [17] J. W. Strojek e T. Kuwana. Electrochemical-spectroscopy using tin oxide-coated optically transparent electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 16:471 – 483, 1968.

- [18] T. Osa e T. Kuwana. Non-aqueous electrochemistry using optically transparent electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 22:389 – 406, 1969.
- [19] T. Kuwana e J. W. Strojek. Kinetic and mechanism studies of o-tolidine electro-oxidation using optically transparent electrodes. *Discuss. Faraday Soc.*, 45:134–144, 1968.
- [20] T. Kuwana, J. W. Strojek e S. W. Feldberg. Spectrochemical-electrochemical evaluation of kinetics using optically transparent electrodes. *Journal of the American Chemical Society*, 90:1353–1355, 1968.
- [21] N. Winograd, H. N. Blount e T. Kuwana. Spectroelectrochemical measurement of chemical reaction rates. first-order catalytic processes. *The Journal of Physical Chemistry*, 73:3456–3462, 1969.
- [22] N. Winograd e T. Kuwana. Homogeneous Electron-transfer Reactions Studied by Internal Reflection Spectroelectrochemistry. *Journal of the American Chemical Society*, 93:4343–4350, 1971.
- [23] N. Winograd e T. Kuwana. High Sensitivity Internal Reflection Spectroelectrochemistry for Direct Monitoring of Diffusing Species Using Signal Averaging. *Analytical Chemistry*, 43:252–259, 1971.
- [24] H. B. Mark e B. S. Pons. An in situ spectrophotometric method for observing the infrared spectra of species at the electrode surface during electrolysis. *Analytical Chemistry*, 38:119–121, 1966.
- [25] W. R. Heineman, J. N. Burnett e Royce W. Murray. Optically transparent thin-layer electrodes: ninhydrin reduction in an infrared transparent cell. *Analytical Chemistry*, 40:1974–1978, 1968.
- [26] J. S. Mattson e C. A. Smith. Optically transparent carbon film electrodes for infrared spectroelectrochemistry. *Analytical Chemistry*, 47:1122–1125, 1975.
- [27] D. L. Jeanmaire e R. P. Van Duyne. Resonance Raman Spectroelectrochemistry .5. Intensity Transients On Millisecond Time Scale Following Double Potential Step Initiation Of A Diffusion Controlled Electrode-Reaction. *Journal Of Electroanalytical Chemistry*, 66(3):235–247, 1975.
- [28] D. L. Jeanmaire, M. R. Suchanski e R. P. Van Duyne. Resonance Raman Spectroelectrochemistry .1. Tetracyanoethylene Anion Radical. *Journal Of The American Chemical Society*, 97:1699–1707, 1975.

- [29] M. R. Suchanski e R. P. Van Duyne. Resonance Raman Spectroelectrochemistry .4. Oxygen Decay Chemistry Of Tetracyanoquinodimethane Dianion. *Journal Of The American Chemical Society*, 98:250–252, 1976.
- [30] D. L. Jeanmaire e R. P. Van Duyne. Resonance Raman Spectroelectrochemistry .2. Scattering Spectroscopy Accompanying Excitation Of Lowest B-2(1u) Excited-State Of Tetracyanoquinodimethane Anion Radical. *Journal Of The American Chemical Society*, 98:4029–4033, 1976.
- [31] D. L. Jeanmaire e R. P. Van Duyne. Resonance Raman Spectroelectrochemistry .3. Tunable Dye-Laser Excitation Spectroscopy Of Lowest B-2(1u) Excited-State Of Tetracyanoquinodimethane Anion Radical. *Journal Of The American Chemical Society*, 98:4034–4039, 1976.
- [32] M. R. Suchanski. Resonance Raman Spectroelectrochemistry Of Tetracyanoquinodimethane Dianion And Tetrathiofulvalene Monocation. *Journal Of The Electrochemical Society*, 123:C181–C186, 1976.
- [33] L. M. Charney, H. O. Finklea e F. A. Schultz. Electrochemistry, spectroelectrochemistry, and electron paramagnetic resonance spectroscopy of aqueous molybdenum(vi), -(v), -(iv), and -(iii) catechol complexes. stabilization of reduced monomers in weakly alkaline solution. *Inorganic Chemistry*, 21:549–556, 1982.
- [34] G. A. Bowmaker, P. D. W. Boyd e G. K. Campbell. Spectroelectrochemistry of nickel complexes. voltammetric and esr studies of the redox reactions of phosphine-dithiolate and phosphine-catecholate complexes of nickel. *Inorganic Chemistry*, 21:2403–2412, 1982.
- [35] D. A. Smith, R. C. Elder e W. R. Heineman. Extended X-Ray Absorption Fine-Structure Thin-Layer Spectroelectrochemistry. *Analytical Chemistry*, 57:2361–2365, 1985.
- [36] A. Yildiz, P. T. Kissinger e C. N. Reilley. Evaluation of an improved thin-layer electrode. *Analytical Chemistry*, 40:1018–1024, 1968.
- [37] M. J. Simone, W. R. Heineman e G. P. Kreishman. Preliminary spectrofluoro-electrochemical studies indicate a possible conformational change in horse heart cytochrome c upon reduction. *Journal of Colloid and Interface Science*, 86:295 – 298, 1982.
- [38] W. R. Heineman e W. B. Jensen. Spectroelectrochemistry using transparent electrodes - an anecdotal history of the early years. *ACS Symposium Series*, 390:442–457, 1989.

- [39] W. Kaim e J. Fiedler. Spectroelectrochemistry: the best of two worlds. *Chem. Soc. Rev.*, 38:3373–3382, 2009.
- [40] L. Dunsch. Recent advances in in situ multi-spectroelectrochemistry. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 15(7):1631–1646, 2011.
- [41] Y. Zhai, Z. Zhu, S. Zhou, C. Zhu e S. Dong. Recent advances in spectroelectrochemistry. *Nanoscale*, 10:3089–3111, 2018.
- [42] R. J. Mortimer. Spectroelectrochemistry, methods and instrumentation. In J. C. Lindon, editor, *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, p. 2174 – 2181. Elsevier, 1999.
- [43] R. J. Gale, J. Robinson, R. B. Severeyn, D. M. Kolb, B. Beden, C. Lamy, R. L. Birke, J. R. Lombardi, R. G. Compton, A. M. Waller e D. A. Scherson. *Spectroelectrochemistry*. Springer US, 1988.
- [44] A. Neudeck, F. Marken e R. G. Compton. *UV/Vis/NIR Spectroelectrochemistry*, p. 167–189. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2002.
- [45] S. Best, A. L. Crumbliss, L. Dunsch, M.-a. Haga, F. Hartl, C. P. Kubiak, R. Winter, L. J. Yellowlees, C. Salsman, P. Murray e S. Dhungana. *Spectroelectrochemistry*. The Royal Society of Chemistry, 2008.
- [46] H Durliat e M Comtat. Investigation of electron-transfer between platinum and large biological molecules by thin-layer spectroelectrochemistry. *Analytical Chemistry*, 54:856–861, 1982.
- [47] H Durliat e M Comtat. Amperometric enzyme electrode for determination of glucose based on thin-layers spectroelectrochemistry of glucose-oxidase. *Analytical Chemistry*, 56:148–152, 1984.
- [48] P. S. Braterman, J. I. Song, F. M. Wimmer, S. Wimmer, W. Kaim, A. Klein e R. D. Peacock. Electrochemistry and spectroelectrochemistry (EPR, UV-VIS-NEAR-IR) of platinum(II) 2,2'-bipyridine and ring-metalated bipyridine complexes - PTII(L-) and PTI(L-) but not PTI(L). *Inorganic Chemistry*, 31:5084–5088, 1992.
- [49] I. H. Kuwabara, F. C. M. Comninos, V. L. Pardini, H. Viertler e H. E. Toma. Spectroelectrochemistry and electrocatalytical activity of the bis(2,6-diacetylfurfuryliminepyridine)iron(II) complex. *Electrochimica Acta*, 39:2401–2406, 1994.

- [50] K. M. Kadish, B. Boisselier-Cocolios, P. Cocolios e R. Guilard. Electrochemistry and spectroelectrochemistry of indium(III) porphyrins - Reactions of 5-Coordinate sigma-bonded complexes. *Inorganic Chemistry*, 24:2139–2147, 1985.
- [51] K. M. Kadish e X. H. Mu. Spectroelectrochemistry of Metalloporphyrins. *Pure and applied chemistry*, 62:1051–1054, 1990.
- [52] K. Araki e H. E. Toma. Luminescence, spectroelectrochemistry and photoelectrochemical properties of a tetra-ruthenated zinc porphyrin. *Journal of photochemistry and photobiology A-chemistry*, 83:245–250, 1994.
- [53] C. W. McLeod e T. S. West. Spectroelectrochemistry of morphine and related alkaloids and their investigation by fluorescence in a gold micromesh cell. *Analyst*, 107:1–11, 1982.
- [54] M. Pfaffeneder-Kmen, I. F. Casas, A. Naghilou, G. Trettenhahn e W. Kautek. A multivariate curve resolution evaluation of an in-situ atr-ftir spectroscopy investigation of the electrochemical reduction of graphene oxide. *Electrochimica Acta*, 255:160 – 167, 2017.
- [55] J. V. Perales-Rondon, S. Hernandez, D. Martin-Yerga, P. Fanjul-Bolado, A. Heras e A. Colina. Electrochemical surface oxidation enhanced raman scattering. *Electrochimica Acta*, 282:377 – 383, 2018.
- [56] A. Herrero, S. Zamponi, R. Marassi, P. Conti, M. C. Ortiz e L. A. Sarabia. Determination of the capability of detection of a hyphenated method: application to spectroelectrochemistry. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 61:63 – 74, 2002.
- [57] K. Asadpour-Zeynali, S. M. Sajjadi e F. Taherzadeh. Second order advantage obtained by spectroelectrochemistry along with novel carbon nanotube modified mesh electrode: Application for determination of acetaminophen in novafen samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153:674 – 680, 2016.
- [58] J. Garoz-Ruiz, J. V. Perales-Rondon, A. Heras e A. Colina. Spectroelectrochemical sensing: Current trends and challenges. *Electroanalysis*, 31:1254–1278, 2019.
- [59] J. López-Palacios, A. Colina, A. Heras, V. Ruiz e L. Fuente. Bidimensional spectroelectrochemistry. *Analytical Chemistry*, 73:2883–2889, 2001.
- [60] J. Garoz-Ruiz, A. Heras, S. Palmero e A. Colina. Development of a novel bidimensional spectroelectrochemistry cell using transfer single-walled carbon nanotubes

- films as optically transparent electrodes. *Analytical Chemistry*, 87:6233–6239, 2015.
- [61] D. Izquierdo, V. Ferraresi-Curotto, A. Heras, R. Pis-Diez, A. C. Gonzalez-Baro e A. Colina. Bidimensional spectroelectrochemistry: application of a new device in the study of a o-vanillin-copper(ii) complex. *Electrochimica Acta*, 245:79–87, 2017.
- [62] K. Danzer. *Calibration in Analytical Chemistry*, p. 123–175. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2007.
- [63] K. S. Booksh e B. R. Kowalski. Theory of analytical chemistry. *Analytical Chemistry*, 66:782A–791A, 1994.
- [64] P. Valderrama, J. W. B. Braga e R. J. Poppi. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. *Química Nova*, 32:1278 – 1287, 2009.
- [65] G. M. Escandar, H. C. Goicoechea, A. M. de la Peña e A. C. Olivieri. Second- and higher-order data generation and calibration: A tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 806:8 – 26, 2014.
- [66] A. C. Olivieri e G. M. Escandar. *Practical Three-Way Calibration*. Elsevier, 2014.
- [67] A. C. Olivieri. Recent advances in analytical calibration with multi-way data. *Anal. Methods*, 4:1876–1886, 2012.
- [68] A. C. Olivieri. Analytical advantages of multivariate data processing. one, two, three, infinity? *Analytical Chemistry*, 80:5713–5720, 2008.
- [69] H.-L. Wu, Y. Li e R.-Q. Yu. Recent developments of chemical multiway calibration methodologies with second-order or higher-order advantages. *Journal of Chemometrics*, 28:476–489, 2014.
- [70] J. D. Carroll e J.-J. Chang. Analysis of individual differences in multidimensional scaling via an n-way generalization of “eckart-young” decomposition. *Psychometrika*, 35:283–319, 1970.
- [71] R. A. Harshman. Foundations of the parafac procedure: Models and conditions for an ‘explanatory’ multimodal factor analysis. *Los Angeles: UCLA Working Papers in Phonetics*, 1970.
- [72] R. Tauler. Multivariate curve resolution applied to second order data. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 30:133 – 146, 1995.

- [73] S. Wold, P. Geladi, K. Esbensen e J. Öhman. Multi-way principal components- and pls-analysis. *Journal of Chemometrics*, 1:41–56, 1987.
- [74] J. Öhman, P. Geladi e S. Wold. Residual bilinearization. part 1: Theory and algorithms. *Journal of Chemometrics*, 4:79–90, 1990.
- [75] J. Öhman, P. Geladi e S. Wold. Residual bilinearization. part 2: Application to hplc—diode array data and comparison with rank annihilation factor analysis. *Journal of Chemometrics*, 4:135–146, 1990.
- [76] M. M. Sena, M. G. Trevisan e R. J. Poppi. PARAFAC: uma ferramenta quimiométrica para tratamento de dados multidimensionais. Aplicações na determinação direta de fármacos em plasma humano por espectrofluorimetria. *Química Nova*, 28:910 – 920, 2005.
- [77] R. B. Cattell. The three basic factor-analytic research designs—their interrelations and derivatives. *Psychological bulletin*, 49(5):499–520, 1952.
- [78] L. R. Tucker. Some mathematical notes on three-mode factor analysis. *Psychometrika*, 31:279–311, 1966.
- [79] J. Levin. Three-mode factor analysis. *Psychological bulletin*, 64(6):442–452, 1965.
- [80] I. M. Warner, G. D. Christian, E. R. Davidson e J. B. Callis. Analysis of multi-component fluorescence data. *Analytical Chemistry*, 49:564–573, 1977.
- [81] I. M. Warner, E. R. Davidson e G. D. Christian. Quantitative analyses of multicomponent fluorescence data by the methods of least squares and non-negative least sum of errors. *Analytical Chemistry*, 49:2155–2159, 1977.
- [82] C. J. Appellof e E. R. Davidson. Strategies for analyzing data from video fluorometric monitoring of liquid chromatographic effluents. *Analytical Chemistry*, 53:2053–2056, 1981.
- [83] M. D. Russell e M. Gouterman. Excitation-emission-lifetime analysis of multi-component systems—i. principal component factor analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 44:857 – 861, 1988.
- [84] M. D. Russell e M. Gouterman. Excitation-emission-lifetime analysis of multicomponent systems—ii. synthetic model data. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 44:863 – 872, 1988.
- [85] M. D. Russell, M. Gouterman e J. A. van Zee. Excitation-emission-lifetime analysis of multicomponent systems—iii. platinum, palladium and rhodium porphyrins. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 44:873 – 882, 1988.

- [86] E. Sanchez e B. R. Kowalski. Tensorial calibration: I. first-order calibration. *Journal of Chemometrics*, 2:247–263, 1988.
- [87] E. Sanchez e B. R. Kowalski. Tensorial calibration: II. second-order calibration. *Journal of Chemometrics*, 2:265–280, 1988.
- [88] E. Sanchez e B. R. Kowalski. Generalized rank annihilation factor analysis. *Analytical Chemistry*, 58:496–499, 1986.
- [89] E. Sanchez e B. R. Kowalski. Tensorial resolution: A direct trilinear decomposition. *Journal of Chemometrics*, 4:29–45, 1990.
- [90] R. Bro. Multiway calibration. multilinear pls. *Journal of Chemometrics*, 10:47–61, 1996.
- [91] M. Linder e R. Sundberg. Second-order calibration: bilinear least squares regression and a simple alternative. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 42:159 – 178, 1998.
- [92] A. C. Olivieri, G. M. Escandar e A. M. de la Peña. Second-order and higher-order multivariate calibration methods applied to non-multilinear data using different algorithms. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30:607 – 617, 2011.
- [93] A. de Juan, S. C. Rutan, R. Tauler e D. L. Massart. Comparison between the direct trilinear decomposition and the multivariate curve resolution-alternating least squares methods for the resolution of three-way data sets. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 40:19 – 32, 1998.
- [94] P. Comon, X. Luciani e A. L. F. de Almeida. Tensor decompositions, alternating least squares and other tales. *Journal of Chemometrics*, 23(7-8):393–405.
- [95] A. Smilde, R. Bro e P. Geladi. *Multi-Way Analysis with Applications in the Chemical Sciences*. John Wiley and Sons, 2005.
- [96] A. Malik, A. de Juan e R. Tauler. *Multivariate Curve Resolution: A Different Way To Examine Chemical Data*, Cap. 5, p. 95–128.
- [97] T. G. Kolda e B. W. Bader. Tensor decompositions and applications. *SIAM Review*, 51:455–500, 2009.
- [98] F. L. Hitchcock. The expression of a tensor or a polyadic as a sum of products. *Journal of Mathematics and Physics*, 6:164–189, 1927.
- [99] R. Bro e H. A. L. Kiers. A new efficient method for determining the number of components in parafac models. *Journal of Chemometrics*, 17:274–286, 2003.

- [100] R. A. Harshman. Determination and proof of minimum uniqueness conditions for parafac1. 1972.
- [101] J. B. Kruskal. Three-way arrays: rank and uniqueness of trilinear decompositions, with application to arithmetic complexity and statistics. *Linear Algebra and its Applications*, 18(2):95–138, 1977.
- [102] J. A. Rhodes. A concise proof of kruskal’s theorem on tensor decomposition. *Linear Algebra and its Applications*, 432:1818–1824, 2010.
- [103] J. M. F. ten Berge e N. Sidiropoulos. On uniqueness in candecomp/parafac. *Psychometrika*, 67:399–409, 2002.
- [104] A. Stegeman e J. M. F. ten Berge. Kruskal’s condition for uniqueness in candecomp/parafac when ranks and k-ranks coincide. *Comput. Stat. Data Anal.*, 50:210–220, 2006.
- [105] N. D. Sidiropoulos e R. Bro. On the uniqueness of multilinear decomposition of n-way arrays. *Journal of Chemometrics*, 14:229–239, 2000.
- [106] T. G. Kolda. A counterexample to the possibility of an extension of the eckart–young low-rank approximation theorem for the orthogonal rank tensor decomposition. *SIAM Journal on Matrix Analysis and Applications*, 24:762–767, 2003.
- [107] V. de Silva e L.-H. Lim. Tensor rank and the ill-posedness of the best low-rank approximation problem. *SIAM Journal on Matrix Analysis and Applications*, 30:1084–1127, 2008.
- [108] H. Abdollahi e R. Tauler. Uniqueness and rotation ambiguities in multivariate curve resolution methods. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 108:100 – 111, 2011.
- [109] J. Jaumot e R. Tauler. Mcr-bands: A user friendly matlab program for the evaluation of rotation ambiguities in multivariate curve resolution. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 103:96 – 107, 2010.
- [110] P. H. Marçó, P. Valderrama, G. L. Alexandrino, R. J. Poppi e R. Tauler. Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. *Química Nova*, 37:1525 – 1532, 2014.
- [111] S. Zamponi, A. Czerwinski e R. Marassi. Thin-layer derivative cyclic voltabsorptometry. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 266:37 – 46, 1989.

- [112] E. E. Bancroft, J. S. Sidwell e H. N. Blount. Derivative linear sweep and derivative cyclic voltabsorptometry. *Analytical Chemistry*, 53:1390–1394, 1981.
- [113] K. Aoki, K. Tokuda e H. Matsuda. Theory of linear sweep voltammetry with finite diffusion space. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 146:417 – 424, 1983.
- [114] Q. Xie, W. Wei, L. Nie e S. Yao. Derivative linear sweep and derivative cyclic voltabsorptometry of the long-path-length spectroelectrochemical cell: The single reversible electrode reaction. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 348:29 – 47, 1993.
- [115] U. Evans, O. Soyemi, M. S. Doescher, U. H. F. Bunz, L. Kloppenburg e M. L. Myrick. Spectroelectrochemical study of the oxidative doping of polydialkylphenyleneethynylene using iterative target transformation factor analysis. *Analyst*, 126:508–512, 2001.
- [116] R. H. Uibel e J. M. Harris. Resolution of intermediate adsorbate structures in the potential-dependent self-assembly of n-hexanethiolate on silver by in situ surface-enhanced raman spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 58:934–944, 2004.
- [117] M. Shamsipur, B. Hemmateenejad, A. Babaei e L. Faraj-Sharabiani. Use of multivariate curve resolution analysis in the spectroelectrochemistry of 9,10-anthraquinone reduction in dimethylformamide solution. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 570:227 – 234, 2004.
- [118] J. Garoz-Ruiz, A. Heras e A. Colina. Direct determination of ascorbic acid in a grapefruit: Paving the way for in vivo spectroelectrochemistry. *Analytical Chemistry*, 89:1815–1822, 2017.
- [119] J. Garoz-Ruiz, C. Guillen-Posteguillo, A. Colina e A. Heras. Application of spectroelectroanalysis for the quantitative determination of mixtures of compounds with highly overlapping signals. *Talanta*, 195:815 – 821, 2019.
- [120] S. Hernandez, J. V. Perales-Rondon, A. Heras e A. Colina. Determination of uric acid in synthetic urine by using electrochemical surface oxidation enhanced raman scattering. *Analytica Chimica Acta*, 1085:61 – 67, 2019.
- [121] F. Olmo, J. Garoz-Ruiz, A. Colina e A. Heras. Derivative uv/vis spectroelectrochemistry in a thin-layer regime: deconvolution and simultaneous quantification of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412:6329–6339, 2020.

- [122] C. A. Andersson e R. Bro. The n-way toolbox for matlab. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 52:1 – 4, 2000.
- [123] A. C. Olivieri, H.-L. Wu e R.-Q. Yu. Mv2: A matlab graphical interface toolbox for second-order multivariate calibration. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 96:246 – 251, 2009.
- [124] T. A. Enache e A. M. Oliveira-Brett. Phenol and para-substituted phenols electrochemical oxidation pathways. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 655:9–16, 2011.
- [125] Bensalah, Gadri, P. Cañizares, C. Sáez, J. Lobato e M. A. Rodrigo. Electrochemical oxidation of hydroquinone, resorcinol, and catechol on boron-doped diamond anodes. *Environmental Science & Technology*, 39:7234–7239, 2005.
- [126] K. Ngamchuea, B. Tharat, P. Hirunsit e S. Suthirakun. Electrochemical oxidation of resorcinol: mechanistic insights from experimental and computational studies. *RSC Adv.*, 10:28454–28463, 2020.
- [127] G. Albarran, W. Boggess, V. Rassolov e R. H. Schuler. Absorption spectrum, mass spectrometric properties, and electronic structure of 1,2-benzoquinone. *The Journal of Physical Chemistry A*, 114:7470–7478, 2010.
- [128] NIST Livro de Química na Web. p-benzoquinone: Uv/visible spectrum. Disponível em <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C106514&Units=SI&Mask=400#UV-Vis-Spec1>. Acesso em: 20/02/2022.
- [129] T. Odajima e M. Onishi. Formation of adrenochrome from epinephrine by myeloperoxidase via a free radical: Its biological significance. *Japanese Journal of Oral Biology*, 39:297–303, 1997.
- [130] L. De Lathauwer. A link between the canonical decomposition in multilinear algebra and simultaneous matrix diagonalization. *SIAM Journal on Matrix Analysis and Applications*, 28:642–666, 2006.
- [131] K. Nantomah. On some properties of the sigmoid function. *Asia Mathematica*, 2019.