

**MARÍLIA CHRISTIAN GOMES MORAIS NASCIMENTO**

**SISTEMA EM FLUXO PARA DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE CLORO  
LIVRE EM ÁGUA POTÁVEL EMPREGANDO UM MICRODISPOSITIVO  
CONSTRUÍDO COM CERÂMICAS VERDES E *SMARTPHONE***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

Orientador: Willian Toito Suarez

**VIÇOSA – MINAS GERAIS**

**2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central  
da Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T  
N244s  
2020

Nascimento, Marília Christian Gomes Morais, 1992-  
Sistema em fluxo para determinação colorimétrica de cloro livre em água potável empregando um microdispositivo construído com cerâmicas verdes e smartphone / Marília Christian Gomes Morais Nascimento. – Viçosa, MG, 2020.  
92 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Willian Toito Suarez.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 84-92.

1. Cloro residual. 2. Análise por injeção em fluxo.  
3. Microdispositivos. 4. Smartphones. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química. Mestrado em Agroquímica.  
II. Título.

CDD 22. ed. 543.55

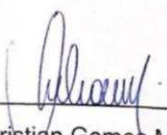
**MARÍLIA CHRISTIAN GOMES MORAIS NASCIMENTO**

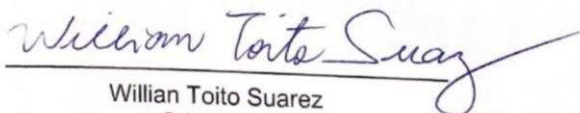
**SISTEMA EM FLUXO PARA DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE CLORO  
LIVRE EM ÁGUA POTÁVEL EMPREGANDO UM MICRODISPOSITIVO  
CONSTRUÍDO COM CERÂMICAS VERDES E *SMARTPHONE***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2020.

Assentimento:

  
\_\_\_\_\_  
Marília Christian Gomes Morais Nascimento  
Autora

  
\_\_\_\_\_  
Willian Toito Suarez  
Orientador

*Dedicado ao amor da minha vida,  
Dequisson, por nunca pensar em duvidar!*

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço a Deus que na sua infinita misericórdia, me amou primeiro sendo eu imerecedora de tamanha graça!*

*Agradeço aos meus pais, Marcilene e José Ângelo, que provocaram o anseio em mim de sempre querer saber o porquê das coisas e por me dar os irmãos mais incríveis e maravilhosos dessa vida, Rainara e Sabrina e Eziel, tenho a maior certeza do mundo que minha vida é mais completa com vocês!*

*Agradeço ao meu melhor amigo e marido, Deyvisson, que foi a maior fonte de incentivo para o término deste trabalho!*

*Agradeço ao meu orientador, Prof. Willian, por acreditar que daria certo mesmo a distância e por dominar a arte de ser amigo de seus orientados!*

*Agradeço aos participantes da banca Dra. Jussara e prof. Fábio pelas inúmeras correções para ajuste deste trabalho.*

*Agradeço aos amigos do laboratório da UFV, Jeferson, Carol e Mathews por me ensinarem tudo sobre FIA e LTCC e por sempre estarem prontos para enviar tudo que eu precisei para o Vale do Aço.*

*Agradeço imensamente a Hamy, secretária da Agroquímica, tenho convicção que sem você eu não resistiria a todo esse tempo e não teria feito minhas matrículas em tempo hábil.*

*Agradeço a Cenibra, ao Sandro Moraes e ao meu amigo e coordenador, Leonardo de Caux, por me proporcionar esse tempo de dedicação ao mestrado.*

*Agradeço aos meus amigos do DEMAQ-P principalmente a Cleide, Walaston, Silvano, Beatriz, Renato, Carlos, Dângelo e Victor pelo apoio, compreensão e pelo tempo ouvindo música boa e ouvindo barulho. Gostem vocês ou não, o nome é Agroquímico!*

*Agradeço a família que me acolheu em Viçosa, Maria Geralda, Paulo, Paula e Isabella, não poderia ter passado a vida sem conhecer vocês. Ainda bem que vocês são meus primos, adoro ter parentes maneiros!*

*Agradeço minhas famílias Moraes, Gomes e Nascimento, por serem o princípio de tudo!*

*Agradeço aos meus amigos e a Igreja Batista Jerusalém, por se importarem e me amarem tanto, ainda que eu não pudesse me entregar mais à vocês. Bom, agora eu posso!*

*Agradeço aos professores da UFV e do UNILESTE, ser mestre sempre foi nosso anseio, conseguimos!*

*O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.*

***“Diante da vastidão do tempo e da imensidão do universo é um imenso prazer para mim, dividir um planeta e uma época com vocês!”***

**Carl Sagan**

## RESUMO

NASCIMENTO, Marília Christian Gomes Morais, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **Sistema em fluxo para determinação colorimétrica de cloro livre em água potável empregando um microdispositivo construído com cerâmicas verdes e *smartphone*.** Orientador: Willian Toito Suarez.

A concentração de cloro livre residual é um parâmetro importante para garantia da potabilidade da água. Esse analito é responsável pela desinfecção e, com isso, qualifica a eficiência do sistema de tratamento da água. Segundo o Ministério da Saúde, a concentração de cloro livre residual deve estar entre 0,2 e 2 mg L<sup>-1</sup> em todos os pontos da rede de distribuição. O presente trabalho apresenta o desenvolvimento e a validação de duas metodologias empregando os reagentes N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) e 3,3-dimetilbenzidina (orto-toluidina) para determinação de cloro livre residual em água utilizando um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) e um microdispositivo construído com a tecnologia de sinterização de cerâmicas a baixas temperaturas (LTCC). Em ambas as metodologias desenvolvidas, o sinal analítico foi monitorado pela câmera de um *smartphone* e, através de um aplicativo (Color Grab) foi possível obter os valores de dos sinais vermelho, verde e azul (RGB) das imagens digitais, sendo eles inversamente proporcionais a concentração do analito. Os parâmetros para otimização do sistema FIA foram: vazão, pH e concentração da solução carregadora, concentração do reagente cromogênico, vazão dos reagentes e comprimento da bobina helicoidal. As validações das metodologias foram observadas pela avaliação da curva analítica com faixa de trabalho entre 0,1 e 2,5 mg L<sup>-1</sup>; o método DPD apresentou uma correlação de 0,9963, um limite de detecção de 0,023 mg L<sup>-1</sup> e limite de quantificação de 0,077 mg L<sup>-1</sup>; o método da orto-toluidina apresentou uma correlação de 0,9910, um limite de detecção de 0,026 mg L<sup>-1</sup> e limite de quantificação de 0,089 mg L<sup>-1</sup>. Foram estudados os possíveis interferentes: cálcio, magnésio, ferro, sulfato e sódio, a cor verdadeira e os sólidos suspensos totais na determinação de cloro residual em água potável. Somente a cor verdadeira e sólidos suspensos totais causaram erros significativos nas análises. O emprego de um sistema FIA, no qual foi acoplado um microdispositivo construído com tecnologia LTCC, assim como o uso de um *smartphone* como detector, pode ser considerada uma proposta inovadora, pois não há nenhum estudo relatado na

literatura, até o momento, propondo este tipo de metodologia para a determinação de cloro livre residual em água.

Palavras-chave: Cloro livre residual. Análise por injeção em fluxo. Microdispositivo. *Smartphone*. Determinação.

## ABSTRACT

NASCIMENTO, Marília Christian Gomes Morais, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. **Flowing system for colorimetric determination of free chlorine in drinking water using a microdevice built with green ceramics and *smartphone*.** Advisor: Willian Toito Suarez.

The concentration of residual free chlorine is an important parameter to guarantee water potability. This analyte is responsible for disinfection and, therefore, qualifies the efficiency of the water treatment system. According to the Ministry of Health, the concentration of residual free chlorine must be between 0.2 and 2 mg L<sup>-1</sup> at all points of the distribution network. This work presents the development and validation of two methodologies using N,N-diethyl-p-phenylendiamine (DPD) and 3,3-dimethylbenzidine (ortho-toluidine) reagents to determine residual free chlorine in water using a flow injection analysis system (FIA) and a microdevice built with Low Temperature co-fired Ceramics (LTCC) technology. In both methodologies developed, the analytical signal was monitored by a *smartphone* camera and, through an app (Color Grab) it was possible to obtain the RGB (red, green, blue) values of the digital images, which are proportional to the concentration of the analyte. The parameters for optimization of the FIA system were: flow, pH and concentration of the loading solution, concentration of the chromogenic reagent, flow of the reagents and length of the helical coil. The validations of the methodologies were observed by evaluating the analytical curve with a working range between 0.1 and 2.5 mg L<sup>-1</sup>; the DPD method showed a correlation of 0.9963, a detection limit of 0.023 mg L<sup>-1</sup> and a quantification limit of 0.077 mg L<sup>-1</sup>; the ortho-toluidine method showed a correlation of 0.9910, a detection limit of 0.026 mg L<sup>-1</sup> and a quantification limit of 0.089 mg L<sup>-1</sup>. The possible interferents were studied: calcium, magnesium, iron, sulfate and sodium, the true color and the total suspended solids in the determination of residual chlorine in drinking water. Only true color and total suspended solids caused significant errors in the analysis. The use of an FIA system, in which a microdevice built with LTCC technology was coupled, as well as the use of a *smartphone* as a detector, can be considered an innovative proposal, as there is no study reported in the literature, so far, proposing this type of methodology for the determination of residual free chlorine in water.

Keywords: Residual free chlorine. Flow injection analysis. Microdevice. *Smartphone*.  
Determination.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Classificação dos métodos de análises em fluxo. ....	20
Figura 2- Análise por injeção em fluxo. Adaptado RUZICKA e HARSEN, 1976. ..	21
Figura 3- Representação esquemática de um sistema FIA simples de linha única. .....	22
Figura 4- Rampa de temperatura para sinterização da cerâmica DuPont 951AX. 27	
Figura 5- Etapa de sinterização da cerâmica verde (GONGORA-RUBIO, 2001).. 27	
Figura 6- Etapas de fabricação de um microdispositivo construído com LTCC (LOPÉZ et al. 2016). ....	29
Figura 7- Layout do dispositivo construído com LTCC. ....	30
Figura 8- Estrutura interna do dispositivo construído com LTCC.....	30
Figura 9-Modelo de cor RGB representado geometricamente (WEBER, 2009). ..	32
Figura 10- Oxidação do DPD e seu produto estabilizado por ressonância (JUNGREIS, 1984).....	36
Figura 11 -Oxidação da orto-toluidina, formando uma imino-quinona (JUNGREIS, 1984).....	37
Figura 12- Curva de Calibração mostrando a estimativa do ruído no sinal analítico (RIBEIRO et al., 2008). ....	39
Figura 13- Curva de calibração com ilustração dos parâmetros utilizados no cálculo de LD (a) e LQ (b) (RIBEIRO et al., 2008).....	40
Figura 14- Camada da cerâmica DuPont 951AX com plástico Mylar. ....	46
Figura 15- Cerâmica verde e os furos de alinhamento .....	47
Figura 16- Desenho das camadas utilizadas na construção do microdispositivo de LTCC em duas perspectivas. ....	48
Figura 17- Esquema de conexão de entrada e saída de fluidos do microdispositivo construído com LTCC. ....	49
Figura 18- Dispositivo de análise construído com LTCC. ....	49
Figura 19– Forma final do microdispositivo construído com LTCC.....	49
Figura 20- Sistema FIA utilizado neste trabalho. ....	52
Figura 21- Esquema do interior do sistema para aquisição das imagens digitais. Adaptado (AMORIM, 2020).....	53

Figura 22- Etapas de configuração do aplicativo para aquisição das imagens digitais. ....	53
Figura 23- Diagrama esquemático do sistema FIA para determinação de cloro livre residual utilizando um microssistema construído com LTCC e o reagente colorimétrico DPD.. ....	54
Figura 24- Diagrama esquemático do sistema FIA para determinação de cloro livre residual utilizando um microssistema construído com LTCC e o agente colorimétrico orto-toluidina. ....	55
Figura 25- Modelo de cor RGB representado geometricamente, com foco para a indicação G da cor branca para a púrpura. Adaptado (WEBER, 2009).. ....	58
Figura 26– Otimização dos parâmetros pH e solução carregadora sobre o sinal analítico. ....	59
Figura 27– Estudo da concentração de N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) sobre o sinal analítico. ....	60
Figura 28– Estudo de volume da alça de amostragem sobre o sinal analítico. ....	61
Figura 29- Estudo da vazão das soluções carregadora e de DPD sobre o sinal analítico. ....	62
Figura 30- Estudo do comprimento da bobina helicoidal sobre o sinal analítico.. .	62
Figura 31- Estudo da precisão para soluções de referência de cloro livre residual 2 mg L <sup>-1</sup> empregando o reagente DPD.....	64
Figura 32- Curva analítica para determinação de cloro livre residual com agente cromóforo DPD, faixa de trabalho 0,1 a 2,5 mg L <sup>-1</sup> .....	65
Figura 33- Probabilidade normal dos resíduos. ....	66
Figura 34-Resíduos com homocedastidade e normalmente distribuídos. ....	67
Figura 35- Sinais transientes obtidos em triplicata das soluções de referência de cloro livre residual .....	67
Figura 36- Modelo de cor RGB representado geometricamente, com foco para a indicação B da cor branca para a amarela. Adaptado (WEBER, 2009).. ....	69
Figura 37- Otimização dos parâmetros concentração e solução carregadora sobre o sinal analítico. ....	70
Figura 38- Otimização da concentração da orto-toluidina sobre o sinal analítico. ....	71
Figura 39– Estudo de volume da alça de amostragem sobre o sinal analítico.. ...	72
Figura 40- Estudo da vazão da solução carregadora sobre o sinal analítico.. .....	73
Figura 41- Estudo do comprimento da bobina helicoidal sobre o sinal analítico. ..	74

Figura 42- Estudo da precisão para soluções de referência de cloro livre residual 2 mg L <sup>-1</sup> empregando o reagente orto-toluidina.....	75
Figura 43- Curva analítica para determinação de cloro livre residual com agente cromóforo orto-toluidina, faixa de trabalho 0,1 a 2,5 mg L <sup>-1</sup> .....	77
Figura 44- Probabilidade normal dos resíduos .....	77
Figura 45- Resíduos com homocedastidade e normalmente distribuídos.....	78
Figura 46- Sinais transientes obtidos em triplicata das soluções de referência de cloro livre residual .....	78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Parâmetros de otimização do sistema FIA-LTCC-DPD .....	55
Tabela 2- Parâmetros de otimização do sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA .	56
Tabela 3- Teste de Tukey realizado para estudo da variância na concentração de N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) sobre o sinal analítico. ....	60
Tabela 4- Teste de Tukey realizado para estudo da variância do volume da alça de amostragem sobre o sinal analítico (DPD). ....	61
Tabela 5- Teste de Tukey realizado para estudo do comprimento da bobina helicoidal (DPD). ....	63
Tabela 6- Parâmetros físicos e químicos avaliados na otimização sistema FIA-LTCC-DPD.....	63
Tabela 7- Percentual de interferência de alguns compostos (DPD). ....	65
Tabela 8- Estimativa de exatidão e precisão empregando o sistema FIA-LTCC-DPD .....	68
Tabela 9- Teste de Tukey realizado para estudo da variância na concentração de orto-toluidina sobre o sinal analítico. ....	71
Tabela 10- Teste de Tukey realizado para estudo da variância do volume da alça de amostragem sobre o sinal analítico (orto-toluidina). ....	72
Tabela 11- Teste de Tukey realizado para estudo da variância do comprimento da bobina helicoidal sobre o sinal analítico (orto-toluidina). ....	73
Tabela 12- Parâmetros físicos e químicos avaliados na otimização (orto-toluidina). ....	74
Tabela 13- Percentual de interferência de alguns compostos usando o sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA. ....	76
Tabela 14- Estimativa de Exatidão e Precisão empregando o sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA. ....	79
Tabela 15- Comparação entre as metodologias empregadas para a determinação de cloro residual livre e o método FIA-LTCC-DPD .....	80
Tabela 16- Comparação entre as metodologias empregadas para a determinação de cloro residual livre e o método FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA .....	80
Tabela 17- Tabela comparativa de métodos desenvolvidos para determinação de cloro residual livre em água potável. ....	81

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	16
2.	REFERENCIAL TEÓRICO .....	19
2.1.	Sistemas Analíticos .....	19
2.1.1.	Automatização de Sistemas Analíticos .....	19
2.1.2.	Análise por injeção em Fluxo .....	20
2.1.3.	Constituição do sistema FIA .....	21
2.1.4.	Miniaturização de sistemas analíticos .....	24
2.1.5.	Cerâmica cossinterizada a baixa temperatura – LTCC .....	26
2.2.	Métodos de Análise .....	30
2.2.1.	Imagens Digitais .....	31
2.2.2.	Modelo de cor RGB em imagens digitais .....	31
2.2.3.	Métodos analíticos baseados em imagens digitais .....	32
2.3.	Controle de Qualidade da Água Potável .....	33
2.3.1.	Cloro residual livre .....	33
2.3.2.	Determinação de cloro residual livre .....	34
2.3.3.	Método DPD .....	35
2.3.4.	Método da orto-Toluidina .....	36
2.4.	Validação de métodos analíticos .....	37
2.4.1.	Seletividade/ Especificidade .....	38
2.4.2.	Linearidade .....	38
2.4.3.	Sensibilidade .....	39
2.4.4.	Exatidão .....	40
2.4.5.	Precisão .....	41
2.4.6.	Robustez .....	41
2.4.7.	Teste de variância .....	42
3.	OBJETIVOS .....	43

3.1. Objetivos gerais .....	43
3.2. Objetivos específicos .....	43
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	44
4.1. Instrumentação .....	44
4.1.1. Balança analítica .....	44
4.1.2. pHmetro.....	44
4.1.3. Eletrodo de pH.....	44
4.1.4. Bomba peristáltica .....	44
4.1.5. Tubos e conexões .....	44
1.1.1. Injetor Comutador .....	44
1.1.2. Aparelho <i>smartphone</i> .....	44
1.1.3. Micropipetas .....	45
1.1.4. Aplicativo Color Grab.....	45
4.1.10. Sistema de aquisição de imagem .....	45
4.1.11. Dispositivo construído com LTCC .....	45
4.1.12. Desenho inicial do microdispositivo analítico .....	46
4.1.13. Processo de corte e serigrafia .....	46
4.1.14. Alinhamento e Laminação.....	47
4.1.15. Sinterização .....	47
4.1.16. Desenho das camadas para o microsistema analítico construído com LTCC.....	48
4.1.17. Colorímetro .....	50
4.2. Reagentes e soluções.....	50
4.2.1. Amostras .....	52
4.3. Construção do sistema para aquisição dos valores em RGB .....	52
4.3.1. Diagrama esquemático para determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-DPD. ....	53
4.3.2. Diagrama esquemático para determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA.....	55

4.4. Validação do método analítico .....	57
4.5. Método comparativo para determinação de cloro residual livre .....	57
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
5.1. Determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-DPD.....	58
5.1.1. Estudo dos Parâmetros Químicos do Sistema FIA. ....	58
5.1.2. Estudo dos Parâmetros Físicos do Sistema FIA. ....	60
5.1.3. Estudo da Precisão dos Sinais Analíticos e Frequência de amostragem	63
5.1.4. Estudo dos interferentes em potencial. ....	64
5.1.5. Validação dos Resultados .....	65
5.2. Determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA .....	69
5.2.1. Estudo dos Parâmetros Químicos do Sistema FIA. ....	69
5.2.1. Estudo dos Parâmetros Físicos do Sistema FIA. ....	71
5.2.2. Estudo da precisão dos sinais analíticos e frequência de amostragem.....	74
5.2.3. Estudo dos interferentes em potencial. ....	75
5.2.4. Validação dos Resultados .....	76
5.3. Aplicações.....	80
6. CONCLUSÃO.....	83
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

## 1. INTRODUÇÃO

As análises químicas são empregadas em diversos segmentos, na indústria, na medicina e em todas as outras ciências, na quantificação dos constituintes dos materiais, cujos exemplos de aplicações cotidianas vão desde a análise de ligas de aço na indústria até a análise de sangue em laboratórios de análises clínicas (DAMASCENO *et al.*, 2015; SKOOG *et al.*, 2008). Os procedimentos de análise são aplicados e modernizados dependendo de sua necessidade e o comportamento de cada analito.

Atualmente existe uma crescente necessidade de automatização de procedimentos analíticos, e isso se deve ao número de amostras laboratoriais a serem analisadas, à demanda por técnicas com alta sensibilidade e precisão e necessidade de obter informações sobre a amostra em tempo real para controle de processos industriais (SUAREZ, 2009).

Uma maneira flexível de fornecer informações para operações unitárias é através do uso de sistemas de fluxo contínuo. Entre todas as técnicas de fluxo contínuo existentes a mais amplamente usada é a denominada Análise por Injeção de Fluxo (FIA). Essa técnica se baseia na inserção de um pequeno volume de amostra em um fluxo transportador que a leva em direção a um detector. Neste percurso é possível integrar etapas como mistura de reagentes, difusão de gás e pré-concentração (LÓPEZ *et al.*, 2016).

Os métodos clássicos, como a gravimetria e a volumetria exigem tempo, recursos humanos intensivos e os seus limites de detecção não respondem às exigências impostas atualmente. Assim, estes métodos foram substituídos por métodos instrumentais como a espectrometria de absorção atômica com chama, com câmara de grafite e com geração de hidretos, a espectrometria de emissão com plasma indutivo, entre outros; ainda que esses instrumentos tenham automatizado as análises químicas exigem um forte investimento em instrumento de custo elevado (CORRÊA, 2015). Com a intenção de sanar essas necessidades, um novo conceito de sistema de análise conhecido como microssistemas de análise total ( $\mu$ -TAS), se apresenta para redimensionar os instrumentos analíticos, e possibilita aplicação em diversas operações unitárias. E com a interação destes microssistemas com os sistemas FIA é possível aumentar de forma significativa a frequência de amostragem.

Inúmeros detectores podem ser empregados em microsistemas de análise em fluxo como os espectrofotômetros no ultravioleta- visível (UV-Vis), espectrômetros de absorção atômica, potenciômetros, condutivímetros, espectrômetro de emissão com plasma entre outros (CARRILHO *et al.*, 2002).

O desenvolvimento de novos procedimentos automatizados utilizando detectores simples ainda é uma realidade pouco explorada. Os de detectores que utilizam imagem digital tem trazido inovação e viabiliza a aplicação do sistema FIA juntamente com o acoplamento de microdispositivos em diversas metodologias, entre as quais o uso de  $\mu$ -TAS para a quantificação de analitos em águas (MOURA *et al.*, 2018).

A Portaria do Ministério da Saúde N° 2914, de 12 de dezembro de 2011, dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade, determinam os valores inferiores e superiores permitidos dos parâmetros, que devem ser acompanhados pelas entidades responsáveis por armazenamento e distribuição de água no Brasil.

O controle do parâmetro cloro residual livre em água potável é muito importante, uma vez que o cloro é responsável pela inativação e/ou destruição dos microrganismos patogênicos. O valor mínimo de cloro livre residual recomendado pela norma é de 0,2 mg/L e o máximo é de 2mg/L. A partir de 2 mg/L, é possível perceber o cloro residual livre pelo consumidor, pois desperta seus estímulos sensoriais, como por exemplo seu sabor e odor (SOARES *et al.*, 2016).

É possível determinar valores de cloro residual por vários métodos, dentre os quais podem ser citados o iodométrico, o amperométrico, o N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) e a 3-3-dimetilbenzidina (orto-toluidina). O método mais utilizado é o DPD, no qual um colorímetro efetua medição da cor gerada pela reação do cloro residual livre da água potável com o reagente cromogênico DPD. Quanto maior a concentração de cloro residual na água potável mais intensa será a cor gerada pelo reagente. Apesar da análise realizada no colorímetro não necessitar de muito recurso, ela requer tempo do analista, que precisa se deslocar do ambiente de trabalho até o ponto de amostragem. Em empresas de armazenamento e distribuição de água essa análise é realizada diversas vezes durante o dia (SOARES *et al.*, 2016).

Por esse motivo, buscando atender a portaria e a qualidade necessária para controle de abastecimento de água, o presente trabalho se justifica como uma

modernização dessa análise tão importante para uma estação de tratamento de água. Utilizando um aplicativo livre (Color Grab) que faz leituras em RGB (modelo de cor em inglês: vermelho, verde e azul) a partir de imagens digitais obtidas pela câmera de um *smartphone* como detector analítico para o sistema de análise em fluxo acoplado a um microdispositivo construído com a tecnologia LTCC o analista não terá necessidade de se locomover até o ponto de amostragem e poderá obter mais resultados em menos tempo, o que facilitará o controle do processo.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Sistemas Analíticos

#### 2.1.1. Automatização de Sistemas Analíticos

A automatização de procedimentos analíticos tem se desenvolvido no setor de controle de qualidade, controle de processos industriais e controle ambiental, devido às vantagens que apresentam em relação aos métodos de análises clássicos. O crescente interesse por esses métodos analíticos se deu pela necessidade de técnicas rápidas e confiáveis, que permitem a aquisição de um maior número de informações em menor tempo e custo (SUAREZ, 2009).

Os analisadores automáticos estão divididos em três grandes grupos: analisadores automáticos discretos ou em batelada, analisadores automáticos robotizados e analisadores automáticos em fluxo (WANG *et al.*, 2019).

Analisadores automáticos discretos ou em batelada utilizam canais individuais para transportar as amostras para o sistema de detecção. Para obter alta sensibilidade as medidas analíticas são realizadas após o equilíbrio físico-químico entre analito e os reagentes. Estes analisadores necessitam de limpeza constante, são frágeis, pois envolvem muitas partes móveis, o que os tornam pouco versáteis (SUAREZ, 2009).

Segundo Neto (2011) os analisadores automáticos robotizados são caracterizados por apresentar partes robóticas para execução de operações analíticas, e são importantes em etapas preliminares do procedimento analítico, como em tarefas que envolvam a manipulação de materiais tóxicos ou explosivos. No entanto, a complexidade mecânica e o custo elevado fazem com que esses sistemas sejam limitados para realização de análises de rotina.

No sistema de análise automática em fluxo, alíquotas de amostras são inseridas em um fluido transportador, que a direciona ao detector. A Figura 1 representa a classificação dos analisadores automáticos em fluxo, segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC, 1997).

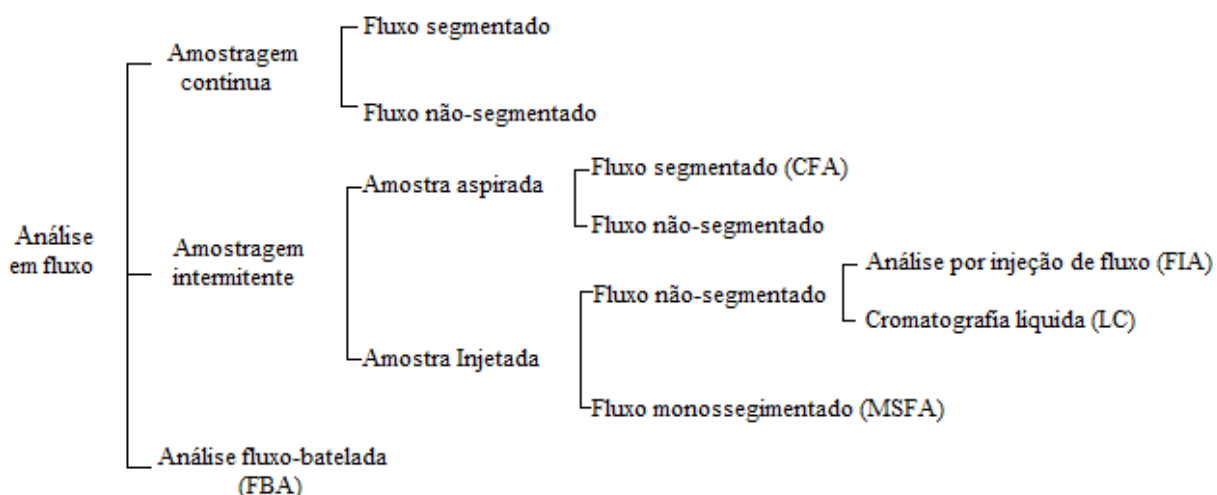


Figura 1- Classificação dos métodos de análises em fluxo.

### 2.1.2. Análise por injeção em Fluxo

A análise por injeção em fluxo (Flow Injection Analysis – FIA) foi proposta para simplificar o sistema analítico e aumentar a frequência de amostragem (ZAGATTO *et al.*, 1999).

O sistema FIA representa um grande avanço na área da química analítica. Sua principal característica é a injeção do analito em um fluido carregador que a transporta em direção ao detector sem a intersecção de bolhas de ar (CARDOSO *et al.*, 2015).

Uma das vantagens desse sistema é a possibilidade de se automatizar o procedimento analítico, minimizando dessa forma a intervenção do analista no processo, como a possibilidade de contaminação. Assim, a automatização aumenta a precisão das medidas, tornando-as mais seguras. O sistema FIA também possibilita a redução do consumo de amostra e de reagentes, resultando na diminuição da quantidade de resíduos químicos gerados (MOREIRA *et al.*, 2014).

A desvantagem desses analisadores é a baixa sensibilidade, pois durante o percurso da amostra em direção ao sistema de detecção o equilíbrio químico e físico pode não ser atingido. A dispersão é um dos principais medidores de desempenho de um sistema em fluxo, porque ele determina a frequência com que as amostras podem ser introduzidas sem que os sinais sejam afetados pela amostra anterior (WANG *et al.*, 2015).

A análise por injeção em fluxo envolve a injeção rápida de uma amostra em um fluxo contínuo de carregador não segmentado. Uma ou mais soluções contendo reagentes confluem com o carregador, antes da detecção do analito. A zona de

amostra injetada sofre dispersão, sendo misturada com as soluções transportadora e reagente. O produto resultante é levado em direção a um detector e depois segue para o descarte. A dispersão ou a diluição da zona de amostra pode ser controlada ou adaptada às análises requeridas pela otimização de vários fatores, tais como o volume injetado da amostra (tempo de amostragem), as vazões do fluido carregador e dos reagentes, o comprimento da bobina helicoidal de reação e o diâmetro interno da tubulação (LÓPEZ *et al.*, 2016). A Figura 2 mostra o processo de dispersão da zona de amostra no fluxo carregador que gera gradientes de concentração que quando alcança o detector ocorre a aquisição do sinal analítico, em seguida a limpeza do sistema

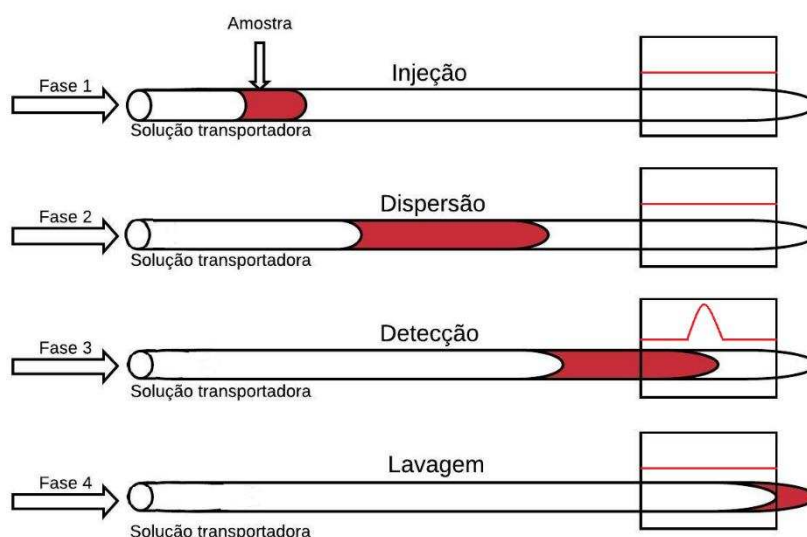


Figura 2- Análise por injeção em fluxo. Adaptado RUZICKA e HARSEN, 1976.

### 2.1.3. Constituição do sistema FIA

Os sistemas FIA são constituídos basicamente por uma unidade propulsora, inserção de amostra, reação, mistura e detecção (Figura 3).

A função da unidade de propulsão é movimentar de uma maneira uniforme e constante os reagentes, amostras e fluidos transportadores mesmo que ocorram variações na impedância hidrodinâmica do sistema (REIS *et al.*, 1989). Geralmente a unidade propulsora dos sistemas é constituída de uma bomba peristáltica, porém outras formas de propulsão podem ser utilizadas como as bombas tipo seringa de pistão, através de pressão por gases e mesmo por gravidade.

Os tubos para bombeamento devem ser escolhidos com cautela, pois existe a possibilidade de contaminação e rompimento. Tubos de tygon são indicados para

amostras aquosas ácidas ou alcalinas, o diâmetro interno do tubo determina a vazão do sistema.

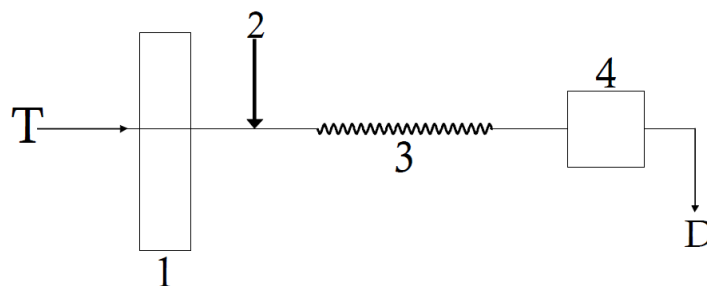


Figura 3- Representação esquemática de um sistema FIA simples de linha única. Onde: **T** é a solução transportadora; **1**, unidade de propulsão; **2**, unidade de comutação; **3**, unidade de reação; **4**, unidade de detecção e **D**, descarte.

O injetor é um dispositivo do sistema FIA que introduz um volume discreto e reproduzível de uma amostra no percurso analítico. A seleção e a inserção de alíquotas podem ser feitas empregando-se diversos dispositivos, entre os quais se destaca o injetor proporcional devido à simplicidade e versatilidade. Esse injetor é constituído por três peças de acrílico, sendo duas fixas e uma central móvel, que por meio de movimentos para frente e para trás, ou vice-versa, o injetor coleta a amostra e a insere no percurso analítico (KRUG *et al.*, 1986).

A bobina helicoidal é a unidade do sistema FIA onde ocorrem às etapas de reação, sendo o seu dimensionamento extremamente importante, visto que o tempo de residência da amostra e as vazões do transportador e dos reagentes, precisam ser definidas pois estão intimamente ligados à frequência de amostragem (SUAREZ, 2009). Uma maior bobina helicoidal pode implicar na diminuição do sinal analítico, devido ao processo de dispersão da zona da amostra, porém se a velocidade da reação for lenta o oposto acontece (RUZICKA e HANSEN, 1976).

Os procedimentos baseados no processo de análise por injeção em fluxo têm sido empregados em técnicas de detecção, tais como espectrofotometria UV-Vis, potenciometria, fluorimetria, quimiluminescência e espectrofotometria de infravermelho (FRANCO *et al.*, 2017).

O sistema FIA, junto com as técnicas citadas, tem sido empregado em determinações de compostos presentes em formulações de pesticidas (LINS, 2013; SILVA *et al.*, 2012; VENTURA GAYET *et al.*, 2006; ALBERT-GARCIA *et al.*, 2006) e de fármacos (AZZI *et al.*, 2016; LAPA *et al.*, 2000), na determinação de ânions (NERI, 2018) e de lactato proveniente da fermentação alcoólica de vinho (KRONKA

*et al.*, 2005), em compostos inorgânicos (BASTOS, 2016; SMIDERLE *et al.*, 1999; ROCHA *et al.*, 2001) e em matrizes mais complexas, como glicose em soro de sangue animal (PIRES *et al.*, 2003).

As configurações dos sistemas FIA mais elementares são os sistemas de linha única, com confluência, zonas coalescentes e com fluxo intermitente.

- Sistema de Linha Única- é o sistema mais simples, pois não possui pontos de confluência no caminho analítico. O fluido transportador é normalmente uma solução inerte e sua função é transportar a amostra injetada até o detector, promovendo dispersão controlada da amostra e limpar o percurso analítico. O fluido carregador também pode ser um reagente, o qual reage com a amostra no fenômeno de dispersão (REIS *et al.*, 1979).
- Sistema com Confluência- nesse sistema a amostra é injetada em uma solução carregadora inerte e possui matriz semelhante à amostra. A adição de reagentes ocorre em pontos de confluência. Após a confluência as vazões do reagente e da amostra é somada o que corresponde a uma diluição do analito, é importante que a amostra tenha mais volume que o reagente. (REIS *et al.*, 1979).
- Sistema com Zonas Coalescentes- Nestes sistemas a amostra e o reagente são introduzidos simultaneamente. O emprego de zonas coalescentes leva a uma economia de reagentes, pois o reagente é consumido apenas na presença da amostra, sendo recuperado durante a limpeza do caminho analítico. Zonas coalescentes são vantajosas pois proporcionam estabilidade da linha base e melhor precisão, determinações simultâneas, utiliza um módulo de análise, mecanização do método das adições de padrão, facilidade em estudos de interferência pois não é necessário a preparação de inúmeras soluções de padrões mistos e ainda proporciona a determinação de altas concentrações de espécies químicas sem diluição de amostras (REIS *et al.*, 1980; REIS *et al.*, 1989).
- Sistema com Fluxo Intermitente- esse sistema geralmente é utilizado para a limpeza do percurso analítico e da cela de fluxo, que é a grande causa da instabilidade na linha base e má repetibilidade dos sinais analíticos. Entre as vantagens da sua utilização é evitar o fluxo contínuo de reagentes tóxicos, pela grande geração de resíduos (SILVA *et al.*, 2005).

#### 2.1.4. Miniaturização de sistemas analíticos

A partir da década de 60 a miniaturização de dispositivos eletrônicos cresceu e se consolidou na área tecnológica e atualmente essa tecnologia tem alcançado diferentes campos da ciência. A miniaturização de eletrônicos é algo comum e presente no cotidiano do ser humano.

Uma das áreas mais beneficiadas pela miniaturização foi a química analítica, uma vez que inúmeros trabalhos vêm sendo publicados evidenciando o estado da arte na fabricação de microssistemas analíticos. A principal razão para a miniaturização dos instrumentos era aumentar o desempenho analítico, contudo, outras vantagens foram obtidas, como a redução do volume de reagentes e amostras, baixo custo de fabricação e análise em tempo reduzido (SANTOS *et al.*, 2019).

O primeiro dispositivo analítico miniaturizado foi apresentado por TERRY *et al.* (1979). Um sistema de cromatografia em fase gasosa, construído em lâmina circular de silício com 5 cm de diâmetro e coluna de separação de 1,5 m de comprimento. Ainda que capaz de realizar separações eficientes, o microdispositivo não foi bem aceito no meio científico, devido ao pioneirismo da tecnologia. Com isso, pesquisas relacionadas à miniaturização ficaram limitadas, ao desenvolvimento de micro bombas, micro válvulas e sensores químicos (COLTRO *et al.*, 2007).

A retomada na construção de microdispositivos analíticos foi proposta por Manz *et al.* em 1990. Para tal, um microssistema para cromatografia em fase líquida foi fabricado em um substrato de silício com dimensões de 5 × 5 cm contendo uma coluna tubular aberta, um detector, conexões externas para uma bomba e válvulas para aplicação de pressão. Os mesmos pesquisadores propuseram o conceito de microssistemas para análises totais ( $\mu$ TAS), o que possibilitou integrar várias etapas analíticas, como introdução da amostra, pré-tratamento da amostra, reações químicas, separação analítica e detecção em um único dispositivo.

Os materiais mais utilizados no processo de micro fabricação são o silício e silicatos. Isto se deve às suas propriedades físico-químicas. Uma alternativa de material para microdispositivos são as “cerâmicas verdes” (LTCC), assim nomeadas por serem utilizadas em estado não sinterizado. Nesse estado esse material é maleável e pode ser facilmente moldado (NETO, 2011).

A utilização dos  $\mu$ TAS pode proporcionar diversas vantagens, variando de acordo com a técnica aplicada (SUAREZ, 2009). Dentre elas destacam-se:

- Portabilidade- tendo em vista que os dispositivos são construídos em escalas bem reduzidas, é possível transportá-los facilmente, permitindo a realização de análises em campo.
- Automatização- a automatização do processo analítico evita erros que podem ser gerados pela própria fadiga do analista, permitindo a execução de tarefas repetitivas de maneira reprodutível. Com a miniaturização, atuadores como bombas e válvulas que consomem menos energia, podem ser utilizados para o controle dos processos químicos, o que acarreta um ganho para as medidas analíticas.
- Redução nos volumes totais da análise- os volumes gerenciados no interior dos microssistemas podem variar entre alguns nanolitros até algumas dezenas de microlitros. Isto leva à uma redução no consumo de reagentes e na geração de resíduos, o que proporciona a redução dos custos das análises e o impacto gerado ao ambiente.
- Velocidade Analítica- comparado aos procedimentos realizados em bancada (métodos em batelada), os tempos de análise para os procedimentos com os  $\mu$ TAS costumam ser significativamente menores, de tal forma que a frequência analítica aumenta.

A utilização de  $\mu$ TAS também possui algumas desvantagens, algumas contornáveis, enquanto para outras há a necessidade de uma evolução das técnicas de microfabricação e dos sistemas de detecção (NETO, 2011). Dentre elas, pode-se destacar:

- Integração do sistema de detecção- O tamanho em pequena escala das estruturas fluídicas normalmente impõe uma grande dificuldade na comunicação do mundo exterior com o interior dos microssistemas, onde estão as soluções que serão analisadas.
- Processo de microfabricação- A própria construção de sistemas miniaturizados pode ser considerada uma barreira à sua aplicação. Embora muitas técnicas alternativas de microfabricação tenham sido propostas com o objetivo de facilitar o desenvolvimento de microssistemas analíticos, o seu uso é ainda restrito à alguns laboratórios e à pesquisadores que dispõem de pessoal habilitado.

- Entupimento e formação de bolhas nos microcanais- Em algumas situações, o entupimento dos microcanais pode ocorrer por conta da cristalização de soluções salinas ou pela passagem de soluções de amostras que não foram previamente filtradas. Nestes casos, o problema pode ser solucionado, realizando uma limpeza adequada do sistema, o que nem sempre é possível e pode levar à inutilização do dispositivo.

#### 2.1.5. Cerâmica cossinterizada a baixa temperatura – LTCC

LTCC é uma tecnologia de sobreposição de camadas de cerâmica cossinterizada a baixa temperatura (MOLISANI, 2017). Essa tecnologia foi primeiramente desenvolvida por Hughes e DuPont na década de 1980 e é usada atualmente na fabricação de componentes, módulos e dispositivos utilizados em comunicações sem fio, nas áreas militar, médica e automotiva. Os maiores benefícios da tecnologia LTCC são as baixas perdas nos condutores e nos dielétricos, uma boa condutividade térmica, possui estabilidade e hermeticidade, como também um baixo custo.

A tecnologia LTCC, também conhecida como cerâmicas verdes é um complexo composto por 45% corresponde a  $Al_2O_3$  (alumina), 40% de vidro e 15% de compostos orgânicos, tais como solvente, aglutinante e plastificante. O material cerâmico mais utilizado para a fabricação das cerâmicas verdes é a alumina, por oferecer bom desempenho em termos de resistências de uso, à corrosão e a alta dureza a um bom custo-benefício (LOPEZ *et al.*, 2016).

A sinterização é realizada geralmente com o perfil de temperatura mostrado na Figura 4. A 350°C a cerâmica passa pela volatilização total dos compostos orgânicos e a 850°C, ocorre a penetração da alumina entre as camadas (Figura 5). Após a sinterização a cerâmica é resfriada gradativamente com rampa de temperatura nominal de 5 °C min<sup>-1</sup> para obtenção de microssistema analítico rígido (SUAREZ, 2009). Por ser sinterizada a temperatura abaixo de 1000 °C a cerâmica permite a sinterização com materiais de alta condutividade.

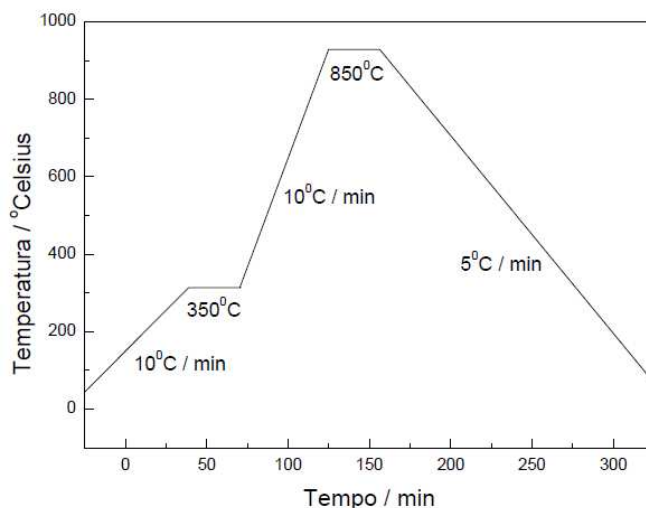


Figura 4- Rampa de temperatura para sinterização da cerâmica DuPont 951AX.

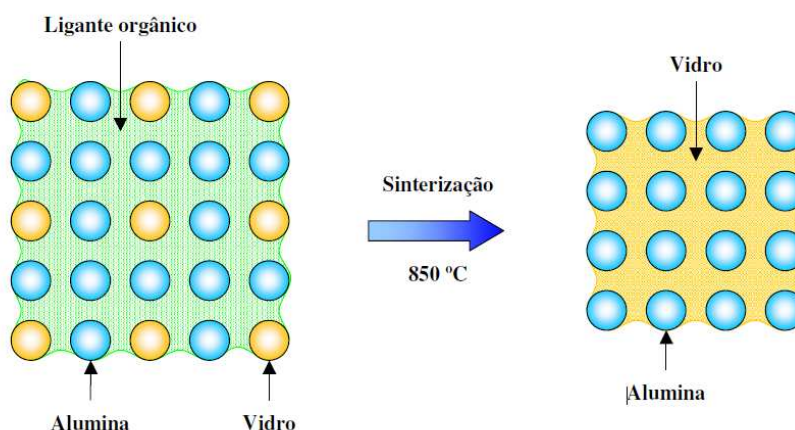


Figura 5- Etapa de sinterização da cerâmica verde (GONGORA-RUBIO, 2001).

O uso de sobreposição de camadas dessas cerâmicas facilita a miniaturização de processos complexos e possibilita a construção de microdispositivos analíticos e pode ser utilizada na construção de circuitos integrados (LOPEZ *et al.*, 2016).

As principais vantagens dessa tecnologia para as aplicações são: facilidade de fabricação de estruturas tridimensionais complexas utilizando camadas de cerâmica verde; baixa temperatura de sinterização compatível com padrões de filmes espessos; construção de dispositivos utilizando a estrutura padrão ou pouco modificada usada nos processos de montagem em superfície; redução da espessura; inércia térmica; excelente isolamento de circuitos, aumento da durabilidade principalmente para altas temperaturas; e não causa danos ao meio ambiente (GONGORA-RUBIO, 2001).

A fabricação de microestruturas em cerâmica verde envolve as etapas de:

- design do dispositivo usando um software;
- processo de mecanização (perfuração, laser, gravação a jato de vapor ou usinagem);
- estágio de serigrafia, onde ocorre a integração de condutores e componentes eletrônicos no dispositivo para o sistema de detecção;
- alinhamento e laminação por termocompressão;
- processo de sinterização.

A Figura 6 mostra as etapas para a construção de um microdispositivo usando a tecnologia LTCC. As camadas do microdispositivo são feitas com cerâmica verde (LTCC 951-AP da DuPont Electronics) que sofre encolhimento nominal de  $(12,7 \pm 0,3)\%$  nas direções x (largura) e y (comprimento) e  $(15 \pm 0,5)\%$  na direção z (espessura) durante a sinterização. Essas camadas são inicialmente projetadas individualmente por um software, e.g. CAD, de tal maneira que todas as camadas de cerâmicas verdes fiquem empilhadas, proporcionando a formação da estrutura interna, tais quais os canais de fluxo, entradas e saídas de reagentes, etc. A usinagem das camadas é realizada utilizando um moinho CNC (controle numérico computadorizado). O empilhamento, alinhamento e termolaminamento das camadas são realizados por termocompressão. Tubos de aço inoxidável podem ser colados para permitir a entrada e saída das soluções empregadas. A sinterização das camadas pode ser realizada em um forno mufla, utilizando a rampa de temperatura citada anteriormente. Suarez (2009) relata que o número de camadas do dispositivo é variável, geralmente utiliza-se entre 6 e 12 camadas, ressaltando que não é aconselhável mais de 12 camadas, pois na etapa de laminação as estruturas internas podem ser danificadas.

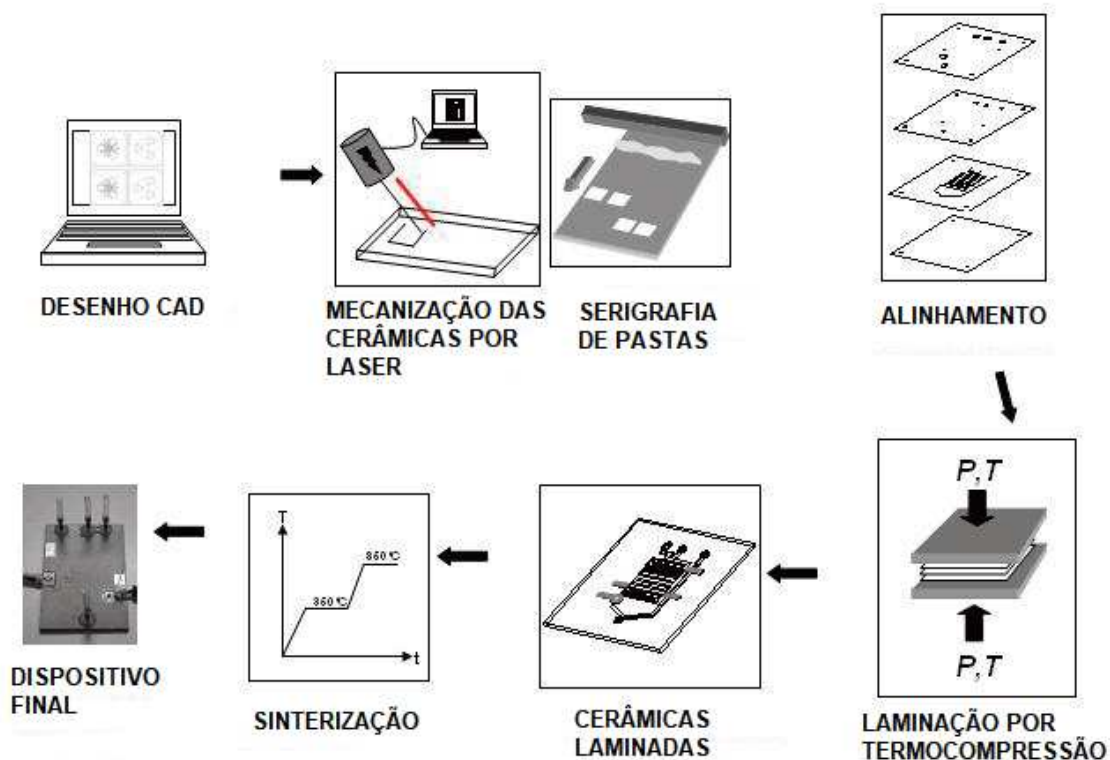


Figura 6- Etapas de fabricação de um microdispositivo construído com LTCC (LOPÉZ *et al.* 2016).

Um exemplo de um dispositivo construído com tecnologia LTCC e com as dimensões (24 mm × 26 mm × 4 mm) é mostrado na Figura 7. Neste dispositivo, os canais de fluxo interno têm uma seção transversal de 0,75 mm × 0,75 mm. Esses canais abrem para uma célula de medição cilíndrica com um diâmetro de 5 mm e uma altura de 3,25 mm com janelas de vidro em ambos os lados. O caminho óptico é construído com vidro borossilicato e fixado com resina epóxi. Os condutores para a parte eletrônica são impressos com pasta condutora de cerâmica 6142d Dupont. Os componentes eletrônicos são soldados de forma manual, utilizando solda de chumbo e estanho. Os caminhos analíticos são projetados de modo a interagir entre si. A Figura 8 apresenta a estrutura interna do microdispositivo construído com tecnologia LTCC.



Figura 7- Layout do dispositivo construído com LTCC.

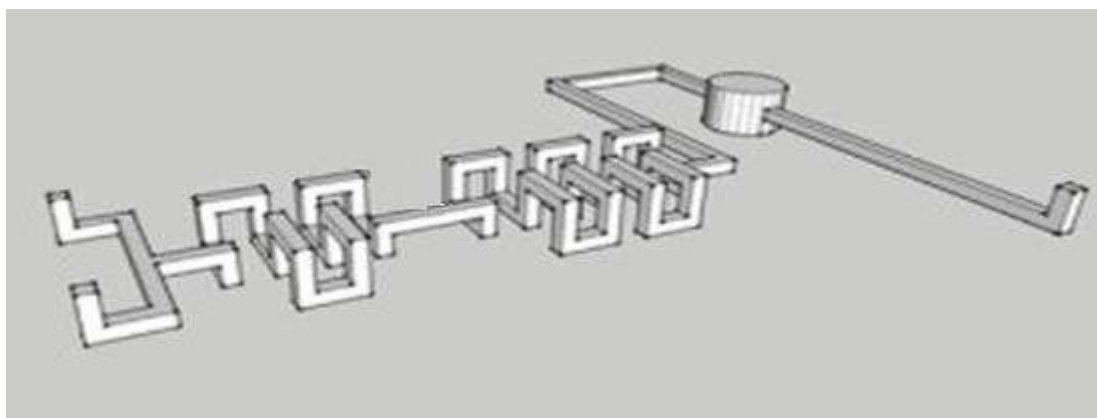


Figura 8- Estrutura interna do dispositivo construído com LTCC.

## 2.2. Métodos de Análise

A interpretação e processamento de sinais é um ramo multidisciplinar para extrair e tornar um sinal viável para estimativas, medidas qualitativas e quantitativas.

Os sinais adquiridos por diferentes instrumentos, apresentam inúmeras variáveis que quando analisadas em conjunto podem ser usadas para extrair informações relevantes para o experimento em estudo (ORFANIDIS *et al.*, 2001)

É comum o uso do processamento de sinais na análise de imagens digitais, ele permite modificar o sinal e torná-lo mais simples e útil para resolver os problemas abordados. Este tipo específico de sinal apresenta uma grande quantidade de pontos de análise que muitas vezes pode dificultar ou inviabilizar seu uso por exemplo em um sistema de detecção e comparação entre sinais de amostras distintas (GONZALEZ *et al.*, 2010).

Desta forma, estudar e entender as configurações e geometrias dos experimentos utilizados na aquisição de imagens podem trazer informações úteis sobre sinal estudado e trazer novas perspectivas para o uso destes sinais na química analítica.

### 2.2.1. Imagens Digitais

A imagem digital é definida como uma matriz de  $x$  linhas e  $y$  colunas que possuiu um conjunto finito de pixels. Os pixels são estruturas compostas por uma sequência de dígitos binários em série, que representam uma intensidade de luz e de cor (CORRÊA, 2015).

A imagem digital pode ser produzida por diversos dispositivos eletrônicos e o sinal gerado é convertido em uma forma numérica (GOMES *et al.*, 2008). Quando capturada, uma imagem digital assume um tamanho definido pelo seu número de pixels e da resolução de captura, possibilitando a manipulação e análise de vários parâmetros tais como área, forma, intensidade de cor através de programas computacionais (SANTOS *et al.*, 2019).

### 2.2.2. Modelo de cor RGB em imagens digitais

O RGB (modelo de cor em inglês: vermelho, verde e azul) é o modelo mais simples que mapeia diretamente as características físicas do dispositivo de exibição (WEBER, 2009). Uma imagem RGB pode ser descrita como um sistema tridimensional, baseado em três cores primárias: vermelha, verde e azul. As demais cores são geradas pela combinação linear destas três cores, motivo pelo qual o modelo é dito aditivo (GONZALEZ *et al.*, 2010).

A Figura 9 mostra os três eixos principais com as cores primárias vermelho, verde e azul, variando de 0 a 255 em seus valores para a formação das demais cores. Nos vértices dos planos formados pelo eixo de duas cores primárias são representadas as cores secundárias e a diagonal principal do cubo representa a escala dos valores de cinza, onde na origem é formada a cor preta e no final da reta, pela mistura dos valores máximos das três cores primárias, é formada a cor branca. É possível obter, aproximadamente, dezesseis milhões de cores utilizando as combinações de bits e níveis de intensidades de cor da matriz RGB (LIMA *et al.*, 2014).

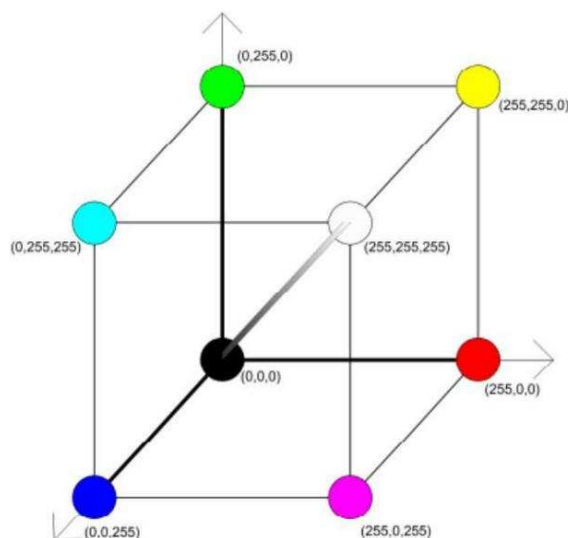


Figura 9-Modelo de cor RGB representado geometricamente (WEBER, 2009).

### 2.2.3. Métodos analíticos baseados em imagens digitais

O início do uso de imagens digitais em métodos analíticos se deu na década de 90, onde os autores propuseram a detecção da proteína utilizando uma câmera CCD (Charge-Coupled Device) (MONEMI *et al.*, 1999). Após este trabalho outros pesquisadores desenvolveram diferentes aplicações de imagens digitais na química analítica. Gaião *et al.* (2006) desenvolveram um método para implementação de titulações baseado na exploração de imagens digitais adquiridas através de uma webcam, esse método de titulação DIB (em inglês: baseada em imagem digital) pode ser avaliado como uma ferramenta analítica e ainda oferece uma alternativa economicamente viável para titulações que apresentam dificuldade de visualização do ponto final.

Atualmente o desempenho de dispositivos digitais tem melhorado significativamente, enquanto seus custos têm reduzido. Além disso, vários softwares altamente eficientes para edição de imagens digitais estão disponíveis, permitindo que as imagens sejam facilmente manipuladas pelo usuário (CHOI *et al.*, 2013). Um exemplo de software para *smartphone* é o Color Grab que foi desenvolvido por designers gráficos e adaptado para uso na química analítica, esse aplicativo consegue obter valores de RGB em qualquer imagem.

O uso de imagens digitais representa uma atual oportunidade para o desenvolvimento rápido e direto de determinações quantitativas, particularmente

quando combinadas com métodos colorimétricos que podem ser analisados a partir de dados do modelo de cores RGB (AMORIM, 2020; MOURA *et al*, 2018).

### 2.3. Controle de Qualidade da Água Potável

Para que a água seja considerada potável, é necessário que ela possua características físicas, químicas e biológicas que não afetem a saúde da população, sendo condizentes com o exigido pela legislação referente à potabilidade da água. Entre os parâmetros podem-se destacar os microrganismos do grupo coliformes. A presença dessas bactérias indicam que a qualidade da água produzida e a integridade do sistema de distribuição não são eficientes (SOARES *et al.*, 2016).

No Brasil sob o regime da Portaria nº 2914 de 2011, a desinfecção é obrigatória a todos os sistemas de fornecimento de água para abastecimento público, visando à proteção da saúde dos consumidores. Pode-se citar o cloro, cloraminas, dióxido de cloro, permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio e ozônio como agentes oxidantes para o tratamento de água

#### 2.3.1. Cloro residual livre

O cloro (Cl<sub>2</sub>) é o agente químico mais utilizado para a desinfecção, sendo empregado em larga escala nas estações de tratamento de água, porém pela sua instabilidade e por ser gasoso em temperatura ambiente é inserido no tratamento de água como hipoclorito de sódio (NaClO) (SOARES *et al.*, 2016).

Em contato com a água, o cloro gasoso se hidrolisa rapidamente para formar os íons hidrogênio, cloreto e o ácido hipocloroso, conforme demonstra a Equação 1. A reação se estende com a dissociação do ácido hipocloroso gerando íons hidrogênio e hipoclorito (Equação 2) (DANIEL *et al.*, 2001).



O ácido hipocloroso e o íon hipoclorito são os responsáveis pela oxidação da matéria orgânica, e têm de importância vital na inibição do crescimento bacteriano. A soma de suas concentrações é conhecida como cloro residual livre (APHA, 2017).

Os mecanismos de ação do cloro residual livre para a inativação de organismos patogênicos são a destruição estrutural da organização celular por ataque aos principais constituintes da célula, interferência no nível energético e interferência na biossíntese e no crescimento (DANIEL *et al.*, 2001).

A portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde determina a obrigatoriedade de se manter em qualquer ponto na rede de distribuição a concentração de cloro residual livre entre os valores de 0,2 mg L<sup>-1</sup> e 2,0 mg L<sup>-1</sup>.

Com a difusão da técnica de cloração foi possível reduzir a incidência de doenças transmissíveis pela água, o que possibilitou uma melhora na qualidade de vida e redução da mortalidade infantil por doenças entéricas (DANIEL *et al.*, 2001).

### 2.3.2. Determinação de cloro residual livre.

Existem diversas metodologias que possibilitam a determinação da concentração de cloro residual livre, dentre as quais podem ser citadas a iodométrica, amperométrica e a colorimétrica (APHA, 2017).

O método iodométrico é adequado para a medição das concentrações de cloro total superior a 1,0 mg L<sup>-1</sup>. O método de titulação amperométrica é considerado o método mais preciso para a determinação de cloro livre ou combinado, pois ele é pouco afetado por agentes oxidantes comuns e pelas condições da amostra, mas não é tão simples como os métodos colorimétricos, o que requer maior habilidade do analista (APHA, 2017). O método N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) é mais simples para a determinação de cloro residual livre, quando comparado a titulação amperométrica, porém a condição da amostra como turbidez e cor afetam significativamente o ensaio analítico. O método da 3,3-dimetilbenzidina (orto-toluidina) consiste na reação entre o cloro e o reagente formando um complexo de coloração amarela, o uso em conjunto de arsenito de sódio permite a distinção entre os residuais livres e combinados (DANIEL *et al.*, 2001).

Um método em fluxo rápido, seletivo, sensível e automatizado, para determinação de cloro em formulações industriais e em amostras de águas, foi proposto por Icardo *et al.* (2001). A determinação do cloro foi baseada na oxidação da odianisidina como reagente cromogênico, sendo que o produto colorido formado foi monitorado em 445 nm. A curva analítica foi linear, na faixa de 0,05 a 1,30 µg

$\text{mL}^{-1}$ , com um limite de detecção de  $0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$  e desvio padrão de 1,5%; foram obtidas 38 determinações por hora.

Um método baseado num sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), monitorado num comprimento de onda de 292 nm, foi desenvolvido por March *et al.*, (2002). Esse procedimento consistiu na decomposição do hipoclorito em cloreto e oxigênio molecular, usando-se uma minicoluna contendo óxido de cobalto como catalisador. A frequência analítica foi de 12 determinações por hora, e a linearidade da curva de calibração foi de  $9,4 \times 10^{-4}$  a  $5,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  ( $70,03$  a  $417,2 \text{ mg L}^{-1}$ ), com um limite de detecção de  $1,34 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  ( $9,98 \text{ mg L}^{-1}$ ).

Pobozy *et al.* (1995) estudaram o método espectrofotométrico proposto, em 1954, por Belcher *et al.*, utilizando o reagente 3,3'-dimetilnaftidina, para determinação de cloro livre residual, e adaptaram-no a um sistema de injeção em fluxo. A reação é muito rápida e não sofre interferência das cloraminas. Nesse trabalho, foi encontrada uma frequência analítica de 50 determinações por hora, linearidade na faixa de concentração de  $1,34 \times 10^{-6}$  a  $1,34 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  ( $0,1$  a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), um limite de detecção de  $4,02 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , ( $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ ) e desvio padrão de 1,2%.

Salami (2009) também desenvolveu uma metodologia para determinação espectrofotométrica de hipoclorito em alvejantes e cloro em águas de abastecimento empregando sistema em fluxo por multicomutação e células convencional e de longo caminho óptico. Nesse trabalho obteve-se uma frequência analítica de 45 determinações por hora, linearidade na faixa de  $1,34 \times 10^{-6}$  a  $2,01 \times 10^{-5}$  ( $0,1$  a  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) um limite de detecção muito baixo de  $9,39 \times 10^{-8}$  ( $7 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e desvio padrão de 1,0%.

### 2.3.3. Método DPD

Um método colorimétrico, proposto por Palin em 1957 e amplamente aceito, é utilizando o DPD (N,N'-dietil-pfenilenodiamina) como reagente cromogênico. A reação é estável, e a coloração desenvolvida é intensa, permitindo distinguir cloro livre residual de cloro combinado. Os produtos da oxidação do DPD são radicais livres, coloridos e estabilizados por ressonância (Figura 10) (MICHAELIS *et al.*, 1939). Em pH 7 a reação entre o DPD e o cloro é instantânea.

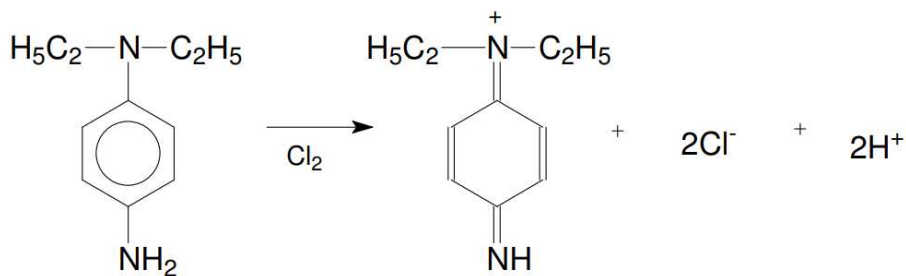


Figura 10- Oxidação do DPD e seu produto estabilizado por ressonância (JUNGREIS, 1984).

Muitos pesquisadores desenvolveram métodos para determinação de cloro em analisadores em fluxo empregando o DPD. Gordon *et al.* em 1991 desenvolveram um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA), utilizando dois detectores em série, esse método foi proposto para determinar, consecutivamente, cloro livre e cloro combinado. Outro sistema em fluxo miniaturizado, baseado na reação entre cloro com o reagente cromogênico DPD, em tampão fosfato, foi proposto por Carlsson *et al.* (1999), nesse método a amostra, o reagente e a solução tampão são bombeados, continuamente, para um sistema em fluxo miniaturizado.

O reagente DPD é fornecido em sólido para preparo de solução ou em kits prontos para serem utilizados na forma de comprimidos, em pó e em invólucros lacrados a vácuo. Os kits são usados na maioria das estações de tratamento de água, pela sua facilidade de manuseio.

#### 2.3.4. Método da orto-Toluidina

A 3,3'-dimetilbenzidina (orto-Toluidina) é um sólido solúvel em etanol, éter e ácidos. Em 1913, foi introduzida como reagente para determinação qualitativa de cloro, e, em 1942, houve o primeiro procedimento para determinação colorimétrica quantitativa do mesmo (JOHNSON e OBERBY, 1969).

A determinação do cloro envolve a rápida oxidação da orto-toluidina, formando uma imino-quinona (Figura 11). A cor do produto formado depende do pH do meio reacional (amarelo, na faixa de pH de 0,8 a 3,0; verde-azulado, em pH de 3,0 a 6,0; e marrom, em pH acima de 6,0).

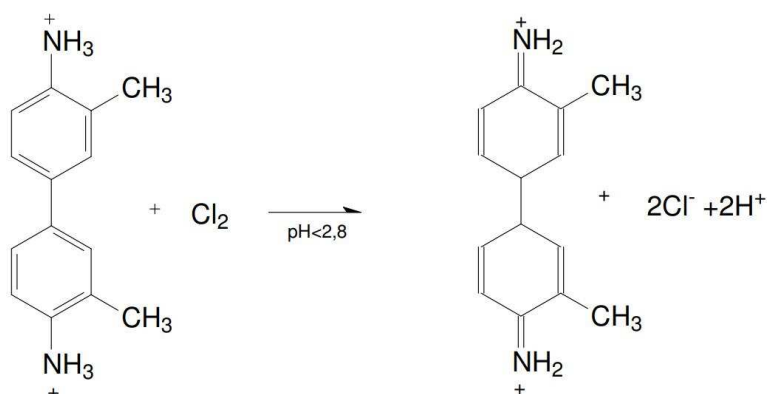


Figura 11 -Oxidação da orto-toluidina, formando uma imino-quinona (JUNGREIS, 1984).

Um sistema em batelada e em fluxo, utilizando a orto-toluidina como reagente cromogênico, foi desenvolvido para determinação de cloro residual livre em água residuárias. As amostras de água foram filtradas antes das análises, enquanto realizavam o experimento observaram que depois de duas horas de estocagem, em frasco escuro a  $4^\circ\text{C}$ , a concentração de cloro diminuía. Os pesquisadores concluíram que amostras com elevadas concentrações de carbono orgânico total não poderiam ser analisadas por esse método (MARCH *et al.*, 2002). Leggett *et al.* (1982) tentaram adaptar o método da orto-toluidina com adição do arsenito de sódio por confluência. Ouve interferência do cloro combinado na determinação de cloro livre residual, o que impediu a determinação do analito.

Atualmente o reagente orto-toluidina é pouco utilizado para determinação de cloro livre residual por ser considerado tóxico e irritante pelo Ministério da Saúde brasileira.

## 2.4. Validação de métodos analíticos

Validação analítica é o processo que avalia o desenvolvimento e adaptação de metodologia analítica, e que estime sua eficiência na rotina do laboratório. Determinado método é considerado validado se suas características estiverem de acordo com os pré-requisitos estabelecidos. Portanto, existe diferença entre a execução de experimentos que determinam os diversos parâmetros e a validação. Essa deve avaliar a relação entre os resultados experimentais e as questões que o método se propõe a responder. O objetivo da validação consiste em demonstrar que o método analítico é adequado para o seu propósito (WALSH, 1999).

Os parâmetros de validação de métodos analíticos envolvem Seletividade/Especificidade, Linearidade, Sensibilidade do método representado pelos limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) Exatidão, Precisão e Robustez (BRITO *et al.*, 2003).

#### 2.4.1. Seletividade/ Especificidade

O termo especificidade define a capacidade do método em medir o analito de interesse na presença de outros componentes da matriz. Já a seletividade refere-se à capacidade de detecção de substâncias (BRESSOLLE *et al.*, 1996). Em diversas técnicas analíticas o parâmetro especificidade pode ser estabelecido pela comparação do resultado obtido com a combinação de diversos fatores.

Como substâncias diferentes podem apresentar respostas similares em dadas condições deve-se proceder à análise, seguida por outras técnicas comprobatórias. Outra maneira de avaliar a especificidade envolve a adição de padrão analítico ou a comparação com padrão externo (BRESSOLLE *et al.*, 1996).

#### 2.4.2. Linearidade

A linearidade é capacidade do método de gerar resultados proporcionais à concentração do analito, dentro do intervalo especificado. Esse parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de correlação da curva analítica ( $r$ ), que deve se aproximar de 1 e coeficiente angular diferente de zero (BRITO, 2001).

No entanto, apenas o valor do coeficiente de correlação não é suficiente para garantir a adequação do ajuste linear à curva de calibração. Modelos de calibração com viés no sinal analítico ou pontos mal distribuídos ao longo da faixa de calibração poderão fornecer um bom coeficiente de correlação, mesmo que a função linear não seja a melhor descrição para o comportamento entre as variáveis. A melhor curva será aquela que demonstrar um bom coeficiente de correlação e fornecer o menor valor para as somas quadráticas dos resíduos obtidos entre o sinal analítico medido ( $y_i$ ) e o sinal analítico predito ( $\hat{y}_i$ ) para um conjunto de  $N$  pontos experimentais, como mostrado na Figura 12 (DANZER e CURRIE, 1998).

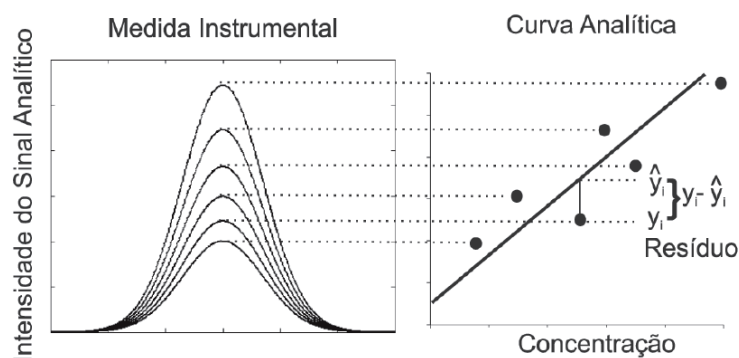


Figura 12- Curva de Calibração mostrando a estimativa do ruído no sinal analítico (RIBEIRO *et al.*, 2008).

### 2.4.3. Sensibilidade

A sensibilidade de um método é definida pelos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). O LD é a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada pela técnica instrumental, enquanto o LQ é a mais baixa concentração que pode ser quantificada por essa mesma técnica (FUNK *et al.*, 1985).

Há diversas formas de estimar os limites de detecção e de quantificação, e a escolha de uma delas deve levar em consideração a técnica analítica utilizada e o grau de confiabilidade estatística necessária. Alguns exemplos são: método visual, método da relação sinal-ruído, e método baseado em parâmetros da curva analítica.

Para aplicação do método visual é necessário analisar amostras contendo baixas concentrações conhecidas do analito de interesse e considera-se o LD a menor concentração que pode ser detectada visualmente e que seja distinta do ruído analítico. O LQ é determinado da mesma maneira, porém para determinação observa-se as menores concentrações que podem ser quantificadas (RIBEIRO *et al.*, 2008).

O LD e o LQ também podem ser determinados mediante a relação sinal-ruído. Este procedimento é muito aplicado em procedimentos analíticos que apresentam ruído em sua linha de base e sua aplicação é rápida. O LD pode ser expresso pela Equação 3 e o LQ pela Equação 4 (VALDERRAMA *et al.*, 2009).

$$LD = \frac{3s}{S} \quad \text{Equação 3}$$

$$LQ = \frac{10s}{S} \quad \text{Equação 4}$$

Na qual:  $s$  = o valor do desvio padrão do sinal do branco;

$S$  = o coeficiente angular da curva analítica.

O método de estimativa do limite de detecção e limite de quantificação baseia-se em parâmetros da curva analítica e apresenta maior confiabilidade estatística, pois leva em consideração o intervalo de confiança da regressão. O LD e LQ neste caso é definido como a concentração mínima de uma substância que pode ser detectada e quantificada com 99% ou 95% de confiança (BACCAN *et al.*, 1998). No entanto, devido à complexidade dos cálculos envolvidos nesta estimativa, este método tem sido menos utilizado que os dois métodos anteriores.

A estimativa do sinal analítico a partir da equação de regressão apresenta um erro padrão, e o produto deste erro pelo valor apropriado de  $t$  da distribuição de Student permite calcular o intervalo de confiança da curva analítica (Figura 13), que tem a forma de duas linhas hiperbólicas ao redor da curva. O intercepto do limite superior do intervalo de confiança é conhecido por  $y_c$  e a sua projeção no limite inferior é uma estimativa da concentração mínima que pode ser medida com um grau de confiança comprovado estatisticamente, ou seja, o limite de detecção do método (LD Figura 13a) (RIBEIRO *et al.*, 2008). A estimativa de LQ pode ser observada na Figura 13b, em que  $x_c$  é o valor da concentração ( $x$ ) no ponto em que o valor de  $a_0$  intercepta a reta de regressão, e  $y_h$  é o valor de  $y$  para a projeção de  $x_c$  no limite de controle superior.

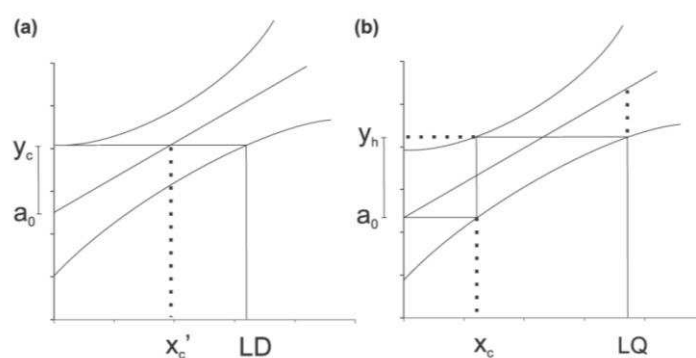


Figura 13- Curva de calibração com ilustração dos parâmetros utilizados no cálculo de LD (a) e LQ (b) (RIBEIRO *et al.*, 2008)

#### 2.4.4. Exatidão

Pode-se definir exatidão como a concordância entre a média do valor observado e o valor de referência (Equação 5). Os métodos utilizados para avaliar

a exatidão de um método analítico são: materiais de referência, comparação de métodos e fortificação. (VALDERRAMA *et al*, 2009)

$$Exatidão = \left( \frac{x_i - x_v}{x_v} \right) \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

Onde:  $x_i$  é o valor medido e  $x_v$  é o valor verdadeiro.

#### 2.4.5. Precisão

Precisão é o parâmetro que avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra. Usualmente, é expressa como o desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação (CV) de diversas medidas (HUBERT, 1999). O CV é dado pela Equação 6:

$$CV\% = \frac{s}{M} \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

Onde:  $s$  = desvio-padrão das recuperações e  $M$  = média das recuperações.

A precisão ser considerada no nível de repetitividade, de precisão intermediária e de reprodutividade. A repetitividade expressa a precisão nas mesmas condições de operação em pequeno espaço de tempo. Precisão intermediária, representa a concordância entre resultados do mesmo laboratório, mas sob condições variadas e, tais como: dia, analistas e/ou equipamentos. A reprodutividade expressa a precisão entre laboratórios, mediante estudos colaborativos usualmente aplicados para padronização de metodologias (MAROTO *et al.*, 1999).

#### 2.4.6. Robustez

A robustez do método é a medida da sua capacidade de permanecer inalterado sob pequenas variações nos parâmetros do método (MAROTO *et al.*, 1999). Os testes de robustez, em geral, servem para indicar os fatores que podem influenciar, significativamente, a resposta do método estudado. O fato fornece a dimensão do problema que ocorre quando o método é repetido em diferentes condições (HUBER, 2000).

#### 2.4.7. Teste de variância

Segundo Fávero (2009), a Anova (Análise de variância) é uma extensão do teste t de Student, e é utilizada para avaliar as diferenças estatísticas entre as médias independentes de dois ou mais grupos.

A Anova só permite que o pesquisador conclua que há diferenças estatísticas em algum ponto entre as médias dos grupos. Para a análise da Anova, foi utilizado o teste post hoc (HAIR *et al.*, 2005).

Post hoc consiste em comparações em pares planejadas para comparar todas as diferentes combinações de grupos testados. Assim, é como tomar todas as diferentes combinações dos grupos que estão sendo testados. Para a utilização do teste post hoc foi utilizado o procedimento Tukey, que é recomendado quando os tamanhos das amostras são iguais e se tem certeza de que as variâncias populacionais são semelhantes (FIELD, 2009).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivos gerais

Desenvolver e validar dois métodos analíticos automatizados utilizando um aplicativo (Color Grab) que faz leituras em RGB (modelo de cor em inglês: vermelho, verde e azul) a partir de imagens digitais obtidas pela câmera de um *smartphone* para o sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) acoplado a um microdispositivo construído com a tecnologia LTCC, para determinação de cloro livre residual em água potável utilizando sulfato de N,N-dietil-p-fenilenediamina (DPD) e a 3,3-dimetilbenzidina (orto-toluidina) como reagentes cromogênicos.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Testar a aplicabilidade de um *software* livre, *Color Grab*, para a medição dos valores no modelo RGB e correlacionar os dados obtidos neste *software* com a concentração de cloro livre residual em água potável;
- Otimizar o volume dos reagentes empregados na reação;
- Otimizar os parâmetros operacionais do sistema construído para aquisição dos valores em RGB;
- Validar a metodologia otimizada para análise de cloro livre residual em água potável para análise por injeção em fluxo;
- Comparar os resultados obtidos pelo método proposto com os resultados obtidos por um método de referência;
- Empregar a metodologia validada para a determinação de cloro livre residual em amostra de água potável em estações de tratamento de água.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.3. Instrumentação

#### 4.1.1. Balança analítica

As medidas de massa foram realizadas em balança analítica Mettler Toledo, modelo AB204 com 0,1 mg de precisão.

#### 4.1.2. pHmetro

As medidas de pH das soluções foram realizadas com o pHmetro da Mettler Toledo, modelo FiveGo.

#### 4.1.3. Eletrodo de pH

As medidas de pH foram realizadas com um eletrodo de vidro combinado Mettler Toledo, modelo LE438 IP67, com um eletrodo de referência interno de Ag/AgCl, contendo uma solução de KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>.

#### 4.1.4. Bomba peristáltica

Para propulsão das soluções utilizou-se uma bomba peristáltica Ismatec IPC 8, com 8 canais.

#### 4.1.5. Tubos e conexões

Tubos de polietileno com 0,8 mm de diâmetro foram utilizados para a confecção da bobina helicoidal, alça de amostragem e condução das soluções pelo sistema FIA. Os tubos de propulsão utilizados foram de Tygon® com diferentes diâmetros internos.

#### 1.1.1. Injetor Comutador

Para injeção das amostras no sistema Fia utilizou-se um injetor comutador manual construído em acrílico (KRUG *et al.* 1986).

#### 1.1.2. Aparelho *smartphone*

Para registro dos sinais utilizou-se a câmera de um aparelho *smartphone* da marca Motorola modelo X4 com câmera dupla de 8 e 12 megapixels.

### 1.1.3. Micropipetas

Micropipetas da marca Eppendorf e modelo Multipette E3 que contempla ponteiros com volumes de 1  $\mu$ L a 50 mL foi utilizada para o preparo das soluções.

### 1.1.4. Aplicativo Color Grab

O aplicativo para *smartphone* Color Grab foi utilizado para obter valores de RGB das imagens.

### 4.1.10. Sistema de aquisição de imagem

Uma caixa preta com tampa frontal foi utilizada para que o sinal de leitura das amostras não se dissipasse, a caixa foi construída com mdf de 5 mm de espessura. As dimensões da caixa foram 10 cm de profundidade, 15 cm de altura e 20 cm de comprimento. Dentro desta caixa foram acoplados dois LEDs de 12 mA, uma bateria da Excellway de 12 a 24 volts para funcionamento dos LEDs e o dispositivo construído com LTCC.

### 4.1.11. Dispositivo construído com LTCC

A tecnologia LTCC ou *Green Tapes* ou ainda cerâmicas verdes, nome dado pela característica do material que é manipulável antes mesmo de ser sinterizado. Na realidade a cerâmica verde é azul devido aos sais de cobalto que a incorporam, e podem ser moldadas com uma tesoura ou até mesmo com as mãos.

Existem três tipos de compostos orgânicos presentes nas cerâmicas:

- Dissolventes: Proporciona viscosidade adequada ao material e ajudam na dispersão de partículas sólidas por meio da dissolução de aditivos orgânicos. Ex: etanol, xileno.
- Plastificantes: Permitem a manipulação das cerâmicas antes da sinterização por conferirem flexibilidade ao material. Ex: Santicizer 160, UCON.
- Aglutinante: Mantém as partículas cerâmicas unidas. Ex: Butvar 98.86.

A Figura 14 mostra a camada de uma cerâmica DuPont 951AX em seu estado não sinterizado.

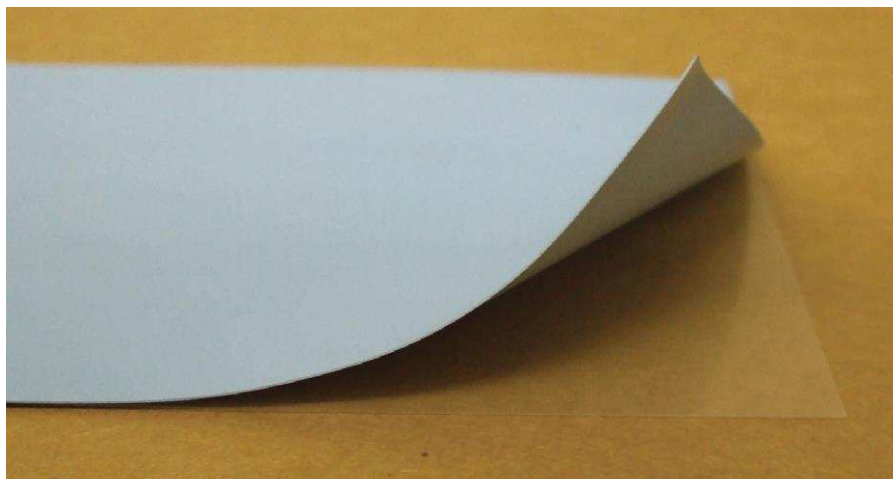


Figura 14- Camada da cerâmica DuPont 951AX com plástico Mylar.

As etapas que envolveram a construção do microdispositivo utilizado neste trabalho, foram: desenho inicial do microsistema analítico, processo de corte, alinhamento, laminação e sinterização.

#### 4.1.12. Desenho inicial do microdispositivo analítico

O layout de cada camada de cerâmica foi projetado utilizando o *software* AUTOCAD. É importante levar em consideração dois fatores, o primeiro é a contração do material cerâmico após a sinterização, consequência da perda de compostos orgânicos nessa etapa e o segundo fator é a utilização de metodologia de fabricação por sobreposição de camadas, pois cada camada tem sua geometria e corte particular e quando sobrepostas, formam uma estrutura tridimensional com canais fluídicos bem definidos, a fim de se obter o microdispositivo analítico inicialmente projetado.

#### 4.1.13. Processo de corte e serigrafia

Para o corte das 46cerâmicas verdes Dupont 951AX foi utilizado um equipamento a laser infravermelho (Protolaser ®) que produz radiação com parâmetros de corte otimizados pelo fabricante para o corte das cerâmicas. Essa cerâmica possui as seguintes características:

- Espessura de  $254 \pm 13 \mu\text{m}$
- Encolhimento no eixo X-Y:  $12,7 \pm 0,3\%$
- Encolhimento no eixo Z:  $15 \pm 0,5\%$

- Rugosidade superficial:  $< 0,34 \mu\text{m}$

Para o microdispositivo construído com LTCC desenvolvido para este trabalho, não houve a integração de circuitos elétrico, portanto, não necessitou realizar o procedimento de serigrafia.

#### 4.1.14. Alinhamento e Laminação

Posteriormente ao processo de corte das cerâmicas, foi feita a sobreposição de forma alinhar as camadas cerâmicas a fim de se obter a configuração sob medida dos canais fluídicos projetados inicialmente, os furos de alinhamento (Figura 15) são necessários para o ajuste na prensa. As camadas de cerâmica verde foram empilhadas entre duas placas de aço, alinhadas nos pinos de alinhamento existentes nos quatro cantos da placa.

A laminação que consiste em unir duas ou mais camadas de cerâmica verde formando um único bloco. Foi utilizado a prensa de termocompressão hidráulica (Talleres Francisco Campos, S.A., Granollers, Espanha). Esse processo foi realizado a uma temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$  por 60 segundos com pressão máxima de  $420 \text{ kg cm}^{-2}$ , produzindo um microdispositivo alinhado e sólido ao término desta etapa.

Após a etapa de laminação é necessário eliminar o excesso de material cerâmico por meio de uma fresadora para melhorar o aspecto do microdispositivo.

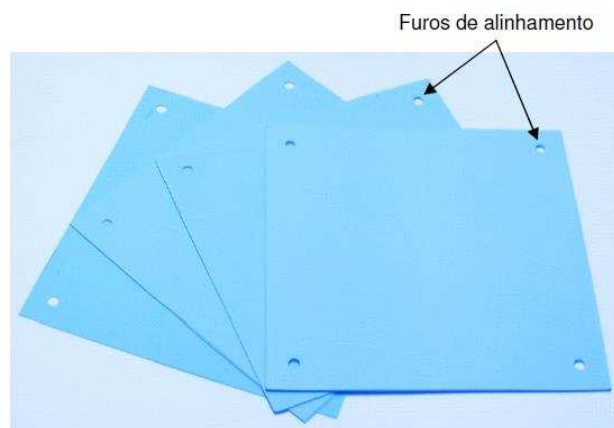


Figura 15- Cerâmica verde e os furos de alinhamento

#### 4.1.15. Sinterização

Para o processo de sinterização, foi utilizado um forno com atmosfera de ar CARBOLITE CBCWF11/23P16, com capacidade de chegar a  $1100^{\circ}\text{C}$ . A

sinterização é o procedimento com a finalidade de conferir rigidez ao microdispositivo.

#### 4.1.16. Desenho das camadas para o microssistema analítico construído com LTCC

Foi utilizado apenas uma configuração do microdispositivo para o desenvolvimento das metodologias para a determinação de cloro livre residual empregando os reagentes DPD e orto-toluidina. Para isso o dispositivo foi projetado com uma zona de confluência e um percurso analítico para propiciar a reação entre a amostra e o reagente, ademais um caminho ótico foi construído com o intuito de monitorar o cromóforo gerado

Para esse trabalho foram utilizadas 7 camadas de cerâmica verde. Nas camadas A, B, D e E utilizou-se apenas uma cerâmica verde e na camada C onde estão abrigados os canais microfluídicos e por onde ocorreram as reações, utilizou-se três camadas iguais, que quando sobrepostas formam os canais, e que após a etapa de sinterização, gerou um dispositivo com os canais nas seguintes dimensões: 1 mm de diâmetro, 0,85 mm de largura e 0,17 mm de profundidade, e as demais camadas complementam o microdispositivo, totalizando sete camadas cerâmicas (Figura 16).

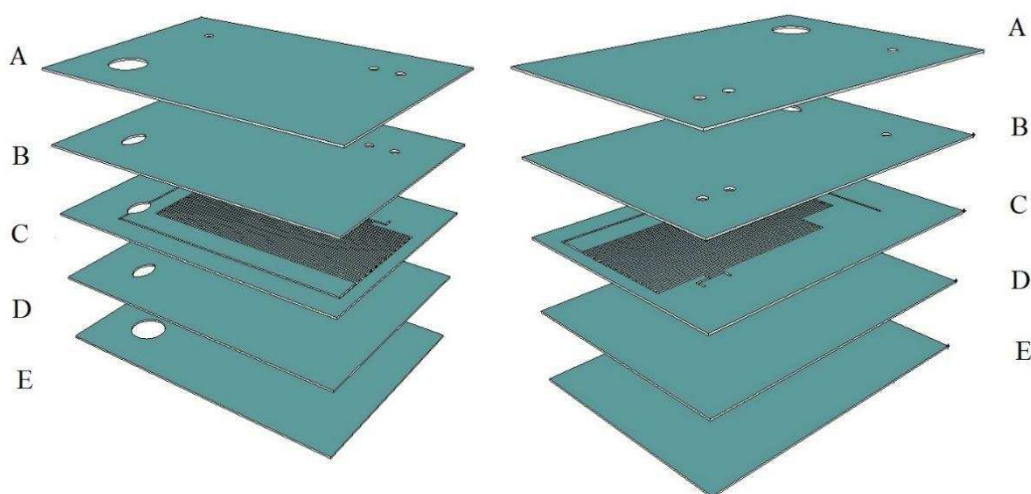


Figura 16- Desenho das camadas utilizadas na construção do microdispositivo de LTCC em duas perspectivas.

A Figura 17 apresenta o esquema para conexão de entrada e saída de fluxo no microdispositivo. Na Figura F é um tubo de polietileno de 2 cm, G é um tubo de silicone e H é o conector metálico que está colado sobre o dispositivo com cola

superbonder. Para evitar o vazamento de soluções foi inserida uma camada de cola epóxi na base do conector de latão.

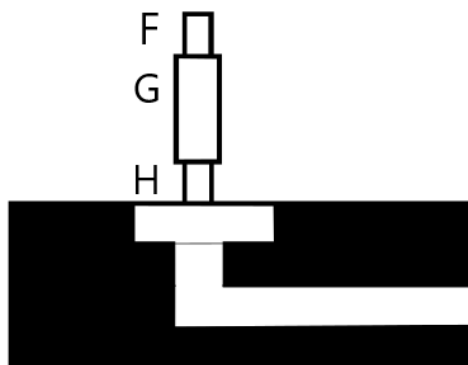


Figura 17- Esquema de conexão de entrada e saída de fluidos do microdispositivo construído com LTCC.

A Figura 18 ilustra o dispositivo de LTCC utilizado com dois canais de entrada (2 e 3) e um canal de saída (1) sem os conectores e com os vidros acoplados na cavidade de leitura.



Figura 18- Dispositivo de análise construído com LTCC.

A Figura 19 mostra o dispositivo na forma final, com os conectores de latão e com os vidros, para sua fixação utilizou-se resina epóxi. O microdispositivo possui 26 mm de largura, 24 mm de comprimento e 1,2 mm de espessura.

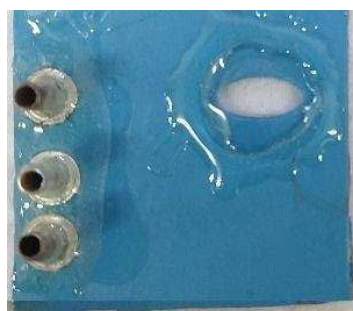


Figura 19– Forma final do microdispositivo construído com LTCC

#### 4.1.17. Colorímetro

O Colorímetro utilizado foi da Hach modelo 58700-23, com leitura digital direta de cloro livre e cloro total, com 2 faixas de medição: Faixa baixa: 0,02 a 2,00 mg/L e faixa alta: 0,1 a 8,0 mg/L. Os valores de concentração de cloro obtidos com o colorímetro foram comparados com a titulação iodométrica a fim de confirmar a veracidade dos dados.

#### 4.4. Reagentes e soluções

Acetato de sódio (Neon), acetato de amônio (Neon), ácido acético (Neon), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (Merck), ácido clorídrico (NEON), ácido fosfórico (NEON), ácido salicílico (J. T. Baker), ácido sulfúrico (Neon), amido (Neon), carbonato de sódio (Merck), cloreto de sódio (Neon), dicromato de potássio (Merck), fosfato de potássio (Neon), fosfato de sódio (Neon), hidróxido de sódio (Neon), hipoclorito de sódio (Merck), iodeto de potássio (Neon), N,N-Dietil-P-Fenilendiamina Sulfato (DPD) (Hack), KIT DPD (Hack), orto-toluidina (SpecSol), tiosulfato de sódio (Neon) foram reagentes grau analítico. A água utilizada na preparação das soluções foi purificada por destilação e sistema Milli-Q da Milli-Pore- Merck com condutividade menor que 1  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

A solução padrão estoque de cloro 50 mg L<sup>-1</sup>, preparada para os procedimentos de determinação de cloro livre residual por DPD e por orto-toluidina, foi obtida a partir da diluição de uma solução de hipoclorito de sódio de concentração  $\geq 10 < 20$  %. As concentrações das soluções padrão de cloro foram padronizadas com tiosulfato de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>, iodeto de potássio 10% e solução indicadora de amido 2% (m/V). As demais soluções de padrão foram preparadas por diluição da solução padrão estoque, em água deionizada.

A solução de amido 2% (m/V) foi preparada pela diluição de 10 gramas de amido solúvel e 1,0 grama de ácido salicílico em 500 mL de água deionizada quente.

A soluções de iodeto de potássio 10% foi preparada pela diluição de 100 gramas de iodeto de potássio em 1000 mL de água deionizada.

A solução de tiosulfato de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup> foi preparada pela diluição de 26 gramas de tiosulfato de sódio e 0,40 gramas de carbonato de sódio e água deionizada isenta de CO<sub>2</sub>. A solução de tiosulfato de sódio foi padronizada com o padrão primário dicromato de potássio.

A solução transportadora de tampão acetato de sódio foi preparada dissolvendo-se 23 gramas de acetato de sódio anidro em 500 mL de água deionizada, após a diluição acrescentou-se 7 mL de ácido acético, o pH foi ajustado com a ajuda de um pHmetro e um agitador, para os valores de 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5 adicionando ácido acético glacial para ajustes ácidos e solução de hidróxido de sódio para ajustes básicos. A solução foi avolumada para 1000 mL em um balão volumétrico com água deionizada.

A solução transportadora tampão acetato de amônio foi preparada dissolvendo 125 gramas de acetato de amônio em 150 mL de água deionizada. Após a dissolução do sal, adicionou-se 350 mL de ácido acético glacial, em seguida o pH foi ajustado com a ajuda de um pHmetro e um agitador, para os valores de 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5 adicionando ácido acético glacial para ajustes ácidos e solução de acetato de amônio para ajustes básicos. A solução foi avolumada para 1000 mL em um balão volumétrico com água deionizada.

A solução carregadora tampão fosfato foi preparada dissolvendo 24 gramas de fosfato de sódio anidro, 46 gramas de fosfato de potássio anidro e 0,8 gramas de ácido etilenodiamino tetra-acético em 600 mL de água deionizada. Adicionou-se 2 gotas de tolueno para prevenir a formação de mofo. O pH foi ajustado, com a ajuda de um pHmetro e um agitador, para os valores de 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5 adicionando ácido sulfúrico para ajustes ácidos e solução de hidróxido de sódio para ajustes básicos. A solução foi avolumada para 1000 mL em um balão volumétrico com água deionizada.

A solução estoque do reagente DPD foi preparada diluindo 13 gramas de N,N'-dietil-p-fenilenodiamina em 500 mL de água deionizada; em seguida, acrescentou-se 20 mL de ácido sulfúrico 1:3 V/V, 50 mL de etanol e 2 gramas de EDTA. Essa solução foi diluída para 1000 mL, num balão volumétrico com água deionizada. As demais soluções de reagente DPD foram preparadas por diluição da solução estoque, em água deionizada.

Para preparar a solução estoque do reagente orto-toluidina, foram pesados 250 mg do reagente, que foi dissolvido com água deionizada, num balão de 250 mL. As demais soluções de orto-toluidina, utilizadas para otimizar o sistema, foram preparadas por diluição da solução estoque, em água deionizada.

A solução estoque de ácido clorídrico 10 mol L<sup>-1</sup> foi preparada pela diluição de 810 mL desse ácido com água deionizada, em um balão de 1000 mL. As demais

soluções carregadoras, utilizadas para otimizar o sistema, foram preparadas pela diluição da solução estoque de ácido clorídrico, em água deionizada.

A solução estoque de ácido fosfórico  $10 \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada pela diluição de 670 mL desse ácido com água deionizada, em um balão de 1000 mL. As demais soluções carregadoras, utilizadas para otimizar o sistema, foram preparadas pela diluição da solução estoque de ácido fosfórico, em água deionizada.

#### 4.2.1. Amostras

As amostras de água potável analisadas neste trabalho são provenientes do sistema de tratamento de água de uma indústria de celulose localizada em Belo Oriente, Minas Gerais.

### 4.5. Construção do sistema para aquisição dos valores em RGB

A Figura 20 apresenta o sistema FIA-LTCC que é composto por uma bomba peristáltica, tubos e conexões de Tygon e polietileno, um injetor comutador de acrílico, uma caixa de mdf na cor preta contendo uma bateria de 12V, dois LEDs (*Light Emitting Diodes*) de luz branca de 12 mA, uma chave liga/desliga, dispositivo construído com LTCC e um aparelho *smartphone*.



Figura 20- Sistema FIA utilizado neste trabalho. As soluções de interesse, bomba peristáltica, injetor de acrílico, caixa preta, bateria, LED, microdispositivo de LTCC e béquer para descarte.

A Figura 21 apresenta o esquema interior do sistema construído para a aquisição das imagens. As entradas 1 e 2 foram utilizadas para a entrada das amostras e dos reagentes, respectivamente.

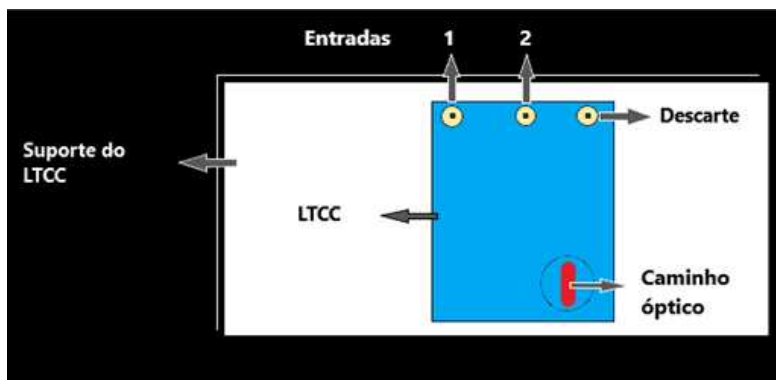


Figura 21- Esquema do interior do sistema para aquisição das imagens digitais. Adaptado (AMORIM, 2020).

A Figura 22 mostra a interface do aplicativo Color Grab e as etapas para aquisição das imagens digitais pelo modelo RGB. Antes de realizar as medidas é necessário configurar o aplicativo, o usuário deve se dirigir a opção “Settings”, clicar em “Câmera Right Cell” e selecionar o sistema de cores “RGB”.

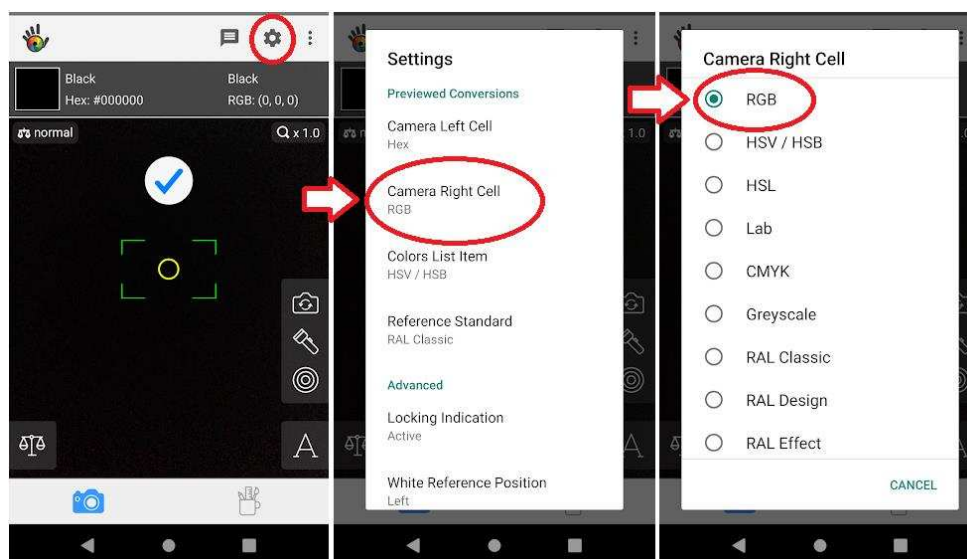


Figura 22- Etapas de configuração do aplicativo para aquisição das imagens digitais.

#### 4.5.1. Diagrama esquemático para determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-DPD.

A Figura 23 mostra o diagrama esquemático do sistema FIA para determinação de cloro livre residual utilizando um microsistema construído com LTCC e o reagente colorimétrico DPD. Esse procedimento é baseado na rápida oxidação do DPD pelo cloro residual livre, formando um complexo colorido rosa-escuro

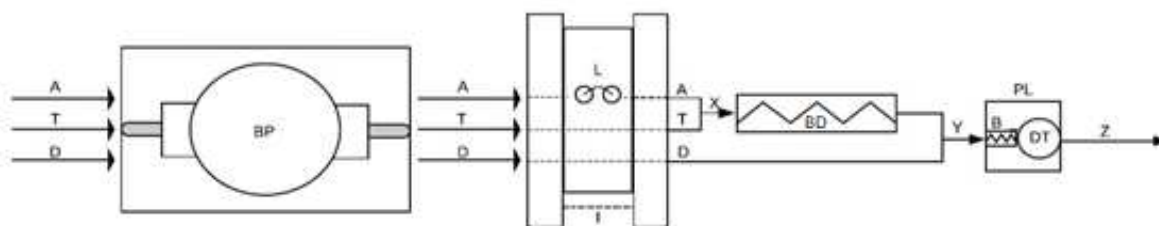


Figura 23- Diagrama esquemático do sistema FIA para determinação de cloro livre residual utilizando um microsistema construído com LTCC e o reagente colorimétrico DPD. Onde: A, solução da amostra ou de referência; T, solução tampão; D, solução de DPD; BP, bomba peristáltica; I, injetor comutador de acrílico; L, alça de amostragem; X, ponto de confluência entre a amostra e a solução tampão; BD, bobina helicoidal; Y, pontos de entrada da amostra tamponada e DPD no dispositivo construído com LTCC; PL, microsistema construído com LTCC; B, percurso reacional no formato de serpentina para a reação entre a amostra e o DPD; DT, cominho ótico para detecção usando o *smartphone*; Z, descarte.

Nesse sistema o injetor-comutador (I) está na posição de amostragem. Nesta posição, os reagentes D e T (D e T  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ) e a amostra ou solução de referência (A,  $200 \mu\text{L}$ ) são bombeados em direção ao detector. Comutando o injetor para a posição de injeção, os volumes de reagentes e amostra (ou solução de referência) são injetados simultaneamente como zonas individuais na solução carregadora. A primeira zona de confluência ocorre no ponto X, onde o analito entra pela entrada A e o tampão pela entrada T, e ocorre o tamponamento da solução de amostra (ou solução de referência) pela bobina helicoidal BD. A segunda zona de confluência ocorre no ponto Y (dentro do dispositivo), onde a solução tamponada conflui com o reagente DPD no percurso reacional B de diâmetro interno de  $0,4 \text{ mm}$  e volume aproximado de  $70 \mu\text{L}$ . O cromóforo na cor púrpura formado no percurso analítico na forma de serpentina foi transportado para o caminho ótico (DT) de  $0,6 \text{ mm}$  e monitorado pela câmera do *smartphone*. Essa leitura resulta num sinal analítico inversamente proporcional à concentração do analito na amostra, que possui variação de intensidade na indicação de cor G do modelo RGB. Após a leitura, o cromóforo gerado foi descartado (Z), iniciando-se um novo ciclo de análise. Quando o injetor manual estava na posição de amostragem, a solução tampão a uma taxa de fluxo de  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$  foi bombeado para o sistema para a limpeza de todo o sistema.

A Tabela 1 mostra os parâmetros químicos e físicos estudados para otimização do sistema de análise por injeção em fluxo.

Tabela 1- Parâmetros de otimização do sistema FIA-LTCC-DPD

Parâmetros	Fatores estudados
Solução carregadora	tampão amônio tampão acetato Tampão fosfato
pH da solução carregadora	4,0 a 6,5
Concentração de DPD ( $\text{mol L}^{-1}$ )	$5 \times 10^{-3}$ a $5 \times 10^{-2}$
Alça de Amostragem ( $\mu\text{L}$ )	50 a 250
Vazão das soluções carregadora e DPD ( $\text{mL min}^{-1}$ )	0,25 a 2,0
Comprimento da bobina helicoidal (cm)	30 a 110

Os dados obtidos foram avaliados através dos valores de média e moda fornecidos pelo *software Statistica*, levando-se em consideração o desvio padrão e a sensibilidade analítica.

#### 4.5.2. Diagrama esquemático para determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA

A Figura 24 mostra o diagrama esquemático do sistema FIA para determinação de cloro livre residual utilizando um microsistema construído com LTCC e o reagente colorimétrico orto-toluidina.

A determinação do cloro envolve a rápida oxidação da orto-toluidina, formando uma imino-quinona, e a sua cor depende do pH do meio reacional. Neste procedimento, trabalhou-se em pH próximo de 1; gerando um produto de cor amarela.

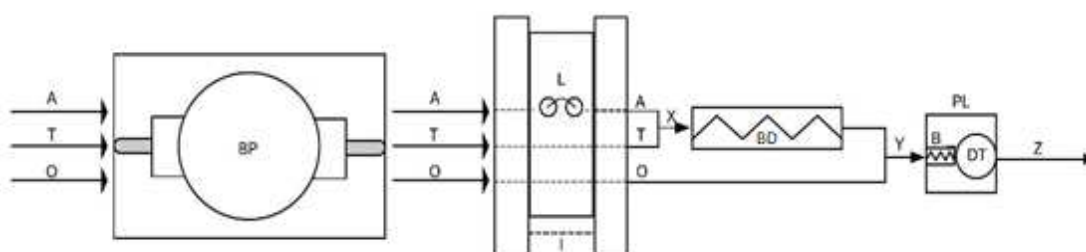


Figura 24- Diagrama esquemático do sistema FIA para determinação de cloro livre residual utilizando um microsistema construído com LTCC e o agente colorimétrico orto-toluidina. Onde: A, solução da amostra ou de referência; T, solução ácida; O, solução de orto-toluidina; BP, bomba peristáltica; I, injetor de acrílico; L, alça de amostragem; X, ponto de confluência entre a amostra e a solução ácida; BD, bobina helicoidal; Y, ponto de confluência entre a amostra acidificada e orto-toluidina no dispositivo de construído com LTCC; PL, microsistema construído com LTCC; B, percurso reacional no formato de serpentina para a reação entre a amostra e orto-toluidina; DT, cominho ótico para detecção usando o *smartphone*; Z, descarte.

Nesse sistema o injetor-comutador (I) está na posição de amostragem. Nesta posição, os reagentes O e T (O e T,  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ) e a amostra ou solução de referência (A,  $200 \mu\text{L}$ ) são bombeados em direção ao detector. Comutando o injetor para a posição de injeção, os volumes de reagentes e amostra (ou solução de referência) são injetados simultaneamente como zonas individuais na solução carregadora. A primeira zona de confluência ocorre no ponto X, onde o analito entra pela entrada A e a solução ácida pela entrada T, e ocorre a diminuição do pH da solução de amostra (ou solução de referência) pela bobina helicoidal BD. A segunda zona de confluência ocorre no ponto Y, onde a solução ácida conflui com o reagente orto-toluidina pelo percurso reacional B de diâmetro interno de  $0,4 \text{ mm}$  e volume aproximado de  $70 \mu\text{L}$ . O cromóforo na cor amarelo formado no percurso analítico na forma de serpentina foi transportado para o caminho ótico (DT) de  $0,6 \text{ mm}$  e monitorado pela câmera do *smartphone*. Essa leitura resulta num sinal analítico inversamente proporcional à concentração do analito na amostra, que possui variação de intensidade na indicação de cor B do modelo RGB. Após a leitura, o cromóforo gerado foi descartado (Z), iniciando-se um novo ciclo de análise. Quando o injetor manual estava na posição de amostragem, a solução ácida a uma taxa de fluxo de  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$  foi bombeado para o sistema para a limpeza de todo o sistema.

A Tabela 2 mostra os parâmetros químicos e físicos estudados para otimização do sistema de análise por injeção em fluxo.

Os dados obtidos foram avaliados através dos valores de média e moda fornecidos pelo software Statistica, levando-se em consideração o desvio padrão e a sensibilidade analítica.

Tabela 2- Parâmetros de otimização do sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA

Parâmetros	Fatores estudados
Solução carregadora	Ácido clorídrico e Ácido fosfórico
Concentração da solução carregadora ( $\text{mol L}^{-1}$ )	0,1 a 2,0
Concentração de orto-toluidina ( $\text{mmol L}^{-1}$ )	$3 \times 10^{-3}$ a 0,3
Alça de amostragem ( $\mu\text{L}$ )	50 a 250
Vazão das soluções carregadora e orto-toluidina ( $\text{mL min}^{-1}$ )	0,25 a 2,0
Comprimento da bobina helicoidal (cm)	30 a 110

#### **4.6. Validação do método analítico**

Os seguintes parâmetros de desempenho foram avaliados durante a validação do método proposto:

- Seletividade;
- Linearidade, faixa linear e faixa de trabalho;
- Sensibilidade – limite de detecção e limite de quantificação;
- Exatidão;
- Precisão;
- Robustez.

Os procedimentos foram realizados conforme orientações dispostas no guia DOQ-CGCRE-008- Ver. 05- de agosto de 2016 do INMETRO.

#### **4.7. Método comparativo para determinação de cloro residual livre**

O método comparativo para quantificação de cloro livre residual foi o DPD (N,N dietil-p-fenileno-diamina), utilizando um colorímetro e o método oficial do Standard Methods 23RD Edition (titulação iodométrica).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-DPD

O reagente cromóforo N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) apresenta coloração púrpura em presença de cloro livre residual e essa coloração se intensifica com o aumento da concentração na amostra. Foram monitorados os três canais R, G e B a fim de definir qual deles apresentaria a melhor resposta analítica e diante dos testes, o canal G apresentou a melhor resposta.

Conforme apresentado na Figura 25 o sinal analítico do modelo RGB para essa variação de cor apresenta indicações analíticas inversamente proporcionais a concentração de cloro livre residual presente na amostra referência e de água potável, ou seja, quanto mais concentrado (mais púrpura) menor será o sinal analítico. Devido a este fator as melhores intensidades apresentadas serão sempre os menores pontos dos gráficos.

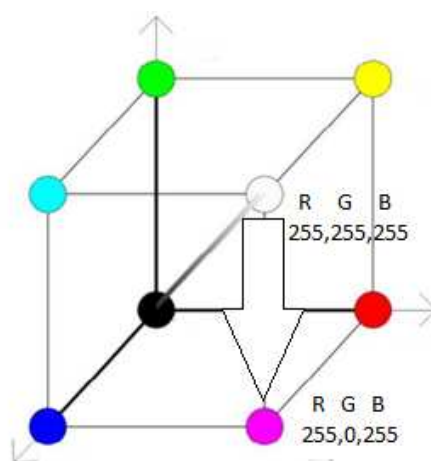


Figura 25- Modelo de cor RGB representado geometricamente, com foco para a indicação G da cor branca para a púrpura. Adaptado (WEBER, 2009).

#### 5.1.1. Estudo dos Parâmetros Químicos do Sistema FIA.

Avaliou-se o pH de três soluções tampões para o transporte de amostra de cloro residual com concentração conhecida. As soluções estudadas foram: tampão amônio, tampão acetato e tampão fosfato, no intervalo de pH de 4,0 a 6,5. A Figura 26 confirma os estudos de Bazzoli (1993), ou seja, que há maior concentração de cloro residual em soluções com valores de pH entre 5,0 e 6,0, isso ocorre porque nesse intervalo o equilíbrio da reação é deslocado para a formação ácido

hipocloroso (HOCl); o HOCl é quantificado como cloro residual livre. Dessa forma, a solução tampão acetato pH 5,5 foi escolhida para os estudos posteriores, pois apresentou o maior sinal analítico.

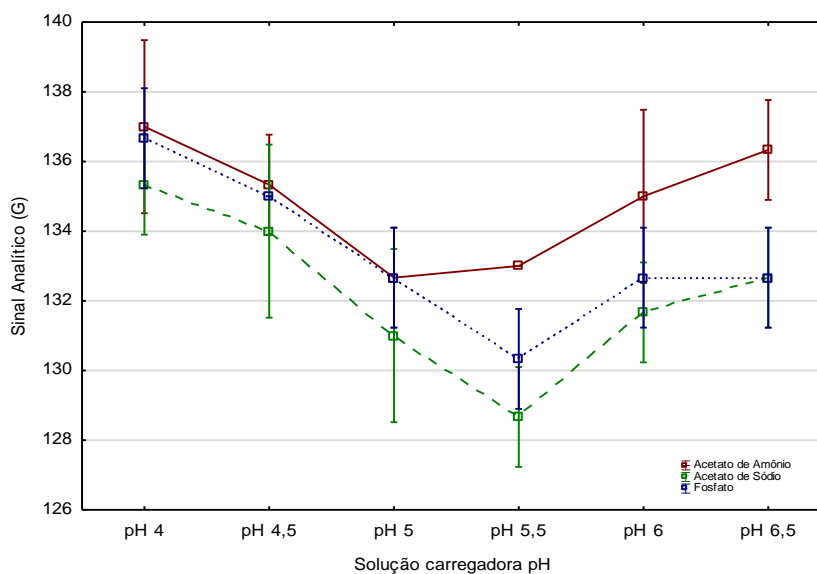


Figura 26– Otimização dos parâmetros pH e solução carregadora sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro residual livre  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , concentração de DPD  $5 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$ , bobina helicoidal de 70 cm, vazão das soluções carregadora e de DPD  $1 \text{ mL min}^{-1}$ , volume da alça de amostragem  $100 \mu\text{L}$ .

Após a escolha da solução carregadora e pH de trabalho, o próximo passo para a otimização foi a concentração do reagente DPD.

O efeito da concentração do reagente DPD, para a determinação de cloro residual em água potável foi avaliado no intervalo de  $5,0 \times 10^{-3}$  a  $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . Observa-se na Figura 27 que a concentração de  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de DPD apresentou o melhor sinal analítico, após essa concentração não houve variação considerável. Para o resultado estatístico da variância utilizou-se o teste de Tukey, ele é apresentado na Tabela 3, onde a quantidade de asteriscos informa quais concentrações apresentaram resultados estatisticamente iguais.

Tabela 3- Teste de Tukey realizado para estudo da variância na concentração de N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) sobre o sinal analítico.

Concentração Solução DPD mol L <sup>-1</sup>	Média Sinal analítico (G)	-
0,01	124	a
0,1	126	b
0,5	127	b
0,05	128	b
0,005	136	c

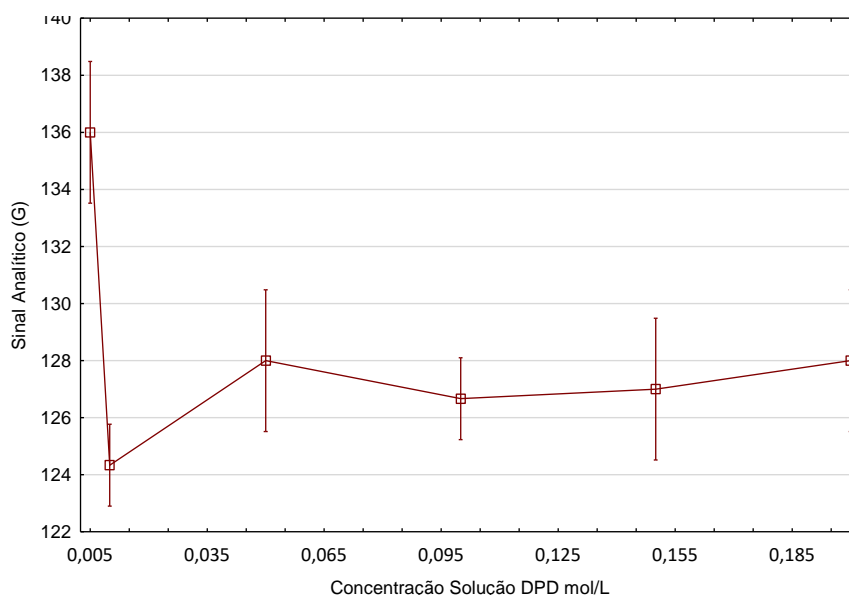


Figura 27– Estudo da concentração de N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro livre residual 2 mg L<sup>-1</sup>, Solução carregadora tampão acetato pH 5,5, bobina helicoidal de 70 cm, vazões das soluções carregadora e de DPD 1 mL min<sup>-1</sup> e volume da alça de amostragem de 100 µL.

Diante desse efeito selecionou-se a concentração de  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>, visto que esta concentração apresentou o melhor sinal analítico e menor desvio padrão.

#### 5.1.2. Estudo dos Parâmetros Físicos do Sistema FIA.

Após a otimização dos parâmetros químicos foram estudados os parâmetros físicos do sistema, objetivando sempre a busca da maior magnitude e a melhor repetibilidade dos sinais analíticos

Inicialmente, avaliou-se o volume da alça de amostragem, para isso variou-se o comprimento da alça entre 10 e 50 cm (50 a 250 µL). Verifica-se na Figura 28 que com o aumento do comprimento da alça um maior sinal analítico foi obtido, contudo, após o volume de 200 µL (alça de amostragem de 40 cm) não houve mais aumento do sinal, conforme teste de Tukey apresentado na Tabela 4. Esse resultado indica que o volume máximo de amostra de cloro livre residual para se

obter o melhor sinal analítico é de 200  $\mu\text{L}$ . Este volume de amostra também apresentou melhor repetibilidade.

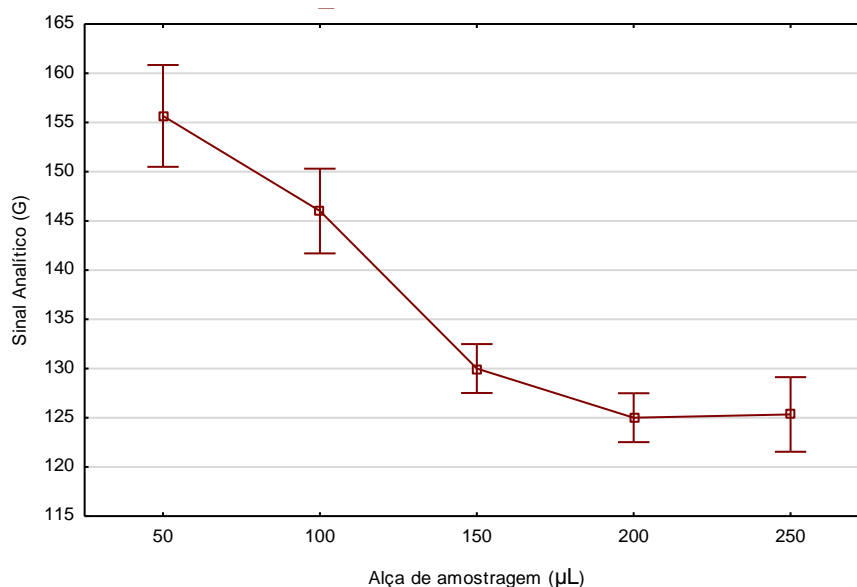


Figura 28— Estudo de volume da alça de amostragem sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , concentração de DPD de  $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , solução carregadora tampão acetato pH 5,5, bobina helicoidal de 70 cm, vazão da solução

Tabela 4- Teste de Tukey realizado para estudo da variância do volume da alça de amostragem sobre o sinal analítico (DPD).

Alça de amostragem ( $\mu\text{L}$ )	Sinal analítico (G)	-
200	125	A
250	125	A
150	130	B
100	146	C
50	155	D

Em seguida foi otimizada a vazão da solução carregadora e da solução de DPD. O efeito da vazão sobre o sinal analítico foi avaliado entre  $0,25$  a  $2 \text{ mL min}^{-1}$ , variando a velocidade de rotação da bomba peristáltica, como mostra a Figura 29. A vazão selecionada foi a de  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ , pois apresentou melhor valor no sinal analítico, após esse ponto o sinal diminuiu gradualmente. Esse resultado é explicado pela diluição/dispersão da amostra em vazões maiores.

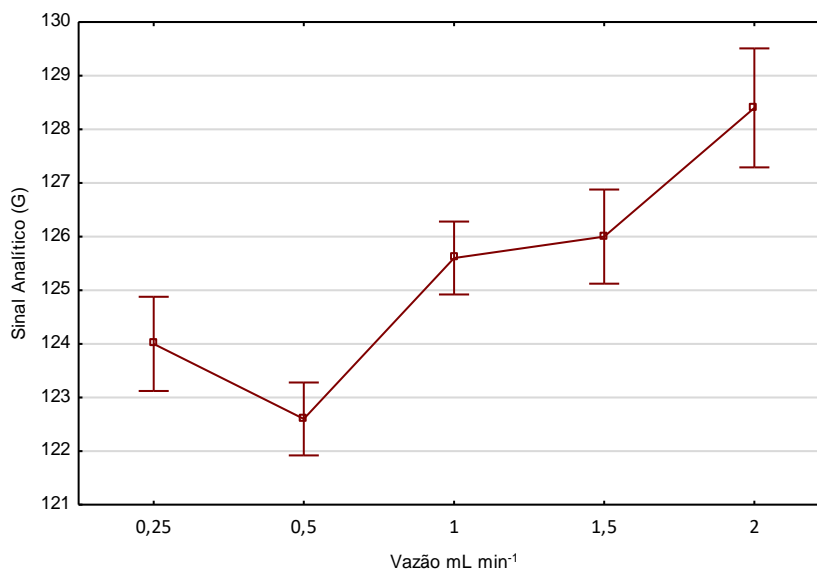


Figura 29- Estudo da vazão das soluções carregadora e de DPD sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , concentração de DPD de  $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , solução carregadora tampão pH 5,5, bobina helicoidal de 70 cm e alça de amostragem  $200 \text{ }\mu\text{L}$ .

Também foi avaliada a influência do comprimento da bobina helicoidal sobre o sinal analítico, o intervalo analisado foi de 30 a 110 cm. A Figura 30 mostra que com o aumento da bobina helicoidal o sinal analítico aumentou, porém, após o comprimento de 70 cm não se obteve mais ganho do sinal conforme mostra o Teste de Tukey (Tabela 5). Dessa forma a bobina helicoidal de 70 cm foi utilizada para a continuidade do trabalho.

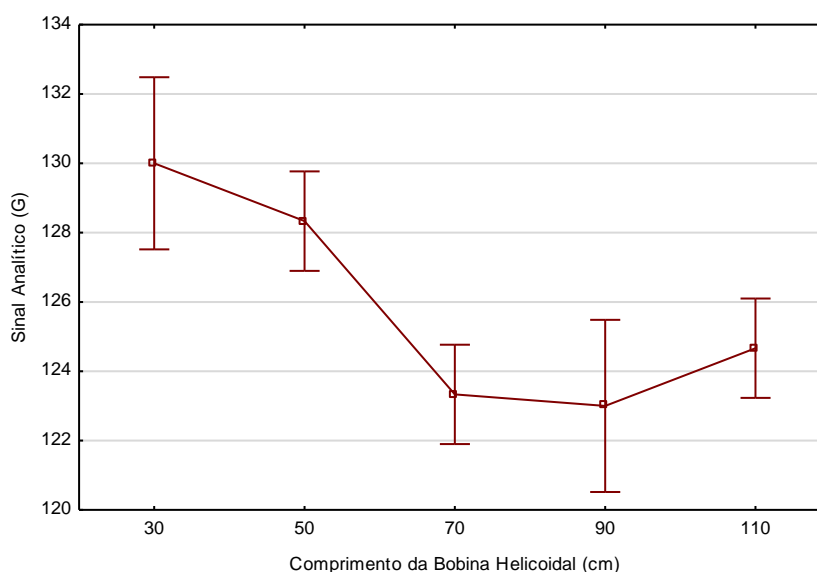


Figura 30- Estudo do comprimento da bobina helicoidal sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , concentração de DPD de  $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , solução carregadora tampão pH 5,50, alça de amostragem  $200 \text{ }\mu\text{L}$ , vazão da solução carregadora e de DPD  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ .

Tabela 5- Teste de Tukey realizado para estudo do comprimento da bobina helicoidal (DPD).

Comprimento da Bobina Helicoidal (cm)	Sinal analítico (G)	-
90	123	a
70	123,3333	a
110	124,6667	a
50	128,3333	b
30	130	b

A Tabela 6 mostra os parâmetros químicos e físicos avaliados e selecionados para determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-DPD.

Tabela 6- Parâmetros físicos e químicos avaliados na otimização sistema FIA-LTCC-DPD.

Parâmetros	Fatores estudados	Fatores selecionados
Solução carregadora	tampão amônio tampão acetato tampão fosfato	tampão acetato
pH da solução carregadora	4,0 a 6,5	5,5
Concentração de DPD ( $\text{mol L}^{-1}$ )	$5,0 \times 10^{-3}$ a $5,0 \times 10^{-2}$	$1,0 \times 10^{-2}$
Alça de Amostragem ( $\mu\text{L}$ )	50 a 250	200
Vazão das soluções carregadora e DPD ( $\text{mL min}^{-1}$ )	0,25 a 2,0	0,5
Comprimento da bobina helicoidal (cm)	30 a 110	70

Após a otimização manteve-se os mesmos parâmetros químicos e físicos para as análises, tanto para construção da curva de calibração quanto para a validação da metodologia.

### 5.1.3. Estudo da Precisão dos Sinais Analíticos e Frequência de amostragem

Estudou-se a precisão dos sinais analíticos do procedimento em fluxo desenvolvido, para concentrações de solução padrão de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , obtendo-se o desvio padrão relativos de 1,27 %. A frequência de amostragem para o procedimento em fluxo desenvolvido foi de 33 determinações em 1 hora (Figura 29).

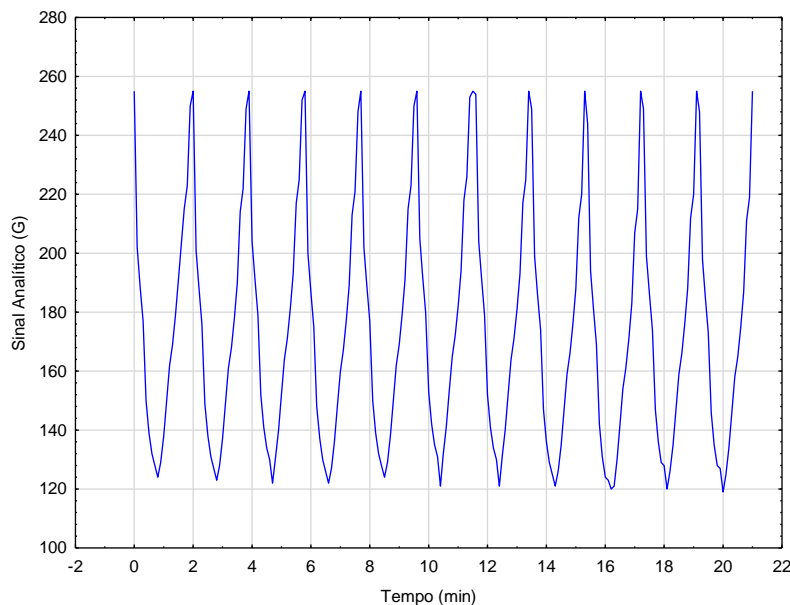


Figura 31- Estudo da precisão para soluções de referência de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$  empregando o reagente DPD.

#### 5.1.4. Estudo dos interferentes em potencial.

Após a otimização, foram estudados alguns possíveis interferentes que poderiam ocasionar erros na determinação de cloro residual em água potável.

As substâncias avaliadas foram íons de cálcio, magnésio, ferro, sulfato e sódio. A cor verdadeira e os sólidos suspensos também foram analisados. A Tabela 7 mostra o percentual de interferência de cada componente analisado para o método de DPD.

O estudo foi realizado adicionando concentrações de cada possível interferente em uma solução de referência e o sinal obtido foi comparado com o sinal obtido de uma solução de referência sem adição do interferente.

Como pode ser observado a cor verdadeira e os sólidos suspensos causaram interferências significativas na determinação de cloro livre nas condições de 1:1 e 10:1. Observa-se que a interferência persiste mesmo quando a quantidade de interferentes é cinquenta vezes menor que o analito. Fica comprovado a impossibilidade de analisar cloro livre residual com agente cromóforo DPD em amostra que haja presença de cor verdadeira e sólidos suspensos em grandes quantidades. Contudo a prática de dosar cloro em água potável normalmente é realizada após o seu tratamento, nesse caso a água não possui cor e sólidos suspensos, o que torna a metodologia possível de ser aplicada.

Tabela 7- Percentual de interferência de alguns compostos (DPD).

Possíveis interferentes	Interferência % - 1:1	Interferência % - 10:1	Interferência % 1:50
Ca <sup>2+</sup>	0,25	0,5	-
Mg <sup>2+</sup>	0,1	0,22	-
Fe <sup>3+</sup>	0,5	2	-
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,1	0,15	-
Na <sup>+</sup>	2,5	2,7	-
Cor	100	100	10
Sólidos suspensos	63	80	2

### 5.1.5. Validação dos Resultados

A concentração de cloro livre residual definida por órgão ambientais varia de 0,2 mg L<sup>-1</sup> a 2 mg L<sup>-1</sup>, isso implica que instrumentos para determinação do analito tenham capacidade realizar essas medições; diante dessa afirmação a faixa de trabalho proposta foi de 0,1 a 2,5 mg L<sup>-1</sup>. A Figura 32 mostra que a curva de calibração para análise com reagente cromóforo DPD obteve uma correlação de 0,9953, o que reflete a boa concordância entre as concentrações e sinais observados. A Equação 7 é a equação da reta referente a curva de calibração.

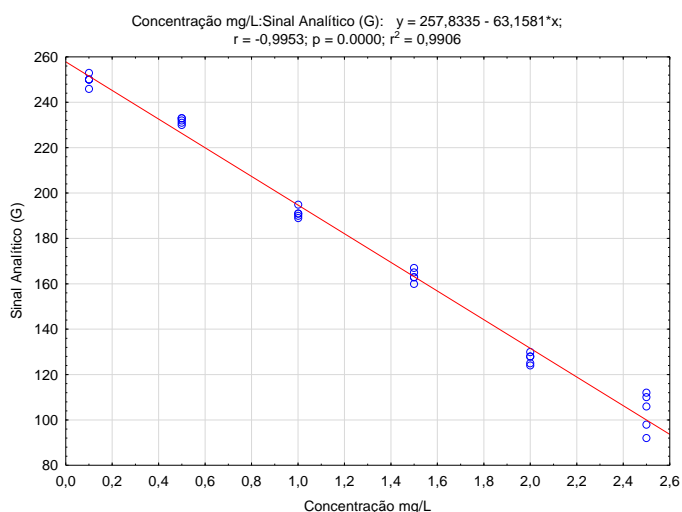


Figura 32- Curva analítica para determinação de cloro livre residual com agente cromóforo DPD, faixa de trabalho 0,1 a 2,5 mg L<sup>-1</sup>

$$y = 257,8335 - 63,1581x$$

Equação 7

Foi realizado um teste para definir qual maior concentração de cloro residual livre pode ser analisada nessa condição, o resultado foi de 4,1 mg L<sup>-1</sup>, nessa concentração o sinal analítico em G atinge o valor de 0, até essa concentração a curva respondeu linearmente.

Os valores de LD e LQ foram calculados pelo método da relação sinal ruído e obteve-se as respostas de 0,023 e 0,077 mg L<sup>-1</sup> respectivamente para 95% de confiabilidade. O que demonstra efetivas respostas de linearidade, seletividade e comprovam a homogeneidade da variância com  $p$ -valor < 0,05. A Figura 33 mostra a probabilidade normal dos resíduos, estes foram normalmente distribuídos com média nula e variação constante.

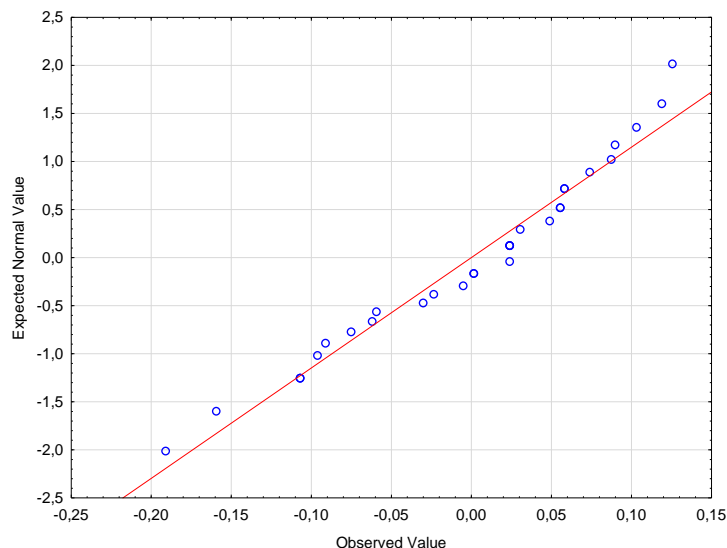


Figura 33- Probabilidade normal dos resíduos.

A Figura 34 mostra a análise gráfica dos resíduos, e confirmou a adequação do ajuste linear da curva de calibração, onde ocorrem erros aleatórios. Os resíduos apresentam a parcela da variabilidade dos dados que não foi explicada pelo ajuste, e são interpretados com uma estimativa do erro do modelo.

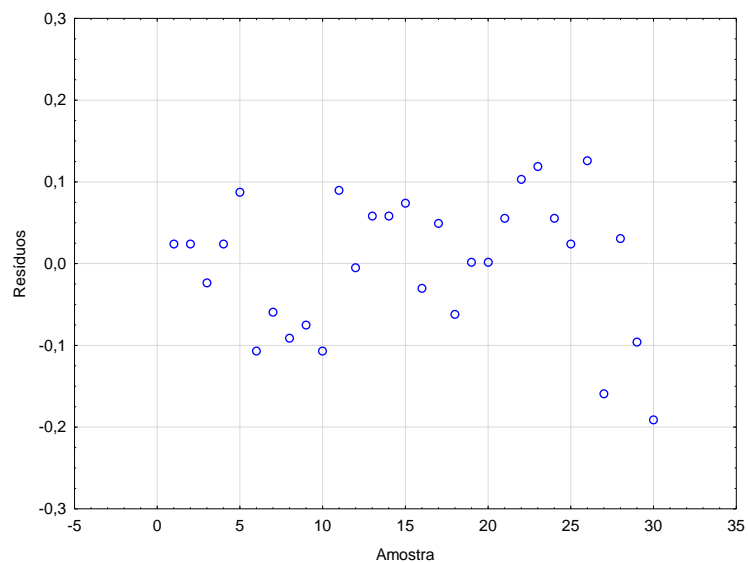


Figura 34-Resíduos com homocedastidade e normalmente distribuídos.

Os sinais transientes obtidos em triplicata das soluções de referências de cloro livre residual e triplicata de amostras de água potável estão apresentadas na Figura 35.

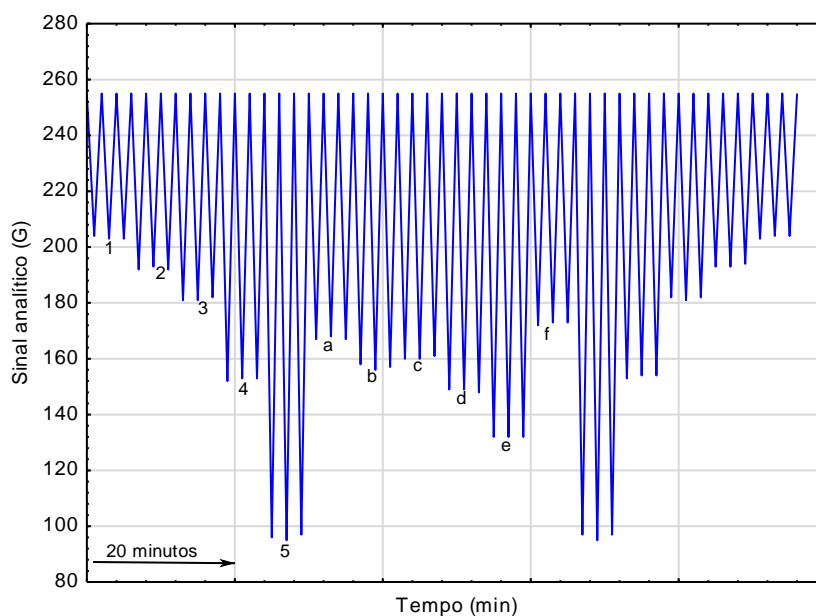


Figura 35- Sinais transientes obtidos em triplicata das soluções de referência de cloro livre residual nas concentrações de (1) 0,3, (2) 0,7, (3) 1,0, (4) 1,5 e (5) 2,5 mg L<sup>-1</sup> e de 6 amostras A, B, C, D, E e F seguido das soluções de referência novamente em concentrações decrescentes.

Os parâmetros exatidão e precisão foram estimados em quatro níveis de concentração, em cada nível de concentração realizou-se cinco repetições das análises (Tabela 8).

A exatidão foi estimada pela razão da diferença entre as concentrações calculadas e reais. Esse resultado apresentou resultados satisfatórios pois nenhum deles apresentou valores maiores que 5%.

A precisão foi estimada como repetibilidade (DPR) e precisão intermediária. Para essa última, as medidas foram feitas uma semana após a primeira, pelo mesmo analista, com o mesmo instrumento de medição.

Tabela 8- Estimativa de exatidão e precisão empregando o sistema FIA-LTCC-DPD

Concentração Real (mg/L)	Indicação em G	Concentração calculada (mg/L)	Exatidão	Precisão Intermediária (mg/L)
0,75	210	0,757	0,98%	0,747
	211	0,742	-1,13%	0,736
	209	0,773	3,09%	0,752
	210	0,757	0,98%	0,736
	210	0,757	0,98%	0,789
Média		0,757		0,752
DPR		1,478		2,903
1,25	180	1,232	-1,41%	1,25
	180	1,232	-1,41%	1,286
	178	1,264	1,12%	1,233
	179	1,248	-0,14%	1,233
	179	1,248	-0,14%	1,286
Média		1,245		1,258
DPR		1,064		2,134
1,75	149	1,723	-1,53%	1,765
	150	1,707	-2,44%	1,783
	148	1,739	-0,63%	1,712
	147	1,755	0,28%	1,783
	149	1,723	-1,53%	1,694
Média		1,730		1,747
DPR		1,044		2,385
2,25	116	2,246	-0,19%	2,244
	117	2,230	-0,90%	2,261
	115	2,262	0,51%	2,244
	115	2,262	0,51%	2,244
	116	2,246	-0,19%	2,261
Média		2,249		2,251
DPR		0,589		0,414

DPR- desvio padrão relativo, repetibilidade.

## 5.2. Determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA

O reagente cromóforo 3,3-dimetilbenzidina (orto-toluidina) apresenta coloração amarela em presença de cloro livre residual e essa coloração se intensifica com o aumento da concentração na amostra. Foram monitorados os três canais R, G e B a fim de definir qual deles apresentaria a melhor resposta analítica e diante dos testes, o canal B apresentou a melhor resposta.

Conforme apresentado na Figura 36 o sinal analítico do modelo RGB para essa variação de cor apresenta indicações analíticas inversamente proporcionais a concentração de cloro livre residual presente na amostra referência e de água potável, ou seja, quanto mais concentrado (mais amarelo) menor será o sinal analítico. Devido a este fator as melhores intensidades apresentadas serão sempre os menores pontos dos gráficos.

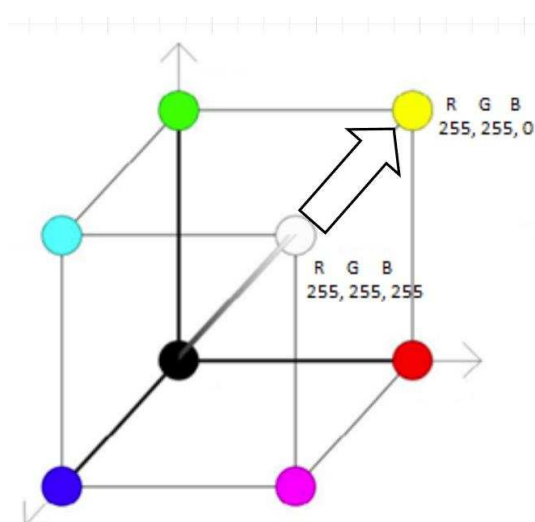


Figura 36- Modelo de cor RGB representado geometricamente, com foco para a indicação B da cor branca para a amarela. Adaptado (WEBER, 2009).

### 5.2.1. Estudo dos Parâmetros Químicos do Sistema FIA.

Avaliou-se a influência da concentração de duas soluções ácidas para o transporte de amostra de cloro residual com concentração conhecida. As soluções foram: ácido fosfórico e ácido clorídrico, o intervalo de concentração foi de 0,1 a 2 mol L<sup>-1</sup>. A Figura 37 mostra como foi o comportamento das duas soluções e suas concentrações no sistema proposto. É possível observar que o ácido clorídrico não obteve a melhor resposta analítica, esse resultado deve-se ao fato do seu grau de

ionização causar uma redução maior no pH do sistema, uma vez que a faixa ideal para essa reação varia de 0,8 a 3.

Observa-se na Figura 37 que a solução de ácido fosfórico apresentou como melhor opção em toda faixa de concentração estudada. O sinal analítico para a solução de ácido fosfórico foi se intensificando ao aumentar sua concentração, até a  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , após essa concentração o sinal manteve-se estável. De acordo com os resultados obtidos a solução de ácido fosfórico  $1 \text{ mol L}^{-1}$  foi empregada.

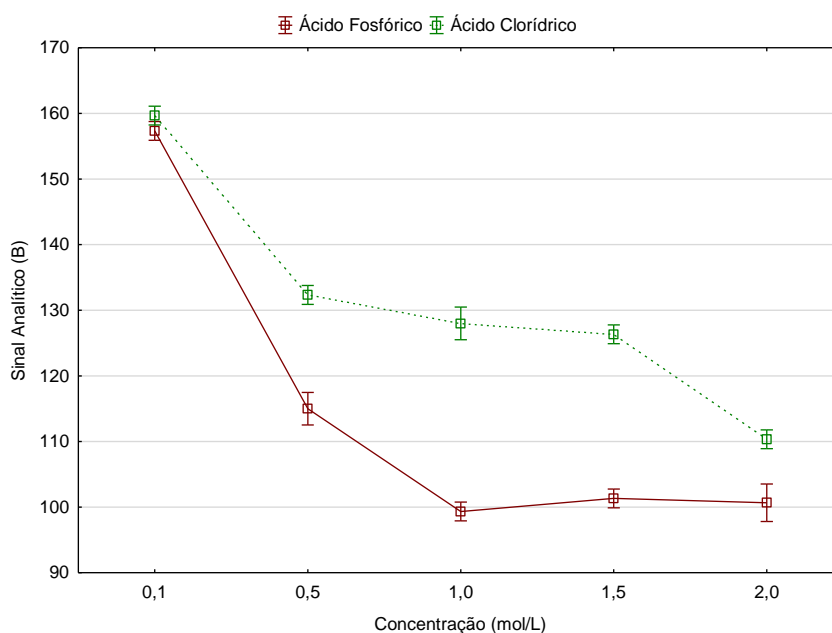


Figura 37- Otimização dos parâmetros concentração e solução carregadora sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , concentração de orto-toluidina  $0,3 \text{ mmol L}^{-1}$ , bobina helicoidal de 90 cm, vazão das soluções carregadora e de orto-toluidina  $1,5 \text{ mL min}^{-1}$  e volume da alça de amostragem  $50 \text{ }\mu\text{L}$ .

Após a escolha da solução carregadora e sua concentração a próxima etapa para a otimização foi a concentração do reagente cromóforo orto-toluidina.

O efeito da concentração da orto-toluidina para a determinação de cloro residual em água potável foi avaliado no intervalo de  $3 \times 10^{-3}$  a  $3 \times 10^{-1} \text{ mmol L}^{-1}$ . Observa-se na Figura 36 que a concentração de  $3 \times 10^{-2} \text{ mmol L}^{-1}$  de orto-toluidina apresentou o melhor sinal analítico. Para o resultado estatístico da comparação de médias utilizou-se o teste de Tukey (Tabela 9).

Tabela 9- Teste de Tukey realizado para estudo da variância na concentração de orto-toluidina sobre o sinal analítico.

Concentração orto-toluidina mmol L <sup>-1</sup>	Sinal analítico (B)	-
0,03	96	a
0,08	100	b
0,008	101	b
0,3	101	b
0,003	121	c

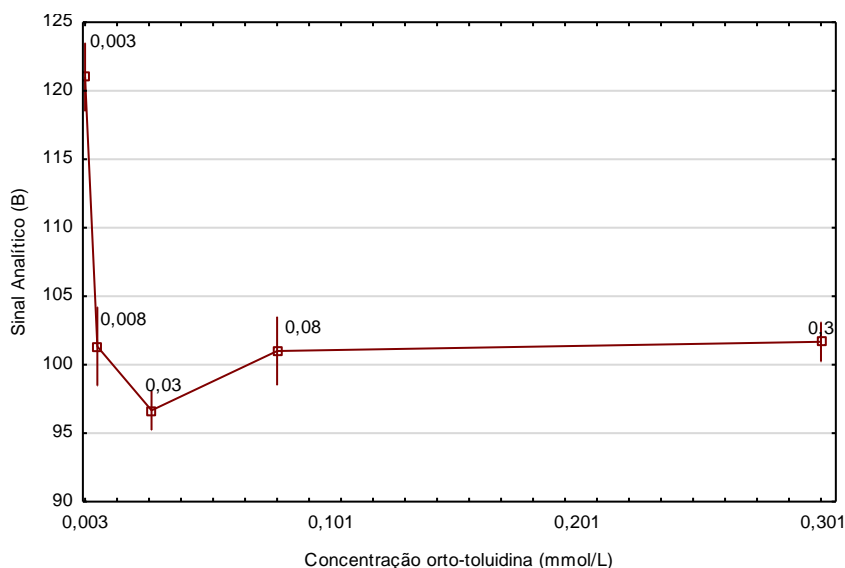


Figura 38- Otimização da concentração da orto-toluidina sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro livre residual 2 mg L<sup>-1</sup>, concentração de ácido fosfórico 1 mol L<sup>-1</sup>, bobina helicoidal de 90 cm, vazão das soluções carregadora e de orto-toluidina 1,5 mL min<sup>-1</sup> e volume da alça de amostragem 50 µL.

Dessa forma, selecionou-se a concentração de  $3 \times 10^{-2}$  mmol L<sup>-1</sup>, devido o melhor sinal analítico.

### 5.2.1. Estudo dos Parâmetros Físicos do Sistema FIA.

Após a otimização dos parâmetros químicos foram estudados os parâmetros físicos do sistema FIA para obter melhor condição de operação.

Inicialmente, avaliou-se o volume da alça de amostragem, para isso variou-se o comprimento da alça entre 10 e 50 cm (50 a 250 µL). Verifica-se na Figura 39 que o aumento do volume de amostra no microdispositivo proporcionou um melhor sinal analítico, contudo, após o volume de 200 µL (alça de amostragem de 40 cm) não houve mais aumento do sinal, conforme teste de Tukey apresentado na Tabela 10. Esse resultado indica que o volume máximo de amostra de cloro livre residual para se obter o melhor sinal analítico é de 200 µL.

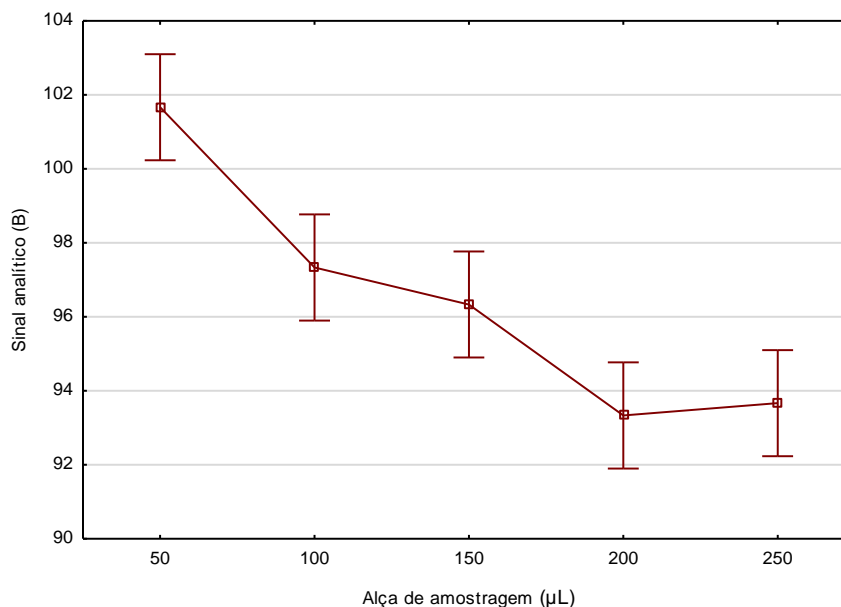


Figura 39– Estudo de volume da alça de amostragem sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , concentração de ácido fosfórico  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , concentração de orto-toluidina  $3 \times 10^{-2} \text{ mmol L}^{-1}$ , bobina helicoidal de 90 cm, vazão das soluções carregadora e de orto-toluidina  $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ .

Tabela 10- Teste de Tukey realizado para estudo da variância do volume da alça de amostragem sobre o sinal analítico (orto-toluidina).

Alça de amostragem (μL)	Sinal analítico (B)	-
200	93	a
250	93	a
150	96	b
100	97	b
50	101	c

Em seguida, estudou-se a vazão da solução carregadora. O efeito da vazão sobre o sinal analítico foi avaliado entre  $0,25$  e  $2 \text{ mL min}^{-1}$ , variando a velocidade de rotação da bomba peristáltica, como mostra a Figura 40. A vazão selecionada foi a de  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ , pois apresentou melhor sinal analítico, após esse ponto o sinal diminuiu gradualmente. Esse resultado é explicado pela diluição/dispersão da zona de amostra em vazões maiores

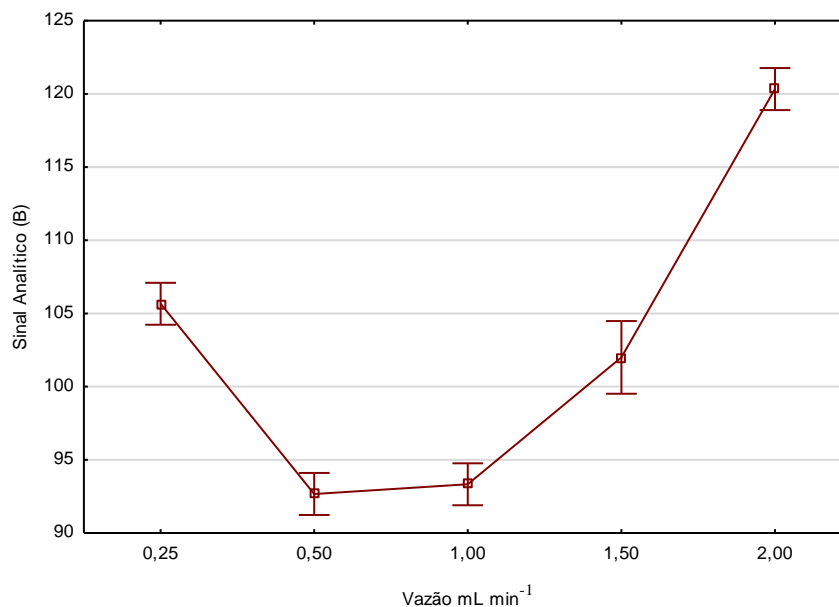


Figura 40- Estudo da vazão da solução carregadora sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , concentração de ácido fosfórico  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , concentração de orto-toluidina  $3 \times 10^{-2} \text{ mmol L}^{-1}$ , bobina helicoidal de 90 cm, alça de amostragem  $200 \text{ }\mu\text{L}$ .

Também foi avaliada a influência do comprimento da bobina helicoidal sobre o sinal analítico, o intervalo analisado foi de 30 a 130 cm. A Figura 41 mostra que com o aumento da bobina helicoidal o sinal analítico aumentou, porém, após o comprimento de 110 cm não se obteve mais ganho do sinal conforme mostra o Teste de Tukey (Tabela 11). Dessa forma a bobina helicoidal de 110 cm foi utilizada para desenvolvimento da metodologia.

Tabela 11- Teste de Tukey realizado para estudo da variância do comprimento da bobina helicoidal sobre o sinal analítico (orto-toluidina).

Comprimento da Bobina Helicoidal (cm)	Sinal analítico (B)	-
110	91	a
130	92	a
90	102	b
70	109	c
50	118	d
30	130	e

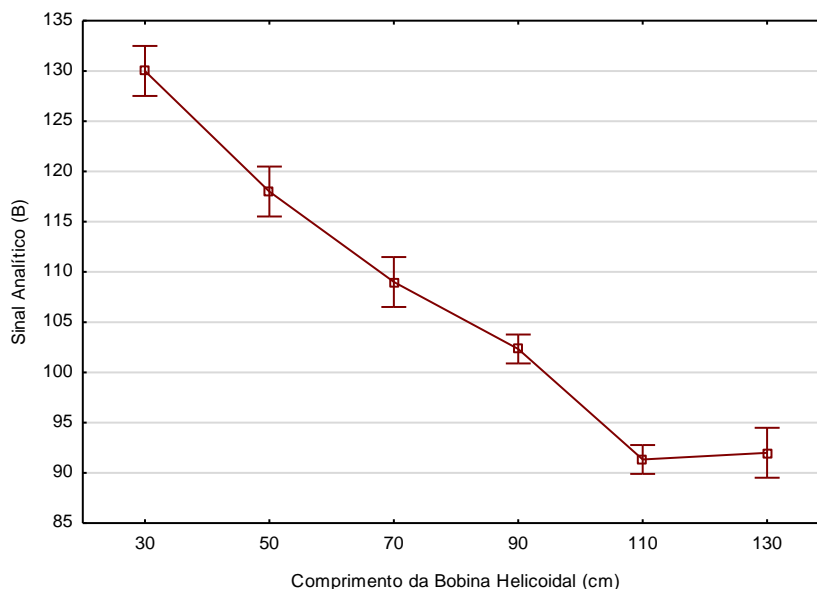


Figura 41- Estudo do comprimento da bobina helicoidal sobre o sinal analítico. Concentração de amostra de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , concentração de ácido fosfórico  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , concentração de orto-toluidina  $3 \times 10^{-2} \text{ mmol L}^{-1}$ , alça de amostragem  $200 \text{ }\mu\text{L}$ , vazão da solução carregadora e da orto-toluidina  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ .

A Tabela 12 mostra os parâmetros químicos e físicos avaliados e selecionados para determinação de cloro residual em água potável, utilizando o sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA.

Tabela 12- Parâmetros físicos e químicos avaliados na otimização (orto-toluidina).

Parâmetros	Fatores estudados	Fatores selecionados
Solução carregadora	ácido fosfórico ácido acético	Ácido Fosfórico
Concentração da solução carregadora ( $\text{mol L}^{-1}$ )	0,1 a 2,0	1,0
Concentração de orto-toluidina ( $\text{mmol L}^{-1}$ )	$3 \times 10^{-3}$ a 0,3	$3 \times 10^{-2}$
Alça de Amostragem ( $\mu\text{L}$ )	50 a 250	200
Vazão das soluções carregadora ( $\text{mL min}^{-1}$ )	0,25 a 2,0	0,5
Comprimento da bobina helicoidal (cm)	30 a 110	110

### 5.2.2. Estudo da precisão dos sinais analíticos e frequência de amostragem

Estudou-se a precisão dos sinais analíticos do procedimento desenvolvido, empregando a concentração de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  de solução padrão de cloro livre residual, obtendo-se o desvio padrão relativo de 0,69%. A frequência de amostragem para o procedimento em fluxo desenvolvido foi de 25 determinações em 1 hora (Figura 42).

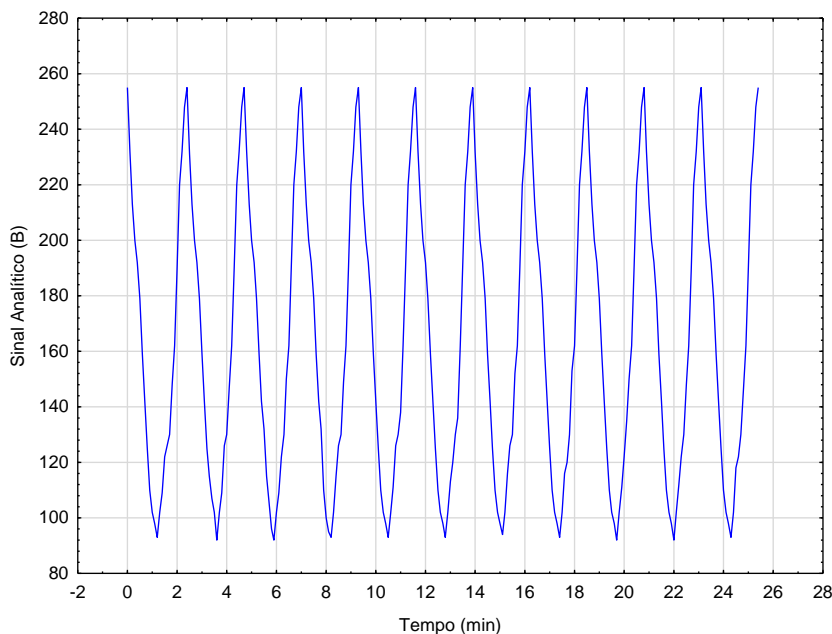


Figura 42- Estudo da precisão para soluções de referência de cloro livre residual  $2 \text{ mg L}^{-1}$  empregando o reagente orto-toluidina.

### 5.2.3. Estudo dos interferentes em potencial.

Após a otimização, foram estudados alguns possíveis interferentes que poderiam ocasionar erros na determinação de cloro residual em água potável.

As substâncias avaliadas foram íons de cálcio, magnésio, ferro, sulfato e sódio. A cor verdadeira e os sólidos suspensos também foram analisados. A Tabela 13 mostra o percentual de interferência de cada componente analisado para o método orto-toluidina.

O estudo foi realizado adicionando concentrações de cada possível interferente em uma solução de referência e o sinal obtido foi comparado com o sinal obtido de uma solução de referência sem adição do interferente.

Como pode ser observado na Tabela 13 a cor verdadeira e os sólidos suspensos causaram 100% de interferência na determinação de cloro livre nas condições de 1:1 e 10:1. Observa-se que a interferência persiste mesmo quando a quantidade de interferentes é cinquenta vezes menor que o analito. Fica comprovado a impossibilidade de analisar cloro livre residual em amostra que haja presença de cor verdadeira e sólidos suspensos. Contudo a prática de dosar cloro em água potável normalmente é realizada após o seu tratamento, nesse caso a água não possui cor e sólidos suspensos, o que torna a metodologia possível de ser aplicada.

Tabela 13- Percentual de interferência de alguns compostos usando o sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA.

Possíveis interferentes	Interferência % - 1:1	Interferência % - 10:1	Interferência% 1:50
Ca <sup>2+</sup>	0,2	0,22	-
Mg <sup>2+</sup>	0,12	0,13	-
Fe <sup>3+</sup>	0,70	1,56	-
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,12	0,12	-
Na <sup>+</sup>	1,3	1,55	-
Cor	100	100	6,2
Sólidos suspensos	100	100	13

#### 5.2.4. Validação dos Resultados

A concentração de cloro livre residual definida por órgãos ambientais varia de 0,2 mg L<sup>-1</sup> a 2 mg L<sup>-1</sup> e esse valor é independente do modo de determinação utilizado, isso implica que instrumentos para determinação do analito tenham capacidade realizar essas medições; diante dessa afirmação a faixa de trabalho proposta foi de 0,1 a 2,5 mg L<sup>-1</sup> esse valor foi escolhido para contemplar toda a faixa requerida e possibilitar a análise de pontos fora da especificação. A Figura 43 mostra que a curva de calibração para análise com reagente cromóforo orto-toluidina obteve uma correlação de 0,9910, o que reflete a boa concordância entre as concentrações e sinais observados. Foi realizado um teste para definir qual maior concentração de cloro residual livre pode ser analisada nessa condição, o resultado foi de 3,4 mg L<sup>-1</sup>, nessa concentração o sinal analítico em B atinge o valor de 0, até essa concentração a curva respondeu linearmente.

Os valores de LD e LQ foram calculados pelo método da relação sinal ruído e obteve-se as respostas de 0,026 e 0,089 mg L<sup>-1</sup> respectivamente para 95% de confiabilidade. O que demonstra efetivas respostas de linearidade, seletividade e comprovam a homogeneidade da variância com *p*-valor < 0,05. A Figura 44 mostra a probabilidade normal dos resíduos, estes foram normalmente distribuídos com média nula e variação constante. A Equação 8 é a equação da reta referente a curva de calibração.

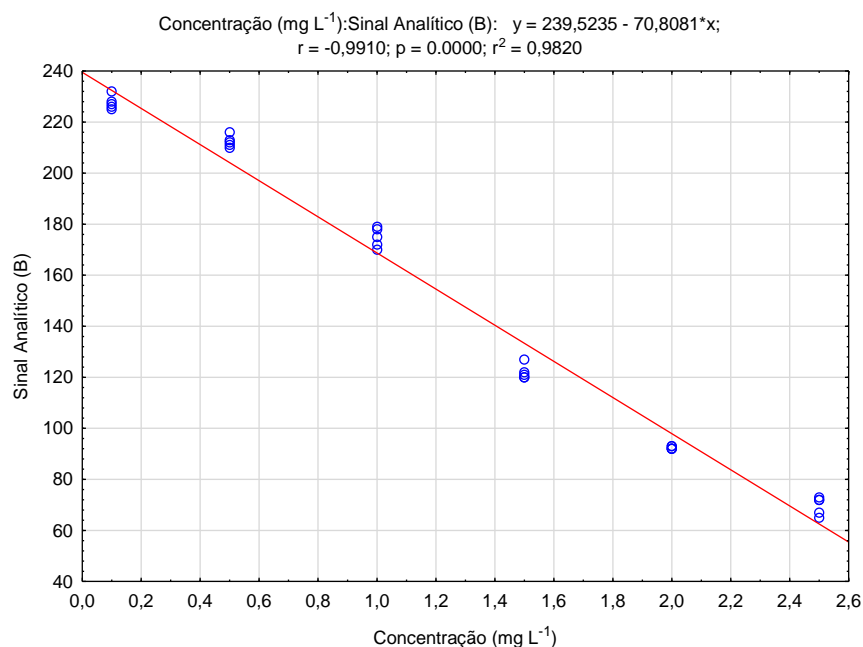


Figura 43- Curva analítica para determinação de cloro livre residual com agente cromóforo orto-toluidina, faixa de trabalho 0,1 a 2,5 mg L<sup>-1</sup>.

$$y = 239,5235 - 70,8081x$$

Equação 8

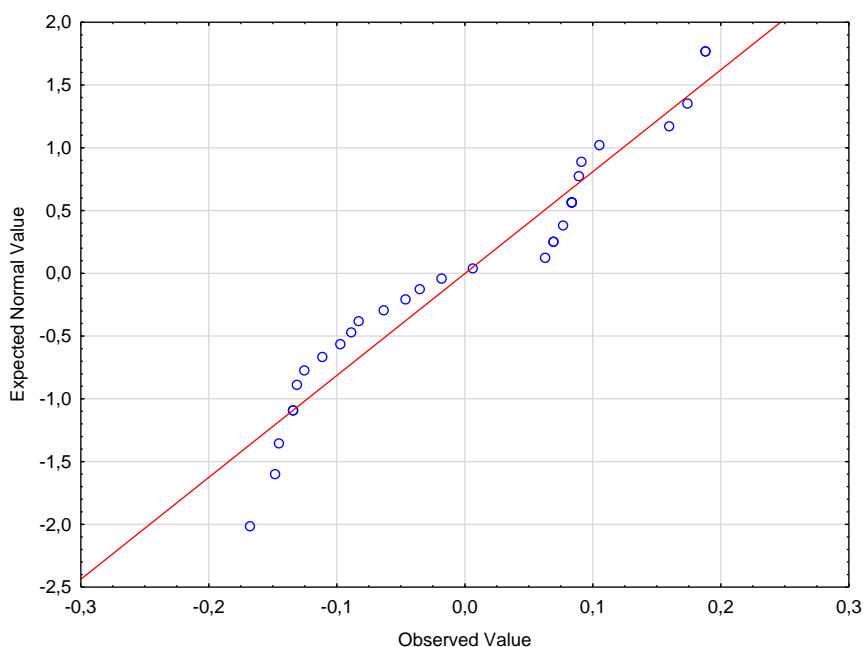


Figura 44- Probabilidade normal dos resíduos

A Figura 45 mostra a análise gráfica dos resíduos, e confirmou a adequação do ajuste linear da curva de calibração, onde ocorrem erros aleatórios. Os resíduos apresentam a parcela da variabilidade dos dados que não foi explicada pelo ajuste, e são interpretados com uma estimativa do erro do modelo.

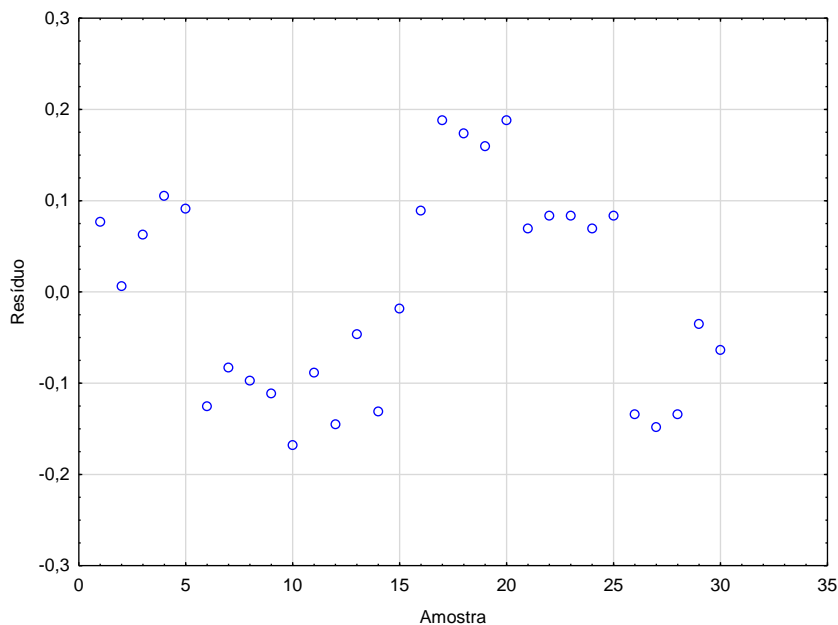


Figura 45- Resíduos com homocedastidade e normalmente distribuídos.

Os sinais transientes obtidos em triplicata das soluções de referências de cloro livre residual e triplicata de amostras de água potável estão apresentadas na Figura 46.

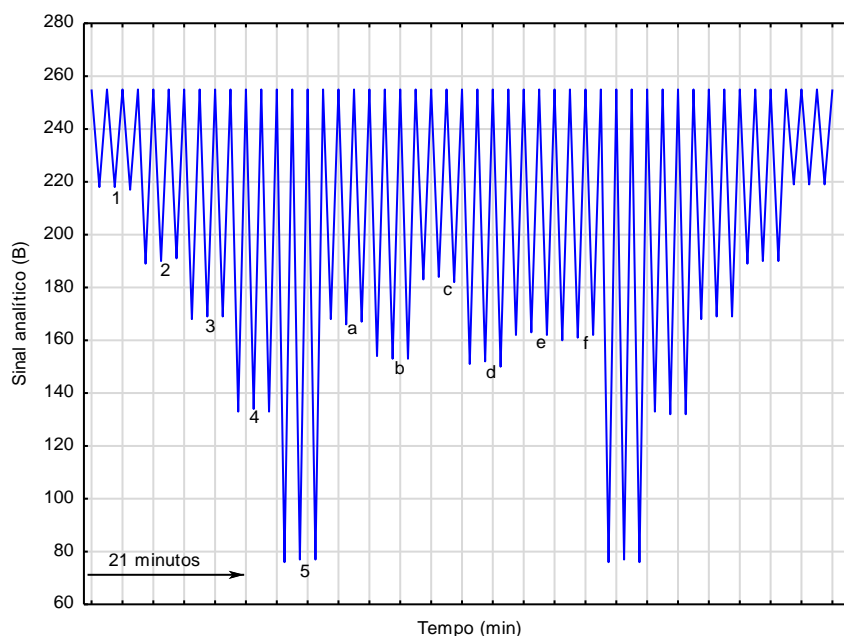


Figura 46- Sinais transientes obtidos em triplicata das soluções de referência de cloro livre residual nas concentrações de (1) 0,6, (2) 0,8, (3) 1,0, (4) 1,5 e (5) 2,5  $\text{mg L}^{-1}$  e de 6 amostras A, B, C, D, E e F seguido das soluções de referência novamente em concentrações decrescentes.

Os parâmetros exatidão e precisão foram estimados em quatro níveis de concentração, em cada nível de concentração realizou-se cinco repetições das análises (Tabela 14).

A exatidão foi estimada pela razão da diferença entre as concentrações calculadas e reais. Esse resultado apresentou resultados satisfatórios pois nenhum deles apresentou valores maiores que 3%.

A precisão foi estimada como repetibilidade e precisão intermediária. Para essa última, as medidas foram feitas uma semana após a primeira, pelo mesmo analista, com o mesmo instrumento de medição.

Tabela 14-Estimativa de Exatidão e Precisão empregando o sistema FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA.

Concentração Real (mg/L)	Indicação em B	Concentração calculada (mg/L)	Exatidão	Precisão Intermediária (mg/L)
0,75	186	0,756	0,79%	0,770
	185	0,770	2,67%	0,728
	186	0,756	0,79%	0,756
	185	0,770	2,67%	0,756
	185	0,770	2,67%	0,742
Média		0,764		0,750
DPR		1,012		2,146
1,25	150	1,264	1,14%	1,236
	152	1,236	-1,11%	1,222
	151	1,250	0,02%	1,194
	150	1,264	1,14%	1,236
	151	1,250	0,02%	1,236
Média		1,253		1,225
DPR		0,943		1,503
1,75	115	1,759	0,49%	1,744
	115	1,759	0,49%	1,773
	116	1,744	-0,32%	1,773
	114	1,773	1,30%	1,744
	114	1,773	1,30%	1,759
Média		1,761		1,759
DPR		0,671		0,803
2,25	80	2,253	0,13%	2,239
	81	2,239	-0,50%	2,267
	81	2,239	-0,50%	2,267
	81	2,239	-0,50%	2,253
	80	2,253	0,13%	2,253
Média		2,244		2,256
DPR		0,345		0,524

DPR - desvio padrão relativo, repetibilidade.

### 5.3. Aplicações

Os métodos propostos foram aplicados na determinação de cloro livre residual em amostras de água potável e os resultados foram comparados com os resultados obtidos pelo método descrito no APHA 2017.

As Tabelas 15 e 16 mostram os resultados obtidos para a determinação de cloro em água potável, empregando os métodos oficiais e os métodos propostos FIA-LTCC-DPD e FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA

É válido ressaltar que o método titulométrico (iodométrico) não é indicado para determinação de cloro total menor que  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  (SOARES *et al.* 2016), porém para quesito de comparação ele foi utilizado e apresentou resultados satisfatórios e estatisticamente iguais aos métodos colorimétrico e aos métodos propostos.

Tabela 15- Comparação entre as metodologias empregadas para a determinação de cloro residual livre e o método FIA-LTCC-DPD

Amostra	Método Titulométrico Oficial	Método Colorimétrico Kit DPD Oficial	Método Proposto FIA- LTCC-DPD	ER <sub>1</sub> (%)	ER <sub>2</sub> (%)
A	0,80 ± 0,05	0,81 ± 0,09	0,77 ± 0,05	-3,9	-5,2
B	0,31 ± 0,05	0,3 ± 0,05	0,31 ± 0,01	0,0	3,2
C	0,77 ± 0,05	0,75 ± 0,09	0,76 ± 0,03	-1,3	1,3
D	0,31 ± 0,05	0,33 ± 0,09	0,32 ± 0,02	3,1	-3,1
E	0,72 ± 0,05	0,73 ± 0,09	0,75 ± 0,05	4,0	2,7
F	0,29 ± 0,05	0,30 ± 0,09	0,31 ± 0,01	6,5	3,2

ER<sub>1</sub> (%) - erro relativo entre o método FIA-LTCC-DPD e o método oficial

ER<sub>2</sub> (%) - erro relativo entre o método proposto e o método colorimétrico Kit DPD

Número de repetições= 3.

Tabela 16- Comparação entre as metodologias empregadas para a determinação de cloro residual livre e o método FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA

Amostra	Método Titulométrico Oficial	Método Colorimétrico Kit DPD Oficial	Método Proposto FIA-LTCC- orto-toluidina	ER <sub>1</sub> (%)	ER <sub>2</sub> (%)
A	0,80 ± 0,05	0,81 ± 0,09	0,78 ± 0,01	-2,6	-3,8
B	0,31 ± 0,05	0,3 ± 0,05	0,30 ± 0,05	-3,3	0,0
C	0,77 ± 0,05	0,75 ± 0,09	0,78 ± 0,01	1,3	3,8
D	0,31 ± 0,05	0,33 ± 0,09	0,30 ± 0,02	-3,3	-10,0
E	0,72 ± 0,05	0,73 ± 0,09	0,75 ± 0,05	4,0	2,7
F	0,29 ± 0,05	0,30 ± 0,09	0,30 ± 0,01	3,3	0,0

ER<sub>1</sub> (%) - erro relativo entre o método FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA e o método oficial

ER<sub>2</sub> (%) - erro relativo entre o método proposto e o método colorimétrico Kit DPD

Número de repetições= 3

Observou-se que os métodos propostos, FIA-LTCC-DPD e FIA-LTCC-ORTO-TOLUIDINA apresentaram resultados semelhantes aos dois métodos oficiais, com um nível de confiança de 95% e um erro relativo baixo. Os métodos propostos apresentaram uma maior frequência de amostragem e uma geração de aproximadamente 2 mL de resíduos que é 5 vezes menor quando comparado aos métodos DPD colorimétrico e 25 vezes menor comparado ao titulométrico (iodométrico), isso é relevante pois o método orto-toluidina utiliza reagente de alta toxicidade e quanto menor for a concentração e o volume utilizado menor será o impacto ambiental causado pelo efluente gerado.

A Tabela 17 apresenta alguns parâmetros obtidos pelos métodos propostos e por outros métodos relatados na literatura para determinação de cloro livre residual em água potável.

Tabela 17- Tabela comparativa de métodos desenvolvidos para determinação de cloro residual livre em água potável.

<b>Figura de mérito</b>	<b>Icardo <i>et al.</i></b>	<b>March <i>et al.</i></b>	<b>Pobozi <i>et al.</i></b>	<b>Salami</b>	<b>FIA-LTCC DPD</b>	<b>FIA-LTCC-orto-toluidina</b>
Linearidade (mg L <sup>-1</sup> )	0,05 a 1,3	0 a 5	0,1 a 1	0,1 a 1,5	0,1 a 2,5	0,1 a 2,5
LD (mg L <sup>-1</sup> )	0,05	0,06	0,3	0,007	0,023	0,026
FA (det h <sup>-1</sup> ) (mg L <sup>-1</sup> )	38	11	50	45	27	25
DPR %	1,5	-	1,2	1,0	1,0	0,9

FA – Frequência de Amostragem

det h-1 - Determinação por hora

DPR- desvio padrão relativo

De acordo com os dados, as metodologias que atendem toda faixa de concentração de cloro livre residual monitorada pelo órgão ambiental (0,2 a 2 mg/L) foram os métodos propostos neste trabalho e o desenvolvido por March *et al.* Ainda que March *et al.*, tenha desenvolvido um método que contempla maiores concentrações sua frequência de amostragem é menor do que aos métodos propostos neste trabalho e o limite de detecção é maior.

O método proposto FIA-LTCC-DPD é o único que utiliza o reagente cromóforo N,N-dietil-p-fenilendiamina, que atualmente é o reagente mais utilizado pela facilidade de manuseio e baixa toxicidade (SALAMI, 2009).

Para a execução do método proposto, FIA-LTCC-orto-toluidina, utilizou-se um volume de 20 µL de reagente orto-toluidina ( $3 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) por análise, enquanto

Salami utilizou 30  $\mu\text{L}$  de reagente ( $3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) por análise e na metodologia de March *et al.* foi empregado um volume de 50  $\mu\text{L}$  ( $6,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ).

Para aquisição nos métodos desenvolvidos foi utilizado um aplicativo livre instalado em um *smartphone* que é acessível e requer pouca especialização do analista enquanto que os para todos os trabalhos desenvolvidos o detector utilizado foi um espectrofotômetro.

Por fim, um outro fator que vale destacar é que todos os resíduos gerados durante os experimentos foram enviados para a estação de tratamento de efluente da empresa de beneficiamento de celulose supracitada, seguindo, dessa forma, a contento, os preceitos da química verde.

## 6. CONCLUSÃO

Os dois métodos atenderam e confirmaram a linearidade da faixa de trabalho com correlação de 0,9953 para DPD e 0,9910 para orto-toluidina. Os testes de homogeneidade foram atendidos e possui 95% de confiança.

Os resultados de sensibilidade para os métodos mostraram que para a faixa de trabalho estudada o método é satisfatório.

A validação das metodologias foi satisfatória para demonstrar que o sistema de análise em fluxo utilizando um microdispositivo construído com LTCC é uma poderosa ferramenta para o monitoramento do cloro livre residual em estações de tratamento de água, pois possibilita um maior número de resultados confiáveis para tomadas de decisões importantes para o processo.

Ademais a metodologia também é um recurso viável para implantação no meio industrial, principalmente para pequenas empresas, uma vez que os aparatos para a confecção do instrumento têm um preço acessível e possibilita análise em amostras diversificadas. O principal requisito para a utilização de um sistema FIA-LTCC-SMARTPHONE com detecção pelo aplicativo que faz leitura em RGB é que o produto das reações químicas apresente coloração.

O uso de um sistema FIA-LTCC-SMARTPHONE é um trabalho inovador, pois não há nenhum estudo relatado na literatura, até o momento, propondo este tipo de metodologia para a determinação de qualquer tipo de analito.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERT-GARCÍA, J. R.; ICARDO, M. C.; MARTINES CALATAYUD, J. "Analytical strategy photodegradation/ chemiluminescence/ contínuos-flow multicommutation methodology for determination of the herbicide Propanil" *Talanta*, v. 69, p. 608, 2006.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION - AWWA; WATER ENVIRONMENT FEDERATION - WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 23st. Washington: American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation, 2017.

AMORIM, J. A. Microdispositivo compacto construído com cerâmicas verdes para a determinação de ferro em matrizes aliimentícias e farmacêuticas empregando imagem digital e análise em fluxo. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2020.

AZZI D. C.; OLIVEIRA G. G.; JANEGITZ B. C.; BONIFÁCIO V. G.; FILHO O. F.; JUNIOR L. M. Determinação de rutina em formulações farmacêuticas utilizando um sistema de análise por injeção em fluxo envolvendo multicomutação. *Eclética Quím. J.*, v. 41, p. 32-42, 2016.

BACCAN, N.; ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S.; BARONE, J. S.; *Química Analítica Quantitativa Elementar*. Ed. Edgard Blücher Ltda, 3a. ed., 1998, p. 154-190.

BASTOS, J. S. Desenvolvimento de Sistemas de Análise por Injeção em Fluxo para a Determinação de Peróxido de Hidrogênio e Cetoconazol. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, Programa De Pós-Graduação em Química. 2016.

BAZZOLI, N. O Uso da Desinfecção no Combate à Cólera. Apostila da Fundação Nacional de Saúde – Coordenação Regional de Minas Gerais. Recife: FNS/Opas. (Mimeo.), 1993.

BELCHER, R.; NUTTERN, A. J.; SAMBROOK, C, M. The determination of glucosamine. *Analyst*. v. 79: p.201-208, 1954.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria MS nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. Norma de qualidade da água para consumo humano. Brasília, 2011.

BRESSOLLE, F.; BROMET-PETIT, M.; AUDRAN, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods: applications to pharmacokinetics. *J. Chromatogr. B*, v.686, p.3-10, 1996.

BRITO, N. M. Resíduos de pesticidas organoclorados (OC) e organofosforados (OF) em matriz de coco: metodologia e aplicação. Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade Estadual Paulista. São Paulo, 2001.

BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M., L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*. V. 13, 2003.

CARDOSO, T. M.; GARCIA, P. T.; COLTRO, W. K. Colorimetric determination of nitrite in clinical, food and environmental samples using microfluidic devices stamped in paper platforms. *Anal. Methods*, v. 7, 7311–7317, 2015.

CARLSSON, K.; MOBERG, L.; KARLBERG, B. The miniaturisation of the standard method based on the N,N'-diethyl-p-phenylenediamine (DPD) reagent for the determination of free or combined chlorine, *Water Res.*, v.33, p. 375, 1999.

CARRILHO, E.; MIRANDA, C. E. S. M.; GERVASIO, A. P.; GINÉ, M. F. "Sistemas interfaceados de análise por injeção em fluxo e eletroforese capilar (FIA-CE): desafios, aplicações e perspectivas" *Quim. Nova*, v. 25, p. 412, 2002.

CHOI, C.-H.; LEE, H.-Y.; LEE, H.-K. Estimation of color modification in digital images by CFA pattern change. *Forensic Sci. Int.*, v. 226, n. 1, p. 94-105, 2013.

COLTRO, W.K.T.; PICCIN, E.; CARRILHO, E.; DE JESUS, D.P.; FRACASSI DA SILVA, J.A.; TORRES DA SILVA, H.D.; DO LAGO, C.L., "Micro chemical analysis

systems. Introduction, fabrication technologies, instrumentation and applications". Quim. Nova. 30(8): 1986, 2007.

CORRÊA G. L. P. Desenvolvimento e avaliação de um protótipo de colorímetro por imagens digitais. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas e Processos Industriais -Mestrado, Universidade de Santa Cruz do Sul – NISC. 2015

DAMASCENO, D.; TOLEDO, T. G.; SILVA, C. P.; OLIVEIRA, S. B.; OLIVEIRA, A. E. Análise multivariada de imagens na química: um experimento para determinação do pH de águas potáveis. Quím. Nova, v. 38, p. 836-841, 2015.

DANIEL, L. A. (Coord.). Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável. São Carlos: Programa de Pesquisa em Saneamento Básico– PROSAB, 2001.

DANZER, K.; CURRIE, L. A.; Guidelines for Calibration in Analytical Chemistry, Pure Appl. Chem, 1998, 70, 993.

FÁVERO, L. P. Análise de dados: modelagem multivariada para tomada de decisões. Rio de Janeiro, Elsevier, 2009.

FIELD, A. Descobrendo a estatística usando o SPSS. Porto Alegre: Artmed, 2009.

FRANCO, M. O. K.; SUAREZ, W. T.; MAIA, M. V.; SANTOS, V. B. Smartphone Application for Methanol Determination in Sugar Cane Spirits Employing Digital Image-Based Method. Food Anal. Methods, v. 10, p. 2102–2109, 2017.

FUNK, W.; DAMMANN, V.; VONDERHEID, C.; OEHLMANN, G., eds.; Statistische Methoden in der Wasseranalytik. 1985.

GAIÃO, E. N.; MARTINS, V. L.; LYRA, W. S.; ALMEIDA, L. F.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U. Digital image-based titrations. Anal. Chim. Acta., v. 570, p. 283-290, 2006.

GOMES, M.S.; TREVIZAN, L. C.; NÓBREGA, J. A.; KAMOGAWA, M. Y. Uso de scanner em espectrofotometria de absorção molecular: aplicação em experimento

didático enfocando a determinação de ácido ascórbico. *Quím. Nova*, v. 31, n. 6, p. 1577-1581, 2008.

GONGORA-RUBIO, M. R. Overview of low temperature co-fired ceramics tape technology for meso-system technology (MsST). *Sensor. Actuat. A-Phys.*, v. 89, p. 222-241, 2001.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. *Processamento digital de imagens*. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, p. 624, 2010.

HAIR, JÚNIOR J. F.; Black, W. C.; Babin, B. J. *Análise multivariada de dados*. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005

HUBER, L. Validation of analytical methods: review and strategy. *LC GC Eur.*, Feb 1998, p. 96-105.

HUBERT, P. *et al.* The SFSTP guide on the validation of chromatographic methods for drug bioanalysis: from the Washington Conference to the laboratory. *Anal. Chim.* 1999.

ICARDO, M. C.; MATEO, J. V. G.; CATALAYUD, J.M. Selective chlorine determination by gás diffusion in a tandem flow assembly and spectrophotometric detection with *o*-dianisidine. *Anal. Chim. Acta*, v. 443, p. 153, 2001.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (Brasil). DOQ-CGCRE- 008- Rev. 05- do INMETRO– Orientação sobre validação de métodos analíticos – agosto/2016.

IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry. *Pure Appl. Chem.*, v. 69, p. 1317, 1997.

JOHNSON, J. D.; OBERBY, R.; Stabilized Neutral Orthotolidine, SNORT. Colorimetric Method for Chlorine. *Anal. Chem.*, v. 41, p. 1744-1750, 1969.

JUNGREIS, E.; Spot Test Analysis- Clinical, Environmental, Forensic and Geochemical. Application. p.167, 1984.

KRONKA, E. A. M.; PAIM, A. P. S.; TUMANG, C. A.; LATANZE, R.; REIS, B. F. Multicommutated flow system for spectrophotometric L(+) lactate determination in alcoholic fermented sugar cane juice using enzymatic reaction. *J. Braz. Chem. Soc.* v.16, p. 46, 2005.

KRUG, F. J.; BERGAMIN, F. H.; ZAGATTO, E. A.G., Commutation in flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta.*, v.179, p. 103-118, 1986.

LAPA, R. A. S.; LIMA, J. L. F. C.; SANTOS, J. L. M. Dual-stopped-flow spectrophotometric determination of amiloride hydrochloride in a multicommutated flow system. *Anal. Chim. Acta.* v. 407, p. 225, 2000.

LEGGETT, J.; CHEN, N. H.; MAHADEVAPPA, D. S. Rapid determination of residual chlorine by flow injection analysis. *Analyst.* 107: 433, 1982.

LIMA, M. B.; ANDRADE, S. I. E.; BARRETO, I. S.; ALMEIDA, L. F.; ARAÚJO, M. C. U. A digital image-based micro-flow-batch analyzer. *Microchem. J.*, v. 106, p. 238-243, 2014

LINS, E. S. Desenvolvimento de um Sistema de Análise por Injeção em Fluxo com Fotoderivatização para Determinação de NNG em Glifosato. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, Instituto de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. 2013.

LÓPEZ, O.N.B.; FUENTES, H.C.; PEREZGASGA, F.V.; CASILLAS, H.A.M.; CHAMARRO, J.A. Detection and analysis of cobalt in continuous flow using an analytical microsystem based on LTCC technology. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, v. 227, p. 11-16, 2016.

MANZ, A.; GRABER, N.; WIDMER, H. M.; Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing. *Sens. Actuator B-Chem.*, v. 1, p. 244-248. 1990.

MARCH J. G.; GUAL, M.; SIMONET, B. M. Determination of residual chlorine in greywater using o-tolidine. *Talanta*, v. 58, p. 995, 2002.

MAROTO, A.; RIU, J.; BOQUÉ, R.; RIUS, F. X. Estimating uncertainties of analytical results using informations from the validation process. *Anal. Chim. Acta.*, v. 391, p. 173-185, 1999.

MICHAELIS, L.; CHUBERT, M. P.; GRANICK, S. The free radicals of type of wurster's salts, *J. Am. Chem. Soc.*, v. 61, p. 1981, 1939

MOLISANI, A. L. Processamento, propriedades e aplicações das cerâmicas de nitreto de alumínio. *Cerâmica*. vol.63, n.368, p.455-469, 2017.

MONEMI, N.; RAMANATHAN, K.; LARSSON, P. O.; DANIELSSON, B.; BENGMARK, S.; KHAYYAMI, M. CCD-camera based capillary chemiluminescent detection of retinol binding protein. *Anal. Chim. Acta*, v. 387, n. 1, p. 21-27, 1999.

MOREIRA B. B. S., Takeuchia R. M., Richter E. M., Santosa A. L. Desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo utilizando materiais alternativos de baixo custo para fins didáticos. *Quim. Nova*, Vol. 37, No. 9, 1566-1572, 2014.

MOURA, H. S. R. P.; MOL, A. R.; SAMPAIO, T. R.; FONSECA, A. Image-based luminescence detection for quantitative determinations in continuous flow analysis Microsystems. *Anal. Methods.*, v. 10, p. 5571-5576, 2018.

NERI, T. S. Estratégias de microextração em fases sólida e líquida para determinação de cobre e cromo em água empregando técnicas eletroanalíticas e espectrométricas. Tese de doutorado Universidade Federal De Uberlândia, Programa De Pós-Graduação Em Química, Instituto De Química. 2018.

NETO, O. D. P. Desenvolvimento de analisadores automáticos em fluxo para o monitoramento de analitos de interesse farmacêutico utilizando microdispositivo LTCC e um minifotômetro Labmade. Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos. São Carlos. 2011.

ORFANIDIS, S.; PANAYOTIDIS, P. STAMATIS, N. Ecological evaluation of transitional and coastal waters: a marine benthic macrophytes-based model. *Mediterr. Mar. Sci.*, v. 2, n. 2, 2001.

PALIN, A. T. The determination of free and chloramine in water by the use of diethyl-p-phenylene diamine”, J. Amer Water Works Assoc., v. 49, p. 873, 1957.

PIRES, C. K.; MARTELLI, P. B.; REIS, B. F.; LIMA, J. L. F. C.; SARAIVA, M. L. M. F. S. Multicommutated flow system for the determination of glucose in animal blood serum exploiting enzymatic reaction and chemiluminescence detection. J. Autom. Meth. Management Chem., v. 25, p. 109, 2003.

POBOZY, E.; PYRZYNSKA, K.; SZOSTEK, B.; TROJANOWICZ, M. Flowinjection spectrophotometric determination of free residual chlorine in water with 3,3'-dimethylnaphthidine. Microchem. J., v. 51, p. 379, 1995.

REIS, B. F.; BERGAMIN, F. H.; ZAGATTO, E. A. G.; KRUG, F. J. Merging zones in flow injection analysis: Part 3. Spectrophotometric determination of aluminium in plant and soil materials with sequential addition of pulsed reagents. Anal. Chim. Acta, v. 107, p. 309, 1979

REIS, B. F.; GINÉ, M. F.; KRONKA, E. A. M. A análise por injeção em fluxo contínuo. Quim. Nova, v.12, p. 82-91, 1989.

REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G.; JACINTHO, A. O.; KRUG, F. J. & BERGAMIN, F. Merging zones in flow injection analysis: Part 4. Simultaneous spectrophotometric determination of total nitrogen and phosphorus in plant material. Anal. Chim. Acta, v. 119, p. 305-311, 1980.

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA L. R.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. Quím. Nova. v. 31, n. 1, p. 164-171, jan. 2008.

ROCHA, F. R. P.; REIS, B. F.; ROHWEDDER, J. J. R. Flow-injection spectrophotometric multidetermination of metallic ions with a single reagent exploiting multicommutation and multidetection. Fresenius J. Anal. Chem., v. 370, p. 22, 2001.

RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. Flow injection analysis: Part VI. The determination of phosphate and chloride in blood serum by dialysis and sample dilution. *Anal. Chim. Acta*, v 87, No. 2, p. 353-363, 1976.

SALAMI, F. H.; BONIFÁCIO, V. G.; FATIBELLO-FILHO, O.; MARCOLINO-JR, L. H. Determinação espectrofotométrica em fluxo de cloro em água usando célula de longo caminho óptico e multicomutação. *Quím. Nova* v.32 n.1, 2009.

SANTOS, V.B.; SILVA, E.K.N.; OLIVEIRA, L.M.A.; SUAREZ, W.T. Low cost in situ digital image method, based on spot testing and *smartphone* images, for determination of ascorbic acid in Brazilian Amazon native and exotic fruits. *Food Chem.*, v. 285, p. 340-346, 2019.

SILVA, R. C.; VIEIRA, H. J.; CANAES, L. S.; NÓBREGA, J. A. & FATIBELLOFILHO, O. Flow injection spectrophotometric method for chloride determination in natural waters using  $Hg(SCN)_2$  immobilized in epoxy resin. *Talanta*, v. 65, p. 965-970, 2005.

SILVA A. S.; PEZZA L.; PEZZA H. R. Determinação espectrofotométrica por injeção em fluxo de glifosato em formulações comerciais de herbicidas. *Quim. Nova*, v. 35, p. 114-118, 2012

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; CROUCH, S. R. *Fundamentos de Química Analítica*. 8ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

SMIDERLE, M.; REIS, B. F.; ROCHA, F. R. P. Monosegmented flow system exploiting multicommutation applied to spectrophotometric determination of manganese in soybean digests. *Anal. Chim. Acta*, v. 386, p. 129, 1999.

SOARES S. S., ARRUDA P. N., LOBÓN G. S.; SCALIZE P. S. Avaliação de métodos para determinação de cloro residual livre em águas de abastecimento público. *Semana: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina*, v. 37, n. 1, p. 119-130. 2016.

SUAREZ, W. T. Development of flow procedures involving solid-phase reactor and analytical microsystem constructed with ltcc (low temperature co-fired ceramics) to determination of analytes of pharmaceutical interest. 162 f. Tese (Doutorado em

Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

TERRY, S.C.; JERMAN, J.H. & ANGELL, J.B., Gas-Chromatographic Air Analyzer Fabricated on a Silicon-Wafer. *Ieee T Electron Dev.*, v.26, n. 12, p. 1880, 1979.

VALDERRAMA, P.; BRAGA J. W. B.; POPPI, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. *Quim. Nova*, v. 32, No. 5, p. 1278-1287, 2009.

VENTURA-GAYETE, J. F.; ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; MORALES-RUBIO, A.; GUARDIA, M. L. Multicommutation–NIR determinatin of Hexythiazox in pesticide formulations. *Talanta*. v. 68, p. 1700, 2006.

WALSH, M. C. Moving from official to traceable methods. *Trac-Trend Anal Chem*, v.18, p.616-623, 1999.

WANG, F.; ZHANG, W.; CHEN, X.; MAO, H. Synthesis and characterization of low CTE value  $\text{La}_2\text{O}_3\text{-B}_2\text{O}_3\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  glass/cordierite composites for LTCC application. *Ceram. Int.*, v. 45, p. 7203-7209, 2019.

WEBER J. G. Técnicas de clusterização baseadas em características de cor para a consulta em bancos de dados de imagens. Dissertação de mestrado em Informática, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 2009.

ZAGATTO, E. A. G.; OLIVEIRA, C. C.; COLLINS, C. H. Classificação e definição dos métodos de análises em fluxo (recomendações - IUPAC 1994). *Quim. Nova*, v. 22, n .1, p.143-146, 1999.