

CAMILA JERÔNIMO FERRAZ

**MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO EM ÁGUAS
UTILIZANDO COMPLEXO Mn^{III} -EDTA**

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: Antônio Augusto Neves

Coorientadores: André Fernando de Oliveira
Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

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

T

F381m
2020

Ferraz, Camila Jerônimo, 1991-

Método para determinação de oxigênio dissolvido em águas utilizando complexo Mn(III)-EDTA / Camila Jerônimo Ferraz. – Viçosa, MG, 2020.

78 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Antônio Augusto Neves.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 76-78.

1. Água - Oxigênio dissolvido. 2. Água - Análise.
3. Espectrofotometria. 4. Imagens digitais. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de
Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 543.55

CAMILA JERÔNIMO FERRAZ

**MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO EM ÁGUAS
UTILIZANDO COMPLEXO Mn^{III} -EDTA**

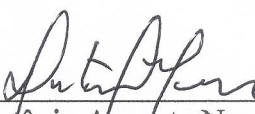
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 12 de março de 2020

Assentimento:



Camila Jerônimo Ferraz
Autora



Antônio Augusto Neves
Orientador

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor Antônio Augusto por estar sempre disposto a contribuir para o crescimento de seus alunos, sua generosidade tornou possível essa caminhada.

Aos meus coorientadores, professor André Fernando, pelos anos de orientação compartilhando sua experiência e conhecimento com muito respeito e paciência, e a professora Maria Eliana, pelos ensinamentos e sugestões.

Ao Kaíque pelo apoio e colaboração nos percalços da metodologia proposta.

Aos companheiros de laboratório, pela convivência, amizade e auxílio.

Aos membros da banca examinadora, Deusanilde Silva e Luiz Manoel Silva de Noronha, pela avaliação e enriquecimento a dissertação.

Em especial aos meus amados pais, Sr. Eduardo e Sra. Erci, pelo esforço, empenho, ensinamento, apoio incondicional e incentivo em tudo o que faço, a minha irmã e sobrinhos que me apoiaram e incentivaram.

A todos que de uma maneira ou de outra, possam ter contribuído para a execução desse trabalho.

Ao Departamento de Química e à Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade e infraestrutura necessária a realização do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

FERRAZ, Camila Jerônimo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2020. **Método para determinação de oxigênio dissolvido em água utilizando complexo Mn^{III}-EDTA.** Orientador: Antônio Augusto Neves. Coorientadores: André Fernando de Oliveira e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método para análise de oxigênio dissolvido em água a partir da formação do complexo Mn^{III}-EDTA por meio da oxidação de Mn (II) pelo oxigênio presente em solução. O oxigênio dissolvido é considerado um dos constituintes mais relevantes dos recursos hídricos, por estar diretamente relacionado à gama de organismos capazes de sobreviver (aeróbios e anaeróbios). As principais formas de medir a concentração de oxigênio em solução são os métodos amperométricos, uso de sensores ópticos baseados em fluorescência e o iodométrico. Embora existam diferentes dispositivos para cada uma dessas técnicas, seu uso depende das características do ambiente em que serão utilizados. Nesses métodos as condições devem ser otimizadas e a calibração realizada, com exceção do iodométrico. Este apesar de ser considerado padrão em análises de oxigênio é um método que exige acurácia do analista, além de utilizar grandes volumes de amostra e reagentes concentrados. Desta forma, o desenvolvimento de alternativas mais robustas, e que possibilitem análises rápidas e de uso *in loco* vem sendo estudas. Portanto, uma das propostas deste trabalho foi a otimização das condições de análise segundo a melhor resposta do complexo e sua relação de linearidade com a concentração de oxigênio de forma a cumprir tais requisitos. Para a obtenção das respostas analíticas, foram utilizadas técnicas de espectrofotometria molecular no visível e imagens digitais, obtendo respostas promissoras em relação as figuras de mérito com coeficiente de determinação de 0,9912. Quanto a amostras de água de torneira testadas, as respostas foram comparáveis as do métodos iodométrico, sugerindo sua aplicabilidade em análises de oxigênio dissolvido.

Palavras-chave: Oxigênio dissolvido. Complexo Mn^{III}-EDTA. Imagem digital

ABSTRACT

FERRAZ, Camila Jerônimo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2020. **Method for determining dissolved oxygen in water using the Mn^{III}-EDTA complex.** Advisor: Antônio Augusto Neves. Co-Advisors: André Fernando de Oliveira and Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

The objective of this work was to develop a method for analysis of oxygen dissolved in water from the formation of the Mn^{III}-EDTA complex through the oxidation of Mn (II) by oxygen present in solution. Dissolved oxygen is considered one of the most relevant constituents of water resources, as it is directly related to the range of organisms capable of surviving (aerobic and anaerobic). The main ways to measure the concentration of oxygen in solution are the amperometric methods, use of fluorescence-based optical sensors and the iodometric. Although there are different devices for each of these techniques, their use depends on the characteristics of the environment in which they will be used. In these methods, the conditions must be optimized, and the calibration performed, except for the iodometric. Despite being considered a standard in oxygen analysis, this method requires accuracy from the analyst, in addition to using large sample volumes and concentrated reagents. Thus, the development of more robust alternatives, which enable rapid analysis and use in loco has been studied. Therefore, one of the proposals of this work was the optimization of the analysis conditions according to the best response of the complex and its relationship of linearity with the oxygen concentration to fulfill such requirements. To obtain the analytical responses, techniques of molecular spectrophotometry in the visible and digital images were used, obtaining promising answers in relation to the figures of merit with a coefficient of determination of 0.9912. As for tested tap water samples, the responses were comparable to those of iodometric methods, suggesting their applicability in dissolved oxygen analysis., the responses were comparable to those of the iodometric methods, suggesting their applicability in dissolved oxygen analyses.

Keywords: Dissolved oxygen. Mn^{III}-EDTA complex. Digital image

LISTA DE ABREVIATURAS

ACD	Conversor analógico digital
CCD	<i>Charge Coupled Devices</i> (dispositivos de carga acoplada)
CV	Coefficiente de variação
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
FW	Massa molar
HAc	Ácido acético
LOD	<i>Limit of detection</i> (Limite de detecção)
LOQ	<i>Limit of quantification</i> (Limite de quantificação)
MP	Método Proposto
MW	Método de Winkler
OD	Oxigênio Dissolvido
PE	Polietileno
PFA	Perfluoroalcóxico
PP	Polipropileno
PTFE	Politetrafluoroetileno
RGB	<i>Red, green and blue</i> (vermelho, verde e azul)
SSO	Solução saturada de oxigênio

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Reagentes utilizados durante os procedimentos experimentais.	37
Tabela 4.2 – Valores codificados e decodificados do planejamento fatorial 2^2 com ponto central. Variáveis experimentais pH (X_1); concentração de EDTA em mol L ⁻¹ (X_2)	46
Tabela 4.3 – Descrição dos diferentes níveis de OD para confecção da curva analítica.....	48
Tabela 4.4 – Valores mínimos calculados de concentração dos compostos para o método proposto.....	49
Tabela 4.5 – Valores codificados e decodificados do planejamento fatorial 2^2 com ponto central. Variáveis experimentais pH (X_1); concentração de EDTA em mol L ⁻¹ (X_2)	50
Tabela 4.6 – Variação do pH final no frasco de trabalho de acordo com a concentração do tampão	55
Tabela 4.7 – Parâmetros do modelo de regressão não linear	60
Tabela 4.8 – Valores obtidos para absorvância do complexo com os íons concomitantes em solução.	63
Tabela 4.9 – Figuras de mérito para os dados obtidos com filtro G e B.....	66
Tabela 4.10 – Valores obtidos para absorvância absoluta do complexo com íons concomitantes em solução.....	67
Tabela 4.11 – comparação das figuras de mérito obtidas de acordo com os dois métodos de análise utilizados.	68
Tabela 4.12 – concentração de oxigênio obtida segundo o método proposto em comparação ao método clássico de Winkler.....	68
Tabela 5.1 – comparação entre valores de pH experimental e obtidos	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1– Mecanismos de interação no balanço de oxigênio dissolvido. Associação da DBO com a matéria orgânica presente e a relação de consumo de OD.....	16
Figura 3.2 – Esquema de autodepuração de corpos d’água. Apresentação da variação de espécies capazes de sobreviver de acordo com o nível de OD presente, relação OD/DBO em contato com despejo orgânico.	17
Figura 3.3 – Diagrama de sensor amperométrico para detecção de oxigênio dissolvido.....	19
Figura 3.4 – Diagrama para sensor óptico com têmpera por fluorescência. Destaque para a representação de perda de energia para as moléculas de oxigênio, sendo a radiação incidente representada em azul e a energia que vai para o detector em vermelho.....	21
Figura 3.5 – Fotografia de frascos DBO durante execução do método de Winkler. Frascos da esquerda para a direita o primeiro está na etapa de precipitação, já os demais estão na etapa de formação do triiodeto em diferentes concentrações.	22
Figura 3.6 – Diagrama esquemático para o Método Proposto. As caixas representam diferentes etapas (em frascos diferentes ou não), assim como a numeração e hachurado indica presença de sólido.	27
Figura 3.7 – Diagrama de distribução de espécies para os sistemas do manganês (II) (A) e manganês (III) (B).	28
Figura 3.8 – Diagrama de distribução de espécies para o sistema do EDTA.....	30
Figura 3.9 – Processo de formação de imagem digital.....	32
Figura 3.10 – Resolução da imagem	34
Figura 3.11 – esquema do cubo do modelo de cores RGB.....	35
Figura 3.12 – Esquema de formação e imagens digitais coloridas por sistema RGB.	36
Figura 4.1 – Diagrama esquemático para o método de Winkler As caixas representam diferentes etapas (em frascos diferentes ou não) e hachurado, presença de sólido	40
Figura 4.2 – Esquema de execução do método proposto. Diagrama de execução(esquerda): (A) seringa de trabalho, (B) ponteira, (C) septo, (D) seringa de reagente e (E) agulha de injeção de reagentes. Foto das seringas utilizadas (direita).	43
Figura 4.3 – Sistema para análise por imagem digital. (A) orifício para cubetas, (B) <i>webcam</i> , (C) fonte de luz, (D) filtro dispersor.....	44
Figura 4.4 – Interface do software para análise das imagens digitais. �reas para coleta de dados: (1) cubeta com branco; (2) cubeta com amostra; (3) luz incidente; (4) região sem incidência de	

luz (preto); (5) campos de seleção e ajuste; (6) gráficos com valor de RGB para cada região e (7) valores de RGB registrados.	45
Figura 4.5 – Gráficos de resíduo das variáveis do planejamento fatorial.....	51
Figura 4.6 – Relação entre pH e concentração de EDTA para formação do complexo	52
Figura 4.7 – Influência do excesso de EDTA em relação ao manganês na formação do complexo. Absorbância versus concentração incerto: Gráfico de resíduos do modelo	53
Figura 4.8 – Distribuição dos dados obtidos para o estudo da influência da concentração de ácido sobre o sinal analítico. Absorbância versus concentração. Incerto: Gráfico de resíduos do modelo.	54
Figura 4.9 – Estudo da influência do tempo de formação e envelhecimento do óxido-hidróxido de manganês (III). Absorbância versus tempo. Incerto: Gráfico de resíduos do modelo.....	56
Figura 4.10 – Estudo da relação Mn^{2+}/OH^{-} , variando a quantidade de manganês (II) adicionada. (A) Absorbância versus concentração (B) Gráfico de resíduos do modelo.	57
Figura 4.11 – Estudo da relação Mn^{2+}/OH^{-} , variando a quantidade de hidróxido adicionada. Absorbância versus concentração. Incerto: Gráfico de resíduos do modelo.	58
Figura 4.12 – Estudo do tempo de formação do complexo Mn^{III} -EDTA através da absorbância do complexo	59
Figura 4.13 – Gráfico do tempo de degradação do complexo em função da absorbância, considerando a exposição a radiação (luz ambiente). (■) com irradiação; (△) sem irradiação.	60
Figura 4.14 – Família de Espectros da curva analítica. As setas nos pontos 700 nm e 800 nm mostram a região usada para fazer a correção das medidas.	61
Figura 4.15 – Curva analítica para o MP com detecção espectrométrica no visível.....	62
Figura 4.16 – Comportamento da absorbância a partir das imagens digitais para os três canais. (◆) RED ; (△) GREEN; (■) BLUE.	65
Figura 4.17 – Funções de onda para os filtros RGB normalizados. As cores correspondem aos respectivos filtros RED, GREEN e BLUE, a cor rosa representa o complexo de manganês (III)	65
Figura 4.18 – Absorbância absoluta em função do SSO. Canais (△) GREEN; (■) BLUE Inseto: Comportamento da absorbância absoluta considerando também o filtro RED - ◆.	66
Figura 5.1 – Diagrama esquemático para o Método Proposto.	69
Figura 5.2 – Efeito da adição de NaOH sobre o pH e frações de equilíbrio do sistema Mn (II). (●) pH; (□) α_0 ; (▲) α_1 ; (▽) α_2 ;	70

Figura 5.3 – Derivada primeira da concentração de hidróxido de sódio em função do pH do meio.	70
Figura 5.4 – Comportamento do precipitado de hidróxido de manganês em função da base adicionada.	71

SUMÁRIO

1.	Introdução	13
2.	Objetivos.....	15
2.1	Objetivos específicos	15
3.	Referencial Teórico	15
3.1	Oxigênio Dissolvido (OD).....	15
3.2	Principais métodos de análise para oxigênio dissolvido em água	18
3.2.1	Sensores eletroquímicos	18
3.2.2	Sensores Ópticos	20
3.2.3	Método iodométrico	22
3.3	Complexo Mn (III)-EDTA para análise de OD	23
3.4	Equilíbrio químico em solução aquosa	24
3.4.1	Íons metálicos como ácidos de Bronsted.....	26
3.4.2	Equilíbrios Presentes no Método Proposto (MP)	26
3.4.3	Análise do Meio Reacional I	27
3.4.4	Análise do meio reacional II.....	30
3.5	Espectrofotometria e imagem digital	32
4.	Desenvolvimento do Método	37
4.1	Materiais e Método	37
4.1.1	Equipamentos	37
4.1.2	Reagentes.....	37
4.1.3	Soluções.....	38
4.1.4	Padrões de oxigênio dissolvido	39
4.1.5	Método de Winkler (padrão)	39
4.1.6	Padronização da Solução de Tiosulfato de Sódio	41
4.1.7	Dispositivo para execução do Método.....	42
4.1.8	Módulo para análise por imagem (RGB)	43

4.1.9	Otimização do método.....	45
4.1.10	Tempo de degradação do complexo	47
4.1.11	Validação do método analítico	48
4.1.12	Aplicação do método	48
4.1.13	Tratamento de dados.....	49
4.2	Resultados e Discussão	49
4.2.1	Otimização do método.....	49
4.2.2	Método otimizado.....	61
4.2.3	Validação do método proposto	62
4.2.4	Detecção do complexo utilizando modelo RGB	64
4.2.5	Comparação entre o Método Proposto utilizando dois métodos de detecção e a metodologia padrão de Winkler	67
5.	Simulação dos sistemas químicos	69
5.1	Equilíbrios Presentes no Método Proposto (MP)	69
5.1.1	Avaliação do meio reacional I.....	69
5.1.2	Análise do meio reacional II.....	71
6.	Conclusão	74
	PERSPECTIVAS FUTURAS	75
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

1. Introdução

O Oxigênio Dissolvido é um parâmetro analítico utilizado em diversas áreas, como na indústria de alimentos e bebidas em que o parâmetro é usado no monitoramento de processos fermentativos e oxidativos, bem como na alteração de características sensoriais de acordo com a quantidade presente no meio (NEVARES et al., 2017; PÉNICAUD et al., 2010) na aquicultura para garantir uma concentração de oxigênio adequada para a manutenção e desenvolvimento de peixes (NOOR et al., 2016) e na caracterização de águas naturais e residuais.

Na caracterização de ecossistemas aquáticos (mares, lagos, rios e reservatórios) e recursos hídricos o oxigênio dissolvido é um importante indicador do estado da água, por estar diretamente ligado a sobrevivência de espécies aeróbias. Esse fator também passa a conferir aspectos indesejáveis ao corpo d'água, quando em baixa concentração tornando-a inadequada ao abastecimento público.

A maioria das medições de oxigênio dissolvido são feitas por sensores, sendo os mais utilizados os amperométricos clássicos e os ópticos. Além desses, medidas do tipo química também são muito utilizadas, podendo os métodos de medição para oxigênio serem divididos em três tipos principais: químicos, eletroquímicos e ópticos. que são a base para novas metodologias (WEI et al., 2019). Os Método instrumentais são usualmente melhores que os clássicos pois previne a manipulação da amostra, e diminui a possibilidade de erros relacionados ao fator humano, além da obter limites de detecção mais baixos. Contudo cada um dos métodos de análise possui suas vantagens e deficiências de desempenho.

Sendo assim, embora existam diferentes dispositivos e métodos de determinação cada um possui suas próprias características que dependem do ambiente em que serão utilizados, onde as condições devem ser otimizadas e a calibração realizada, com isso o método de Winkler continua sendo o padrão com o qual todos os outros métodos são comparados. (SHRIWASTAV et al., 2017a)

Na tentativa de tornar o método clássico mais robusto foram desenvolvidos os métodos micro -Winkler utilizando volumes de amostra de até 10 mL. No entanto, não apresentaram muita aderência devido à complexidades de execução, o que leva a um viés positivo apresentando concentrações de oxigênio maiores do que as encontradas com MW clássico, ou seja, não apresentam melhora significativa em relação ao método tradicional (JALUKSE et al., 2008; SHRIWASTAV et al., 2017b).

Baseado nas conclusões de Silva e colaboradores (2011), para determinação de manganês(II) em solução, e de ANDRADE et al., (2016) para determinação de EDTA em

solução utilizando o complexo de Mn (III)-EDTA e sendo o manganês III um intermediário na metodologia clássica de Winkler o presente trabalho pretende encontrar condições de estabilidade e reprodutibilidade para o complexo Mn (III)-EDTA formado na presença oxigênio dissolvido, com este atuando como agente oxidante para o manganês (II), visando aplicação a pequenos volumes de amostra e características que possibilitem a obtenção de dispositivos portáteis e de fácil utilização.

Embora a metodologia proposta não se restrinja a águas de abastecimento, estas serão a matriz para os testes em amostras reais.

2. Objetivos

Desenvolver o método para análise de OD a partir da formação do complexo MnIII- EDTA, formado por meio da oxidação de Mn (II) pelo oxigênio presente em solução.

2.1 Objetivos específicos

Otimizar e validar o método para determinação oxigênio dissolvido em água usando espectrofotometria molecular na região do visível;

Simular as condições experimentais sob condições de equilíbrio químico;

Avaliar o comportamento do método utilizando imagens digitais.

3. Referencial Teórico

3.1 Oxigênio Dissolvido (OD)

O oxigênio dissolvido é considerado um dos constituintes mais relevantes dos recursos hídricos, pois a concentração deste gás em solução é um importante indicador do estado de ecossistemas aquáticos, por este, estar diretamente relacionado a gama de organismos capazes de sobreviver, assim como as condições de produzir de organismos fotossintetizantes e em processos inorgânicos oxidativos.

No caso de espécies aeróbias, estas acabam tendo sua capacidade de sobrevivência diminuída quando o oxigênio se encontra em baixa concentração, valores abaixo de 4 mg O₂ /L. Além disto, a diminuição de OD passa a conferir aspectos indesejáveis a água, como odor e sabor, devido à multiplicação de espécies anaeróbicas. (BRAGA, 2005)

O oxigênio dissolvido permite determinar o impacto do lançamento de efluentes e seu potencial de comprometer o equilíbrio químico e ecológico, o que levaria a baixas concentrações de oxigênio nestes corpos d'água. Por consequência, ele é um parâmetro utilizado no gerenciamento de recursos hídricos em relação ao seu grau de poluição e da sua capacidade de autodepuração diante da introdução de grandes cargas de poluentes, ou seja, a capacidade de receber despejos, principalmente de origem orgânica, sem causar distúrbios na qualidade da água. (SPERLING, 2007; WETZEL; LIKENS, 2000)

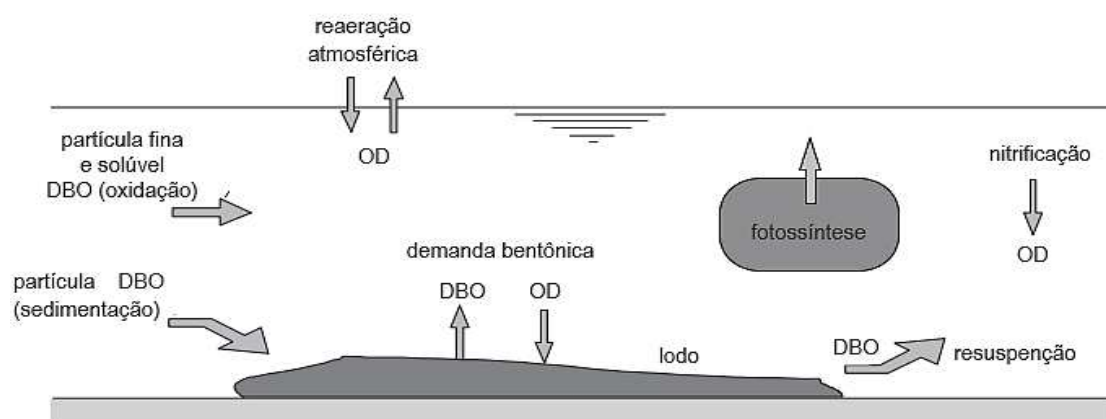
Como exemplo, OD está presente em um dos principais indicadores de qualidade da água utilizado no Brasil, o IQA (Índice de Qualidade das Águas), que avalia a qualidade da água destinada ao abastecimento público após tratamento. Entre os 9 parâmetros utilizados em seu cálculo (OD, DBO, pH, coliformes termotolerantes, temperatura, turbidez, resíduo total,

nitrogênio total e fósforo total) sendo em sua maioria para avaliar a contaminação causada por lançamento de esgoto doméstico, o OD possui o maior peso relativo (DI BERNARDO; DANTAS, 2006).

A atividade fotossintética e a reaeração são os principais responsáveis pela introdução do oxigênio dissolvido ao sistema aquático. Por outro lado, a respiração de organismos aeróbios e a decomposição de matéria orgânica são os principais agentes de consumo de oxigênio dissolvido (Figura 3.1).

Salientando que a matéria orgânica, em um corpo d'água, pode se apresentar dissolvida, na forma suspensa, ou na forma sedimentada, sendo esse último parte do sedimento (ou lodo, em alguns tipos de estações de tratamento de efluentes). apresenta estas e outras formas de consumo menos pronunciada como a demanda de oxigênio que ocorre na interface sedimento/água (demanda bentônica, ou seja, consumo por organismos que vivem no sedimento) e a nitrificação em que espécies químicas como a amônia são convertidas em nitratos (SPERLING, 2007), ou mesmo outros processos, tais como oxidação de íons metálicos (ferro (II) a ferro (III), manganês (II) a manganês (IV), etc. (STUMM; MORGAN, 1995)

Figura 3.1– Mecanismos de interação no balanço de oxigênio dissolvido. Associação da DBO com a matéria orgânica presente e a relação de consumo de OD



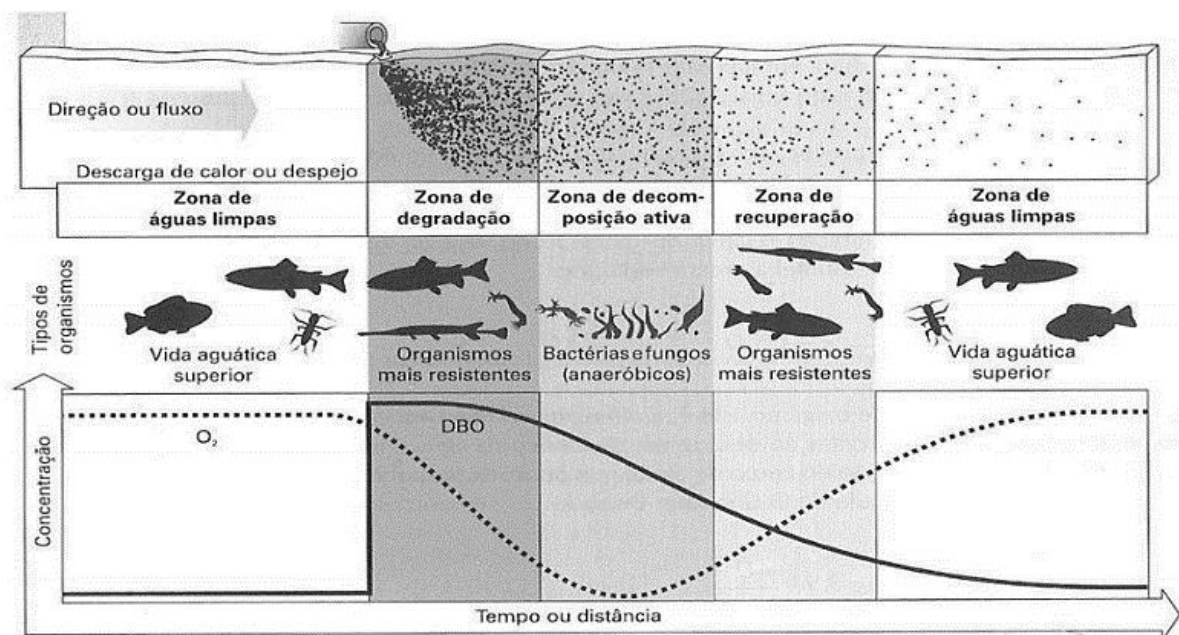
Fonte: adaptado de SPERLING, 2007

No caso de aporte de matéria orgânica a um corpo d'água, o processo de autodepuração pode ser dividido em duas etapas principais, a primeira em que há um déficit de oxigênio decorrente de seu consumo por decompositores de matéria orgânica, a segunda, na sequência, em que ocorre um aumento na tendência de entrada de oxigênio por reaeração devido ao déficit de concentração.

O decréscimo de oxigênio neste processo está associado à Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO/BOD), que avalia a capacidade de degradação biológica do efluente a partir do consumo de oxigênio dissolvido, também constitui um parâmetro de qualidade da água. A relação da DBO e do oxigênio dissolvido pode ser observada nas Figura 3.1 e Figura 3.2. (BRAGA, 2005)

Um sistema dentro dos limites de autodepuração, capaz de reestabelecer o estado de equilíbrio do meio aquático, tem a dinâmica de distribuição do oxigênio variável ao longo do dia e da distância em relação à zona de entrada de despejos, com isso, a concentração de OD demonstra a condição momentânea entre os processos produtores e de consumo de oxigênio (DERISIO, 2013).

Figura 3.2 – Esquema de autodepuração de corpos d'água. Apresentação da variação de espécies capazes de sobreviver de acordo com o nível de OD presente, relação OD/DBO em contato com despejo orgânico.



Fonte: BRAGA, 2005

Os limites de oxigênio dissolvido possíveis estão relacionados com a saturação desse gás em água, explicada pela constante de Henry (K_H).

$$O_{2(g)} \rightleftharpoons O_{2(aq)} \quad K_H$$

Dessa maneira, a concentração de oxigênio dissolvido (DO) depende diretamente da pressão parcial desse gás na atmosfera $p(O_2)$, cujo valor médio é 0,21 atm.

$$DO = [O_{2(aq)}] = K_H p(O_2)$$

Essa quantidade de oxigênio presente varia de acordo com a temperatura, a salinidade, a pressão atmosférica e a turbulência. Em água doce a solubilidade do gás oxigênio varia de 14,62 mg O₂/L a 0 °C até 8,24 mg O₂ L⁻¹ a 25 °C, a pressão de 1 atm e força iônica igual a zero. (APHA; AWWA; WEF, 2017) Devido à variação da constante dos gases com a temperatura, a pressão e a força iônica do meio.

A dependência da constante de Henry com a temperatura e pressão é explicada por uma função de vários termos empíricos, como por exemplo, descrito por Tromans (1998). O efeito da força iônica, por sua vez, é descrito pela equação:

$$K_H = K_H^T \cdot \left(\frac{\alpha}{\gamma} \right)$$

Onde K_H^T é a constante termodinâmica (em força iônica igual a zero); α , a fugacidade do gás oxigênio, igual à unidade em pressões próximas a 1 atm; γ , o coeficiente de atividade do oxigênio dissolvido.

A solubilidade diminui com o aumento da pressão atmosférica e com o aumento força iônica do meio, sendo este último efeito chamado *salting out*, o qual está quantitativamente relacionado com a força iônica do meio pela *constante de salting* (k), cujo valor é igual a 0,132 a 25 °C (KOTRLÝ; SUCHA, 1985)

$$\log \alpha/\gamma = kI$$

3.2 Principais métodos de análise para oxigênio dissolvido em água

Os métodos de quantificação de oxigênio dissolvidos em água podem ser divididos em três tipos principais: os eletroquímicos, os ópticos e os puramente químicos, como o de Winkler. (WEI et al., 2019)

3.2.1 Sensores eletroquímicos

Entre os tipos de dispositivos eletroquímicos os mais comuns para medida de oxigênio dissolvido são os sensores amperométricos, fundamentados no eletrodo de Clark (Figura 3.3). desenvolvidos inicialmente por Leland Clark jr (1953) para análise de oxigênio em sangue, estes traziam a inovação do uso de membranas seletivas que melhoraram a eficiência de análise e durabilidade dos eletrodos.

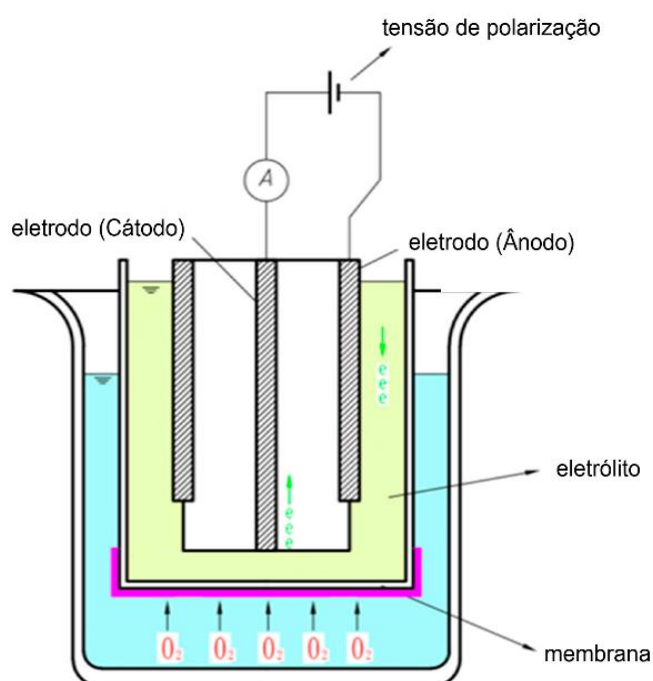
O sensor amperométrico para oxigênio dissolvido é constituído de uma célula eletroquímica formada por um eletrodo de trabalho atuando como cátodo (usualmente ouro) e um ânodo formado por um eletrodo não polarizável (usualmente Ag/AgCl), imersos em um filme fino de solução eletrolítica isolada da amostra por uma membrana permeável apenas a

gases, de maneira que o oxigênio dissolvido atinge o eletrodo de trabalho após a difusão através da membrana.(HELM et al., 2018; WEI et al., 2019)

As medições são decorrentes da corrente entre os eletrodos, sendo esta gerada quando uma tensão é aplicada, promovendo a redução do oxigênio na superfície do cátodo, com isso a corrente de difusão dependente diretamente da concentração de oxigênio na amostra. (HELM et al., 2018; WEI et al., 2019)

A taxa geral do processo de análise do OD é determinada pela difusão de oxigênio através da membrana, sendo essa, significativamente mais lenta que a redução do oxigênio. Fazendo com que a concentração na superfície do eletrodo de trabalho permaneça próxima a zero, uma vez que ao entrar em contato com o cátodo, o oxigênio é reduzido imediatamente. Desta maneira, quanto maior a seletividade da membrana impedindo a entrada de outros gases, tais como oxidantes e sulfídrico, e da solução da amostra, maior será a garantia de estabilidade e evitara contaminação dos eletrodos (HELM et al., 2018). Comumente as membranas utilizadas em eletrodos de Clark são produzidas com PTFE devido a sua hidrofobicidade, mas materiais como PFA, PE, PP, silicone entre outros, também são utilizados.(HELM et al., 2018; HELM; JALUKSE; LEITO, 2010)

Figura 3.3 – Diagrama de sensor amperométrico para detecção de oxigênio dissolvido.



Fonte: adaptado de WEI et al., 2019.

A agitação da solução é fundamental para o bom desempenho do eletrodo, pois a diminuição da quantidade de oxigênio próximo a superfície da membrana, em decorrência do

processo redutivo, pode gerar medidas de baixo valor de OD. No entanto, em soluções muito saturadas, a agitação pode aumentar a velocidade de liberação de oxigênio da solução ou sua absorção na camada de ar sobre a amostra, levando a resultados errôneos.

Outro fator que pode gerar incertezas é a temperatura por alterar a permeabilidade da membrana, se fazendo necessária uma compensação através de medidas de calibração e medição das temperaturas mais próximas possível das obtidas para o local. Atualmente, muitos medidores possuem sensores de temperatura integrados e promovem a correção automaticamente (HELM et al., 2018).

A limpeza da membrana é uma etapa crítica, pois o crescimento de fungos ou sorção de materiais em sua superfície diminuem a taxa de permeação do gás para dentro do eletrodo, levando a resultados inferiores ao esperado.

Outras fontes de incerteza apontadas na literatura são a repetibilidade, tempo de resposta, corrente zero (concentração do analito no meio de calibração), entre outras, levando a um número expressivo de fatores que podem causar incerteza em análises utilizando sensores amperométricos. (HELM; JALUKSE; LEITO, 2010)

Portanto, para garantir menor erro entre a medição e a calibração, estas devem ser realizadas no mesmo meio, vazão e temperatura. Deve-se garantir que a corrente estacionária seja atingida, interferências fortes retirados ou mascarados e a salinidade corrigida quando relevante. Em baixas concentrações de analito, a corrente zero (o branco do equipamento) deve ser corrigida ou levada em consideração como fonte de incerteza. (HELM et al., 2018)

3.2.2 Sensores Ópticos

Os sensores ópticos se popularizaram devido a possibilidade de miniaturização, sensoriamento remoto, não consumo de oxigênio nas medições, alta sensibilidade, entre outros fatores. Grande parte dos sensores nesse segmento se baseia em fluorescência (WEI et al., 2019).

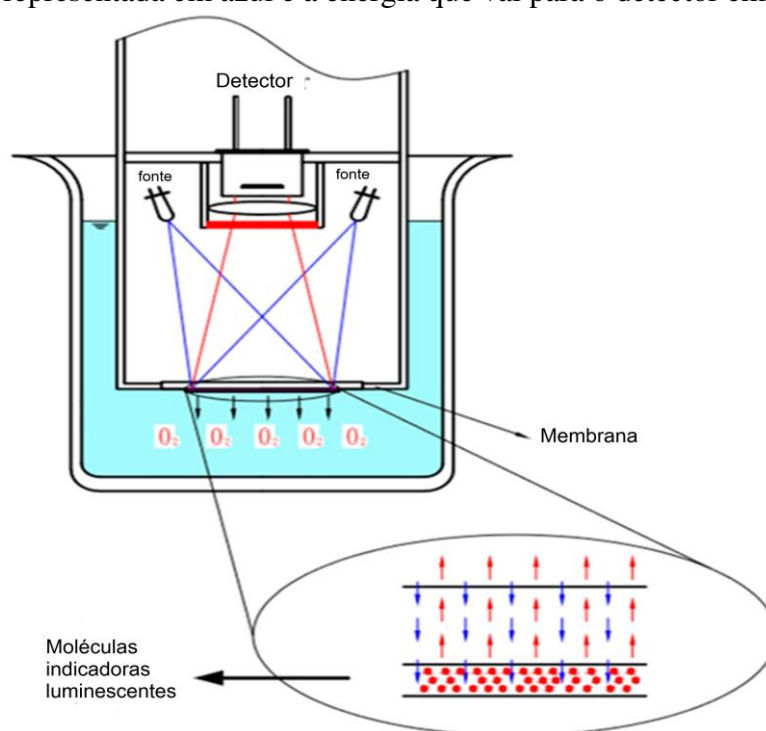
Uma composição típica para esse sensor é formada de uma sonda indicadora fluorescente sensível ao oxigênio imobilizada em um polímero permeável ao oxigênio, este separa o indicador da amostra. O conjunto é fixado em um suporte sólido opticamente transparente sujeito a uma fonte de excitação. Isto é, a camada do sensor é iluminada e tem a resposta luminescente coletada por um lado da sonda e o contato com a amostra feito pelo outro lado da sonda (Figura 3.4) (WANG; WOLFBEIS, 2014).

A concentração de OD é proporcional à inibição da fluorescência, diminuição da intensidade e/ou duração da emissão de radiação, em que o oxigênio dissolvido é tido com

supressor de fluorescência. Ou seja, a interação do estado excitado do indicador com a molécula de oxigênio leva a uma transferência de energia resultando na desativação não emissiva das moléculas do estado excitado de acordo com a concentração de oxigênio no meio. Os indicadores utilizados são frequentemente metais do grupo da platina (platina, paládio, rutênio) complexos de porfirina e os complexos de polipiridil de rutênio que têm alta eficiência de luminescência, com máximos espectrais no faixa visível, grande deslocamento espectral entre a excitação e a emissão (HELM et al., 2018).

No entanto, a intensidade da fluorescência pode ser alterada por diferentes fatores que afetam o desempenho desse tipo de sensor, tais como: baixa estabilidade da fonte de luz, fotodecomposição ou lixiviação do indicador, distribuição não homogênea na sonda, luminescência de fundo e influência de luz externa. Essas variações do sinal contribuem como um fator negativo para a repetibilidade das análises (WANG; WOLFBEIS, 2014).

Figura 3.4 – Diagrama para sensor óptico com têmpera por fluorescência. Destaque para a representação de perda de energia para as moléculas de oxigênio, sendo a radiação incidente representada em azul e a energia que vai para o detector em vermelho.



Fonte: adaptado de WEI et al., 2019.

Quanto ao suporte polimérico, estes precisam ser seletivos a permeação, isto é, possuir alta permeabilidade para o oxigênio e não permitir a passagem de metais e espécies com potencial de oxi-redução. A preferência deve ser por materiais hidrofóbicos e resistentes a altas temperaturas. Além disso, deve-se ficar atento a possibilidade de bioincrustação e crescimento bacteriano na superfície do sensor. Os materiais poliméricos mais utilizados incluem poliestireno,

cloreto de polivinil, polimetilmetacrilato, polidimetilsiloxanos, politetrafluoroetilenos etilcelulose (HELM et al., 2018).

Portanto, mesmo com vários materiais propostos na literatura, tanto para o indicador quanto para a matriz, e algumas empresas comercializando esta tecnologia (protegidas por patente), ainda existem muitos desafios técnicos e problemas a serem sanados nos diversos tipos de sensores ópticos já produzidos, como seu alto custo de confecção e dificuldade de calibração, o que faz com que esse seguimento ainda não tenha um formato padrão que possa ser aceito com segurança (WEI et al., 2019).

3.2.3 Método iodométrico

O método iodométrico proposto por Winkler (1888) para a determinação de oxigênio dissolvido em água se baseia na oxidação quantitativa do hidróxido de manganês (II) a hidróxido de manganês (III), em meio básico, pelo gás oxigênio. Em seguida, o manganês (III) é reduzido novamente a manganês (II) na presença de excesso de iodeto em meio ácido, de maneira que o triiodeto gerado (I_3^-) é quantitativamente relacionado ao teor de oxigênio dissolvido pela titulação com tiosulfato (WETZEL; LIKENS, 2000) (Figura 3.5). As equações químicas que representam o método serão apresentadas durante o desenvolvimento do trabalho.

Figura 3.5 – Fotografia de frascos DBO durante execução do método de Winkler. Frascos da esquerda para a direita o primeiro está na etapa de precipitação, já os demais estão na etapa de formação do triiodeto em diferentes concentrações.



Fonte: a autora

O ponto final da titulação é determinado principalmente usando amido como indicador visual, mas o uso da amperometria, biamperometria e espectrofotometria também são utilizados. Estes últimos podem ser usados diretamente, utilizando curvas analíticas. O método com detecção visual do ponto final pode ter uma precisão de 50 $\mu\text{g/L}$ dependendo do analista,

enquanto com a detecção eletrométrica a precisão pode chegar a 5 µg/L. Contudo vale ressaltar os detalhes para uma análise segura utilizando tais equipamentos como exposto no item 3.2.1.

Ao longo do tempo, o método sofreu modificações visando suprimir possíveis interferências, como por exemplo, (a) adição de azida (nitreto de sódio) para a remoção da interferência de nitrito que é considerada padrão para o exame de águas e efluentes por se tratar da interferência mais comum em amostras de DBO e águas naturais; (b) a modificação através do uso de permanganato é necessária na presença de íons ferro em solução, (c) quanto a amostras com alto teor de sólidos em suspensão a interferência proveniente de material particulado pode ser minimizada pela floculação com alumínio; (d) também é utilizada solução de sulfato de cobre - ácido sulfâmico em misturas de lodo ativado (APHA; AWWA; WEF, 2017; WETZEL; LIKENS, 2000).

O Método de Winkler (MW) é considerado um método padrão para a análise de oxigênio dissolvido, sendo o único a não precisar de calibração com o analito, por ser um método titulométrico. Entretanto, exige um procedimento demorado, com grande número de operações manuais e gasto considerável de reagentes e o consumo de grande volume de amostra resultando numa não adequação para medições rápidas (ou seja, baixa frequência analítica), além de requerer habilidade do analista. A volatilização do iodo, a contaminação por oxigênio atmosférico e dissolvido nos reagentes são algumas das fontes de erro que devem ser minimizadas. (HELM; JALUKSE; LEITO, 2012)

3.3 Complexo Mn (III)-EDTA para análise de OD

Carvalho e colaboradores, (1963) utilizaram a absorbância do complexo Mn^{III} -EDTA para a determinação de oxigênio dissolvido, em que o método era baseado na adição dos sais de manganês (II) e EDTA ao frasco reacional antes da introdução da amostra de água, em seguida o meio era basificado gerando a coloração avermelhada própria do complexo. No entanto, a relação encontrada entre a absorbância (A) do complexo e o oxigênio não foi linear, mas sim a relação da concentração do oxigênio com $(A)/(1-A)$.

Já em 1978, Rahim e Mohamed realizaram modificações na metodologia de formação do complexo através da introdução de soluções dos reagentes em água, obtendo relação linear entre a absorbância e a concentração de oxigênio na amostra, mostrando ser possível a utilização do complexo para determinação de oxigênio dissolvido. Os valores obtidos para as amostras ambientais foram muito próximos aos encontrados através do método de Winkler, porém esse método utiliza grande volume de amostra, uma vez que são utilizadas garrafas de DBO convencionais assim como para o MW clássico.

Apesar do sucesso na utilização do complexo, outros trabalhos mostravam as dificuldades em manter sua estabilidade (HAMM; SUWYN, 1967; MALAIYANDI; SASTRI, 1983) dificultando sua utilização. Contudo, estudos mais recentes para determinação de manganês (II) em solução (SILVA; NÓBREGA; ROCHA, 2011) e para determinação de EDTA em solução (ANDRADE et al., 2016) obtiveram êxito com a formação e estabilidade do complexo de manganês (III) com ácido etilenodiaminotetracético em meio reacional, aplicando diferentes condições oxidativas para o manganês.

3.4 Equilíbrio químico em solução aquosa

Se tratando de soluções aquosas, o conceito ácido-base de Bronsted-Lowry é de suma importância para compreensão das interações existentes no meio, pois este explica o comportamento de sistemas envolvendo troca de prótons entre espécies. Com isto, como os compostos presentes no estudo apresentam comportamento ácidos e bases de Bronsted–Lowry em água, e sendo a água a espécie mais abundante no meio, seu caráter anfótero é de grande influência, uma vez que a maioria das interações, com as demais espécies em solução, será feita por meio dela, atuando como conjugado de base ou ácido. Seja por transferência de prótons ou hidratação de íons. (OLIVEIRA, 2020)

Logo, deve-se considerar seu processo de autoionização (Equação 3-1), com o valor da constante de equilíbrio referente a 25°C.



Para a análise de sistemas em equilíbrio químico faz-se necessário a aplicação de três conceitos principais: Balanço de matéria, Balanço de Carga (Princípio da Eletroneutralidade) e a Lei de Ação das Massas (Oliveira, 2009; SKOOG et al., 2010).

Considerando uma equação química geral para um equilíbrio termodinâmico (Equação 3-2):



onde a , b , c e d são os coeficientes estequiométricos referentes aos reagentes A e B e produtos C e D, respectivamente.

Tem-se na Equação 3-3 a expressão da Lei da Ação das Massas, a relação entre as atividades no equilíbrio de produtos e reagentes entre si. Ou seja, para uma determinada temperatura existe uma constante de equilíbrio termodinâmico (K^T) que relaciona as espécies químicas vinculadas entre si pelo equilíbrio em questão.

$$K^T = \frac{a_C^c a_D^d \dots}{a_A^a a_B^b \dots} \quad \text{Equação 3-3}$$

Considerando que a atividade possui a mesma natureza física da concentração, mas considera efeitos devido à presença íons na solução. A relação entre a atividade e a concentração no equilíbrio de uma espécie química (Equação 3-4) permite obter uma nova constante de equilíbrio (K) para cada força iônica do meio, relacionado diretamente as concentrações no equilíbrio (Equação 3-5)

$$a_i = f_i[i] \quad \text{Equação 3-4}$$

Onde o índice ‘i’ representa uma espécie química.

$$K = \frac{[C]^c [D]^d \dots}{[A]^a [B]^b \dots} \quad \text{Equação 3-5}$$

As equações de balanço de matéria relacionam as concentrações analítica de um sistema em equilíbrio em solução e a soma das concentrações no equilíbrio de todas as espécies químicas pertencentes a um mesmo sistema químico.

A partir do balanço de matéria e das equações de constantes de equilíbrio para um dado sistema, é possível definir a fração de equilíbrio de cada espécie que depende apenas dos valores de pKa do sistema e do pH do meio (OLIVEIRA, 2013). Esses parâmetros e outros associados para a análise dos sistemas existentes serão calculados tanto no computador quanto em smartphones com o uso de planilhas eletrônicas (www.solucaoquimica.com).

Por fim, o Princípio da Eletroneutralidade aplicada às soluções (Equação 3-6) permite relacionar as concentrações no equilíbrio de todos os íons presentes em solução.

$$[+] - [-] = \sum q_i[i] = 0 \quad \text{Equação 3-6}$$

A partir do Princípio da Eletroneutralidade, Oliveira (2009; 2013) definiu explicitamente a carga efetiva (q_e) de um sistema ácido-base de Bronsted,

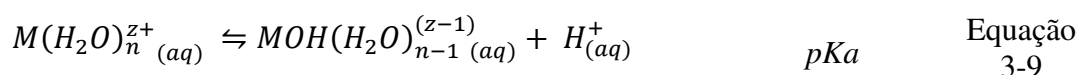
$$q_e = \sum q_j \alpha_j \quad \text{Equação 3-7}$$

Onde ‘j’ se refere às espécies químicas de um mesmo sistema ácido-base de Bronsted. Desta maneira, o balanço de carga de uma solução pode ser bastante simplificado, uma vez que relaciona diretamente a concentração analítica, e cada sistema ácido base contribui com apenas um termo nessa equação (Equação 3-8).

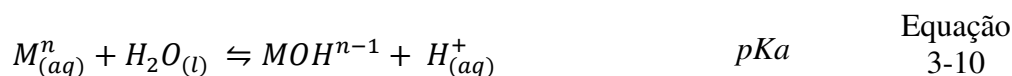
$$\sum q_e(i)c(i) = 0 \quad \text{Equação 3-8}$$

3.4.1 Íons metálicos como ácidos de Bronsted

A hidrólise de metais também pode ser interpretada como um equilíbrio ácido-base de Bronsted (1926). Essa interpretação é possível pois, considerando que as interações entre do centro metálico (M) e as águas de coordenação são fortes o suficiente, para todos os metais, com exceção dos alcalinos, onde há um deslocamento da nuvem eletrônica da água para mais próximo do metal, causando um enfraquecimento das ligações dos hidrogênios da água de complexação. A equação química para esse tipo de reação é apresentada na Equação 3-9



Entretanto, devido à prática de omitir as moléculas do solvente sempre que possível, para melhorar a visualização de processos, a equação apresentada na Equação 3-10 é normalmente escrita de acordo com a Equação 3-9.

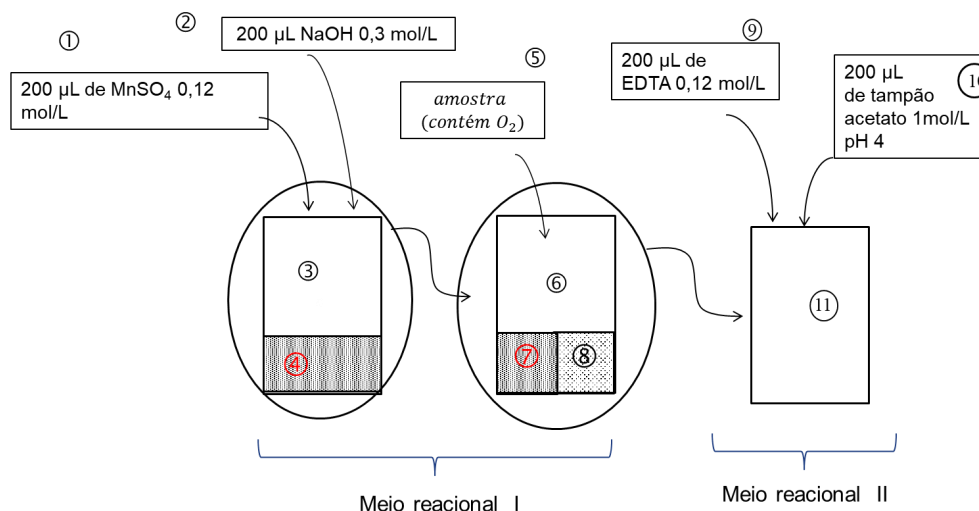


As condições relacionadas ao pH, na qual ocorre a hidrólise, irá depender das características de cada metal, como seu raio iônico e sua carga (BROWN; SYLVA; ELLIS, 1985; EKBERG; BROWN, 2016)

3.4.2 Equilíbrios Presentes no Método Proposto (MP)

Para facilitar o processo de análise dos equilíbrios presentes no método proposto, ele será dividido em duas partes, como apresentado no diagrama esquemático (Figura 3.6), que serão chamadas de meio reacional I e II.

Figura 3.6 – Diagrama esquemático para o Método Proposto. As caixas representam diferentes etapas (em frascos diferentes ou não), assim como a numeração e hachurado indica presença de sólido.



Fonte: a autora

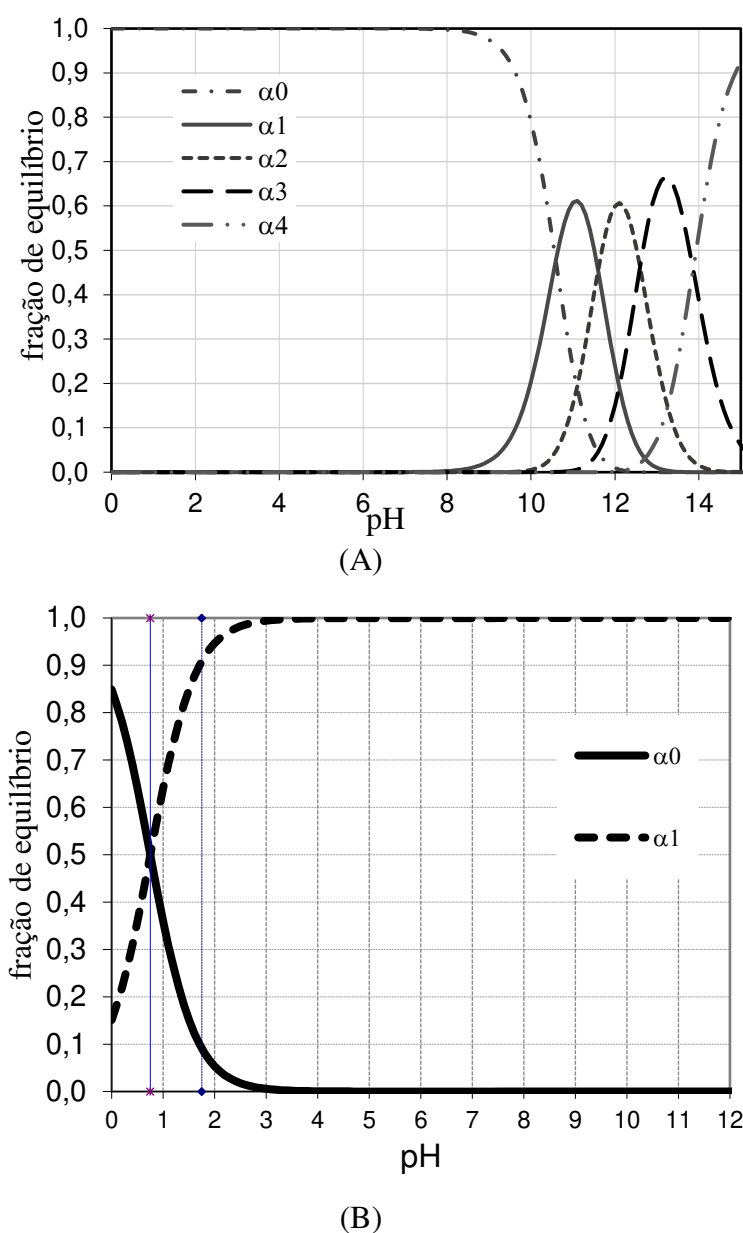
3.4.3 Análise do Meio Reacional I

As equações químicas que descrevem o meio reacional I são descritas, explicitando cada processo, com as constantes (quando adequadas), conforme recomendado no Método XXI (OLIVEIRA et al., 2019; OLIVEIRA, 2020) e a descrição do processo químico envolvido.

$H_2O_{(l)} \rightleftharpoons H_{(aq)}^+ + OH_{(aq)}^-$	$PK_w = 14$	ABB*
$NaOH_{(s)} \rightarrow Na_{(aq)}^+ + OH_{(aq)}^-$		Completo
$MnSO_{4(s)} \rightarrow Mn_{(aq)}^{2+} + SO_{4(aq)}^{2-}$		Completo
$HSO_{4(aq)}^- \rightleftharpoons H_{(aq)}^+ + SO_{4(aq)}^{2-}$	$pK_{a2} = 1,9$	ABB
$Mn_{(aq)}^{2+} + H_2O_{(l)} \rightleftharpoons MnOH_{(aq)}^+ + H_{(aq)}^+$	$pK_{a1} = 10,59$	ABB
$MnOH_{(aq)}^+ + H_2O_{(l)} \rightleftharpoons Mn(OH)_{2(aq)} + H_{(aq)}^+$	$pK_{a2} = 11,6$	ABB
$Mn(OH)_{2(aq)} + H_2O_{(l)} \rightleftharpoons Mn(OH)_{3(aq)}^- + H_{(aq)}^+$	$pK_{a3} = 12,6$	ABB
$Mn(OH)_{3(aq)}^- + H_2O_{(l)} \rightleftharpoons Mn(OH)_{4(aq)}^{2-} + H_{(aq)}^+$	$pK_{a4} = 13,81$	ABB
$Mn(OH)_{2(s)} \rightleftharpoons Mn(OH)_{2(aq)}$	$-\log s_o = 6,99$	Solubilidade intrínseca

* Equilíbrio Ácido-Base de Bronsted

Figura 3.7 – Diagrama de distribuição de espécies para os sistemas do manganês (II) (A) e manganês (III) (B).



Fonte: suplemento Alfa.xla (www.solucaoquimica.com).

As frações de equilíbrio para o sistema do manganês (II) correspondem as espécies químicas: $\alpha_0 - Mn^{2+}$, $\alpha_1 - MnOH^+$, $\alpha_2 - Mn(OH)_2$, $\alpha_3 - Mn(OH)_3^-$ e $\alpha_4 - Mn(OH)_4^{2-}$.

Como pode ser observado, o manganês II hidrolisa em pH elevado, acima de 10, já o manganês III hidrolisa em pH mais baixo, o menor dos metais trivalentes ($pK_a \sim 0,5$), possui forte atração pela água gerando espécies de hidrólise mais fortes em comparação aos outros metais de transição.

A quantidade de precipitados formados pode ser estimada a partir do conceito de Excesso e das constantes de precipitação condicionais. (OLIVEIRA, 2020; Paiva et al., 2020).

Entretanto, para hidróxidos, além do balanço de fases, é necessário considerar o balanço de carga. Os índices apresentados nas equações a seguir correspondem as etapas no diagrama da Figura 3.6 e os “ n ” o número de moles da espécie descrita naquela etapa.

$$\begin{aligned} n_1(Mn^{2+}) &= n_3(Mn^{2+}) + n_4(Mn^{2+}) \Rightarrow \\ n_4(Mn^{2+}) &= n_1(Mn^{2+}) - n_3(Mn^{2+}) \end{aligned}$$

$$\% n_4(Mn^{2+}) = \frac{n_4(Mn^{2+})}{n_1(Mn^{2+})} \times 100$$

Balanço de carga etapa 3 no diagrama: solução saturada

$$Wat_3 + q_e(Mn^{2+}) c(Mn^{2+}) + c(NaOH) + q_e(SO_4^{2-}) c(SO_4^{2-})$$

Onde,

$$c_3(Na^+) = \frac{n(NaOH)}{V_3} \qquad c_3(SO_4^{2-}) = \frac{n(MnSO_4)}{V_3}$$

$$Wat_3 = [H^+] + [OH^-] = 10^{-pH} + 10^{pH-pKw}$$

Uma vez que a solução está saturada com hidróxido de manganês (II), a concentração do segundo hidróxido complexo é constante e igual a solubilidade intrínseca (OLIVEIRA, 2009)

$$[Mn(OH)_2(aq)]_{sat} = s_0$$

Assim, a concentração analítica de Mn^{2+} pode ser calculada:

$$\alpha_2(Mn(OH)_2(aq)) = \frac{[Mn(OH)_2(aq)]_{sat}}{c(Mn^{2+})_{sat}} \rightarrow c_3(Mn^{2+})_{sat} = \frac{s_0}{\alpha_2(pH_3)}$$

Dessa maneira o balanço de carga é apresentado

$$Wat_3 + q_e(Mn^{2+}) \frac{s_0}{\alpha_2(pH_3)} + c_3(contra\ ions) = 0$$

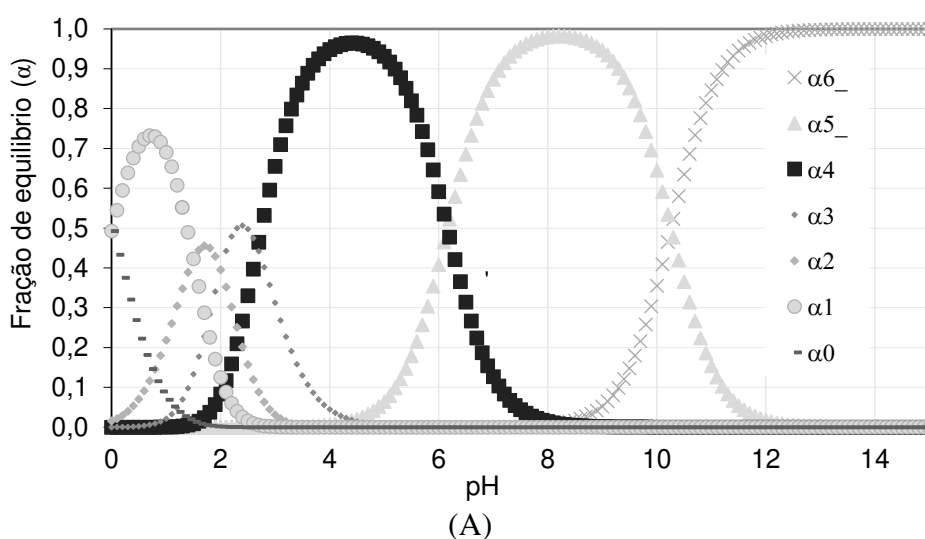
Uma vez que o pH é a única incógnita na equação e seu valor pode ser determinado por métodos numéricos, tais como o método dicotômico (OLIVEIRA, 2020)

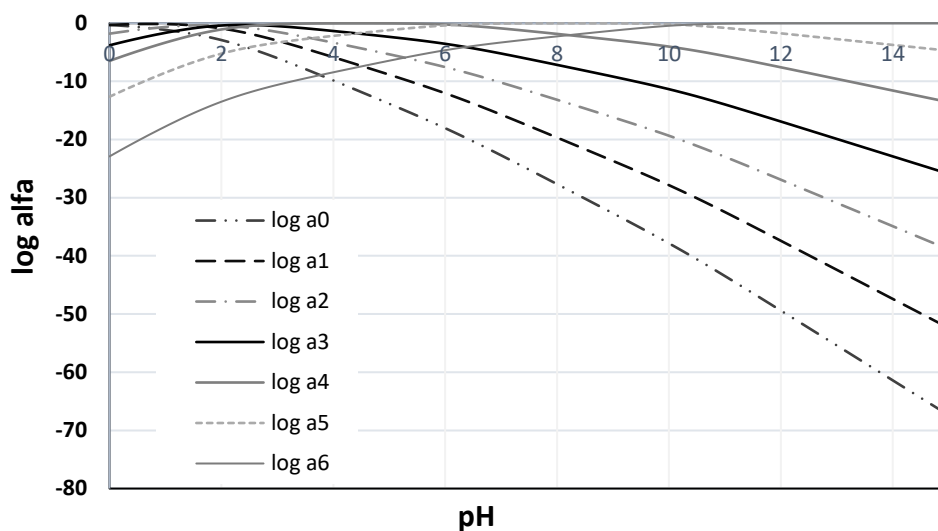
3.4.4 Análise do meio reacional II

$H_5EDTA^+_{(aq)} \rightleftharpoons H_4EDTA_{(aq)} + H^+_{(aq)}$	$pK_{a2} = 1,5$	ABB
$H_4EDTA_{(aq)} \rightleftharpoons H_3EDTA^-_{(aq)} + H^+_{(aq)}$	$pK_{a3} = 2$	ABB
$H_3EDTA^-_{(aq)} \rightleftharpoons H_2EDTA^{2-}_{(aq)} + H^+_{(aq)}$	$pK_{a4} = 2,678$	ABB
$H_2EDTA^{2-}_{(aq)} \rightleftharpoons HEDTA^{3-}_{(aq)} + H^+_{(aq)}$	$pK_{a5} = 6,161$	ABB
$HEDTA^{3-}_{(aq)} \rightleftharpoons EDTA^{4-}_{(aq)} + H^+_{(aq)}$	$pK_{a6} = 10,26$	ABB
$H_2SO_{4(l)} \rightarrow H^+_{(aq)} + HSO_4^{2-}_{(aq)}$		Completo
$HAc_{(aq)} \rightleftharpoons Ac^-_{(aq)} + H^+_{(aq)}$	$pK_a = 4,75$	ABB
$Mn^{3+}_{(aq)} + EDTA^{4-}_{(aq)} \rightleftharpoons Mn^{III}EDTA^-_{(aq)}$	$\log \beta_1 = 12,$	Complexação
$Mn^{2+}_{(aq)} + EDTA^{4-}_{(aq)} \rightleftharpoons Mn^{II}EDTA^{2-}_{(aq)}$	$\log \beta_1 = 23$	Complexação
$Mn^{3+}_{(aq)} + H_2O_{(l)} \rightleftharpoons MnOH^{2+}_{(aq)} + H^+_{(aq)}$	$pK_{a1} = 0,75$	ABB

Os complexos com $EDTA^{4-}$ com metais são sempre mononucleares, com apenas um ligante (com exceção da prata, que pode formar uma espécie binuclear com um EDTA). Dentre todas as espécies do sistema ácido-base de Bronsted do EDTA apenas a espécie totalmente desprotonada ($EDTA^{4-}$) age como ligante, provavelmente devido à repulsão do metal pelos nitrogênios protonados catiônicos presentes nas outras espécies. Na Figura 3.8 e são apresentados os diagramas de distribuição de espécies do sistema EDTA, na forma linear (A) e

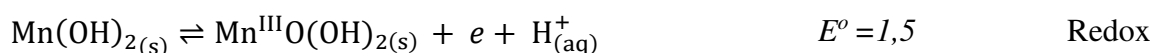
Figura 3.8 – Diagrama de distribuição de espécies para o sistema do EDTA





(B)

Fonte: suplemento Alfa.xla (www.solucaoquimica.com).



No meio reacional II será considerado a dissolução de todos os precipitados, devido ao ajuste do pH do meio e à complexação dos íons de manganês, assim como todo oxigênio dissolvido foi consumido formando manganês (III).

Foi inicialmente avaliada a complexação de manganês II e III na presença de EDTA na faixa de pH observada nesse meio, utilizando uma planilha eletrônica DistComplexo, onde considera o balanço de matéria para até três metais complexando um ligante apenas e também considera o efeito do pH sobre esse equilíbrio, através das constantes globais de estabilidade de complexação condicionais (β^{cond}). Assim, para um complexo ML_n (omitindo-se as cargas, para simplificação)

$$\beta_i = \frac{[\text{ML}_i]}{[\text{M}][\text{L}]^i} \Rightarrow \beta_i = \frac{[\text{ML}_i]}{\{M\} \cdot \alpha_o(M) \cdot (\{L\} \cdot \alpha_p(L))^i} \Rightarrow$$

$$\Rightarrow \beta_i^{\text{cond}} = \alpha_o(M) \cdot \alpha_p(L)^i = \frac{[\text{ML}_i]}{\{M\} \cdot \{L\}^i}$$

Onde as chaves representam a concentração analítica do sistema ácido-base de Bronsted, de maneira que ‘c’ continua a concentração analítica total do metal e do ligante, considerando todos equilíbrio homogêneos envolvendo essas espécies em solução.

3.5 Espectrofotometria e imagem digital

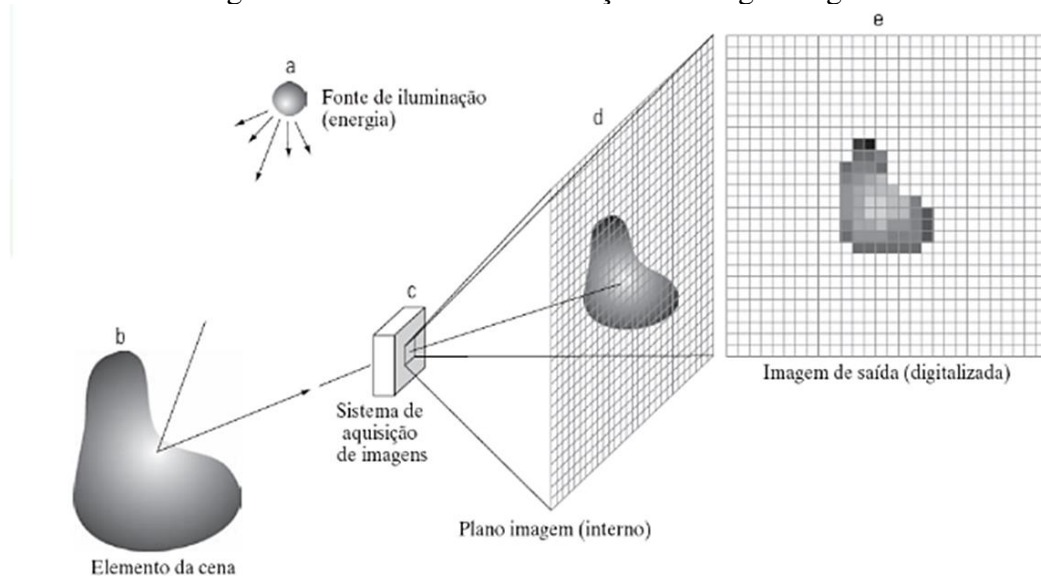
O processo de formação de imagem é realizado, de modo geral, pela combinação de uma fonte luminosa, a reflexão ou absorção da energia luminosa incidente pelo objeto de interesse, cuja imagem está sendo gerada, e a recepção pelo detector. Sendo assim, a imagem digital em um detector de imagem pode ser definida como uma função bidimensional $f(x, y)$ em que x e y são coordenadas espaciais e a amplitude de f é a intensidade.

$$f(x, y) = i(x, y) r(x, y)$$

onde $i(x, y)$ e $r(x, y)$ são componentes de iluminação e refletância (ou transmitância), respectivamente.

No detector de imagem digital, formado por milhares ou milhões de detectores individuais, chamados pixel (*Picture element*), há um processo de redução do feixe de radiação (onda eletromagnética) em uma faixa contínua de comprimentos de onda para imagens digitais, onde apenas um sinal é gerado por pixel, com intensidade finita e discreta (Figura 3.9). Em um detector de imagem digital a cores, pode-se em unidades formada por três pixels, cada um com um filtro de cor diferente

Figura 3.9 – Processo de formação de imagem digital.



Fonte:(GONZALEZ; WOODS, 2010)

A intensidade é obtida pela integração do produto da função de intensidade da radiação que atinge um pixel em cada comprimentos de onda (I_λ) e da transmitância do filtro existente sobre o pixel ($f_T(\lambda)$) e da transmitância de todos elementos ópticos entre o objeto e o pixel ($f_o(\lambda)$) e resposta do detector para cada comprimento de onda ($r_D(\lambda)$).

$$I = \int_{\lambda_{min}}^{\lambda_{max}} I_\lambda \cdot f_T(\lambda) \cdot r_D(\lambda) \cdot f_o(\lambda) d\lambda$$

Os sensores comumente encontrados em câmeras digitais e *webcams* são sensores matriciais chamados dispositivos de carga acopladas - CCD (*Charge Coupled Devices*), no qual a resposta de cada sensor constituinte da matriz representa um ponto na imagem, cuja resposta é proporcional a integral da energia luminosa projetada na superfície do sensor (GONZALEZ; WOODS, 2010).

O número de fótons de luz captado efetivamente pelo detector também é, por sua vez a integração, ao longo do tempo, no detector, que no caso do CCD, tem um comportamento algo similar a um capacitor, onde elétrons, liberados pela incidência de fótons, são armazenados durante um tempo pré-definido antes de serem enviados ao conversor analógico digital (ADC).

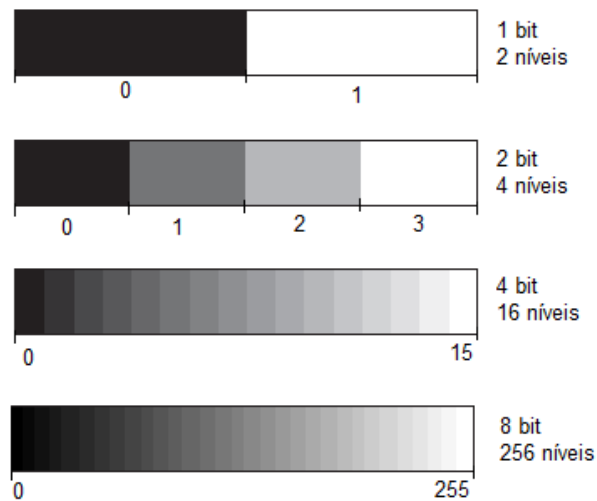
No ADC, ocorre a discretização da informação enviada pelo CCD, ou seja, subdividindo-a em um número fixo de níveis de intensidade, de acordo com a resolução do ADC, sua capacidade de distinção da intensidade luminosa que é expressa em bits (Figura 3.10). O número de níveis (nbit) de um ADC com um certo número de bits é expresso:

$$nbit = 2^{bits}$$

Em *webcams*, câmeras digitais ou câmeras de smartphones, a resolução associada a cada pixel é usualmente de 8 bits.

No detector de imagem, cada pixel é representado por $f(x, y)$. Assim, a digitalização de imagens está associada a amostragem que designa a posição do pixel no espaço bidimensional e quantização que mede a intensidade de luz nos pontos especificados, em que o número de pixels depende da quantidade de células de detecção presentes no sensor de detecção.

Figura 3.10 – Resolução da imagem

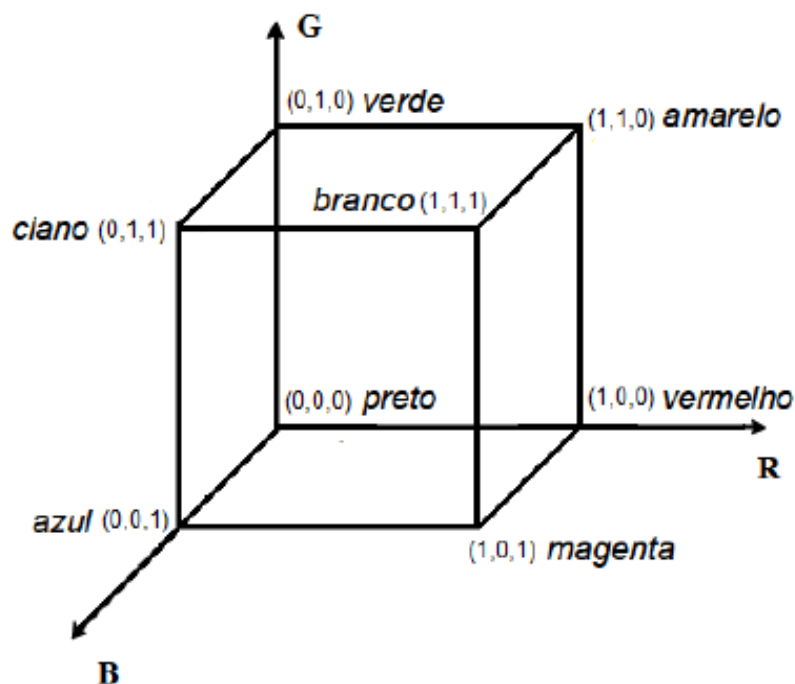


Fonte:(GONZALEZ; WOODS, 2010)

Como a sensação de cor pelo olho humano, a imagem digital pode ser dividida em cores primárias: a luz azul (com máximo em 435,8 nm), verde (546,1 nm) e vermelha (700 nm). As cores podem ser vistas como uma combinação dessas cores primárias de acordo com o modelo matemático CIE-RGB criado pela Comissão Internacional de Iluminação (CIE-*Commision internationale de l'Éclairage*) em 1931, que permite a representação de todas as outras cores do espectro visível por medidas quantitativas e representação numérica, por meio de uma composição das três cores primárias. Esse sistema de cor foi criado com o intuito de explicar as propriedades ou o comportamento das cores de forma padronizada. Atualmente, existem muitos modelos de cor em uso, contudo o sistema RGB (*red, green, blue*) é o mais utilizado em processamento de imagens digitais (GONZALEZ; WOODS, 2010; ZAMPIER, 2017)

Por essência, um modelo de cor é um sistema de coordenadas e um subespaço no qual cada cor é representada por um único ponto. Para representar o modelo RGB, um cubo em coordenadas cartesianas é utilizado, com a preta posicionada na origem, os valores das cores primárias (vermelha, verde e azul) posicionados nos vértices que sobrepõem os eixos cartesianos e a branca ocupando o vértice oposto a preta. As diferentes composições de cor neste modelo são pontos no cubo ou dentro dele definidas por vetores com início na origem do sistema cartesiano. Os vértices do cubo assumem valores normalizados de 0 a 1, com isso a intensidade máxima de cada cor primária corresponde a 1 e a mínima a 0, (Figura 3.11).

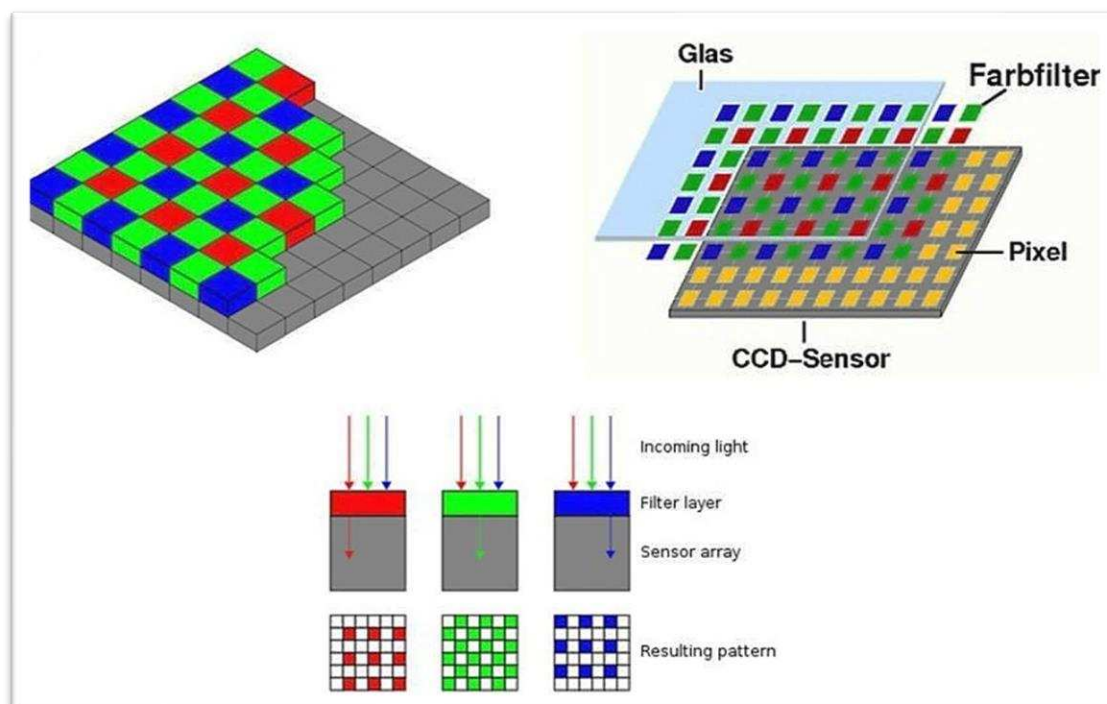
Figura 3.11 – esquema do cubo do modelo de cores RGB



Fonte: SANTOS, 2013

No processo de tradução para imagens digitais utilizando detectores CCD com resolução de 8 *bit/pixel*, a luz captada será dividida em 256 níveis para cada filtro RGB. Assim a intensidade por filtro pode variar de 0 a 255, em que, 0 corresponde ao preto e 255 a luz branca. Apesar de a formação da imagem ser feita com a contribuição dos três sinais, o uso do espaço RGB em um procedimento analítico cabe a análise da radiação proporcional a resposta de cada filtro (SANTOS, 2013). (Figura 3.12)

Figura 3.12 – Esquema de formação e imagens digitais coloridas por sistema RGB.



FONTE: <https://docplayer.com.br/2688070-Aula-2-aquisicao-de-imagens.html>

Quando comparados espectroscopia e imagem digital, estas são essencialmente iguais, ambas fazem uso dos fenômenos de interação da energia luminosa com as espécies absorventes na região de interesse. A diferença fundamental está no tratamento eletrônico e digital em cada técnica. Além disso, na imagem digital, o interesse está na melhor resolução espacial da variação da luz, enquanto, na espectroscopia, o interesse principal está no aumento da resolução da intensidade de luz (com aumento da resolução dos ADC utilizados) e com a detecção de menores número de fótons.

Apesar dessas diferenças, as duas técnicas são utilizadas com sucesso em análises, a espectroscopia como técnica já conceituada e a imagem digital conquistando seu espaço e possibilitando análises *in loco* e confecção de *spot test* (DAMASCENO, 2015; PESSOA et al., 2017)

4. Desenvolvimento do Método

4.1 Materiais e Método

4.1.1 Equipamentos

Determinações espectrofotométricas foram feitas na região do visível através do espectrômetro UB2000+ da Ocean Optics, acoplado a uma lâmpada de tungstênio modelo HL-2000 (Ocean Optics), utilizando uma cubeta de vidro de 1 cm de caminho óptico.

Medidor de pH Mettler Toledo TM FiveEasy Plus TM FEP20 utilizando eletrodo de pH LE438 Mettler Toledo TM para ajuste do tampão e ORP (SensoglassTM) na padronização.

As imagens digitais foram obtidas com uma *webcam* (Infokit, Brasil) com auxílio do software ICCA (ZAMPIER, 2017), mais detalhes serão fornecidos no tópico 4.1.8 Módulo para análise por imagem (RGB).

4.1.2 Reagentes

Todos os reagentes utilizados no presente trabalho são de grau analítico (P.A.) e não foram submetidos a etapas de purificação adicionais.

Tabela 4.1 – Reagentes utilizados durante os procedimentos experimentais.

Reagente	Fórmula	CAS	Marca
Ácido Acético Glacial	CH ₃ COOH	64-19-7	Isogar
Ácido Clorídrico	HCl	7647-01-0	Vetec
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	7664-93-9	Vetec
Amido solúvel	(C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	9005-84-9	Vetec
Carbonato de Sódio	Na ₂ CO ₃	497-19-8	Impex
Cloreto de Cromo III	CrCl ₃ .6H ₂ O	10025-73-7	Vetec
Cloreto de Sódio	NaCl	647-14-5	Cinética
Cloreto de ferro (III)	FeCl ₃ .6H ₂ O	10025-77-1	Vetec
Dihidrogenofosfato de Sódio	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	7558-80-7	Synth
EDTA	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	6381-92-6	Vetec
Hidróxido de Sódio	NaOH	1310-73-2	Vetec

Reagente	Fórmula	CAS	Marca
Iodato de Potássio	KIO ₃	7758-05-6	Dinâmica
Iodeto de Potássio	KI	7681-11-0	Vetec
Nitrato de Chumbo II	Pb(NO ₃) ₂	10099-74-8	Dinâmica
Nitrato de Sódio	NaNO ₃	7631-99-4	Vetec
Sulfato de Alumínio	Al ₂ (SO ₄) ₃	10043-01-3	Synth
Sulfato de Cobre (II)	CuSO ₄ .5 H ₂ O	7758-99-8	Neon
Sulfato de manganês (II)	MnSO ₄ .H ₂ O	10034-96-5	Reagen
Sulfato de Zinco	ZnSO ₄	7446-20-0	Vetec
Tiossulfato de Sódio	Na ₂ S ₂ O ₃ .5H ₂ O	10102-17-7	Vetec
Nitrogênio	N ₂	7727-37-9	Linde

Fonte: a autora

4.1.3 Soluções

Todas as soluções foram preparadas com água tipo 1, obtida com um sistema Milli-Q® Reference A+ (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Foram preparadas soluções estoque de MnSO₄.H₂O 36,4% (m/v) (364 g/L), sendo realizada filtração simples em papel de filtro e o volume completado com água em balão volumétrico. As soluções de 50% NaOH (500g/L), de KIO₃ 0,00421 mol L⁻¹, solução de KI 15% (m/v) (150 g/L), solução de Na₂S₂O₃.5H₂O 0,025 mol L⁻¹ e Na₂EDTA.2H₂O 0,3 mol L⁻¹ por dissolução em água e o volume completado em balão volumétrico.

A suspensão de amido 2% (20 g/L) foi preparada com água morna, sendo feita uma pasta e posteriormente a dissolução, utilizando o sobrenadante límpido.

Soluções tampão acetato foram preparadas em diferentes valores de pH e diferentes concentrações entre 0,2 e 1,0 mol L⁻¹ pela diluição de quantidade apropriada de ácido acético glacial e o ajuste do pH foi realizado com hidróxido de sódio e o volume completado com água em balão volumétrico.

As soluções 1,0 mmol L⁻¹ de ferro (III), cobre (II), cromo (III), zinco, chumbo (II), alumínio e de 1,0 mol L⁻¹ de nitrato, dihidrogenofosfato, carbonato, e cloreto, foram preparadas a partir dos sais descritos na Tabela 4.1.

4.1.4 Padrões de oxigênio dissolvido

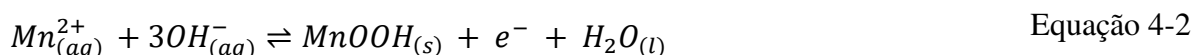
A solução com ausência de oxigênio dissolvido foi obtida com o borbulhamento de N₂ (pureza: 99,997%) por 3h em um frasco de 4 litros contendo água tipo 1, sob agitação.

A solução saturada de oxigênio foi obtida com o borbulhamento intenso de ar comprimido, (composição aproximada 20% O₂) por 1h em um frasco de 4 litros contendo água tipo 1, sob agitação.

4.1.5 Método de Winkler (padrão)

As amostras foram coletadas em frascos de DBO (300 mL) previamente identificados, adicionando-se 1 mL de solução de MnSO₄ 36,4%, 0,5 mL de NaOH 50% (m/v) com 0,5 mL KI 15 % (m/v) o frasco foi fechado com cuidado para evitar a formação de bolhas e feita a homogeneização, vertendo levemente o frasco algumas vezes. Após sedimentar completamente, o precipitado marrom formado (Equação 4-2) de modo a deixar o sobrenadante límpido, adicionou-se 1 mL de ácido sulfúrico concentrado para dissolver o precipitado, deixando a solução vermelho escuro, devido à formação de iodo molecular, I₂. (Equação 4-3 e Equação 4-4).

Os frascos foram mantidos no escuro por aproximadamente, 5 minutos, retirou-se 50 mL da solução e titulou-se acrescentando alíquotas de 50 µL de solução padrão de tiosulfato de sódio até obter uma coloração amarelo claro (Equação 4-3 e Equação 4-5). Neste ponto, acrescentou-se 100 µL de solução do indicador amido, continuando a titulação até a viragem da cor de azul para incolor (método n° 4500-OC) (APHA; AWWA; WEF, 2017).



Seguindo a estratégia de cálculo de acordo com o diagrama esquemático apresentado na Figura 4.1, a expressão para a concentração de oxigênio segundo método de Winkler foi obtida.

Rearranjando

$$c_{m_1}(O_2) = c_9(S_2O_3^{2-})V_{eq} \left(\frac{V_6 V_4}{4V_7 V_5 V_1} \cdot FW(O_2) \cdot 1000 \right)$$

Uma vez que

$$V_1 = V_6 - 2 \quad e \quad V_5 = V_6 - 1 \quad e \quad V_4 = V_6$$

$$c_{m_1}(O_2) = c_9(S_2O_3^{2-})V_{eq} \left(\frac{V_6^2}{4(V_6 - 2)(V_6 - 1)V_5} \cdot FW(O_2) \cdot 1000 \right)$$

Expandindo os termos e considerando o termo $2/V_6^2$ desprezível em relação aos demais,

$$c_{m_1}(O_2) = c_9(S_2O_3^{2-})V_{eq} \left(\frac{FW(O_2) \cdot 1000 \cdot V_2}{4V_7(V_2 - 3)} \right) \quad \text{Equação 4-7}$$

4.1.6 Padronização da Solução de Tiosulfato de Sódio

Para padronizar a solução de $Na_2S_2O_3$ $0,025 \text{ mol L}^{-1}$, utilizou-se solução de KIO_3 $0,0042 \text{ mol L}^{-1}$, previamente seco em estufa.

Para o procedimento adicionou-se 2 g de KI diluído em 100 mL de água tipo 1, 1 mL de solução H_2SO_4 $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ e 20 mL de solução de KIO_3 e diluiu-se para 200,0 mL, esta solução apresentou coloração vermelho escuro. Titulou-se com a solução com $Na_2S_2O_3$ a ser padronizada na presença de suspensão de amido 2% (m/v) adicionada próximo ao ponto de viragem até o desaparecimento da coloração azul (APHA; AWWA; WEF, 2017).

A concentração real da solução de KIO_3 foi calculada pela Equação 4-8.

$$C_{S_2O_3^{2-}}(\text{mol/L}) = 6 \frac{V_{IO_3^-} C_{IO_3^-}}{V_{S_2O_3^{2-}}} \quad \text{Equação 4-8}$$

O fator de correção da solução de tiosulfato foi calculado de acordo com a Equação 4-9.

$$f_c = \frac{C_{\text{real}}}{C_{\text{Nominal}}} \quad \text{Equação 4-9}$$

Em que f_c é o fator de correção da solução de tiosulfato, C_{real} é a concentração real encontrada para a solução de tiosulfato (em mol L^{-1}) e C_{Nominal} é a concentração de tiosulfato que deveria ser encontrada (em mol L^{-1})

4.1.7 Dispositivo para execução do Método

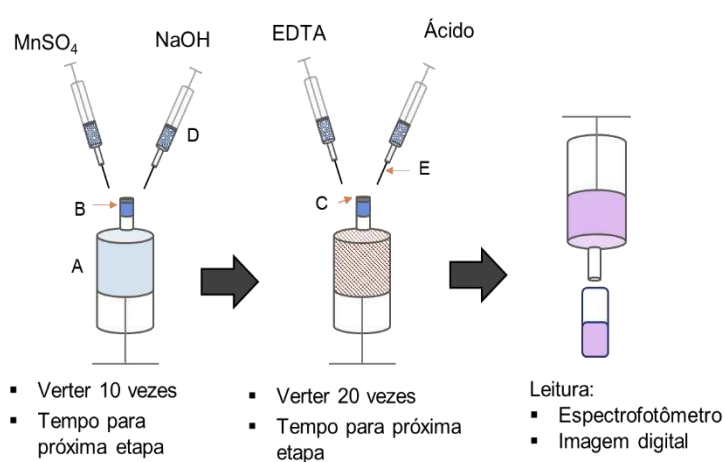
Foi montado um sistema de seringas, como exposto no esquema da Figura 4.2, constituído de uma seringa de trabalho de 20 mL (SR[®]) e quatro seringas de 1mL com agulha (BD Plastipak[™]) para a adição dos reagentes, todas fabricadas em polipropileno (PP), translúcido, atóxico e inerte, com pistão em borracha termoplástica, isenta de látex.

Na seringa de trabalho, foi utilizada uma ponteira de PVC – Polícloreto de Vínila retirada de sonda nasogástrica (Goodcome) com septo de borracha de silicone (LB-2, Thermogreen[™]).

O método consistiu em adicionar 10 mL de amostra a seringa de trabalho através do uso de sonda nasogástrica, posicionada no fundo do frasco de armazenamento de amostra, o frasco foi fechado de modo a evitar contato externo. O preenchimento foi realizado de forma lenta para não causar turbulência no fluxo de entrada na seringa, após verificado a ausência de ar a seringa foi tampada com a ponteira.

A adição dos reagentes foi realizada através do septo, sendo adicionado MnSO_4 , posteriormente feita a adição de NaOH (havendo a formação do precipitado marrom) promovida a agitação manual vertendo a seringa 10 vezes e deixado em repouso. Após a sedimentação, foi feita a adição de EDTA seguida da adição de ácido e promovida agitação manual vertendo a seringa 20 vezes, com o intuito de dissolver o precipitado. Após a dissolução precipitado (verificada visualmente), aguardou-se o tempo necessário, obtendo-se o espectro na região entre 400 e 800 nm, usando uma cubeta de vidro óptico de caminho óptico de 10 mm.

Figura 4.2 – Esquema de execução do método proposto. Diagrama de execução(esquerda): (A) seringa de trabalho, (B) ponteira, (C) septo, (D) seringa de reagente e (E) agulha de injeção de reagentes. Foto das seringas utilizadas (direita).



Fonte: a autora

4.1.8 Módulo para análise por imagem (RGB)

Para a análise por imagem foi utilizada uma câmara construída com caixas plásticas pretas de dimensões: 11 cm x 7,5 cm x 3,5 cm (comprimento x largura x altura), sendo em uma delas construído orifícios para colocação de duas cubetas de acrílico com 1 cm de caminho óptico, uma com o analito e a outra com o branco, as cubetas foram cobertas com outra caixa de forma a evitar influência de luz externa a câmara.

A captação da imagem foi realizada por *webcam* (Infokit, Brasil), sem correção de branco (B), fixada no centro da parede oposta à abertura de captação de luz, que foi fechada com um dispersor de luz feito com filtros de papel (gramatura total 480 g/m², espessura 1,2 mm) (D). A fonte de radiação formada por LED branco (C) uniformemente posicionado de forma a manter igual incidência de radiação nas cubetas.

Figura 4.3 – Sistema para análise por imagem digital. (A) orifício para cubetas, (B) *webcam*, (C) fonte de luz, (D) filtro dispersor



Fonte: a autora

A *webcam* foi conectada a um computador via cabo USB. As imagens foram coletadas por meio de um software o ICCA (ZAMPIER, 2017) utilizando sistema operacional Linux. Na interface do software, mostrada na Figura 4.4, em que é possível selecionar 4 regiões da imagem (A, B, C, D) para obter os valores médios RGB de cada região. A região A foi utilizada para leitura em RGB da cubeta com o “branco” (água tipo 1), a região B foi utilizada para obtenção de dados de RGB da cubeta com amostra, a região C para a luz incidente (“papel”) e a região D para a região sem incidência de luz.

As dimensões da região e sua posição na imagem foram ajustadas, a aquisição foi feita automaticamente após a estabilização dos valores médios de cada região, apresentados em gráficos em tempo real e, posteriormente salvos em arquivos tipo ASCII (formato de texto, com coluna de dados separados por vírgula). Os dados foram importados diretamente para o software de tratamento de dados Microsoft Excel.

Figura 4.4 – Interface do software para análise das imagens digitais. Áreas para coleta de dados: (1) cubeta com branco; (2) cubeta com amostra; (3) luz incidente; (4) região sem incidência de luz (preto); (5) campos de seleção e ajuste; (6) gráficos com valor de RGB para cada região e (7) valores de RGB registrados.



Fonte: a autora

4.1.9 Otimização do método

Todos os estudos efetuados foram realizados em triplicata de acordo com a proposição para a execução do método apresentada, as concentrações dos reagentes foram estipuladas para cada teste com valores acima do mínimo estimado nas relações estequiométricas que serão apresentados na Tabela 4.4 de forma resumida.

4.1.9.1 Influência do pH e da concentração de EDTA na formação do complexo

Para verificar a influência do pH e da concentração de EDTA na formação do complexo, foi utilizado um planejamento fatorial 2^2 com ponto central para pH 4,0, 4,5 e 5,0 utilizando tampão acetato 1 mol L⁻¹ e concentrações de EDTA 0,04, 0,12 e 0,2 mol L⁻¹, o conjunto de experimentos de acordo com o planejamento se encontra descrito na Tabela 4.2.

As concentrações utilizadas de NaOH foi 0,1 mol L⁻¹ e de MnSO₄ 0,04 mol L⁻¹. O volume adicionado de cada reagente foi 600 µL.

Tabela 4.2 – Valores codificados e decodificados do planejamento fatorial 2^2 com ponto central. Variáveis experimentais pH (X_1); concentração de EDTA em mol L⁻¹ (X_2)

Nº experimentos	Variáveis experimentais			
	Valores codificados		Valore decodificados	
1	X_1	X_2	pH	Conc. EDTA (mol L ⁻¹)
2	-1	-1	4	0,04
3	-1	1	4	0,20
4	1	-1	5	0,04
5	1	1	5	0,20
6	0	0	4,5	0,12

Fonte: a autora

4.1.9.1.1 Avaliação da relação entre EDTA e Manganês (II)

Após avaliação do resultado do estudo mostrado no item 4.1.9.1, notou-se a necessidade de verificar a relação entre as quantidades de manganês (II) e EDTA adicionados e sua influência na formação do complexo. Portanto, realizou-se um estudo mantendo a concentração de MnSO₄ fixa em 0,04 mol L⁻¹ e variando a concentração de EDTA em 0,04, 0,12 e 0,2 mol L⁻¹.

4.1.9.2 Influência do tampão acetato

Com o intuito de verificar uma possível interferência da quantidade de ácido acético na formação do complexo, assim como avaliar a força do tampão, foram utilizadas as concentrações 0,2 a 1,0 mol L⁻¹ de ácido acético com estudo feito em pH 4. Foram adicionados 600 µL dos reagentes NaOH 0,1 mol L⁻¹, MnSO₄ 0,04 mol L⁻¹ e EDTA 0,04 mol L⁻¹.

4.1.9.3 Tempo de formação do precipitado

Para avaliar o tempo de formação e permanência do precipitado de MnOOH foram utilizados 5 tempos: de 5 a 20 min. variando de 5 em 5 minutos e 30 minutos marcados logo após a adição de 600 µL de NaOH 0,1 mol L⁻¹, utilizando tempo de dissolução de 12 min. Sendo adicionado 600 µL de MnSO₄ 0,04 mol L⁻¹, EDTA 0,04 mol L⁻¹ e 0,8 mol L⁻¹ de ácido acético em pH 4.

4.1.9.4 Avaliação da relação manganês e hidróxido na formação do complexo

Para verificar a relação entre o manganês e a quantidade de hidróxido adicionada ao sistema na formação do precipitado e, conseqüentemente, do complexo de interesse foi realizado os seguintes estudos:

4.1.9.4.1 Variação da concentração analítica de manganês (II)

Foi mantida fixa a concentração de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e utilizadas as concentrações de 0,04, 0,05 e $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ de manganês (II) de forma a avaliar o sinal analítico frente ao aumento da quantidade de manganês no meio. A razão de EDTA/Mn foi mantida na proporção 1:1 e o pH em 4 com uso de tampão acetato 1 mol L^{-1}

4.1.9.4.2 Variação da concentração analítica de hidróxido de sódio

Para a verificação da influência do aumento da quantidade de hidróxido adicionada com a formação do precipitado, foram utilizadas as concentrações de 0,06, 0,1 e $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio, mantida fixa a concentração de manganês em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$. Os demais reagentes foram adicionados como no ensaio anterior.

4.1.9.5 Tempo de dissolução/complexação

O tempo de dissolução do precipitado e formação do complexo foi avaliado em cinco tempos 5, 10, 15, 20 e 25 minutos, de modo a verificar possíveis influências na absorbância em função da dispersão do precipitado em solução, não visível a olho nu, com a utilização do tempo 15 minutos, para precipitação, considerado ótimo para a formação do precipitado. O tempos de dissolução foram avaliados imediatamente após a adição de ácido. As concentrações dos reagentes estavam de acordo com os resultados anteriores.

4.1.10 Tempo de degradação do complexo

O comportamento cinético da decomposição do complexo foi observado de modo a verificar sua estabilidade quando armazenado, visando a determinação do tempo em que é possível seu armazenamento para análise e quantificação posteriores.

O complexo foi monitorado com leituras de 2 em 2h até que não fosse possível sua observação espectrofotométrica, iniciadas a partir da primeira leitura de acordo com a otimização.

4.1.11 Validação do método analítico

4.1.11.1 Preparo da curva analítica

Para a curva analítica, preparada em acordo com a otimização do método, foram utilizadas diferentes razões entre os reagentes água (saturado de N₂ e saturado de ar sintético) de forma a obter diferentes níveis de concentração de oxigênio, variando de 2 em 2 mL entre 0 e 10 mL (Tabela 4.3)

As soluções foram preparadas diretamente na seringa de reação, seguindo o procedimento de execução do método proposto (MP) e realizada a leitura por espectrofotometria na região do visível.

Tabela 4.3 – Descrição dos diferentes níveis de OD para confecção da curva analítica

Nº de pontos	Concentração de solução saturada em N ₂ % (v/v)	Concentração de solução saturada em O ₂ % (v/v)
1	100	0
2	80	20
3	60	40
4	40	60
5	20	80
6	0	100

Fonte: a autora

A partir da variação dos resultados de absorbância do complexo foi construído um gráfico da relação entre a absorbância e a porcentagem de oxigênio presente na análise, referente a solução saturada. O ajuste dos pontos foi realizado através de regressão linear utilizando o método dos mínimos quadrados. A equação gerada pelo ajuste permitiu a avaliação dos parâmetros linearidade da faixa de concentrações utilizada e a sensibilidade analítica.

4.1.11.2 Figuras de mérito

As figuras de mérito para o Método Proposto foram avaliadas na condição ótima, sendo considerado os seguintes parâmetros: qualidade do ajuste; faixa analítica; limite de detecção (LOD); limite de quantificação (LOQ) e estudo de concomitantes.

4.1.12 Aplicação do método

O método otimizado e validado para a determinação de oxigênio dissolvido por meio do complexo MnIII-EDTA foi aplicado na análise de amostras de água do abastecimento da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, coletada diretamente da torneira (Amostra 1), amostras de água do município de Viçosa-MG, unidade de abastecimento ETA 1, coletada

diretamente da torneira (Amostra 2) e armazenada em frasco âmbar lacrado com parafilm (American) e água tipo 1.

As amostras de água foram analisadas diretamente seguindo o método proposto utilizando espectrofotometria de absorção molecular no visível e através de imagem digital. Assim como pelo método padrão de Winkler.

4.1.13 Tratamento de dados

Todos os dados foram tratados em planilhas eletrônicas Microsoft Excel 365 ou no software OriginPro 2016 (LabOrigin).

4.2 Resultados e Discussão

Os valores iniciais para as concentrações dos reagentes, calculados para o consumo estequiométrico do oxigênio dissolvido são apresentados na Tabela 4.4. Ficando a disponibilidade dos reagentes cerca de 2 vezes maior que a necessária para a quantidade de oxigênio estipulada para os cálculos considerando a redução total de 10 mg O₂/L, valor próximo à saturação da água a 25° C (9,4 mg O₂/L). Considerando um volume de amostra de 10 mL.

Tabela 4.4 – Valores mínimos calculados de concentração dos compostos para o método proposto.

Solução	Volume / μ L	Composto	Sol. Adicionada/ (mol L ⁻¹)	Concentração cubeta/ (mol L ⁻¹)
A	600	NaOH	0,1	0,005
B	600	MnSO ₄	0,04	0,002
C	600	Na ₂ H ₂ EDTA	0,04	0,002
D	600	H ₂ SO ₄	0,2	0,01

Fonte: a autora

4.2.1 Otimização do método

O complexo Mn^{III}-EDTA, formado pela complexação do Mn^{III} que reduziu o oxigênio dissolvido em meio alcalino foi avaliado em 490 nm onde observa-se uma banda larga única na região do visível do espectro eletromagnético. O valor de absorbância máxima obtido é igual àquele observado por Carvalho *et.al.* (1963).

4.2.1.1 Estudo da influência do pH e da concentração de EDTA

Foi realizado um planejamento fatorial 2² com ponto central para as variáveis concentração de EDTA e do pH do meio. A faixa de EDTA escolhida considerou a concentração mínima

adicionada de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$. Enquanto a faixa para pH escolhida visa evitar a formação do complexo Mn^{III} -HEDTA de coloração amarela, em detrimento do complexo de interesse Mn^{III} -EDTA de coloração rósea. Além de verificar a decomposição do oxo-hidróxido em pH's mais altos, diferente do método de Winkler em que o pH é muito baixo. O efeito do planejamento foi analisado sobre a absorbância medida, e assim, sobre a formação do complexo Mn^{III} -EDTA.

Os valores de absorbância obtidos assim como os pontos do planejamento podem ser vistos na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Valores codificados e decodificados do planejamento fatorial 2^2 com ponto central. Variáveis experimentais pH (X_1); concentração de EDTA em mol L^{-1} (X_2)

Nº experimentos	Variáveis experimentais				
	Valore decodificados		Absorbância		
1	pH	Conc. EDTA (mol L^{-1})	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 3
2	4	0,04	$0,385 \pm 0,009$	$0,355 \pm 0,021$	$0,390 \pm 0,015$
3	4	0,20	$0,211 \pm 0,010$	$0,231 \pm 0,010$	$0,248 \pm 0,027$
4	5	0,04	$0,296 \pm 0,001$	$0,312 \pm 0,017$	$0,303 \pm 0,008$
5	5	0,20	$0,146 \pm 0,005$	$0,137 \pm 0,003$	$0,142 \pm 0,001$
6	4,5	0,12	$0,252 \pm 0,006$	$0,223 \pm 0,035$	$0,240 \pm 0,018$

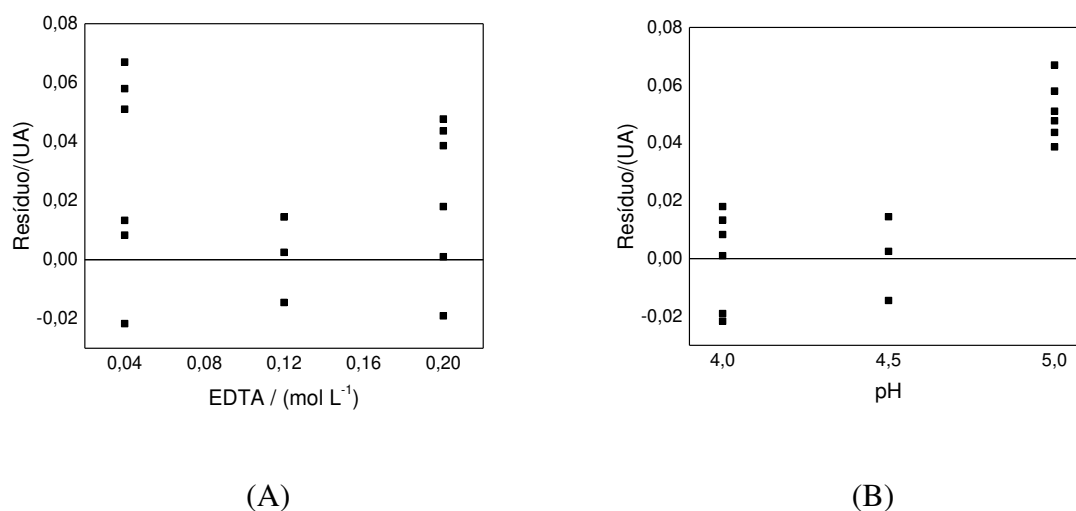
Fonte: a autora

O modelo de regressão linear múltipla obtido para esse planejamento é apresentado na equação:

$$\hat{A} = (0,2375 \pm 0,014) + (-0,0658 \pm 0,016)\text{code}(\text{pH}) + (0,0733 \pm 0,0078)\text{code}(\text{EDTA})$$

Com valor de coeficiente de determinação ajustado (R^2_{aj}) igual a 0,9214 e estimativa do desvio padrão dos resíduos igual a 0,019 AU. O termo de interação $\text{code}(\text{pH}) \times \text{code}(\text{EDTA})$ não foi significativo. Na Figura 4.5 são apresentados os gráficos de resíduos do modelo obtido em função dos valores reais de cada variável.

Figura 4.5 – Gráficos de resíduo das variáveis do planejamento fatorial.

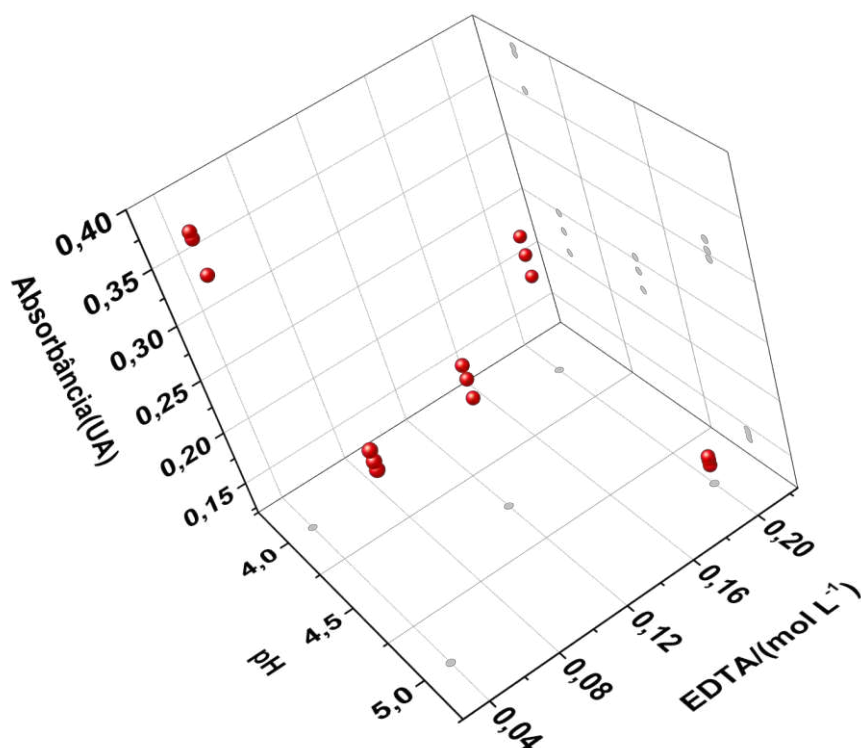


Fonte: a autora

Os resíduos não apresentaram um comportamento compatível com um modelo de regressão, ou seja, aleatoriedade ao longo dos valores das variáveis. No pH 5,0 há um desvio acentuado para o parâmetro pH, gráfico (B), interessante observar que os parâmetros gerais da regressão mostram um bom ajuste.

O comportamento dos dados originais pode ser observado na Figura 4.6.

Figura 4.6 – Relação entre pH e concentração de EDTA para formação do complexo

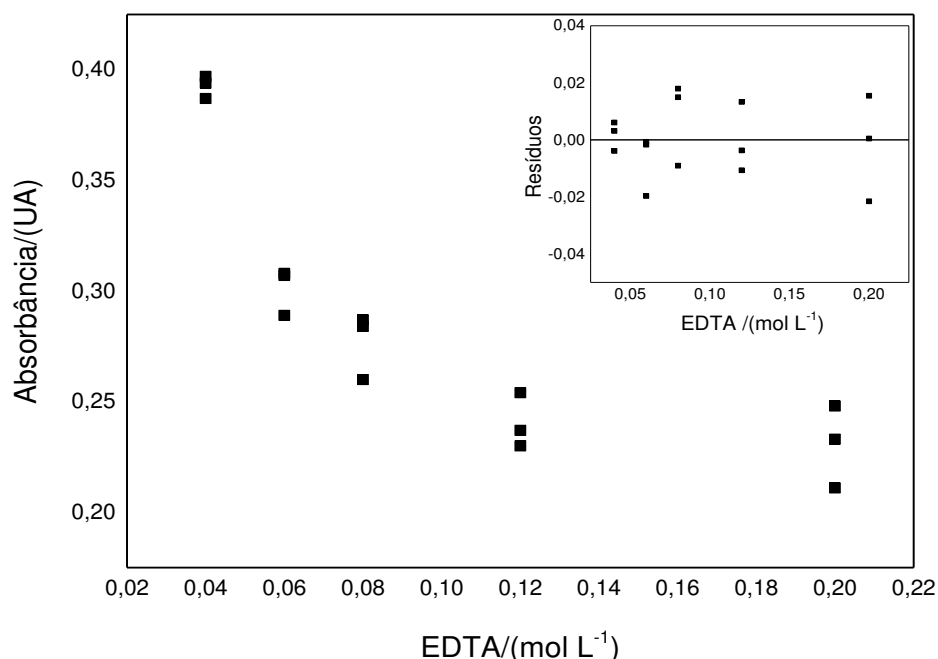


Fonte: a autora

Observa-se que com a diminuição do pH a resposta analítica melhora independentemente da concentração do EDTA no meio. Contudo, quando avaliado o valor da absorbância obtida em pH definido, nota-se que, com o aumento da disponibilidade de EDTA no meio, a absorbância diminui, com isso, tem-se que o melhor ponto do planejamento é o de menor nível, em que a concentração de EDTA está em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ e o pH do meio é mantido em 4.

Um vez que, optou-se por realizar os experimentos de maneira univariada. A alteração da razão manganês (II)/EDTA foi verificada, mantendo-se constante os outros parâmetros, com a concentração de manganês (II) igual a $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 4.7)

Figura 4.7 – Influência do excesso de EDTA em relação ao manganês na formação do complexo. Absorbância versus concentração incerto: Gráfico de resíduos do modelo



Fonte: a autora

Ocorre uma diminuição exponencial nas absorbância conforme o aumento da disponibilidade de EDTA no meio, de acordo com o modelo empírico.

$$\hat{A} = 0,7707 e^{-40,450c(EDTA)}$$

O ajuste do modelo aos dados experimentais foi adequado, com R^2_{aj} igual a 0,9676 e o desvio padrão dos resíduos igual a 0,012 UA. O gráfico de resíduo mostrou a aleatoriedade dos resíduos, justificando o modelo usado.

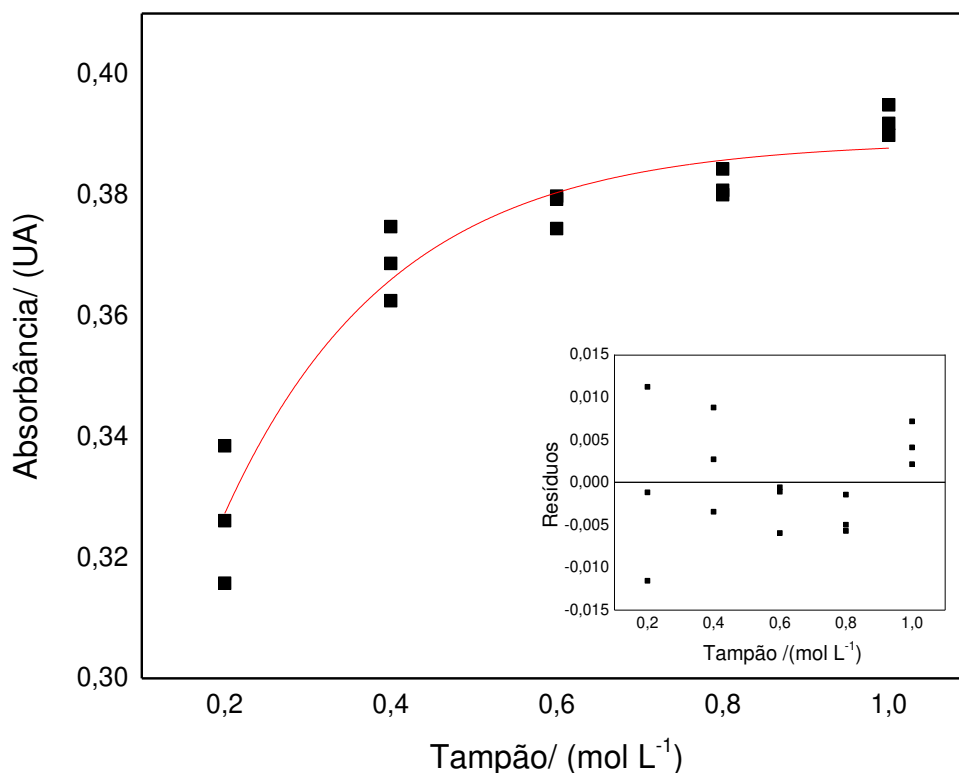
4.2.1.1 Influência do tampão acetato

A concentração do tampão acetato foi estudada entre 0,2 e 1,0 mol L⁻¹ e pH do tampão foi igual a 4, mantendo a razão de EDTA/Mn na proporção 1:1 com os valores de concentração das espécies no meio de acordo com a Tabela 4.4

Observa-se um aumento da absorbância com o aumento da concentração do tampão na região acima de 0,4 mol L⁻¹ com um comportamento linear com a absorbância do complexo Mn (III)-EDTA (Figura 4.8 –). O aumento da concentração do tampão causa o aumento da força do tampão, ou seja, sua capacidade de resistir à variação de pH do meio, nesse caso, devido à

adição de hidróxido de sódio e presença de excesso de EDTA. A região linear (acima de 0,4 mol L⁻¹) está associada à região tamponante do acetato.

Figura 4.8 – Distribuição dos dados obtidos para o estudo da influência da concentração de ácido sobre o sinal analítico. Absorbância versus concentração. Incerto: Gráfico de resíduos do modelo.



Fonte: a autora

Foi ajustado um modelo de regressão tipo DoseResp (OriginLab), descrito:

$$\hat{y} = A_1 + (A_2 - A_1) 10^{(a-x)/p}$$

Em que, os parâmetros A_1 e A_2 definem o intervalo da resposta e os termos 'a' e 'p' são o ponto de inflexão e a inclinação, respectivamente.

O modelo de regressão não linear obtida esta apresentada na Equação 4-10

$$\hat{A} = -0,905 + (0,3905 - 0,905) \cdot 10^{(-0,41 - c(HAc))/2,117} \quad \text{Equação 4-10}$$

O valor de R^2_{aj} igual a 0,937. O gráfico de resíduo mostrou a aleatoriedade dos resíduos, mas um comportamento heterocedástico. O modelo ajustado deve ser considerado com certo cuidado, uma vez que está sendo considerado apenas uma parte final da sigmóide. Esse modelo é coerente com o comportamento esperado do tampão, onde, em valores de pH menores que o pH do tampão espera-se uma formação muito pequena do complexo, portanto, o ponto de

inflexão (-0,41) deveria ocorrer em valores hipotéticos de concentração de tampão de acetato negativos.

Os valores de pH medidos após a adição do tampão podem ser observados na tabela Tabela 4.6

Por estar na região tamponante a variação da concentração de HAc no frasco reacional é pequena e a variação do pH não é muito influenciada com o aumento da força do tampão.

Tabela 4.6 – Variação do pH final no frasco de trabalho de acordo com a concentração do tampão

HAc adicionado (mol L ⁻¹)	HAc cubeta (mol L ⁻¹)	pH médio
0,4	0,02	4,46
0,6	0,03	4,36
0,8	0,04	4,33
1,0	0,05	4,23

Fonte: a autora

De acordo com o balanço de carga a quantidade de ácido a ser adicionada é de 0,2 mol L⁻¹ para alcançar o pH 4, no entanto, o tempo para a dissolução do precipitado ultrapassa 25 minutos. Quando a concentração é maior ou igual a 0,4 mol L⁻¹ o tempo de dissolução fica dentro do estipulado para esta análise, 12min. ou seja, o aumento da concentração de ácido acético no meio pode favorecer o complexo ou inibir desproporcionamento do manganês (III) a manganês (II) e (IV), apresentado na Equação 4-11 com valores de potencial de redução muito próximos, mesmo que de modo pouco pronunciado com um aumento do sinal de apenas 8 %.



$$E^{\circ} = 1,05 \quad Mn^{II} / Mn^{III}$$

$$E^{\circ} = 1,09 \quad Mn^{II} / Mn^{IV}$$

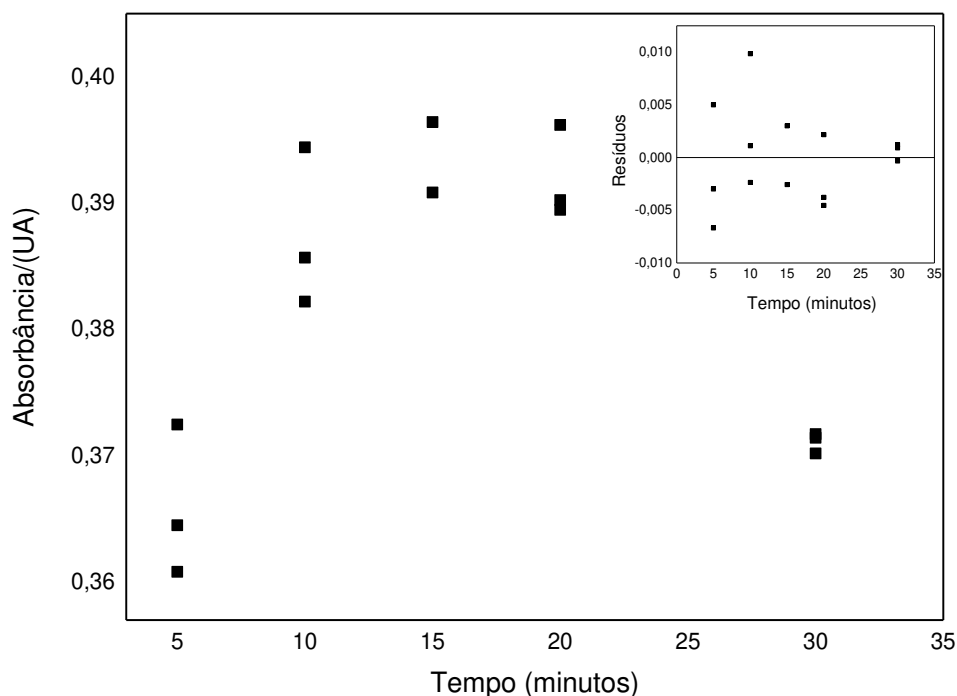
Apesar de os testes preliminares serem realizados com ácido sulfúrico para a dissolução do óxidos de manganês (II) e de manganês (III), optou-se pelo controle do pH na faixa de 4,0 a 5,0, ao redor do pH utilizado por Malaiyandi; Sastri (1983) e Rahim; Mohamed (1978) para otimizar a formação do complexo EDTA com manganês (III), dessa forma foi escolhido o ácido acético (pKa = 4,76) de acordo com sua região tamponante. O aumento da absorbância observada com o aumento da concentração de tampão sugere que o acetato não complexa o Mn (III) mesmo na concentração mais elevada, compatível com a baixas constantes de

estabilidade do acetato, um ligante monodentado, comparado com aquela para o EDTA, um ligante polidentado, devido ao efeito quelato.

4.2.1.2 Tempo de formação do precipitado

A influência do tempo de formação e o envelhecimento do óxido-hidróxido de manganês (III) (MnOOH) foram estudadas, ou seja, o tempo entre a adição de hidróxido de sódio e de manganês (II) e a dissolução do sólido com a adição do tampão acetato. Figura 4.9

Figura 4.9 – Estudo da influência do tempo de formação e envelhecimento do óxido-hidróxido de manganês (III). Absorbância versus tempo. Inseto: Gráfico de resíduos do modelo



Fonte: a autora

Observa-se um aumento da absorbância com o tempo, até cerca de 15 minutos e uma diminuição após cerca de 20 minutos. A variação de absorbância entre 5 e 15 min (ou 20 e 30 min) foi cerca de 6%. Embora seja uma variação pequena, sob o ponto de vista de otimização de métodos, o resultado indica que há um tempo para formação do óxido e ou um envelhecimento do óxido-hidróxido causando uma limitação na cinética de formação do complexo ou a degradação do complexo pelo desproporcionamento do manganês (III) a manganês (II) e (IV).

Em todo caso, o tempo de 15 minutos foi considerado para estudos seguintes. O gráfico de resíduo apresentou aleatoriedade dos resíduos, mostrando conformidade com o modelo polinomial de segunda ordem apresentado na abaixo:

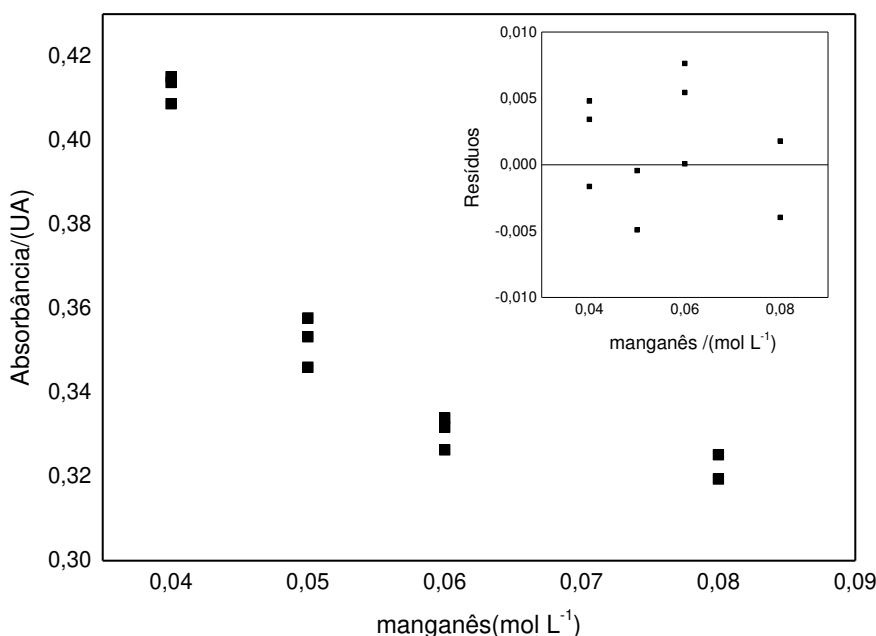
$$\hat{A} = (0,337 \pm 0,004) + (0,0063 \pm 4,6 \cdot 10^{-4}) t - (1,7 \pm 0,12) 10^{-4} t^2$$

Com valor de coeficiente de determinação ajustado (R^2_{aj}) igual a 0,955 e estimativa do desvio padrão dos resíduos igual a 0,003AU.

4.2.1.1 Avaliação da relação manganês e hidróxido na formação do complexo

O estudo apresentado na Figura 4.10 consistiu em verificar o comportamento do sistema quando a quantidade de manganês adicionada era gradativamente aumentada em relação ao hidróxido fornecido, além da quantidade estequiométrica prevista para a formação do precipitado. A relação entre razão Mn/EDTA foi mantida 1:1.

Figura 4.10 – Estudo da relação Mn^{2+}/OH^- , variando a quantidade de manganês (II) adicionada. (A) Absorbância versus concentração (B) Gráfico de resíduos do modelo.



Fonte: a autora

O gráfico mostra as absorbâncias obtidas para o complexo de interesse de acordo com a quantidade de manganês adicionada ao meio reacional, em que se nota uma diminuição da resposta analítica ao longo do aumento de manganês (II) no meio de acordo com o modelo:

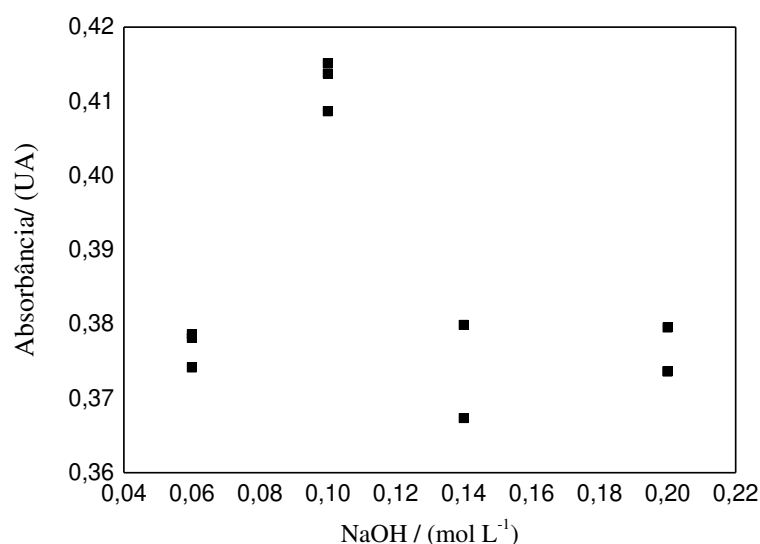
$$\hat{A} = 6,8068 e^{-107,608c(Mn^{2+})}$$

Portanto o excesso de manganês inibe a formação do complexo Mn^{III} -EDTA, com isso optou-se pelo uso de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de Mn^{2+} adicionado.

O ajuste do modelo aos dados experimentais foi adequado, com R^2_{aj} igual a 0,9898 e o desvio padrão dos resíduos igual a 0,004 UA. O gráfico de resíduo mostrou a aleatoriedade dos resíduos, justificando o modelo usado.

Quando fixada a quantidade de manganês disponível para a formação do oxido-hidróxido de manganês variando o hidróxido adicionado observa-se (Figura 4.11) que apenas para a quantidade mais próxima à relação estequiométrica de formação do precipitado é que se tem um aumento na absorbância do complexo, o que indica que qualquer modificação na razão entre as espécies manganês (II) e hidróxido dificulta a formação do precipitado.

Figura 4.11 – Estudo da relação $\text{Mn}^{2+}/\text{OH}^-$, variando a quantidade de hidróxido adicionada. Absorbância versus concentração. Incerto: Gráfico de resíduos do modelo.



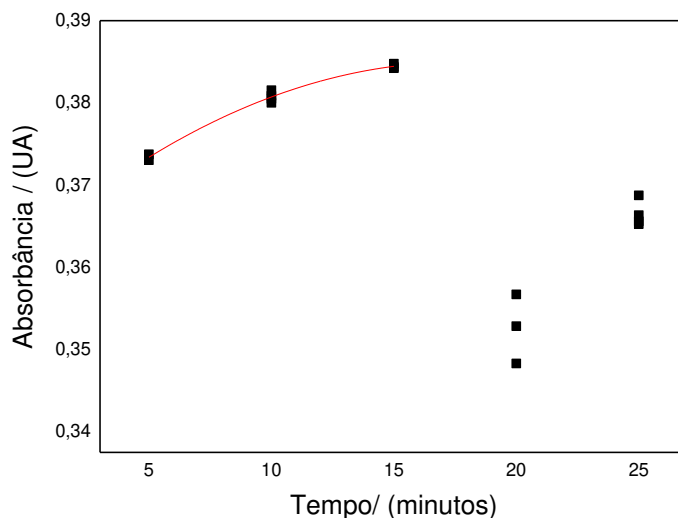
Fonte: a autora

A diferença percentual entre a linha da maior parte dos pontos em relação ao ponto de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ é de, aproximadamente, 10 %.

4.2.1.2 Tempo de dissolução/complexação

Para o estudo da dissolução do precipitado de MnOOH e complexação do manganês (III), formado, pelo EDTA foi realizada uma variação no tempo da etapa de adição do ácido até a primeira leitura de absorbância, de modo obter um tempo ótimo de formação do complexo. O estudo pode ser visto na Figura 4.12.

Figura 4.12 – Estudo do tempo de formação do complexo Mn^{III} -EDTA através da absorbância do complexo



Observa-se um crescimento nos valores de absorbância obtidos até o tempo de 15 minutos, os dois próximos tempos estudados já mostram decréscimo, no entanto para estes pontos não foi possível avaliar um perfil de decaimento, com isso definiu-se como 15 minutos o tempo ótimo de formação do complexo visto que os demais valores de absorbância obtidos podem indicar o início do processo de degradação.

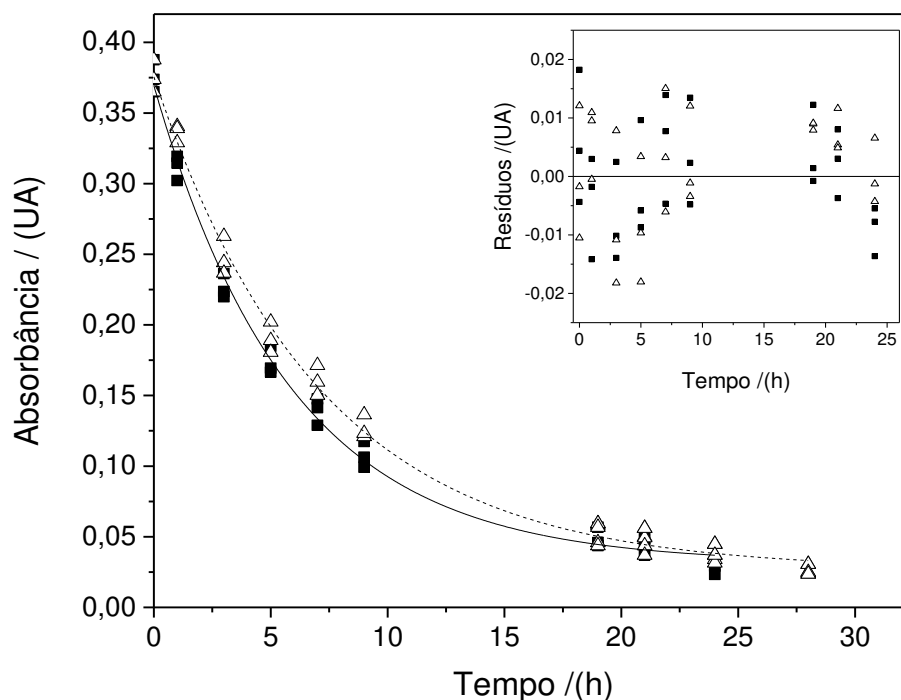
4.2.1.3 Tempo de degradação do complexo

O estudo do tempo de degradação foi realizado considerando o primeiro ponto de leitura da absorbância o tempo de 15 min. definido como o valor ótimo para a formação do complexo, ou seja, este ponto está indicado na Figura 4.13 como sendo o ponto zero para a estimativa do perfil de degradação.

De acordo com (MALAIYANDI; SASTRI, 1983) a incidência de luz exerce grande influência na durabilidade do complexo, portanto esta característica foi avaliada, chegando à conclusão de que para as condições otimizadas neste trabalho este fator não provoca diferenças significativas no tempo de vida do complexo.

Em que o ajuste de cinética de 1ª ordem (Equação 4-12), obtido com o modelo “ExpDec1” no OriginLab Origin®, foi adequado para explicar o comportamento do sistema (Figura 4.13)

Figura 4.13 – Gráfico do tempo de degradação do complexo em função da absorbância, considerando a exposição a radiação (luz ambiente). (■) com irradiação; (△) sem irradiação.



Fonte: a autora

$$\hat{A} = A_{eq}e^{(-x/t_1)} + A_0 \quad \text{Equação 4-12}$$

Em que, a constante de velocidade é a recíproca do parâmetro 't₁'.

Tabela 4.7 – Parâmetros do modelo de regressão não linear

	Incidência de luz	Sem incidência de luz
A ₀	0,0314 ± 0,004	0,0264 ± 0,003
A _{eq}	0,338 ± 0,005	0,350 ± 0,004
t ₁	5,85 ± 0,24	7,08 ± 0,25
k	0,171 ± 0,041	0,140 ± 0,035
R ²	0,9938	0,9945
S _(res)	0,009	0,009

Fonte: a autora

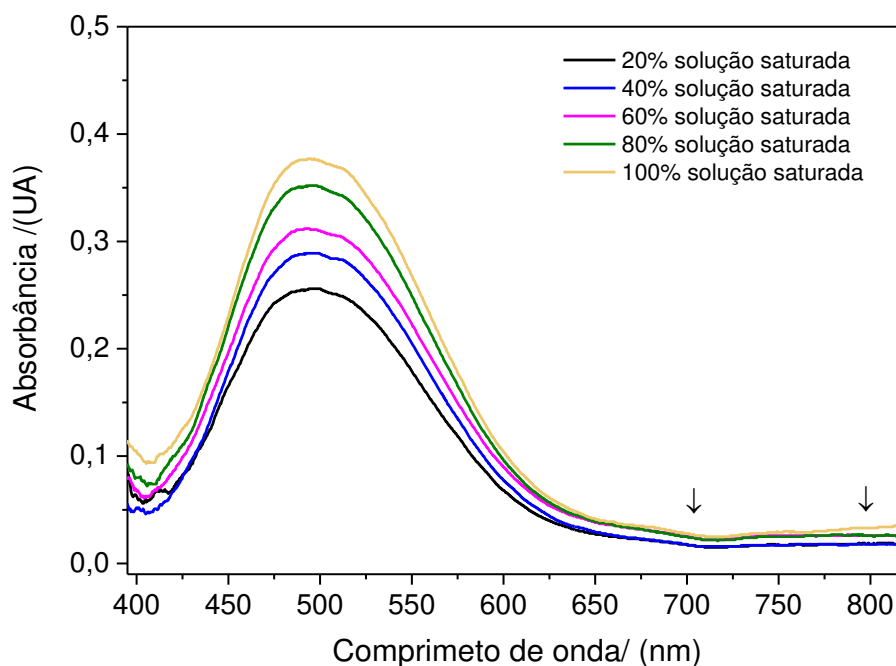
Observa-se que a degradação do complexo segue uma cinética de pseudo primeira ordem com a incidência ou não de luz. Com a incidência de luz, entretanto, a cinética foi

favorecida. Assim, a participação de fótons sugere uma reação paralela de degradação, pois se fosse apenas uma reação de degradação, ela teria sido inibida na ausência de luz.

4.2.2 Método otimizado

Com o sistema descrito no item 4.1.7. e com intuito de diminuir a diluição e a possibilidade de contaminação pelo oxigênio presente nas soluções dos reagentes foi proposta uma diminuição do volume de reagentes de 600 μL para o seguinte procedimento otimizado: adição de 200 μL de MnSO_4 0,12 mol L^{-1} , em seguida de 200 μL NaOH 0,3 mol L^{-1} , havendo a formação do precipitado marrom de hidróxido de manganês. Após a agitação manual invertendo a seringa cerca de 10 vezes, ela foi mantida em repouso por 15 minutos (ao abrigo da luz). Após o tempo de repouso, foi adicionado 200 μL de EDTA 0,12 mol L^{-1} e em seguida, a adição de 200 μL de tampão acetato pH 4,0 1,0 mol L^{-1} e agitado novamente até a dissolução total do precipitado e mantendo-se novamente em repouso por 15 minutos. Nesta etapa observa-se a formação a coloração rosa, devido à formação do complexo Mn^{III} -EDTA. As absorbâncias foram medidas em 490 nm e para garantir eventuais erros devido à elevação da linha de base nas leituras (Figura 4.14), utilizou-se a média das absorbâncias entre 700 nm e 800 nm como referência.

Figura 4.14 – Família de Espectros da curva analítica. As setas nos pontos 700 nm e 800 nm mostram a região usada para fazer a correção das medidas.

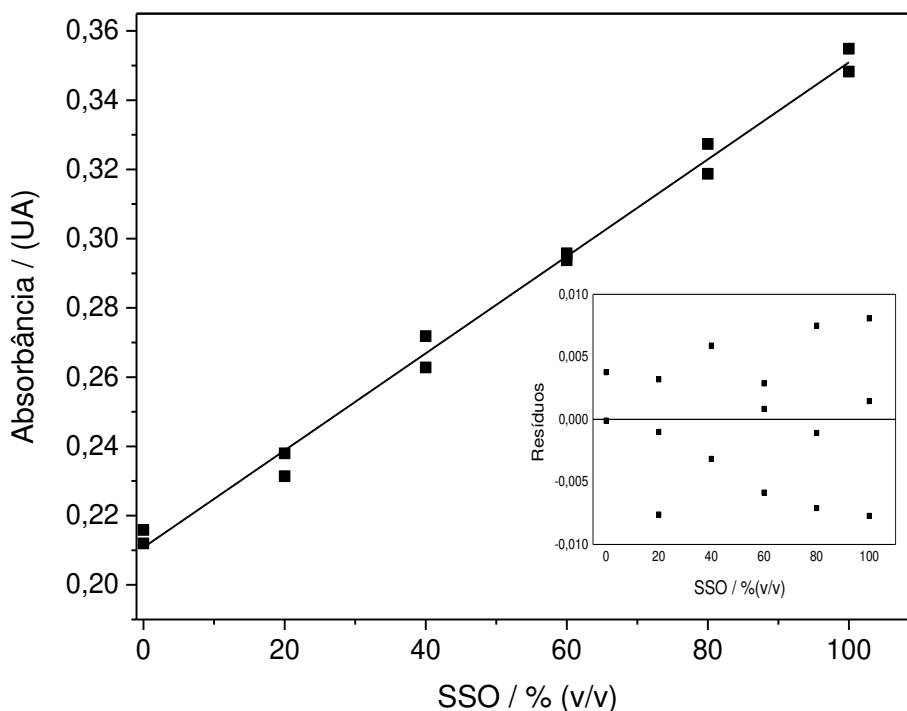


Fonte: a autora

4.2.3 Validação do método proposto

A curva analítica do método espectrofotométrico proposto para determinação de oxigênio dissolvido é apresentada na Figura 4.15. Um modelo linear foi aplicado na faixa de 0 a 100% de solução saturada de oxigênio.

Figura 4.15 – Curva analítica para o MP com detecção espectrométrica no visível



O modelo de regressão linear foi utilizado para avaliar os dados obtidos, a partir do método dos mínimos quadrados. A estimativa obtida para o modelo é apresentada na Equação 4-13. No detalhe, o gráfico de resíduos.

$$\hat{A} = (0,2108 \pm 0,0022) + (0,0014 \pm 3 \times 10^{-5}) \%SSO \quad \text{Equação 4-13}$$

Onde: A é a absorbância e SSO é a porcentagem de solução saturada em oxigênio.

O ajuste apresentou um valor de R^2_{aj} igual a 0,9926, e o desvio padrão dos resíduos igual a 0,004 UA. Esses parâmetros indicam que o modelo se adequa aos dados na faixa analítica selecionada, ou seja, este explica o comportamento dos dados em toda faixa de saturação de oxigênio estudada. O gráfico de resíduos obtido apresenta distribuição aleatória dos valores, assim como as dispersões dos resíduos em cada ponto são similares, ou seja, os resíduos são homocedásticos.

O limite de detecção foi estimado a partir da estimativa do desvio-padrão do branco (s_B) da curva analítica de acordo com a definição pela IUPAC (MILLER; MILLER, 2010)

$$LoD = \frac{3s_B}{S} = \frac{3 \times 0,0022 \text{ UA}}{0,0014 \text{ UA/\%}} = 4,71 \% \text{ saturação}$$

onde S é a sensibilidade analítica (inclinação do modelo linear)

O limite de quantificação foi estimado considerando seu valor como função do limite de detecção.

$$LoQ = 3,33 LoD = 15,68 \% \text{ saturação}$$

A faixa analítica, portanto, foi de 15,7% a 100% (ou 2,28 a 6,24 mg O₂/L)

A resolução analítica (rAn), ou seja, a menor diferença de concentração que pode ser distinguida, definida de maneira similar ao limite de detecção, porém é baseado no desvio padrão dos resíduos S_{res} , e não do branco.

$$rAn = \frac{3s_{res}}{S} = \frac{3 \times 0,0022 \text{ UA}}{0,004 \text{ UA/\%}} = 8,57\%$$

Os valores em mg O₂/L foram calculados segundo o método de Winkler para as soluções saturadas de ar comprimido (100%) e nitrogênio (0% Oxigênio dissolvido).

4.2.3.1 Estudo dos interferentes

O estudo de interferência por concomitantes na amostra é apresentado na Tabela 4.8 em que, a presença foi considerada importante quando determinou uma variação do sinal analítico superior a 5% de erro quando comparada as absorbâncias do branco, solução saturada de oxigênio, e da solução contendo os íons individualmente.

A razão entre os íons concomitantes e a concentração de OD foi feita considerando o valor de oxigênio dissolvido encontrado com a utilização do método de Winkler.

Tabela 4.8 – Valores obtidos para absorbância do complexo com os íons concomitantes em solução.

Íons concomitantes	c(O ₂): c(X)	Absorbância	% erro
Fe ³⁺	50	0,3164	9%
Cu ²⁺	25	0,3197	8%
Zn ²⁺	0,3	0,3146	9%
Al ³⁺	2,5	0,3008	13%

Cr ³⁺	3,3	0,3198	8%
Pb ²⁺	2,5	0,3247	7%
SO ₄ ²⁻	2,0 10 ⁻⁰³	0,3273	6%
PO ⁴⁻	0,5	0,1723	50%
CO ₃ ²⁻	4,0.10 ⁻⁰²	0,2960	15%
NO ₃ ⁻	5,0.10 ⁻⁰³	0,3301	5%
Cl ⁻	5,0.10 ⁻⁰⁴	0,3177	9%

Fonte: a autora

A espécie que apresentou maior valor para a razão com íon oxigênio foi o ferro (III) que possui uma constante de formação elevada para o complexo formado com EDTA ($\beta = 25,1$), assim como o apresentado pelo manganês (III) ($\beta = 25,2$)

4.2.4 Detecção do complexo utilizando modelo RGB

Utilizou-se o sistema de análise por RGB como descrito no 4.1.8. A obtenção do sinal foi realizada seguindo o metodologia otimizada proposta neste trabalho.

O sinal analítico fornecido com o uso e imagem digital corresponde a intensidade de luz de cada filtro RGB, com o uso do software ICCA foi possível obter sinais 4 sinais: da cubeta com amostra, cubeta com branco (água Tipo 1), da luz sem passar pelas cubetas e da região sem incidência de luz. (ZAMPIER, 2017)

Através desses sinais analíticos obtidos foram avaliadas as respostas em cada canal RGB através do uso das seguintes funções de resposta.

Variação de Intensidade (com Branco) / bit – ΔI_B	$\Delta I_B = I_B - I$	Equação 4-14
--	------------------------	--------------

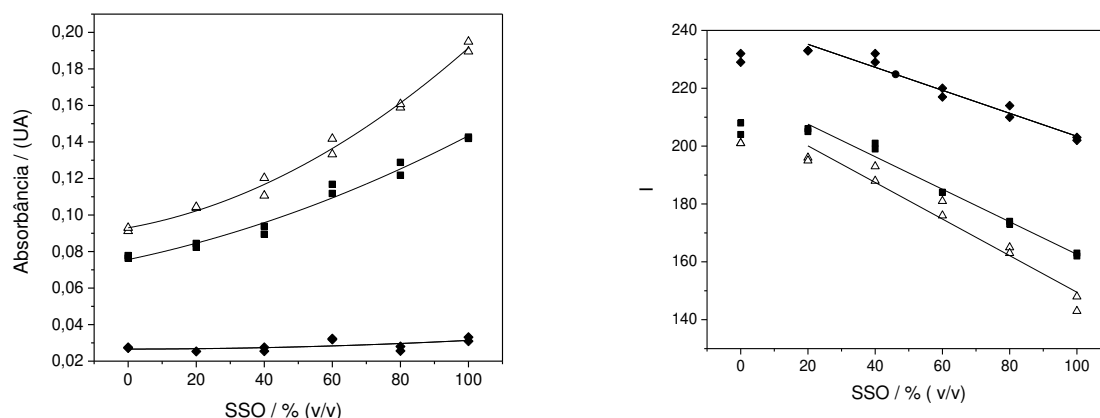
Absorbância absoluta – A	$A = \log (\Delta I_B)$	Equação 4-15
--------------------------	-------------------------	--------------

Absorbância – A_{abs}	$A_{abs} = -\log \left(\frac{I}{I_B} \right)$	Equação 4-16
-------------------------	--	--------------

I_B é a intensidade obtida na cubeta com o branco (água Tipo 1) e I é a intensidade obtida na cubeta com a amostra.

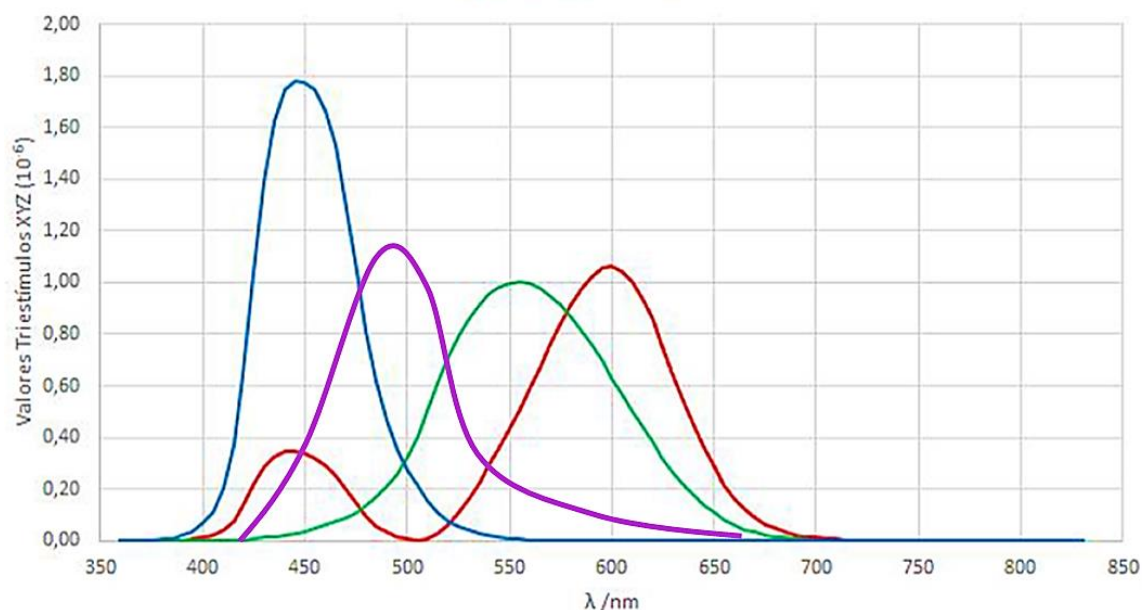
Com o uso da Equação 4-16 foi plotado um gráfico entre a porcentagem saturação de oxigênio e a absorbância para os três canais RED, GREEN e BLUE que pode ser visto na Figura 4.16

Figura 4.16 – Comportamento da absorbância a partir das imagens digitais para os três canais. (◆) RED ; (△) GREEN; (■) BLUE.



Os três canais (R,G,B) apresentam relação com o OD, de acordo com um modelo quadrático. A sensibilidade do canal GREEN se mostrou maior apresentando uma faixa analítica maior, o canal BLUE apresentou sensibilidade intermediária, o que se justifica pela composição rosa do complexo com absorção na faixa de 490 nm (Figura 4.17) dentro das faixas de transmissão para os filtros azul e verde.

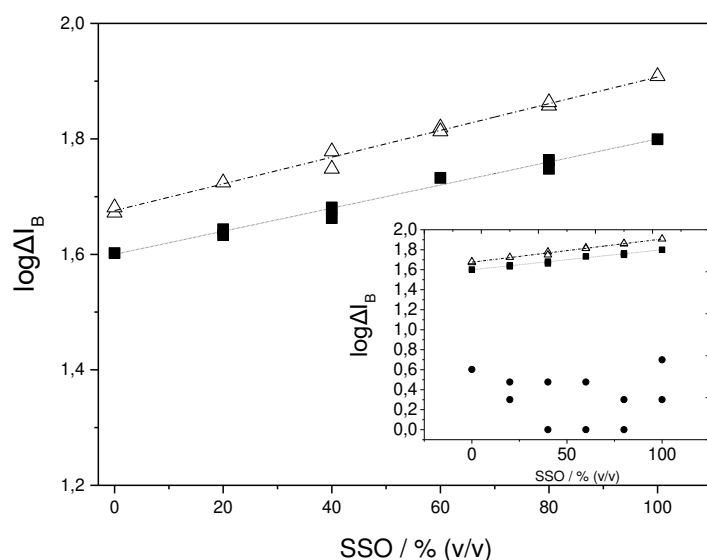
Figura 4.17 – Funções de onda para os filtros RGB normalizados. As cores correspondem aos respectivos filtros RED, GREEN e BLUE, a cor rosa representa o complexo de manganês (III)



Fonte: adaptado de DAMASCENO, 2015

Na Figura 4.18 com o uso da Equação 4-16 foi plotado um gráfico entre a porcentagem saturação de oxigênio e a absorbância absoluta, $\log \Delta I_B$, para os três canais.

Figura 4.18 – Absorbância absoluta em função do SSO. Canais ($\triangle$) GREEN; ($\blacksquare$) BLUE
 Inseto: Comportamento da absorbância absoluta considerando também o filtro RED - $\blacklozenge$.



Fonte: a autora

Observa-se que a passagem de radiação pelo filtro vermelho não apresenta relação com a quantidade de oxigênio em solução sendo quase toda a totalidade da radiação incidente transmitida ao detector estando as informações do filtro RED abaixo do limite de detecção do método.

Na Tabela 4.9 se encontram as figuras de mérito obtidas pelo modelo linear considerando a relação entre a absorbância absoluta e a porcentagem de saturação de oxigênio em solução.

Tabela 4.9 – Figuras de mérito para os dados obtidos com filtro G e B.

	GREEN	BLUE
$R^2_{aj}{}^a$	0,9912	0,9841
$s_{res}{}^b / (UA)$	0,008	0,009
Intercepto	$1,6758 \pm 0,004$	$1,6001 \pm 0,005$
Sensibilidade	$0,00231 \pm 6,572 \times 10^{-5}$	$0,002 \pm 7,659 \times 10^{-5}$
LoD^c	5,2	7,5
LoQ^d	17,4	24,9
rAn^e	10,4	13,5

Fonte: a autora

Legenda: a – coeficiente de determinação ajustado; b – soma dos quadrados dos resíduos ajustado; c – limite de detecção; d – limite de quantificação; e – resolução.

O filtro GREEN apresentou figuras de mérito melhores, contudo o valor do intercepto, considerado mínimo para oxigênio dissolvido apresentou um valor elevado limitando a faixa de análise.

4.2.4.1 Estudo dos interferentes

O estudo dos interferentes foi realizado para as mesmas amostras analisadas por espectroscopia, porém os erros se apresentaram um pouco maiores para os ânions

Os valores de absorbância absoluta assinalados com asterisco, ficaram abaixo do valor do branco no modelo obtido para curva analítica. No caso do ferro (III), a interferência pode estar associada à presença de precipitado desse íon ou de sua complexação com o acetato, conforme discutido por Andrade. (ANDRADE *et al*, 2005)

Tabela 4.10 – Valores obtidos para absorbância absoluta do complexo com íons concomitantes em solução.

Íons concomitantes	c(X):c(O ₂)	log ΔI _B		% erro	
		GREEN	BLUE	GREEN	BLUE
Fe ³⁺	50	1,6128*	1,4914*	16%	17%
Cu ²⁺	25	1,7482	1,6902	8%	6%
Zn ²⁺	0,3	1,7709	1,6902	7%	6%
Al ³⁺	2,5	1,7853	1,7243	7%	5%
Cr ³⁺	3,3	1,7482	1,7324	8%	4%
Pb ²⁺	2,5	1,7243	1,6721	10%	7%
SO ₄ ²⁻	2,0 10 ⁻⁰³	1,4914*	1,4472*	22%	20%
PO ₄ ⁴⁻	0,5	1,6902	1,6021	12%	11%
CO ₃ ²⁻	4,0.10 ⁻⁰²	1,7076	1,6232	11%	10%
NO ₃ ²⁻	5,0.10 ⁻⁰³	1,7634	1,6990	8%	6%
Cl ⁻	5,0.10 ⁻⁰⁴	1,5563*	1,5441*	19%	15%

Legenda: *valores abaixo do mínimo na equação de regressão linear

4.2.5 Comparação entre o Método Proposto utilizando dois métodos de detecção e a metodologia padrão de Winkler

A comparação entre as curvas analíticas obtidas com os dois métodos de detecção é apresentada na Tabela 4.4, para o qual se utilizou um espectrofotômetro com resolução espectral de cerca de 1 nm (US2000+, Ocean Optics, Brasil) e imagem digital utilizando o filtro BLUE e GREEN.

Tabela 4.11 – comparação das figuras de mérito obtidas de acordo com os dois métodos de análise utilizados.

	Espectrofotometria	Filtro BLUE	Filtro GREEN
LOQ	15,68	24,9	17,4
LOD	4,71	7,5	5,2
<i>rAn</i>	8,57	13,5	10,4
R ²	0,9926	0,9841	0,9912
S _(res)	0,004	0,009	0,008

Fonte: a autora

A diferença entre o mínimo de detecção entre o filtro verde e a espectrofotometria é de 10%, sendo 0,33 mg de O₂/L e 0,29 mg de O₂/L obtidos para cada técnica, respectivamente.

Os valores com o filtro azul foram muito distintos entre as técnicas, gerando valores em torno de 40% de diferença, apesar de assim como as demais possuir boa linearidade.

Tabela 4.12 – concentração de oxigênio obtida segundo o método proposto em comparação ao método clássico de Winkler.

	Concentração de oxigênio amostra de água para abastecimento (mg O ₂ /L)		Água Tipo 1/ (mg O ₂ /L)
	UFV	Município de Viçosa	
Método Winkler	6,33	6,85	5,79
Detecção filtro B	1,35	1,81	1,66
Detecção spectro. Visível	6,30	5,92	5,34

O uso de espectrofotometria de absorção molecular na região do visível para a quantificação de OD variou de 0,5 % de erro na amostra de água obtida na UFV a 13% de erro na amostra obtida no município de Viçosa quando comparado com o método de Winkler. Para as amostras de água Tipo 1 o erro foi de aproximadamente 8% com o uso de espectrofotometria.

Para os valores obtidos com o uso do filtro azul os erros ficaram em torno de 70% o que impediria seu uso nas análises, esta distorção de valores pode ser atribuída a não homogeneidade da fonte de luz, entre a mostra e o branco, observada na análise dos resultados. O filtro verde não pode ser utilizado para a medição das amostras, pois os valores de absorbância absoluta obtidos erram inferiores ao mínimo previsto pela curva analítica. Neste caso, observa-se que o procedimento para a obtenção do branco nas imagens digitais ainda deve ser melhorado.

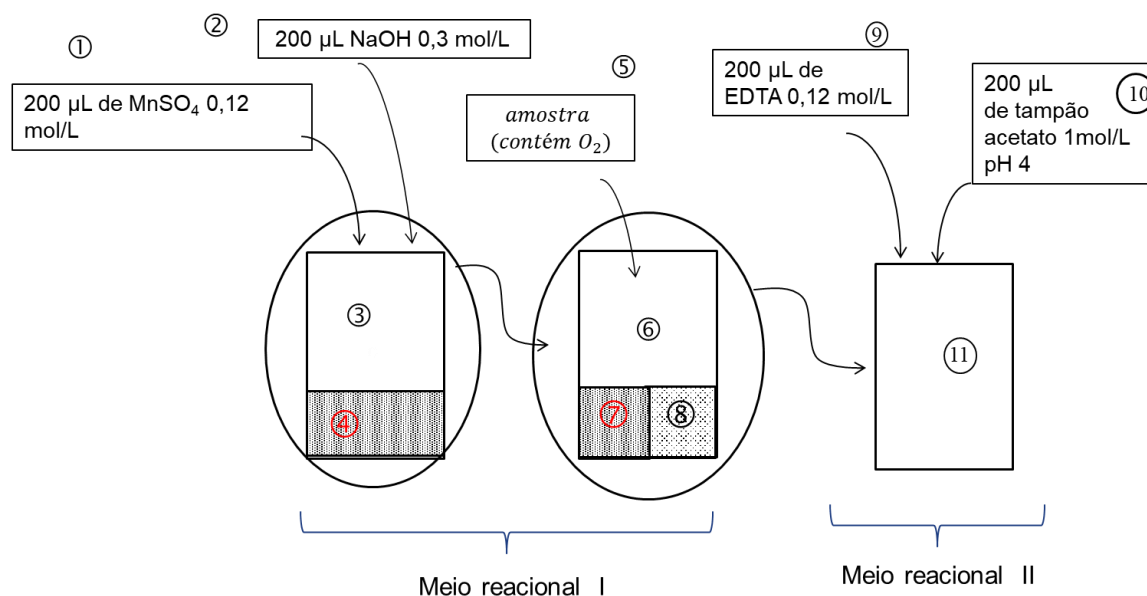
Os diferentes erros apresentados nas amostras podem ser devido a presença de oxigênio parasitário vindo dos reagentes, da diluição das soluções, assim como do próprio procedimento de análise, que deve ser aprimorado. A quantidade de oxigênio nos reagentes pode ser observada pela diminuição de 0,029 UA quando diminuído o volume total dos reagentes em 1,6 mL, o que daria uma diferença de 8 % de oxigênio presente, mostrando que este parâmetro exige melhor controle durante o experimento.

5. Simulação dos sistemas químicos

5.1 Equilíbrios Presentes no Método Proposto (MP)

Como exposto no item 3.4.2 para facilitar o processo de avaliação dos equilíbrios presentes no método proposto, ele foi dividido em duas partes, como apresentado no diagrama esquemático (Figura 5.1), chamadas de meio reacional I e II.

Figura 5.1 – Diagrama esquemático para o Método Proposto.

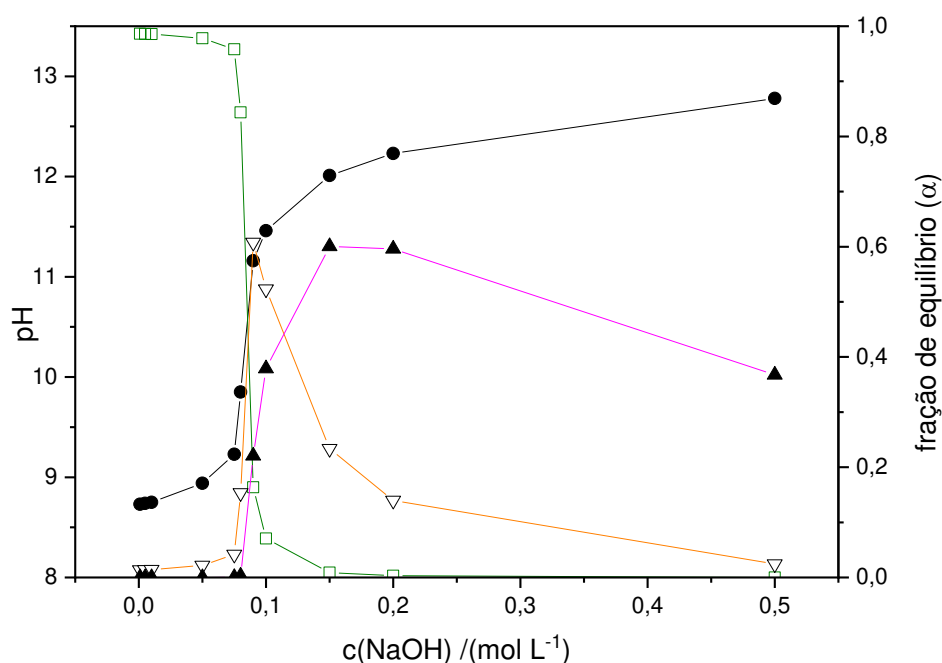


Fonte: a autora

5.1.1 Avaliação do meio reacional I

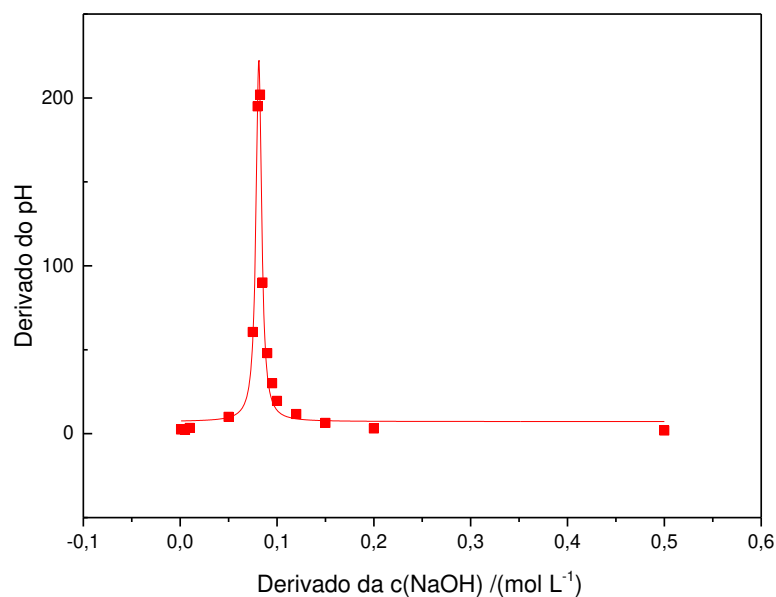
Como observado na equação, o pH é a única incógnita com isto avaliou-se por meio da figura... o efeito da adição de hidróxido de sódio sobre o sistema

Figura 5.2 – Efeito da adição de NaOH sobre o pH e frações de equilíbrio do sistema Mn (II).
 (●) pH; (□) α_0 ; (▲) α_1 ; (▽) α_2 ;



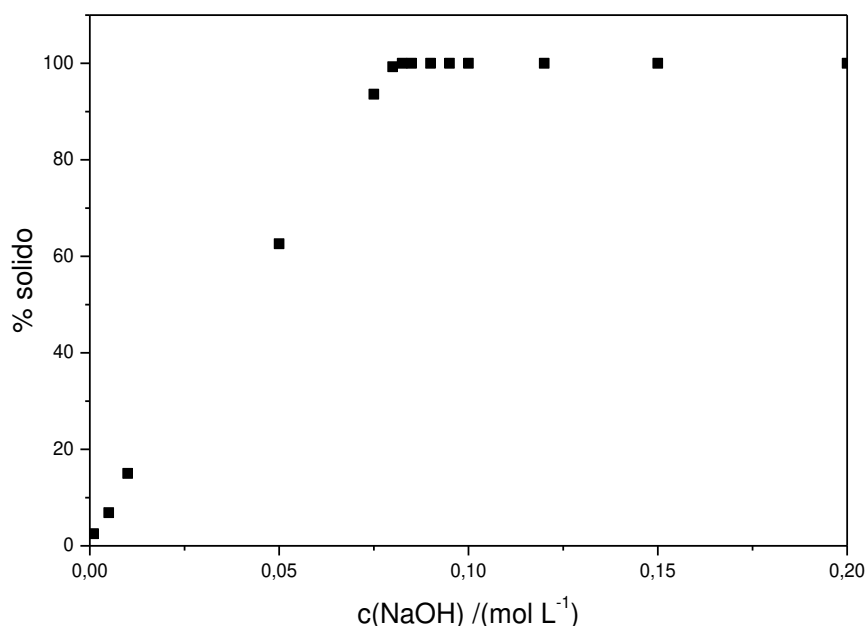
Foram apresentadas as frações de equilíbrio até aquela da espécie neutra (α_2) apenas para melhor visualização. O perfil observado é similar a uma curva de titulação, com um ponto de equivalência em $0,0812 \pm 0,0001 \text{ mol L}^{-1}$ o ponto de equivalência é apresentado de forma mais explicitada na Figura 5.3 em que é apresentado o pico da primeira derivada no ponto de inflexão.

Figura 5.3 – Derivada primeira da concentração de hidróxido de sódio em função do pH do meio.



Para concentrações de NaOH superior a $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, observa-se na Figura 5.2 a diminuição da fração de equilíbrio da espécie neutra, sugerindo a dissolução do precipitado de hidróxido de manganês (II). Entretanto, na Figura 5.4 é apresentado a porcentagem de manganês (II) na forma de sólido. Após o ponto de equivalência, o número de mols do sólido permanece constante, não sendo possível observar sua redissolução com o aumento do pH do meio.

Figura 5.4 – Comportamento do precipitado de hidróxido de manganês em função da base adicionada.



Adicionalmente, o resultado mostra também a possibilidade de titular esse metal em uma titulação ácido-base de Bronsted, com um bom salto potenciométrico (cerca de duas unidades de pH) em uma faixa de concentração bem estreita, cerca de $0,014 \text{ mol L}^{-1}$.

5.1.2 Análise do meio reacional II

Em todos os casos simulados, há a complexação total dos dois íons, manganês (II) e manganês (III) (acima de 99% da concentração analítica na forma dos complexos). Dessa maneira, a complexação foi considerada estequiométrica e apenas o pH do meio nas diferentes condições foi avaliado.

Para tanto, foi utilizada a diferença entre o balanço de carga da solução tampão utilizada e o balanço após a presença de todas as espécies no meio. Esse procedimento foi proposto por Oliveira (OLIVEIRA, 2009, 2013 e 2020) para avaliar os diversos parâmetros durante o tamponamento de um meio, a partir do conceito de força do tampão. Uma vez que a expressão

obtida é função apenas do pH e das constantes de equilíbrio, o pH foi novamente calculado por métodos iterativos. Desconsiderou-se aqui os sistemas ácido-base de manganês (II) e (III), por estarem em concentrações muito baixas, assim como o sistema oxigênio, pois assumiu-se que o seu consumo foi completo para formação do manganês (III)

$$\Delta W_{at_{11}} + \Delta qe(Ac^-).c_{11}(Ac) + qe.c(contra) + qe(EDTA).\Delta c_{11}(EDTA) = 0$$

Em que, ΔW_{at} e $\Delta qe(Ac^-)$ se referem à diferença entre os valores considerando o pH do tampão e o pH da Etapa 11. O termo $\Delta c_{11}(EDTA)$ se refere à concentração de EDTA que não participou da complexação do manganês (II) e do manganês (III).

Na Tabela 5.1 são apresentados os valores de pH obtidos e comparados com os valores experimentais.

Tabela 5.1 – comparação entre valores de pH experimental e obtidos

Concentração Tampão /(mol L ⁻¹)	pH (calculado)	pH (experimental)	ΔpH
0,2	5,4	---	
0,4	4,74	4,46	0,09
0,6	4,54	4,36	0,28
0,8	4,43	4,33	0,10
1	4,36	4,23	0,13

Observa-se uma boa explicação dos valores obtidos experimentalmente, com diferenças de pH inferiores a 0,3 unidades de pH. Essas diferenças observadas podem estar associadas ao efeito da força iônica do meio, que não foram consideradas, assim como ao próprio erro experimental.

É interessante notar que, mesmo sem todas as constantes de equilíbrio necessárias, foi possível descrever alguns comportamentos observados. Outro aspecto que dificultou a descrição do sistema foi não ter havido a simulação da cinética do sistema, devido à sua complexidade e ausência de dados experimentais.

A simulação foi realizada por partes, uma vez que não havia disponível softwares que considerassem todos os equilíbrios envolvidos simultaneamente. Por exemplo, o software MINTEQA 2.0 (VISUAL MINTEQ - UM MODELO DE ESPECIAÇÃO DE EQUILÍBRIO LIVRE, 2006), de uso em biogeoquímica, não dispunha dos dados sobre manganês (III), o que dificultaria o seu uso na simulação do complexo com EDTA, fundamental nesse trabalho. Ele também não considera, como outros softwares de biogeoquímica, aspectos cinéticos.

Assim, pode ser mostrado que a simulação pode auxiliar na avaliação de sistemas analíticos, podendo vir a auxiliar no processo de otimização de sistema, uma vez que pode ser possível identificar, por simulação, regiões experimentais mais favoráveis, e portanto, facilitando o desenho experimental.

6. Conclusão

Este trabalho teve por objetivo desenvolver um método para análise de oxigênio dissolvido a partir da formação do complexo MnIII-EDTA, formado por meio da oxidação de manganês II pelo oxigênio presente em solução, e sua posterior quantificação por espectroscopia de absorção molecular na região do visível e imagens digitais.

A otimização do método foi feita a partir dos estudos de formação e decomposição do precipitado de manganês III, em uma etapa intermediária à formação do complexo, e de estudos de complexação do metal por EDTA, em relação à sua formação e decomposição.

Com o complexo otimizado foi possível construir uma curva analítica linear o que viabilizou a validação do método gerando um bom perfil analítico e sua aplicação em amostras de água para abastecimento obtendo resposta satisfatória, contudo o dispositivo de seringas utilizado na execução dos testes ainda deve ser aprimorado de forma a evitar contaminações por oxigênio ambiente. Quanto aos detalhes de execução do experimento, estes também devem ser revisados de modo a deixar o procedimento mais seguro quanto à presença de oxigênio parasitário.

No que diz respeito à avaliação do comportamento do método quando utilizada detecção por imagens digitais por RGB, apesar de apresentar boa linearidade quando utilizada a correlação da absorbância absoluta com a porcentagem de saturação de oxigênio obtendo bons coeficientes de determinação tanto para o filtro verde quanto para o filtro azul, não obteve-se resposta satisfatória para as amostras de água de abastecimento indicando que a análise do sistema por RGB deve ser aprimorada.

A avaliação química dos equilíbrios que ocorrem no procedimento experimental por simulação computacional, explica alguns comportamentos observados, como o efeito da alcalinização sobre a formação do precipitado, sugerindo, inclusive, um método para a determinação titulométrica do manganês (II). O comportamento do pH em um sistema bastante complexo foi explicado, utilizando-se o conceito de força do tampão.

Assim, pode-se mostrar que a simulação pode auxiliar na avaliação de sistemas analíticos, podendo vir a auxiliar no processo de otimização de sistema, uma vez que pode ser possível identificar, por simulação, regiões experimentais mais favoráveis, portanto, facilitando o desenho experimental.

Quanto ao método de detecção e quantificação de oxigênio dissolvido por meio do complexo MnIII-EDTA este se mostrou satisfatório com o uso de espectrofotometria na região do visível, podendo ser utilizado em amostras de água em geral.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Aprimoramento do sistema de execução do método, testes com diferentes materiais de seringa e ponteira, análise da influência desses materiais na contaminação da análise por contato com o ambiente.

Correção das deficiências do método com a utilização de imagem digital, através do uso de aparelhos de geração de imagem com correção do branco e outras variáveis do uso de imagens digitais (fonte de luz, distância da fonte, material da cubeta, entre outros).

Desenvolver um sistema em fluxo visando aumentar a repetibilidade e frequência analítica, assim como possibilitar o uso do método *in loco*.

Uso de vácuo para eliminar a presença de oxigênio dos reagentes e padrões e armazenagem em frascos de penicilina.

Avaliação do comportamento do complexo em sua região de absorção no ultravioleta de forma a melhorar os limites de detecção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, Carlos Eduardo O. et al. A new spectrophotometric method for determination of EDTA in water using its complex with Mn(III). **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Viçosa, v. 168, p. 253–257, 2016.
- APHA, AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AWWA, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WEF, WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23rd. ed. Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2017.
- BRAGA, Benedito. **Introdução à engenharia ambiental**. 2ª ed. São Paulo: Person Prentice Hall, 2005.
- BROWN, Paul L.; SYLVA, Ronald N.; ELLIS, John. An equation for predicting the formation constants of hydroxo-metal complexes. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, [s. l.], n. 4, p. 723, 1985.
- CARVALHO, A. HERCULANO DE, CALADO, J. Gonçalves; MOURA, M. Legrand De. Methode colorimetrique de dosage de l'oxigene dissous dans les eaux demineralisees. **Revista Portuguesa de Química**, Lisboa, v. 5, n. 1, p. 15–19, 1963. Disponível em: <<https://www.spq.pt/magazines/RPQuimica/239/pdf>>
- CLARK JR, Leland C. et al. Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography. **Journal of applied physiology**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 189–193, 1953.
- DAMASCENO, Deangelis. **Controle de qualidade de águas potáveis utilizando análise multivariada de imagens**. 2015. Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), [s. l.], 2015.
- DERISIO, José Carlos. **Introdução ao controle de poluição ambiental**. 4ª ed. São Paulo: Oficina de textos, 2013.
- DI BERNARDO, Luiz; DANTAS, Ângela Di Bernardo. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. São Paulo ed. [s.l.] : FapUNIFESP (SciELO), 2006. v. 11
- EKBERG, C.; BROWN, Paul L. **Hydrolysis of Metal Ions**. Weinheim: Wiley-VCH, 2016. v. 2
- GONZALEZ, Rafael C.; WOODS, Richard E. **Processamento Digital de Imagens**. 3. ed. São Paulo: Pearson, 2010.
- HAMM, Randall E.; SUWYN, Mark A. Preparation and Characterization of Some Amino-Polycarboxylate Complexes of Manganese(III). **Inorganic Chemistry**, Washington, v. 6, n. 1, p. 139–142, 1967.
- HELM, Irja et al. Comparative validation of amperometric and optical analyzers of dissolved oxygen: a case study. **Environmental Monitoring and Assessment**, [s. l.], v. 190, n. 5, p. 313, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10661-018-6692-5>>. Acesso em: 23 set. 2019.
- HELM, Irja; JALUKSE, Lauri; LEITO, Ivo. Measurement Uncertainty Estimation in Amperometric Sensors: A Tutorial Review. **Sensors**, Tartu, v. 10, n. 5, p. 4430–4455, 2010. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1424-8220/10/5/4430>>. Acesso em: 28 abr. 2020.
- HELM, Irja; JALUKSE, Lauri; LEITO, Ivo. A highly accurate method for determination of dissolved oxygen: Gravimetric Winkler method. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 741, p. 21–

31, 2012.

JALUKSE, Lauri et al. On the accuracy of micro Winkler titration procedures: A case study. **Accreditation and Quality Assurance**, [s. l.], v. 13, n. 10, p. 575–579, 2008.

KOTRLÝ, Stanislav; SUCHA, Ladislav. **HANDBOOK OF CHEMICAL EQUILIBRIA IN ANALYTICAL CHEMISTRY**. England: ELLIS HORWOOD LIMITED, 1985.

LABASQUE, Thierry et al. Spectrophotometric Winkler determination of dissolved oxygen: re-examination of critical factors and reliability. **Marine Chemistry**, [s. l.], v. 88, n. 1–2, p. 53–60, 2004.

MALAIYANDI, M.; SASTRI, V. S. Studies on the determination of dissolved oxygen in water. **Talanta**, Canada, v. 30, n. 12, p. 983–985, 1983.

MILLER, James; MILLER, Jane C. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 6. ed. England: Prentice Hall, 2010.

NEVARES, Ignacio et al. On-line monitoring of oxygen as a method to qualify the oxygen consumption rate of wines. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 229, p. 588–596, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617303060?via%3Dihub>>. Acesso em: 27 ago. 2019.

NOOR, Mohd Adam Mohd et al. Characterization of Optical Fiber Dissolved Oxygen Sensor for Aquaculture Sensing and Monitoring. **Procedia Chemistry**, [s. l.], v. 20, p. 8–11, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876619616300092>>. Acesso em: 27 ago. 2019.

OLIVEIRA, André F. et al. Description of Aqueous Solutions Process: subtle differences between XIX and XX Centuries conceptions. Viçosa, 2019.

OLIVEIRA, André Fernando. **Equilíbrios Químicos em Solução Aquosa**. Campinas, SP: Átomo, 2009.

OLIVEIRA, Andre Fernando. Functions of Chemical Interest for Microsoft Excel - Guide of Quick Reference of Alfa® Library (In Portuguese). **Conhecimento**, Viçosa, v. 19, p. 1–29, 2013.

OLIVEIRA, Andre Fernando. **Química de Soluções – Avaliação de Equilíbrios Químicos em Solução Aquosa**. Viçosa: Editora UFV no prelo, 2020.

PÉNICAUD, C. et al. Oxygen transfer in foods using oxygen luminescence sensors: Influence of oxygen partial pressure and food nature and composition. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 123, n. 4, p. 1275–1281, 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610006394>>. Acesso em: 27 ago. 2019.

PESSOA, Kenia Dias et al. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica baseada em imagens digitais de spot tests para determinação de etanol em cachaça. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, Viçosa, v. 3, n. 7, p. 0995–1010, 2017.

RAHIM, S. A.; MOHAMED, S. H. Determination of dissolved oxygen in water. **Talanta**, Itaq, v. 25, n. 9, p. 519–521, 1978.

SANTOS, Jorge Luís Oliveira. Estratégias analíticas para determinação de nitrito e nitrato em matrizes ambientais e alimentícias, empregando análise de imagens digitais. Bahia, 2013.

SHRIWASTAV, Amritanshu et al. A modified Winkler's method for determination of dissolved oxygen concentration in water: Dependence of method accuracy on sample volume. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation**, [s. l.], v. 106, p. 190–195, 2017. a.

SHRIWASTAV, Amritanshu et al. A modified Winkler's method for determination of dissolved oxygen concentration in water: Dependence of method accuracy on sample volume. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation**, Mumbai, v. 106, p. 190–195, 2017. b.

SILVA, Sidnei G.; NÓBREGA, Joaquim A.; ROCHA, Fábio R. P. Exploiting Mn(III)/EDTA complex in a flow system with solenoid micro-pumps coupled to long pathlength spectrophotometry for fast manganese determination. **Microchemical Journal**, São Paulo, v. 98, n. 1, p. 109–114, 2011.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica-Tradução da 8ª edição norte-americana**. 2º rd ed. São Paulo.

SPERLING, Marcos Von. **Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal**. London: IWA publishing, 2007.

STUMM, Werner; MORGAN, James J. **Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters**. 3rd. ed. Canada: Wiley, 1995.

TROMANS, Desmond. Temperature and pressure dependent solubility of oxygen in water: A thermodynamic analysis. **Hydrometallurgy**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 327–342, 1998.

Visual MINTEQ - um modelo de especiação de equilíbrio livre. 2006. Disponível em: <<https://vminteq.lwr.kth.se/>>. Acesso em: 12 maio. 2020.

WANG, Xu Dong; WOLFBEIS, Otto S. Optical methods for sensing and imaging oxygen: Materials, spectroscopies and applications. **Chemical Society Reviews**, [s. l.], v. 43, n. 10, p. 3666–3761, 2014.

WEI, Yaoguang et al. Review of Dissolved Oxygen Detection Technology: From Laboratory Analysis to Online Intelligent Detection. **Sensors**, Beijing, v. 19, n. 18, p. 3995, 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1424-8220/19/18/3995>>. Acesso em: 23 set. 2019.

WETZEL, Robert G.; LIKENS, Gene E. Dissolved Oxygen. In: **Limnological analyses**. third ed. New York: Springer-Verlag, 2000. p. 73.

WINKLER, Ludwig Wilhelm. Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, Budapest, v. 21, n. 2, p. 2843–2854, 1888. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/cber.188802102122>>

ZAMPIER, LORRAYNE MOREIRA. **Desenvolvimento de métodos analíticos baseados na análise por imagens digitais para determinação de ozônio e hipoclorito em água**. 2017. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/14144>>