



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
GRUPO DE PESQUISA EM QUÍMICA ANALÍTICA

MARCOS DIOGO SOUZA PEREIRA

**EMPREGO DE CÂMERA MICROSCÓPICA PARA
DETERMINAÇÃO DE Fe TOTAL EM ÁGUA DOCE POR
COLORIMETRIA DIGITAL EM FASE SÓLIDA**

**SALVADOR – BA
2023**

MARCOS DIOGO SOUZA PEREIRA

**EMPREGO DE CÂMERA MICROSCÓPICA PARA
DETERMINAÇÃO DE Fe TOTAL EM ÁGUA DOCE POR
COLORIMETRIA DIGITAL EM FASE SÓLIDA**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Química, na área de Química analítica da Universidade Federal da Bahia (UFBA), como requisito para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Rodolfo de Melo Magalhães Santana

Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira.

SALVADOR – BA

2023



TERMO DE APROVAÇÃO

MARCOS DIOGO SOUZA PEREIRA

"EMPREGO DE CÂMERA MICROSCÓPICA PARA DETERMINAÇÃO DE Fe TOTALEM ÁGUA DOCE POR COLORIMETRIA DIGITAL EM FASE SÓLIDA"

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br RODOLFO DE MELO MAGALHAES SANTANA
Data: 20/12/2023 10:19:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rodolfo de Melo Magalhães Santana _____
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Documento assinado digitalmente
gov.br LEONARDO SENA GOMES TEIXEIRA
Data: 20/12/2023 08:45:01-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira _____
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Documento assinado digitalmente
gov.br FABIO DE SOUZA DIAS
Data: 19/12/2023 17:56:35-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Fabio de Souza Dias _____
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Documento assinado digitalmente
gov.br ALLISON GONCALVES SILVA
Data: 19/12/2023 17:09:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Allison Gonçalves Silva _____
Doutorado em Química, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia (IFBA)

Salvador, 19 de dezembro de 2023.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Ciências e Tecnologias Prof. Omar Catunda, SIBI - UFBA.

P436 Pereira, Marcos Diogo Souza
Emprego de câmara microscópica para determinação de Fe total em água potável por colorimetria digital em fase sólida/ Marcos Diogo Souza Pereira. – Salvador, 2023.

86 f.

Orientador: Prof. Dr. Rodolfo de Melo Magalhães Santana

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, 2023.

1. Química Analítica. 2. Água – Teor mineral. I. Santana, Rodolfo de Melo Magalhães. II. Teixeira, Leonardo Sena Gomes. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDU 543

**“Quando leio, somente escuto o que
estou lendo e sou incapaz de lembrar da
imagem visual da palavra escrita”**

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, e sua energia positiva que me fortalece a cada dia.

Agradeço muitíssimo a minha família, principalmente minha mãe, Célia Alves (como curiosamente gosto de chama para exaltar sua força) mulher forte e guerreira que abdicou de sua vida para viver pela de seus filhos, sempre me deu tudo, muito amor, carinho, companheirismo e muita educação. Hoje se tenho algum benefício é graças a seus ensinamentos; ao meu pai, Marcos Antônio que é um meu espelho de vida, mesmo não conversando muito suas atitudes me educou, me ensinou como ser um excelente pai, marido, amigo, patrão e fazendeiro. Que eu amo kkkkk!!!

Fico até perdido quando vou agradecer minha namorada (esposa), você é e foi a pessoa mais importante para eu consegui escrever essa dissertação e viver esse momento. Eu agradeço do fundo do meu coração, Sara Laíssa, espero poder viver o resto da minha vida com você.

Aos meus irmãos, Marcos Henrique e Marcos Vinícios, por todo amor e parceria que temos, mesmo vivendo longe de vocês sempre estamos nos ajudando.

Agradeço aos meus familiares, tios e tias, principalmente meu tio Dal. Que sempre me deu muito amor e sempre teve muita fé em mim.

Aos meus amigos Thiago de zal, Jeffão, Jeffinho, ao meu grande amigo que Salvador me deu, Gutemberg Lafite; incluo os amigos que dividi apartamento Alessandro e Tomaz.

Ao meu orientador, professor Dr. Rodolfo de Melo, pela sua orientação, confiança, incentivo e sabedoria para lhe dá com diferentes dificuldades encontradas.

Também agradeço ao professor Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira. Pela co-orientação, que foi de extrema importância para nos impulsionar e ajustar o método desenvolvido.

Não poderia deixar de agradecer ao professor Dr. Mauro Korn, que me ajudou tanto que faltaria páginas para descrever sua importância na minha vida acadêmica, a cada aula que planejo lembro de sua orientação e conselhos.

Agradeço imensamente a professora Dra. Wanessa Melchert Mattos da ESALQ, que nos fez uma doação das válvulas solenoides.

Também agradeço ao prof. Dr Madson de Godoy Perreira, que nos emprestou equipamentos do seu laboratório.

Aos meus colegas de laboratório, tanto do 416 do PGQUIM quanto do SONOFIA; Lidio, Edu Bahea, Camila, Rebeca, Rafinha, Lenai, Vinicius, Leila, Leo, Pietra, Diego, Kerolaine.

Agradeço ao Tiago Dantas que trabalhava na FUNASA e me ajudou na coleta das amostras.

Aos professores e funcionários do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia que contribuíram para a realização desse trabalho.

A CAPES e CNPq pelo apoio financeiro fornecido durante o desenvolvimento deste trabalho.

MUITO OBRIGADO A TODOS!!

PEREIRA, Marcos Diogo Souza. Pasta do professor: **emprego de câmera microscópica para determinação de Fe total em água doce por colorimetria digital em fase sólida**. Orientador: Rodolfo de Melo. 2023. 179 f. il. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2023.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método colorimétrico para determinação de Fe total em água potável usando 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN) imobilizado em sílica C18. Para isso, foi desenvolvido um método analítico baseado na técnica de colorimetria digital em fase sólida. A ferramenta de captura de imagem empregada foi um microscópio digital 500x 2mp USB conectado a um smartphone. As imagens capturadas foram gravadas em vídeo e processadas através do software ImageJ, explorando os canais RGB. O gerenciamento de soluções para análise foi realizado por sistema de multicomutação em fluxo. Os parâmetros físicos e químicos: (i) diâmetro da janela óptica; (ii) pH (5,0 a 7,5); (iii) concentração e volume da solução eluente (HCl 0,01 a 0,25 mol L⁻¹; 150 a 400 µL, respectivamente); (iv) volume da amostra (100 a 300 µL); e (v) vazão (0,8 a 2,0 mL min⁻¹) foram estudados e otimizados. A câmera do microscópio USB permitiu operar o sistema com uma janela óptica de 0,1 cm de diâmetro, o que levou a uma redução na massa do suporte de fase sólida (ca. 3,5 ± 0,1 mg) de 10 vezes em comparação com métodos colorimétricos em fase sólida previamente relatados. Além disso, se estabeleceu pH = 6,5, 350 µL de HCl 0,1 mol L⁻¹, 250 µL de amostra com vazão 2,0 mL min⁻¹ como condições ótimas de análise a serem empregadas. O método proposto apresentou faixa linear com limite superior igual a 1,0 mg L⁻¹ (R= 0,9992) com RSD ≤ 1,0% (n = 3 ; C = 0,1 e 0,5 mg L⁻¹) e limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) estimados em 0,025 e 0,085 mg L⁻¹, respectivamente. Amostras de água potável foram analisadas pelo método proposto e apresentaram teor de Fe total igual a 0,17±0,05 a 0,44±0,01 mg L⁻¹, não sendo observada diferença significativa (p= 0,05) frente ao método de referência.

Palavras-chaves: colorimetria digital, câmera microscópica, fase sólida, Fe total, água doce.

PEREIRA, Marcos Diogo Souza. Teacher's files: **Use of a microscopic camera to determine total Fe in fresh water by digital colorimetry in solid phase** (Bahia, Brazil). Thesis advisor: Rodolfo de Melo. 2023. 179 s. ill. Dissertation (Master in Chemistry) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2023.

ABSTRACT

This work evaluates the total Fe concentration in drinking water by 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol (TAN) using C18 silica as solid support. For this purpose, a solid-phase digital colorimetry analytical method was developed. The image acquisition tool was a USB digital microscope 500x2 mp connected to a smartphone. The ImageJ software recorded and handled collected images in red–green–blue (RGB) color space. A flow system based on multi-commutation was employed to manage solutions to analysis. The physical and chemical parameters: (i) optical window diameter; (ii) pH (5.0 to 7.5); (iii) eluent solution concentration and volume (HCl 0.01 to 0.25 mol L⁻¹; 150 to 400 µL, respectively); (iv) sample volume (100 to 300 µL); and (v) flow rate (0.8 to 2.0 mL min⁻¹) were investigated and optimized. The microscope USB camera allowed the system to operate with a diameter of 0.1 cm for the optical Window, which led to 10 times solid support reduction (ca. 3.5 ± 0.1 mg) compared with the previously reported solid phase colorimetric methods. Furthermore, the obtained parameters were pH = 6.5, 350 µL of HCl 0.1 mol L⁻¹, 250 µL of the sample, and a flow rate of 2.0 mL min⁻¹ as optimized conditions for analysis. The proposed method showed a linear working range up to 1.0 mg L⁻¹ (R= 0.9992) with detection (LOD) and quantification limits (LOQ) of 0.025 and 0.085 mg L⁻¹, respectively. Drinking water samples were analyzed by the proposed method, and the observed Fe concentration found ranged from 0.17±0.05 to 0.44±0.01 mg L⁻¹, showing no statistically significant difference (p= 0.05) compared with the reference method.

Keywords: digital colorimetry, microscope camera, solid phase, Fe content, fresh water.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN).....	16
Figura 2. Representação de um sistema de espectrofotometria em fase sólida.	16
Figura 3. Perfil de publicações empregando a técnica de DIC para análise de metais na área química. (Palavras-chaves empregadas na pesquisa: análise química, Colorimetria digital, determinação elementar).....	17
Figura 4. Cubo de espaço de cores RGB	19
Figura 5. Célula de fluxo com suporte sólido. (a) Vista frontal da célula de fluxo empregada para medições de ferro. (b) Vista lateral da célula de fluxo.....	23
Figura 6 Sistema de captura de imagem.....	24
Figura 7. Sistema em fluxo com multicomutação associado à câmera de microscópio para análise por colorimetria digital em fase sólida. E) Eluente (HCl; 0,1 mol L ⁻¹). (C) Carregador (H ₂ O). (S) Amostra. (T) Reagente cromogênio (TAN). (V1, V2, V3, V4 e V5) Válvulas solenoides. (CF) Célula de fluxo. (DET) Câmera de microscópio USB. (W) Descarte	24
Figura 8. Protótipos de células de fluxo com redução da janela óptica da para sistema SP-DIC. (A) célula 1 modelo empregado em SPS-FIA (1,0 cm d.i.); (B) célula 2 (0,25 cm d.i.); (C) célula 3 (0,10 cm d.i.).	29
Figura 9. Avaliação do número máximo de análises sem recondicionamento da fase sólida C18@TAN em função do tempo de impregnação. Condições 250 µL de Fe ²⁺ 1 mg L ⁻¹ , 350 µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão 2,0 mL min ⁻¹ (n=15).....	30
Figura 10. Avaliação dos canais RGB para construção de curvas de calibração. Condições: 200 µL de Fe a 1,0 mg L ⁻¹ , 250 µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão 1,0 mL min ⁻¹ (n= 3).	31
Figura 11. Esquema da reação Fe (II) – TAN	32
Figura 12. Avaliação do efeito do pH sobre o sinal analítico no sistema de MCFS. Condições: 200 µL de Fe a 1,0 mg L ⁻¹ , 250 µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão 1 mL min ⁻¹ (n= 3).....	33
Figura 13. Estudo do efeito da concentração do eluente sobre o sinal analítico no sistema MCFS. Condições: 200 µL de Fe a 1 mg L ⁻¹ , 250 µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão 1 mL min ⁻¹ (n= 3).	34

Figura 14. Avaliação do volume do eluente sobre o sinal analítico no sistema de MCFS. Condições: 200 µL de Fe a 1,0 mg L ⁻¹ , x µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão 1,0 mL min ⁻¹ (n= 3).....	35
Figura 15. Estudo do volume da amostra sobre o sinal analítico no sistema de MCFS. Condições: x µL de Fe a 1 mg L ⁻¹ , 350 µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão 1 mL min ⁻¹ (n=3).	36
Figura 16. Avaliação do efeito da vazão do carregador sobre o sinal analítico do sistema MCFS. Condições: 250 µL de Fe a 1,0 mg L ⁻¹ , 350 µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão x mL min ⁻¹ (n= 3).....	37
Figura 17. Estudo para íons concomitantes na determinação de íons Fe ²⁺ por TAN. Condições: 250 µL de Fe a 1 mg L ⁻¹ , 350 µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão 2 mL min ⁻¹ (n=3).....	39
Figura 18. Curva de calibração usando o canal vermelho (Curva A). (y= 1,292±0,032x + 0,111±0,005, R= 0,998). Condições: 250 µL de Fe 1 a 70 mg L ⁻¹ , 350 µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão 2 mL min ⁻¹ (n=3).....	40
Figura 19. Curva de calibração para análise das amostras de água potável (Curva B). (y= 0,061±0,004x+ 0,058±0,007, R=0,9992). Condições: 250 µL de Fe 0,1 a 1 mg L ⁻¹ , 350 µL de HCl 0,1 mol L ⁻¹ e vazão 2 mL min ⁻¹ (n=3).....	40

LISTA DE TABELA

- Tabela 1.** Sequência de acionamento de válvulas para determinação de ferro. Os números 1 e 0 representam o acionamento e desativação das válvulas, respectivamente.25
- Tabela 2.** Amostras de água coletadas em poços artesianos e em sistemas de tratamentos locais, localizado na região da bacia do São Francisco.26
- Tabela 3.** Comparação entre as figuras de mérito do método proposto e de outros métodos para determinação íons metálicos por colorimetria digital.43
- Tabela 4.** Resultados para determinação de íons Fe (II) em água potável (n = 3). ...44

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DIC:	Colorimetria por imagem digital; (do inglês, <i>Digital image colorimetry</i>)
LOD:	Limite de detecção; (do inglês, <i>Limit of detection</i>)
LOQ:	Limite de quantificação (do inglês, <i>Limit of Quantification</i>)
PAD:	Dispositivos analíticos de papel (do inglês, <i>Paper-Based Analytical Devices</i>)
TAN:	1-(2-tiazolilazo)-2-naftol
MCFS:	Análise em fluxo por multicomutação; (do inglês: <i>Multi-Commutated Flow Analysis</i>)
SDS	Dodecilsulfato de sódio; (do inglês: <i>Sodium dodecyl sulfate</i>)
SFC:	Cromatografia em fase sólida; (do inglês: <i>Solid Phase Chromatography</i>)
SP-DIC	Colorimetria digital em fase sólida; (do inglês: <i>Solid phase digital image colorimetry</i>)
SPE:	Extração em fase sólida; (do inglês: <i>solid phase extraction</i>)
SPME:	Microextração em fase sólida; (do inglês: <i>Solid-Phase Microextraction</i>)
ROI:	Região de Interesse; (do inglês: <i>region of interest</i>)
RSD:	Desvio Padrão Relativo; (do inglês: <i>relative standard deviation</i>)
LED:	Diodo emissor de luz; (do inglês: <i>light-emitting diode</i>)
FUNASA:	Fundação Nacional de Saúde
F AAS	Espectrometria de absorção atômica com chama; (do inglês: <i>flame atomic absorption spectrometry</i>)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1. Determinação de ferro em água.....	14
1.2. Métodos óticos de análise em fase sólida.....	15
1.3. Determinação de ferro por espectrofotometria em fase sólida.....	15
1.4. Colorimetria por imagem digital.....	17
1.4.1. Espaço de cores.....	18
1.4.2. Aquisição, tratamento de imagem digital.....	19
2. OBJETIVO.....	21
2.2. Objetivo geral.....	21
2.3. Objetivos específicos.....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.2. Reagentes e soluções.....	22
3.3. Instrumentação.....	23
3.4. Sistema de multicomutação para análise em fase sólida.....	24
3.5. Otimização do método.....	26
3.6. Coleta de amostras.....	26
3.7. Validação do método.....	27
3.8. Método de referência.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.2. Célula de fluxo para análise em fase sólida empregando câmera usb microscópica.....	29
4.3. Otimização método SP-DIC.....	31
4.3.1. Avaliação canal RGB para determinação de Fe ²⁺	31
4.3.2. Efeito do pH.....	32
4.3.3. Concentração de HCl.....	34

4.3.4.	Volume do eluente.....	35
4.3.5.	Volume da amostra.....	36
4.3.6.	Vazão do carregador	37
4.4.	Validação	38
4.4.1.	Seletividade	38
4.4.3.	Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)	42
4.5.	Exatidão e aplicação do método em amostras reais	44
5.	CONCLUSÕES.....	46
6.	REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

1.1. Determinação de ferro em água

A água, um recurso fundamental para a vida na Terra, desempenha um papel essencial na manutenção da biodiversidade e no suporte à saúde humana. Este líquido permeia os ecossistemas, proporcionando condições ideais para a existência de uma variedade impressionante de formas de vida (DONOHUE *et al.*, 2023). No entanto, a qualidade da água emergiu como uma preocupação global devido à crescente pressão exercida por processos industriais, urbanização desenfreada e mudanças climáticas (Yuan *et al.*, 2023).

O teor de ferro é um parâmetro de qualidade de águas importante, pois altas concentrações desse metal podem ter sérias implicações para a saúde humana. O excesso de ferro na água está associado ao desenvolvimento de condições como a hemocromatose, uma doença genética que leva ao acúmulo excessivo de ferro no corpo (Edsall *et al.*, 2023). Além disso, elevados teores de ferro na água potável podem propiciar o crescimento de bactérias do gênero *Vibrio*, aumentando significativamente o risco de infecções gastrointestinais (Baker *et al.*, 2023).

Controlar rigorosamente o teor de ferro na água é, portanto, crucial não apenas para a preservação da biodiversidade aquática, mas também para proteger a saúde humana a longo prazo. Enfrentar esses desafios requer uma abordagem abrangente que inclua regulamentações ambientais mais rigorosas, investimentos em tecnologias sustentáveis e a conscientização generalizada sobre a importância da qualidade da água, destacando a necessidade especial de monitoramento e controle do teor de ferro (SIKAKWE *et al.*, 2024). Essas ações são essenciais para garantir um futuro sustentável, onde a água permanece um recurso vital e seguro para as gerações presentes e futuras.

1.2. Métodos óticos de análise em fase sólida

A análise em fase sólida desempenha um papel essencial na detecção e quantificação de compostos em diversas amostras, aproveitando a interação seletiva entre uma matriz sólida e os componentes químicos presentes (ZHOU *et al.*, 2023). Isso oferece vantagens notáveis, como alta sensibilidade, seletividade e a capacidade de pré-concentração. Esta estratégia analítica tem encontrado espaço na análise de amostras complexas para determinação de espécies em baixas concentrações (OLIVEIRA *et al.*, 2001).

A quantificação do analito na fase sólida é possível através de diferentes técnicas espectroscópicas com a possibilidade de combinar a pré-concentração e detecção na mesma etapa. Dentre essas técnicas, a espectrofotometria UV VIS foi bastante difundida para a determinação de espécies metálicas, para tanto frequentemente se realizava a imobilização do reagente orgânico (cromogênico) no suporte sólido, para formação de um complexo com o analito na própria fase sólida. A formação do complexo pode ser também conduzida antes da etapa de retenção. A detecção espectrofotométrica é realizada, muitas vezes, utilizando uma cela de fluxo com fase sólida (TEIXEIRA *et al.*, 2007).

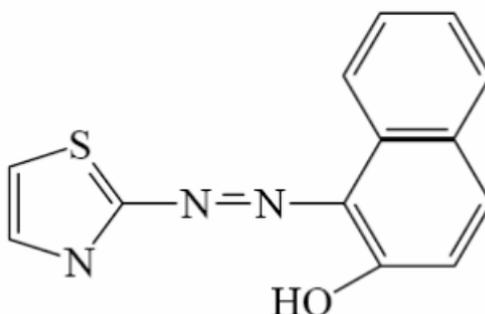
Os avanços recentes nessa área abrangem o contínuo desenvolvimento de novos materiais, a miniaturização das técnicas e a integração de sistemas automatizados. Essas melhorias têm contribuído para aumentar significativamente a eficiência e sensibilidade das análises em fase sólida, tornando-as cada vez mais poderosas e versáteis (MINGWEI *et al.*, 2023).

1.3. Determinação de ferro por espectrofotometria em fase sólida

A espectrofotometria em fase sólida é uma técnica analítica poderosa e versátil, baseando-se na interação da luz com a matéria. Essa técnica realiza a medição do grau de atenuação da luminosidade incidente numa fase sólida, onde o analito está retido. A amostra sólida absorve a luz em diferentes comprimentos de onda, resultando em um espectro característico (PASCUAL *et al.*, 2004).

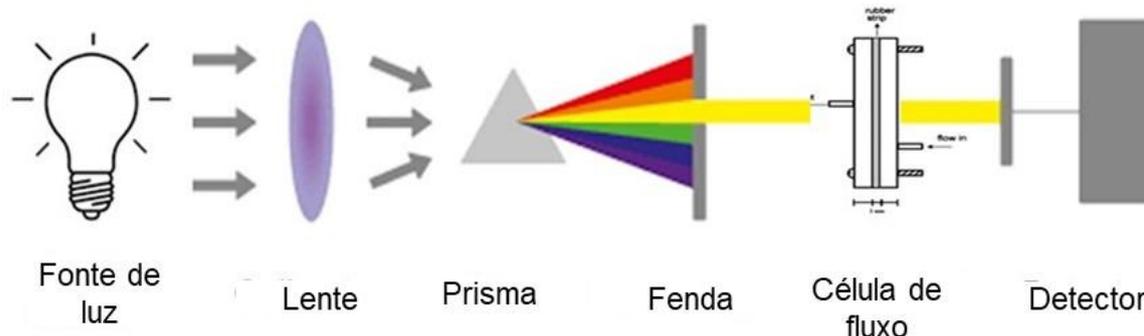
A determinação de Fe total por espectrofotometria em fase sólida foi realizada empregando as fases sólidas C18 e C8 associadas a reagentes cromogênicos de diferentes classes (QUEIROZ et al. et al., 2006; FARHADI, et al. et al., 2009). Dentre elas destacam-se os reagentes azo devido a sua baixa solubilidade em água e simplicidade de procedimento para impregnação em suportes sólidos, bem como a alta absorvidade molar do complexo Fe-Azo (LEMOS *et al.*, 2007). Adicionalmente, destaca-se que sistemas em linha que empregaram sílica funcionalizada C18 como material adsorvente modificado com 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN) demonstraram algumas vantagens, tais como a estabilidade da fase sólida e a rápida imobilização do TAN em C18. A Figura 1 exibe a fórmula estrutural do 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol (TAN), que é um sólido de cor laranja. Soluções de TAN apresentam coloração amarelada em meio ácido, tonalidade alaranjada em meio ligeiramente ácido ou neutro e cor violeta em meio alcalino (TEIXEIRA *et al.*, 2007).

Figura 1. Estrutura do 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (TAN) (Dias, 2010)



Na espectrofotometria em fase sólida, a espessura e o preenchimento da célula de fluxo devem ser cuidadosamente manuseados, uma vez que a incidência do feixe de luz deve atravessá-la para que haja uma medida do grau de atenuação da luminosidade incidente, sobre presença do analito (Figura 2). Contudo, a espessura da fase sólida é parâmetro crucial para se evitar ocorrência preponderante de fenômenos indesejados como a refração e espalhamento da radiação eletromagnética (TEIXEIRA *et al.*, 2001).

Figura 2. Representação de um sistema de espectrofotometria em fase sólida.



Associado a esse sistema há um sistema de análise em fluxo (FIA) que é uma técnica analítica na qual se destaca na realização de análises múltiplas de amostras de forma eficiente e automática (He *et al.*, 2023). Nesse sistema, a amostra é submetida a múltiplos procedimentos de análise por meio de comutações sequenciais, permitindo a avaliação de diferentes parâmetros ou a detecção de vários analitos em uma única execução (REIS *et al.*, 2000).

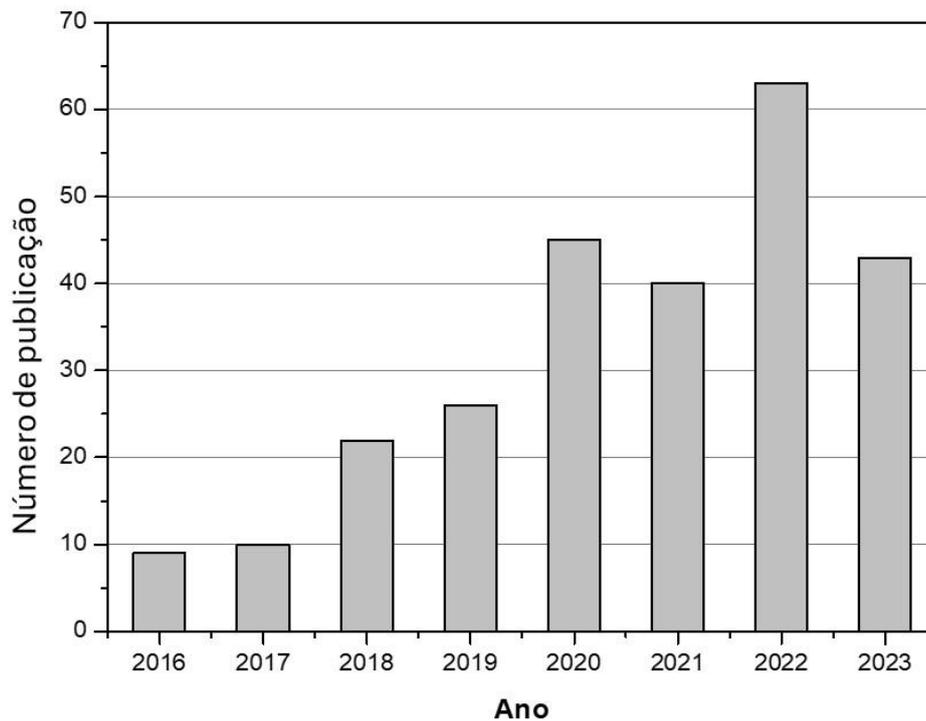
A integração de sistema FIA com técnicas espectrofotométricas em fase sólida tem aplicações diversas em laboratórios analíticos, oferecendo uma alternativa eficaz para a análise de diversos parâmetros em tempo real, com benefícios como redução do tempo de análise, minimização de erros experimentais e maior eficiência operacional (BEZERRA *et al.*, 2020).

1.4. Colorimetria por imagem digital

Na colorimetria por imagem digital (DIC), é possível medir e descrever as cores de uma imagem digital de forma objetiva e quantitativa. Essa técnica tem sido amplamente aplicada em várias áreas, incluindo design gráfico, fotografia, impressão, processamento de imagem, análise de cores em alimentos, medicina e controle de reações químicas (SHOGAH *et al.*, 2023; JESUS *et al.*, 2021).

Diversos métodos analíticos vêm sendo desenvolvidos empregando a detecção por imagens digitais, permitindo análises rápidas, precisas e de baixo custo (SUPACHA *et al.*, 2023), como pode ser observado pelo número crescente de publicações nos últimos 7 anos (Figura 3).

Figura 3. Perfil de publicações empregando a técnica de DIC para análise de metais na área química. (Palavras-chaves empregadas na pesquisa: análise química, Colorimetria digital, determinação elementar).



Fonte: Web of Science, acessada em 01 novembro de 2023.

1.4.1. Espaço de cores

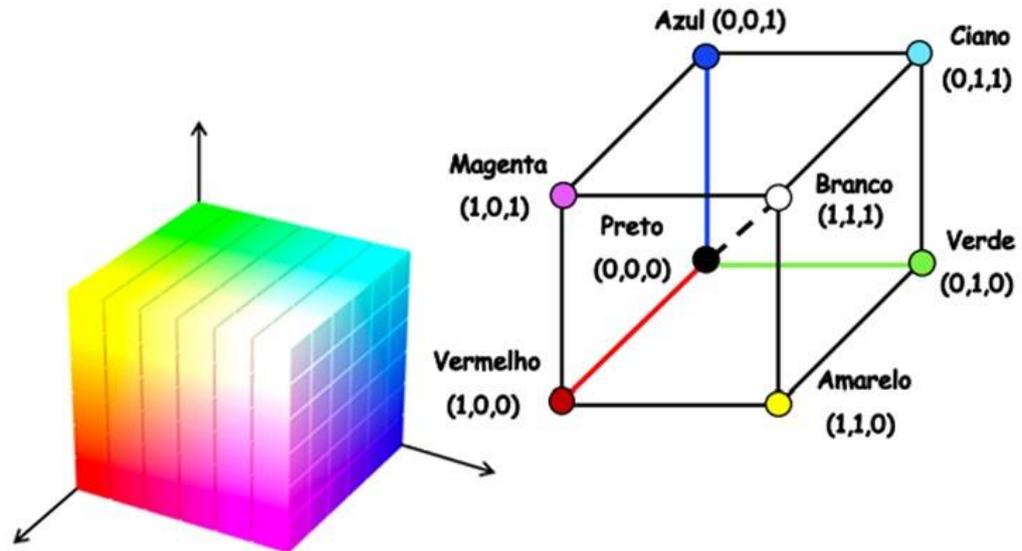
A colorimetria por imagem digital envolve a análise das cores em uma imagem com base em um sistema de cores previamente definido. Os sistemas de cores mais comuns usados nessa técnica são o RGB (*Red, Green, Blue*) e o CMYK (*Cyan, Magenta, Yellow, Key/Black*) que quantificam a intensidade de cor (KUO *et al.*, 2013).

O sistema de cores RGB é composto por 24 bits, sendo que 8 bits são reservados para cada um dos componentes: vermelho, verde e azul. Cada uma dessas cores é representada em uma escala que varia de 0 a 255, onde o valor zero indica a ausência total de contribuição da cor (FAN *et al.*, 2021). No caso, o valor zero é associado à cor preta (RGB: 0,0,0), enquanto o valor 255 representa a intensidade máxima das cores, resultando na cor branca (RGB: 255, 255, 255).

A representação geométrica desse sistema de cores em um espaço tridimensional cria um sólido conhecido como cubo de cores (Figura 4). Esse cubo possui três eixos principais que correspondem às cores primárias. Cada eixo representa a contribuição de uma cor primária, variando em intensidade de 0 a 255 (8 bits), e isso é fundamental na formação de outras cores. Com 255 níveis de

intensidade para cada cor primária, o sistema permite a criação de um impressionante espectro de 16,7 milhões de cores (FAN *et al.*, 2021; ABDOLMALEKY *et al.*, 2017).

Figura 4. Cubo de espaço de cores RGB (ABDOLMALEKY *et al.*, 2017).



A interseção dos três planos dentro do cubo define a cor preta (indicando a ausência de qualquer contribuição das cores primárias) e a cor branca (representando a mistura das três cores primárias com intensidade máxima). A diagonal principal do cubo, por sua vez, representa a escala de cinza (FAN *et al.*, 2021; KELDA *et al.*, 2014)

1.4.2. Aquisição, tratamento de imagem digital

A aquisição de imagens digitais engloba uma diversidade de dispositivos, como câmeras digitais, webcams, scanners, smartphones e microscópios. Essas imagens podem ser tratadas localmente no dispositivo ou transmitidas remotamente para um computador, proporcionando uma flexibilidade no que se refere à coleta de amostras e aquisição de dados (VIDAL *et al.*, 2018).

Uma vez que as imagens digitais são registradas, a etapa subsequente envolve a seleção da Área de Interesse (ROI) em cada imagem. A partir dessa ROI, é possível extrair o sinal analítico. Nessa fase, um conjunto de parâmetros analíticos pode ser monitorado, e o espaço de cor é criteriosamente selecionado para o processamento das informações. Diversos softwares, como o Photoshop, Matlab, e programas gratuitos como o ImageJ, ChemoStat e PhotoMetrix, possibilitam a representação das

intensidades através de histogramas de cor, o que proporciona uma visualização detalhada da distribuição cromática dos pixels (CAPITAN-VALLVEY *et al.*, 2015).

A análise desses histogramas permite o cálculo de uma variedade de parâmetros, culminando na elaboração de uma curva analítica. Além disso, é viável estabelecer uma correlação entre a concentração do analito e a medida indireta da radiação absorvida, empregando a Lei de Lambert-Beer ($-\log(I/I_0)$), em que I_0 representa a intensidade do sinal do branco e I a intensidade do sinal da amostra, em relação aos canais RGB monitorados durante as reações (FERNANDES *et al.*, 2020)

A versatilidade das análises de imagem, combinada às vantagens mencionadas do uso de fase sólida, apresenta um potencial significativo para o desenvolvimento de ferramentas analíticas. A capacidade de capturar informações visuais e transformá-las em dados quantitativos confere às análises de imagem uma ampla gama de aplicações em diversas áreas, desde a caracterização de materiais até a monitorização de processos biológicos complexos (CHAPLENKO *et al.*, 2022).

Ao incorporar a fase sólida nesse contexto, é possível ampliar ainda mais a utilidade dessas ferramentas analíticas. A fase sólida oferece estabilidade e reprodutibilidade, garantindo resultados confiáveis e precisos. (TEIXEIRA *et al.*, 2001; FAN *et al.*, 2021)

Inúmeras amostras já foram analisadas por meio da colorimetria digital na esfera da química analítica. Esta técnica instrumental revela-se eficaz tanto em soluções complexas quanto em matrizes sólidas, permitindo a caracterização precisa de espécies metálicas. Seja em análises de águas, solos ou materiais industriais, a colorimetria digital destaca-se por sua capacidade de detectar e quantificar metais com rapidez e precisão (SANTOS *et al.*, 2022).

2. OBJETIVO

2.2. Objetivo geral

Desenvolver método automatizado empregando a colorimetria por imagem digital em fase sólida para determinação de ferro em amostras de água potável.

2.3. Objetivos específicos

- Avaliar o emprego de câmera microscópica na detecção colorimétrica em fase sólida;
- Avaliar a redução da massa de fase sólida em célula de fluxo com fase sólida C18-TAN;
- Otimizar o método analítico sistema automatizado de análise por injeção em fluxo com multicomutação (MCFS) associado a análise de imagem digital;
- Validar método analítico através da determinação da faixa linear, limites de detecção e quantificação (LOD e LOQ), precisão e exatidão;
- Aplicar o método em amostras de água potável;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.2. Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico e suas soluções foram preparadas com água ultrapura com resistividade específica de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ obtida de um sistema de purificação (Milli-Q, Elga, Purelab Option-Q, Reino Unido). Para a preparação da fase sólida e otimização do método foram empregados os reagentes C18 (Waters, EUA), etanol (Êxodo, Brasil), HCl (Vetec, Brasil), 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol (Fluka, Japão), Triton X-100 (Neon, Brasil), HNO_3 (Merck, Alemanha), NaOH (Fmaia, Brasil).

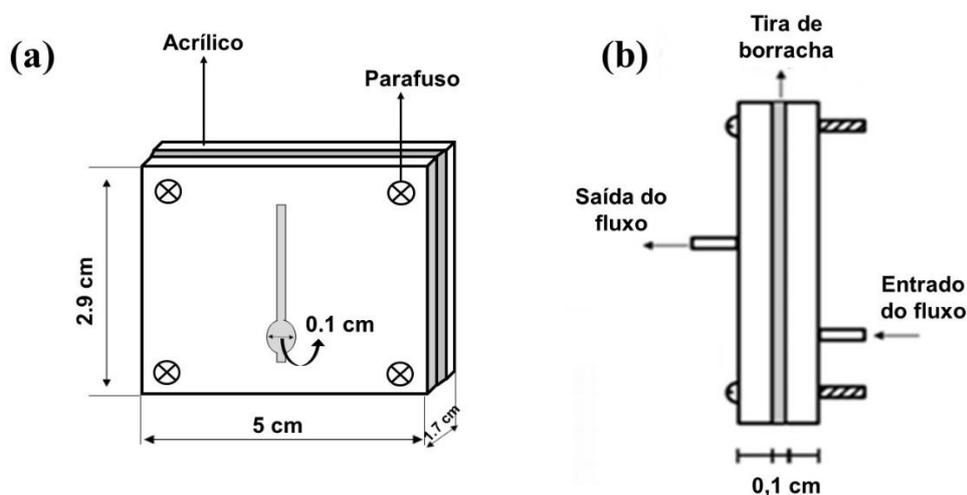
Uma solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi empregada nas etapas de limpeza e acondicionamento de fase sólida. A solução de TAN foi preparada dissolvendo $1,0 \text{ mg}$ de 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol em $1,0 \text{ mL}$ de etanol com volume final ajustado para 100 mL com Triton X-100 a $5\% \text{ (m v}^{-1}\text{)}$. As soluções estoque de Fe ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$), usadas nos procedimentos de otimização e calibração do sistema, foram preparadas a partir da diluição apropriada de padrões 1000 mg L^{-1} (Specsol). As soluções de trabalho de Fe^{2+} , na faixa de $0,01$ a 70 mg L^{-1} , foram preparadas diariamente mediante a redução prévia da solução com ácido ascórbico $0,2\% \text{ (m v}^{-1}\text{)}$.

Foram coletadas amostras de água potável em recipientes de polietileno, as quais foram acidificadas com ácido nítrico PA (Merck). Em seguida, foram preparadas soluções de amostra utilizando um tampão Britton-Robinson a $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 6,5 e ácido ascórbico a $0,2\% \text{ (m/v)}$ (SHAIKH *et al.*, 2022). A solução em branco foi preparada em água ultrapura, contendo as mesmas concentrações de tampão e das soluções redutoras. Para efeitos de comparação com o método padrão, foi empregado ácido clorídrico PA, solução de hidroxilamina a $10\% \text{ (m/v)}$, tampão de acetato de amônio a $1,5 \text{ mol L}^{-1}$, e solução de 1,10-fenantrolina a $0,1\% \text{ (m/v)}$, conforme a norma 3500-Fe B para análises ferro total em água (BRIDGEWATER, 2017).

3.3. Instrumentação

Uma célula de fluxo foi construída de acordo com um estudo anterior para medições espectrofotométricas em fase sólida (REIS *et al.*, 2000). A célula consistiu em dois blocos de perspex separados por uma tira de borracha de 1,0 mm de espessura conectada por parafusos para evitar que o fluido escapasse (Figura 5). Um orifício de 2,0 mm de diâmetro foi perfurado na tira de borracha para conter 3,5 mg de sílica funcionalizada C18.

Figura 5. Célula de fluxo com suporte sólido. (a) Vista frontal da célula de fluxo empregada para medições de ferro. (b) Vista lateral da célula de fluxo.

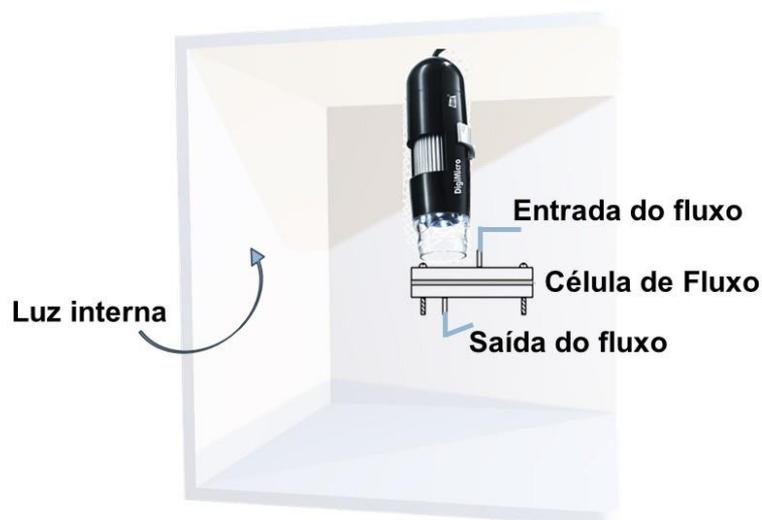


A propulsão do fluido foi realizada por uma bomba peristáltica Gilson MiniPuls® 3 de 8 canais (Villiers-Le-Bell, França) equipada com tubos PTFE (0,8 mm d.i.) para todas as conexões. Para as injeções das soluções (amostra e eluente), foram utilizadas cinco válvulas solenoides de 3 vias (Advantech, Taiwan) controlada pela plataforma Arduino UNO (Arduino, Itália).

As análises colorimétricas foram realizadas a partir de frames retirados de vídeos gravados com câmera microscópica (microscópio digital USB 500x, Buy Wireless, China) diretamente sobre a fase sólida. A câmera microscópica foi conectada a aparelho celular via porta USB para registro dos vídeos através do aplicativo USVCamera. Para assegurar a mesma condição de luminosidade para aquisição dos vídeos, uma lâmpada de LED de luz branca foi usada (6W, TR-18w, LIGHTING). As imagens adquiridas foram analisadas por um programa de processamento de imagem de licença livre, ImageJ®. O sinal processado pelo

programa de imagem é a medida de intensidade de cores verificadas através de histogramas dos canais RGB (Red-Green-Blue) que calculam e exibem a distribuição dos níveis de vermelho, verde e azul na imagem (Figura 6).

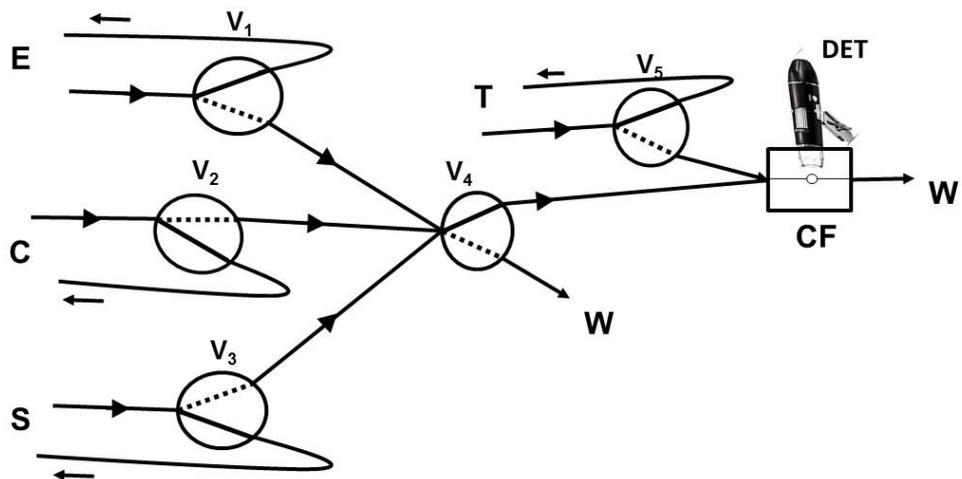
Figura 6 Sistema de captura de imagem.



3.4. Sistema de multicomutação para análise em fase sólida

O sistema MCFS foi desenvolvido com o intuito de automatização e, para isso, a plataforma Arduino foi empregado para o gerenciamento da inserção de todas as soluções, realizando o controle do acionamento das válvulas solenoides. (Figura 7).

Figura 7. Sistema em fluxo com multicomutação associado à câmera de microscópio para análise por colorimetria digital em fase sólida. E) Eluente (HCl; 0,1 mol L⁻¹). (C) Carregador (H₂O). (S) Amostra. (T) Reagente cromogênio (TAN). (V1, V2, V3, V4 e V5) Válvulas solenoides. (CF) Célula de fluxo. (DET) Câmera de microscópio USB. (W) Descarte



Inicialmente ocorria o condicionamento da fase sólida através do acionamento da válvula V_5 , acionada por 2 min a uma vazão de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$. Logo em sequência a válvula V_2 (etapa 2), responsável pelo fluxo do carregador, era acionada por 5 min (Tabela 1).

Em sequência ocorreu a etapa 3 que se caracteriza como a amostragem, onde uma alíquota de $250 \mu\text{L}$ foi inserida no sistema e o carregador direcionou à fase sólida para reação e aquisição do sinal analítico (Tabela 1).

Na 4 etapa ocorre a limpeza (eluição) da fase sólida, no qual uma alíquota de $350 \mu\text{L}$ de HCl é introduzida no sistema e promove a eluição dos íons Fe II, verificados pela diminuição do sinal analítico (Tabela 1).

Tabela 1. Sequência de acionamento de válvulas para determinação de ferro. Os números 1 e 0 representam o acionamento e desativação das válvulas, respectivamente.

Etapa	Evento	V₁	V₂	V₃	V₄	V₅	Tempo / s
1	Impregnação da fase sólida	0	0	0	0	1	120
2	Limpeza do sistema	0	1	0	0	0	300
3	Inserção de alíquota de amostra	0	0	1	0	0	7,5
4	Transporte da zona de amostragem para célula	0	1	0	0	0	10
5	Inserção da alíquota do eluente	1	0	0	0	0	10,5
6	Transporte da zona de amostragem para célula	0	1	0	0	0	10

3.5. Otimização do método

Parâmetros físicos e químicos foram estudados visando assegurar maior sensibilidade para o método proposto. Para tanto, avaliou-se vazão do carregador (0,8 a 2,0 mL min⁻¹), concentração e volume do eluente (HCl 0,01 a 0,25 mol L⁻¹; 150 a 400 µL, respectivamente), volume da amostra (100 a 300 µL), pH de reação (5,0 a 7,5) e escolha dos canais do sistema de cor (RGB). Para avaliação dos parâmetros operacionais do sistema MCFS e escolha dos canais de cor, foram adotadas a intensidade do sinal de cor e a sensibilidade do método como respostas analíticas, respectivamente. O estudo de otimização foi realizado de maneira univariada (n= 3).

3.6. Coleta de amostras

Amostras de água potável foram coletadas por uma equipe da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), que em poços artesianos pertencente a bacia do São Francisco, em recipientes de polietileno e acidificada com HNO₃ (Tabela 2).

Tabela 2. Amostras de água coletadas em poços artesianos e em sistemas de tratamentos locais, localizado na região da bacia do São Francisco.

Amostras	Localização geográfica
1	13°21'52"S 41°40'58"W
2	12°25'59"S 41°45'30"W
3	12°27'16"S 41°46'26"W
4	12°26'52"S 41°46'20"W
5	13°21'49"S 41°40'59"W
6	13°21'52"S 41°40'58"W
7	13°28'18"S 41°47'28"W
8	13°28'50"S 41°46'18"W
9	13°35'06"S 41°36'40"W

3.7. Validação do método

Depois da etapa de otimização, foi realizada a validação do método proposto. Os parâmetros como faixa linear, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão do método foram determinados, segundo guia de validação do INMETRO (BRASIL, 2005).

Para investigação da faixa linear, foram preparadas soluções de Fe²⁺ entre 0,05 e 70 mg L⁻¹ (n= 3). O limite superior foi determinado pela observação da perda de linearidade. Os limites de detecção e quantificação foram determinados pela análise do branco analítico (n= 10) e construção da curva de calibração analítica. Foi calculado o desvio padrão da leitura dos brancos analíticos e o coeficiente angular da curva. Com esses valores, foram calculados os limites de detecção e quantificação (LOD e LOQ), através das seguintes equações:

$$LOD = \frac{3,3.s}{\alpha} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$LOQ = \frac{10.s}{\alpha} \quad (\text{Eq. 2})$$

onde s é o desvio padrão dos brancos e α é o coeficiente angular da curva de calibração.

Já para avaliação da precisão, foram preparadas duas soluções com concentrações de 150 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n= 6). Após a obtenção dos frames de cada

solução, foi calculado o desvio padrão e média das intensidades máximas de cor. O desvio padrão relativo foi, então, calculado para estes dois níveis de concentração a partir da equação:

$$RSD = \frac{s}{x} \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

onde s é o desvio padrão e x é a média dos valores de sinal do branco.

Por fim, os ensaios de seletividade foram realizados frente a espécies potencialmente encontradas em matrizes de água doce e que respondem ao TAN, como Cd(II) (1,0 a 10,0 mg L⁻¹) Cu(II) (1,0 a 12,0 mg L⁻¹) Co(II) (1,0 a 4,0 mg L⁻¹) Ni(II) (1,0 a 5,0 mg L⁻¹) Zn(II) (1,0 a 8,0 mg L⁻¹)

3.8. Método de referência

Para avaliação da exatidão foi realizada a comparação do método proposto com o método de referência da agência americana de controle de qualidade de água e esgoto, *23 standard method of the examination of water and wastewater* (BRIDGEWATER, 2017).

Para tal, 50 mL das amostras, foram transferidos para um Erlenmeyer de 125 mL, seguido pela adição de 2 mL de HCl PA e 1 mL de solução de cloridrato de hidroxilamina (2,0 mol L⁻¹). A solução resultante foi levada ao aquecimento até a fervura para garantir a dissolução de todo Fe. O aquecimento foi interrompido quando o volume da amostra foi reduzido para 20 mL. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de solução tampão acetato de amônio (2,0 mol L⁻¹) e 4 mL de 1-10, fenantrolina 0,1 % (m v⁻¹) à amostra, com volume completado para 50 mL. Após repouso de 10 min, foi realizada análise espectrofotométrica a 510 nm.

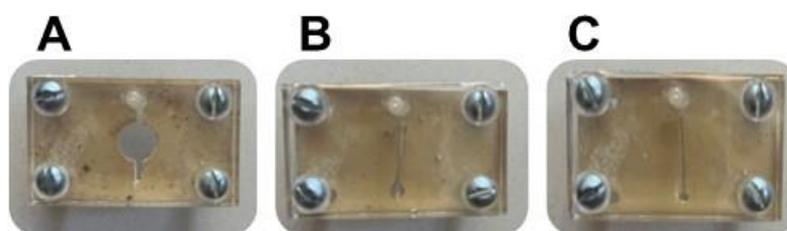
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante esse estudo, foi desenvolvido um método de determinação de ferro em por colorimetria digital em fase sólida (SP-DIC), empregando o uso de câmera microscópica para aquisição das imagens. A avaliação da associação entre análises em fase sólida e colorimetria digital visou superar dificuldades inerentes a espectrofotometria em fase sólida, nomeadamente o espalhamento e atenuação excessiva do feixe de luz (BALIZA *et al.*, 2009). Para tanto, foi avaliada, inicialmente, o acoplamento de câmera microscópica a um sistema já consolidado (TEIXEIRA *et al.*, 2007) para espectrometria em fase sólida associado à fluxo contínuo (SPS-FIA).

4.2. Célula de fluxo para análise em fase sólida empregando câmera usb microscópica

A construção da célula de suporte sólido em fluxo segue princípios semelhantes a outros trabalhos desenvolvidos pelo grupo de pesquisa (TEIXEIRA *et al.*, 2007). Contudo, foi avaliada a redução da janela óptica em até 90% (1,0 a 0,1 cm d.i.) Figura 8.

Figura 8. Protótipos de células de fluxo com redução da janela óptica da para sistema SP-DIC. (A) célula 1 modelo empregado em SPS-FIA (1,0 cm d.i.); (B) célula 2 (0,25 cm d.i.); (C) célula 3 (0,10 cm d.i.).

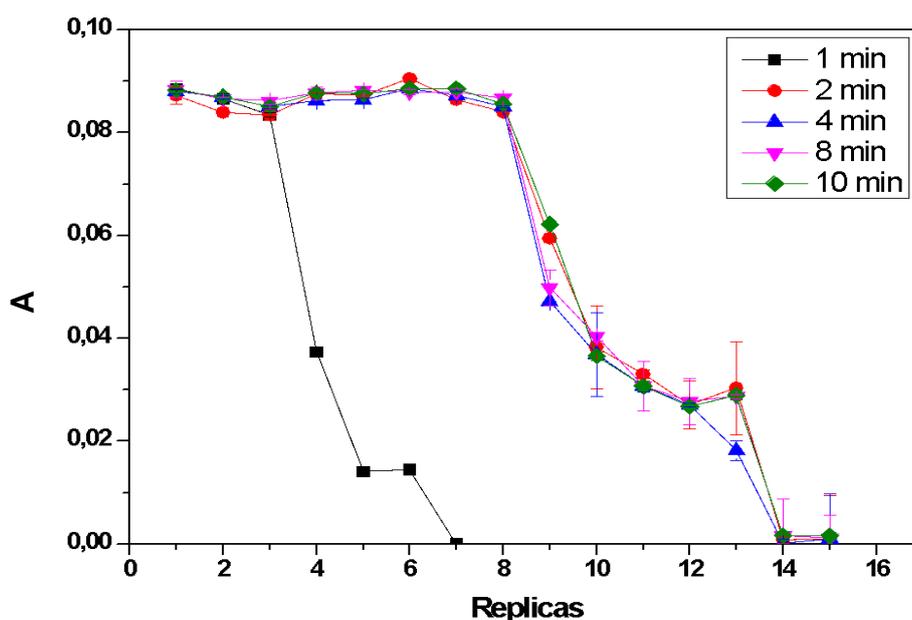


Com essa redução (célula C) foi possível obter uma diminuição em 10 x na massa da fase sólida empregada, o que permitiu uma menor impedância do fluxo e, por conseguinte, operar o sistema com vazões maiores.

Foi estudado o tempo necessário para impregnação da fase sólida entre a sílica C18 e o ligante TAN. Dessa forma, esse tempo de contato foi estudado em 1, 2, 4, 8 e 10 minutos ($\phi = 0,5 \text{ mL min}^{-1}$). Em trabalhos anteriores, no grupo de pesquisa, se obteve um tempo de impregnação de 10 min, mas como foi trabalhado com uma massa reduzida, era necessário investigar se esse tempo prevalecia.

Observou-se que o tempo ideal para uma reação eficiente foi de 2 minutos, pois tempos menores que esse foi observado que a impregnação não era eficiente e com apenas uma amostragem já ocorria o desprendimento do TAN da sílica. Já com tempos maiores ou igual a 2 min era possível realizar mais réplicas (Figura 9).

Figura 9. Avaliação do número máximo de análises sem recondicionamento da fase sólida C18@TAN em função do tempo de impregnação. Condições $250 \mu\text{L}$ de Fe^{2+} 1 mg L^{-1} , $350 \mu\text{L}$ de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e vazão $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ ($n=15$).



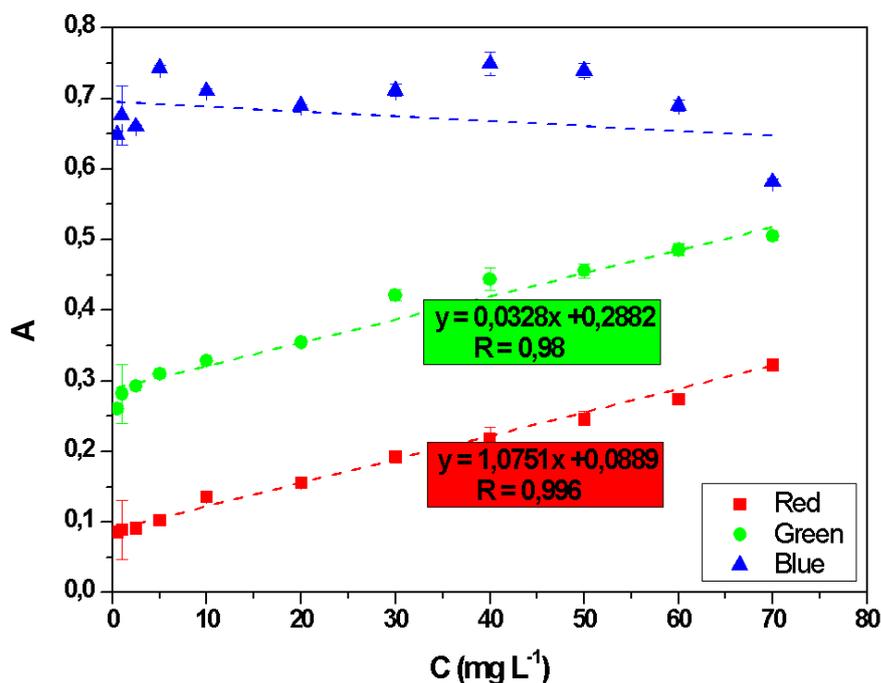
Da primeira réplica até a oitava a fase sólida se comporta com variações de sinal inferior a 2%. Após a oitava é possível verificar que o sinal tem um decaimento $\geq 27\%$ que corresponde ao desprendimento do TAN da sílica e nos indica a necessidade de recondicioná-la. Portanto, para tempos a partir de 2 min foi obtida boa impregnação do TAN na fase sólida permitindo a reação com Fe^{2+} e geração de sinal analítico com intensidade adequada para até oito análises consecutivas sem necessidade recondicionamento da mesma.

4.3. Otimização método SP-DIC

4.3.1. Avaliação canal RGB para determinação de Fe^{2+}

A otimização foi realizada pelo método univariado. Primeriamente,foi realizada a avaliação do canal RGB mais sensível para reação Fe-TAN em fase sólida. Para isso, foram feitas as soluções de 1 a 70 mg L^{-1} de Fe^{2+} e realizado as análises em triplicata para cada ponto. Durante o tratamento de dados, foi selecionado os 3 canais RGB e feito curva analítica para cada, a fim de comparar o melhor desempenho analítico (Figura 10), com base nos coeficientes angulares obtidos pela regressão linear.

Figura 10. Avaliação dos canais RGB para construção de curvas de calibração. Condições: 200 μL de Fe a 1,0 mg L^{-1} , 250 μL de HCl 0,1 mol L^{-1} e vazão 1,0 mL min^{-1} (n= 3).



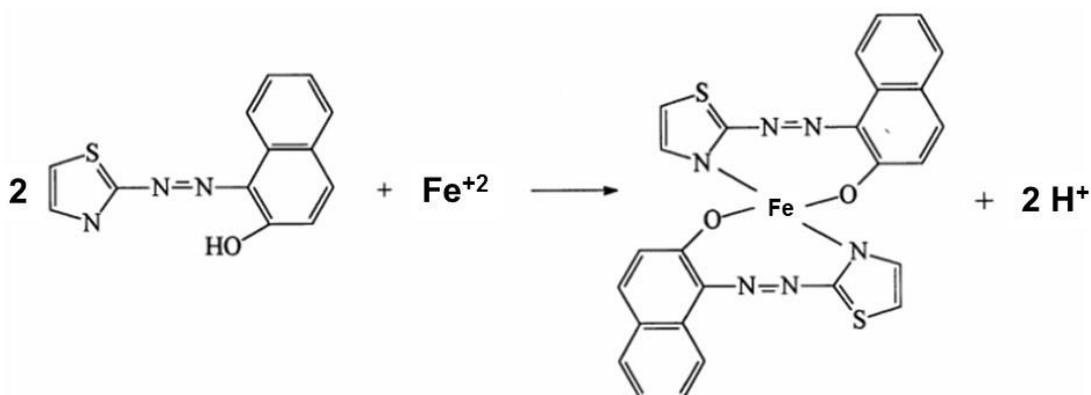
O canal vermelho (Red) apresentou maior sensibilidade ($1,0751 \text{ A.L mg}^{-1}$), verificado pelo valor do coeficiente angular determinado pelo modelo de regressão linear. Adicionalmente, observou-se melhor coeficiente de correlação entre os pontos (0,996) assegurando maior adequação ao modelo linear frente aos demais canais

estudados. Dessa forma, foi adotado o canal vermelho para fazer todas as análises desenvolvidas para esse método.

4.3.2. Efeito do pH

O efeito do pH pode ter uma influência significativa na reação química entre o TAN e Fe^{2+} (Figura 11), pois, em um pH específico, o TAN forma um complexo com os íons ferrosos. A cor do complexo formado é intensa e pode variar dependendo das condições de pH. A variação do pH pode afetar a estabilidade do complexo formado entre o TAN e o íon Fe^{2+} . Em certos valores de pH, o complexo pode ser mais estável, levando a uma cor marrom mais intensa e uma resposta colorimétrica mais sensível à presença de íons ferrosos. (LEMOS *et al.*,2007).

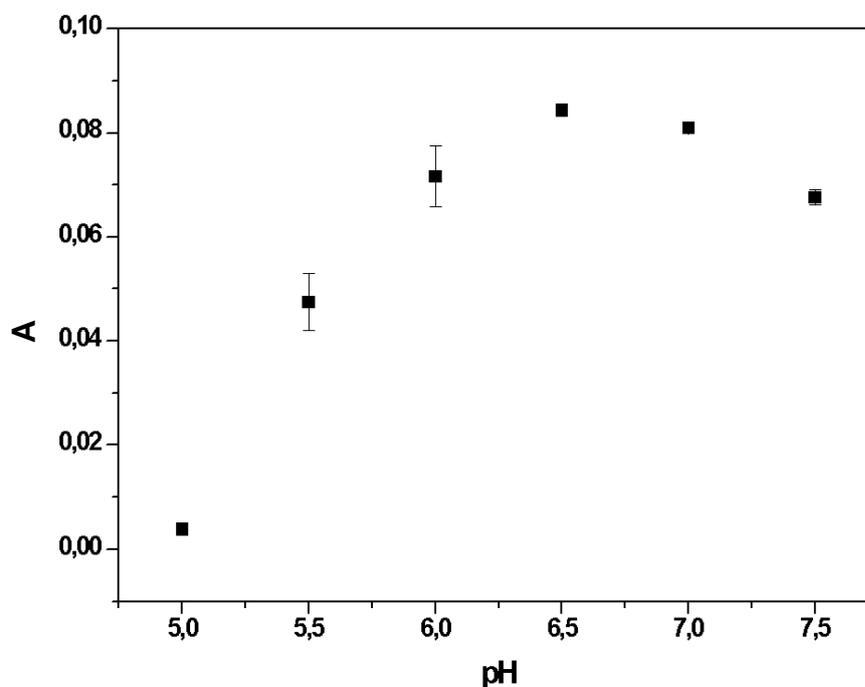
Figura 11. Esquema da reação Fe (II) – TAN (DIAS, 2010).



Normalmente, a formação do complexo entre o TAN e o Fe^{2+} é favorecida em um pH ligeiramente ácido. Isso ocorre porque a forma ionizada do TAN, que é mais reativa e capaz de formar o complexo com o Fe^{2+} , é predominante em um pH mais baixo. Além disso, a presença de íons hidrogênio (H^+) no meio ácido facilita a reação entre o TAN e o Fe^{2+} . Tal comportamento pôde ser observado em estudo realizado para o método proposto, no qual se obteve maior sinal analítico em pH 6,5 (Figura 12). No entanto, é importante mencionar que valores de pH baixos ou altos levaram à diminuição da eficiência da reação e/ou à desestabilização do complexo formado (DIAS, 2010).

Isso ocorre porque, em soluções ácidas, o TAN forma íons protonados que são solúveis em água. Em meio alcalino, o TAN passa por desprotonação, resultando em íons também solúveis em água. Essa mudança é evidenciada pela alteração da linha de base, indicando a liberação do TAN. Em meio levemente ácido, a molécula do TAN se comporta de maneira neutra e é solúvel em compostos apolares, solúvel em solventes orgânicos (LEMOS *et al.*,2007).

Figura 12. Avaliação do efeito do pH sobre o sinal analítico no sistema de MCFS. Condições: 200 μL de Fe a 1,0 mg L^{-1} , 250 μL de HCl 0,1 mol L^{-1} e vazão 1 mL min^{-1} (n= 3).

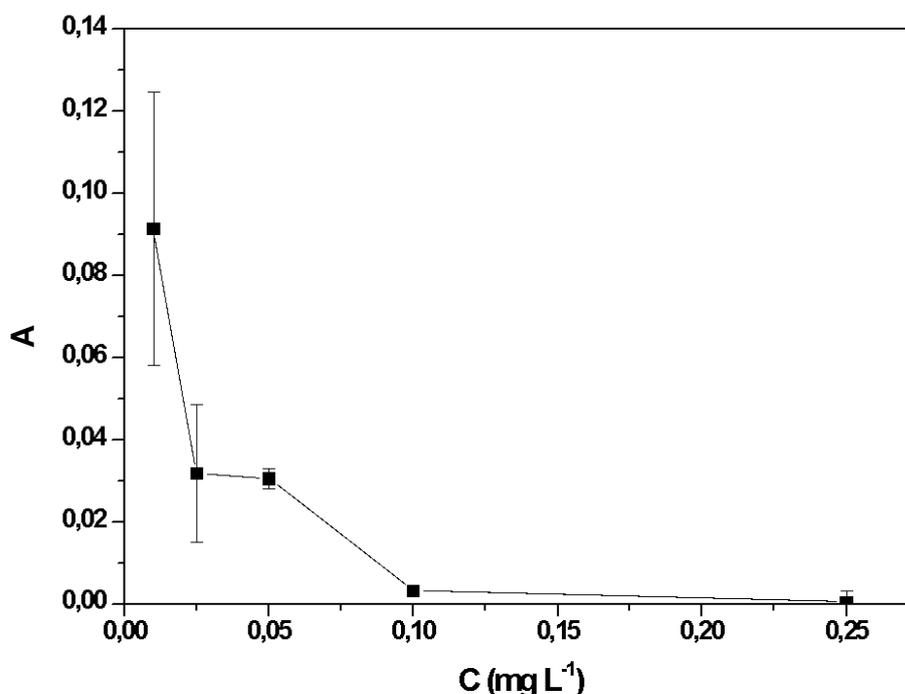


Ao ajustar o pH para condições específicas do sistema, promoveu um ambiente ideal para as reações analíticas em questão. Essa sintonia fina promove uma estabilidade significativa no sinal analítico, minimizando variações indesejadas que poderiam ocorrer devido a condições subótimas de pH. Além disso, a otimização do pH contribui para a robustez do sistema.

4.3.3. Avaliação da concentração de HCl como solução eluente

O estudo da concentração do eluente foi realizado, uma vez que com esse estudo foi possível garantir a eficiência da eluição dos íons ferroso e uma concentração adequada do eluente para garantir a transferência eficiente dos analitos da fase sólida para a fase líquida, sem que houvesse a remoção do reagente cromogênico na fase sólida (Figura 13).

Figura 13. Estudo do efeito da concentração do eluente sobre o sinal analítico no sistema MCFS. Condições: 200 μL de Fe a 1 mg L^{-1} , 250 μL de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e vazão 1 mL min^{-1} ($n= 3$).



Para essa avaliação, foi verificado o sinal analítico após a eluição, sempre observando se há a formação do complexo e se o processo de eluição permitiu a diminuição do sinal analítico.

Ao passar a alíquota de concentração $0,025 \text{ mg L}^{-1}$, há sinal analítico e esse sinal apresenta um desvio alto ($\pm 0,02 \text{ ABS}$). O que comprova uma ineficiência na etapa de eluição, pois ainda há ferro complexado com o TAN. Já em $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ foi observado uma eluição de mesma intensidade, diminuição do sinal em 33,3%. Porém,

há um desvio menor, mas ainda apresenta sinal de ferro, o que pode levar a um possível efeito de memória na fase sólida.

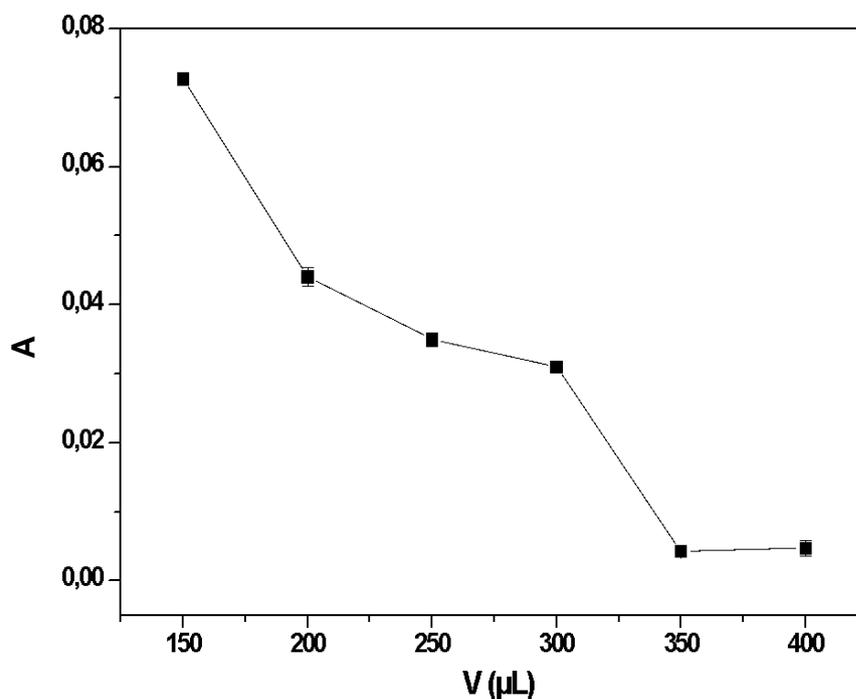
Dessa forma, a concentração ideal foi de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, uma vez que se verifica uma diminuição em 99% do sinal analítico, o que permite uma maior reprodutibilidade.

4.3.4. Volume do eluente

Trabalhos na literatura relatam que ácidos minerais podem ser utilizados para remoção de íons Fe (II) da fase sólida, porém o ácido clorídrico não provocou lixiviação do TAN e promoveu uma eluição eficiente (Teixeira *et al.*, 2007).

Experimentos foram realizados com o intuito de verificar qual o volume de eluente que iria promover a melhor eluição dos íons ferrosos e, para isso, foi estudado a diminuição do sinal da absorbância em função do volume da alíquota de eluente (Figura 14).

Figura 14. Avaliação do volume do eluente sobre o sinal analítico no sistema de MCFS. Condições: $200 \mu\text{L}$ de Fe a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, $x \mu\text{L}$ de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e vazão $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ($n=3$).



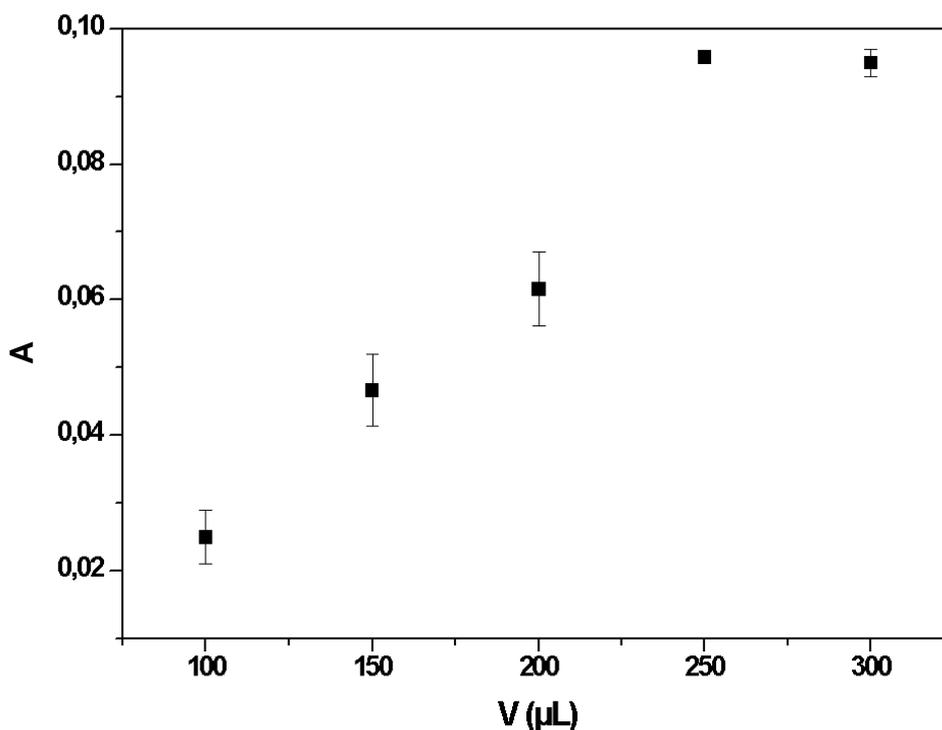
Esse estudo foi realizado utilizando a mesma estratégia do estudo da concentração do eluente. Foi verificado que o volume de 350 μL levou a maior variação de sinal, indicando que houve a completa eluição dos íons ferrosos.

4.3.5. Volume da amostra

A análise de multicomutação em fluxo é um sistema automatizado de análise, no qual, as informações analíticas são monitoradas a partir de um gradiente de concentração gerado pela difusão da alíquota amostral. Com isso é esperado que a magnitude do sinal analítico aumente com o aumento do volume da amostra. Para verificar esse efeito, experimentos foram realizados empregando diferentes volumes de amostra e verificando o aumento no valor de absorbância (Figura 15).

O volume da amostra é um fator que deve ser ajustado para cada amostra específica, caso a concentração do analito não se encontre dentro da faixa de trabalho. No sistema de determinação em fase sólida, ocorre a retenção do analito e, caso esse esteja diluído, pode-se aumentar o volume de amostra. Com isso, concentra-se uma maior quantidade do analito e pode-se viabilizar a análise quantitativa.

Figura 15. Estudo do volume da amostra sobre o sinal analítico no sistema de MCFS. Condições: x μL de Fe a 1 mg L^{-1} , 350 μL de HCl 0,1 mol L^{-1} e vazão 1 mL min^{-1} (n=3).

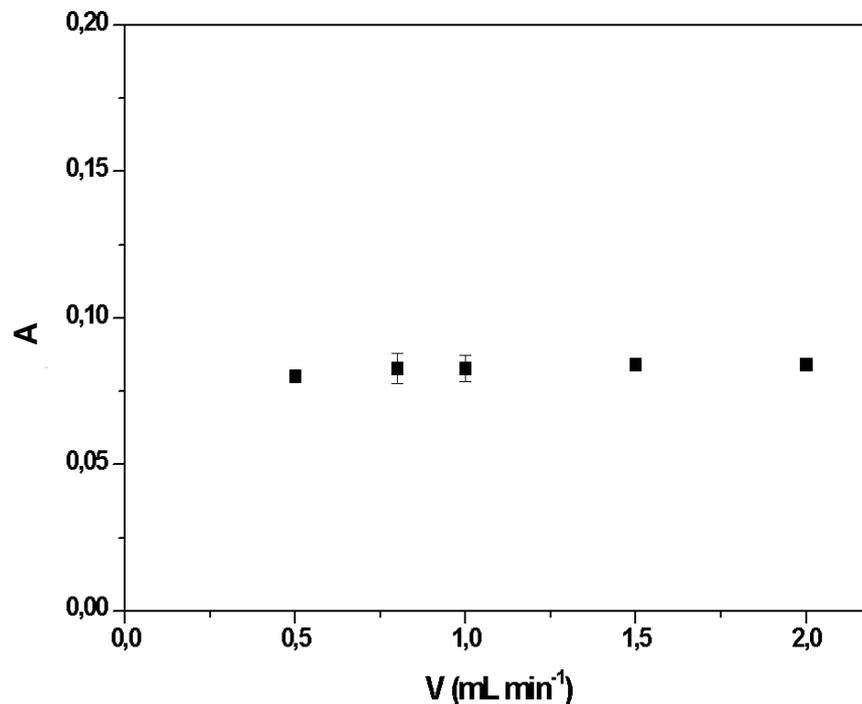


Pela Figura 15, observa-se que quando o volume de 250 µL é atingido, obtém-se o sinal máximo para essa amostra. Em volumes maiores, o sinal analítico não aumentou de maneira significativa ($\Delta_{\text{ABS}} \leq 2\%$). Isso se deu pelo fato de, possivelmente, se atingir o equilíbrio entre o reagente cromogênico (sítios ativos) e os analitos disponíveis (TEIXEIRA *et al.*, 2003).

4.3.6. Vazão do carregador

A avaliação do volume de carregador é um aspecto fundamental na análise de sistemas em fluxo, desempenha um papel crucial na garantia da precisão e confiabilidade das análises (REIS *et al.*, 2000). Para tanto, foi alterada a rotação da bomba peristáltica até a vazão de 2 mL min⁻¹ (Figura 16).

Figura 16. Avaliação do efeito da vazão do carregador sobre o sinal analítico do sistema MCFS. Condições: 250 µL de Fe a 1,0 mg L⁻¹, 350 µL de HCl 0,1 mol L⁻¹ e vazão 2,0 mL min⁻¹ (n= 3).



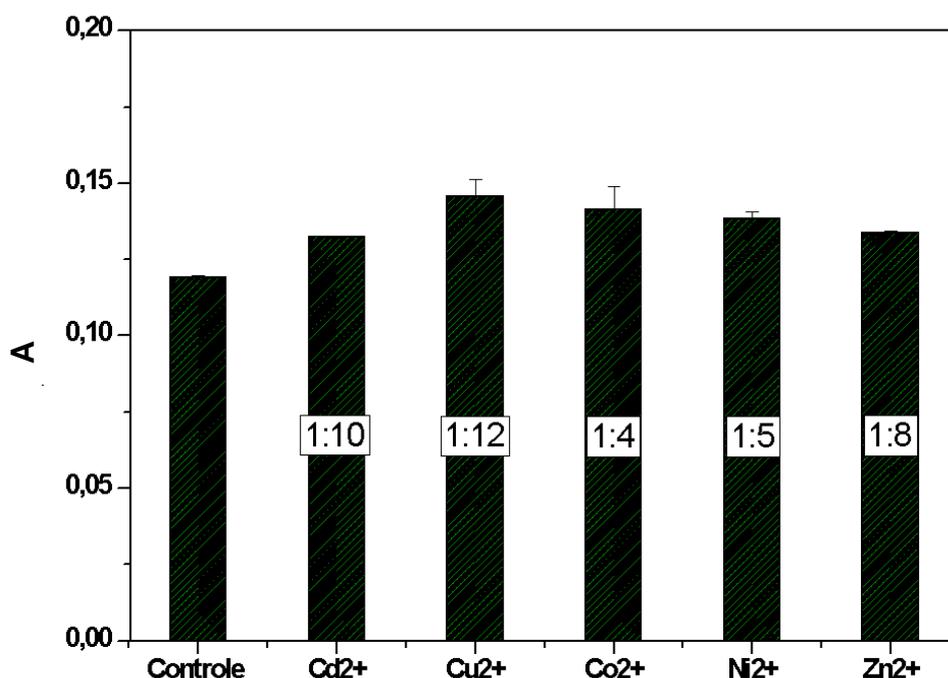
Foi possível verificar que o aumento da vazão não afetou o sinal analítico, a sensibilidade do detector e a reprodutibilidade dos resultados. Portanto, a vazão de 2,0 ml min⁻¹ foi adotada. Para vazões acima desse valor, foi observado ruptura das conexões e vazamentos em diferentes pontos do caminho analítico.

4.4. Validação

4.4.1. Seletividade

Foi realizada uma avaliação do efeito de espécies, potencialmente interferentes, na determinação de Fe em amostras de água potável. Esse estudo foi realizado adicionando quantidades conhecidas de espécies que são encontradas em amostras de água a uma solução 1,0 mg L⁻¹ de Fe²⁺. O limite foi estabelecido $\pm 10\%$ de variação no sinal analítico para se determinar o efeito de interferência (CAESAR *et al.*, 2018). Interferências positivas foram observadas na presença de Cd(II), Cu(II), Co(II), Ni(II) e Zn(II) para concentrações de 4 a 12 vezes maiores que o teor de Fe total (Figura 17).

Figura 17. Estudo para íons concomitantes na determinação de íons Fe^{2+} por TAN. Condições: 250 μL de Fe a 1 mg L^{-1} , 350 μL de HCl 0,1 mol L^{-1} e vazão 2 mL min^{-1} ($n=3$).



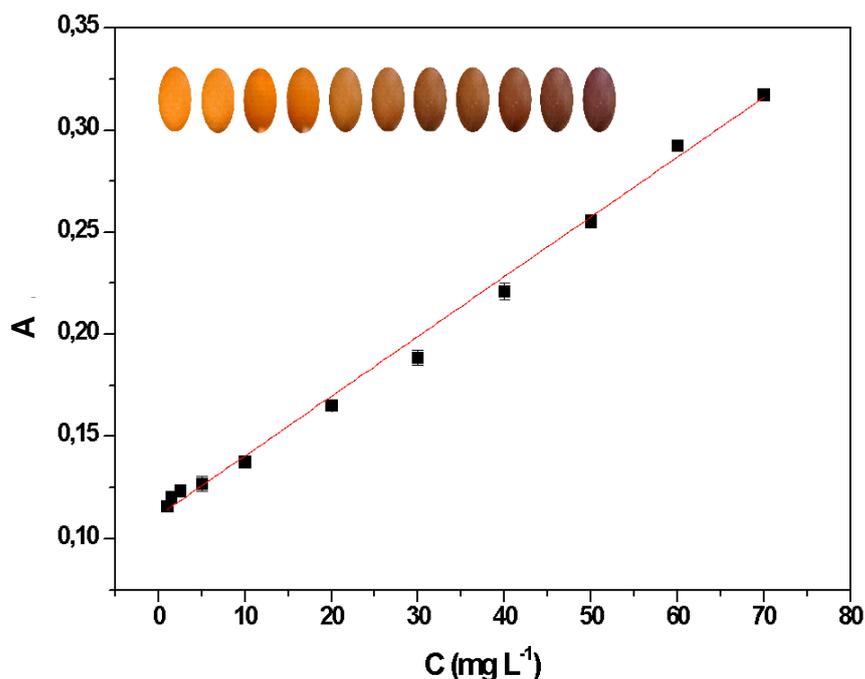
Para os íons Cd^{2+} , que apresenta o menor sinal analítico, ocorreu a interferência positiva quando atinge uma proporção de 1:10, ou seja, 1 mg L^{-1} Fe^{2+} para 10 mg L^{-1} Cd^{2+} ; valores que não são esperados em amostra de água. O interferente que apresentou o maior sinal analítico foi o Cu^{2+} , o qual foi possível verificar interferência com uma proporção de 1:12.

Contudo, é importante salientar que espécies interferentes são frequentemente detectadas em amostras de água, ainda que em concentrações inferiores às que seriam capazes de causar interferência significativa no método em questão (Brasil, 2005; RAI *et al.*, 2022).

4.4.2. Faixa linear de trabalho

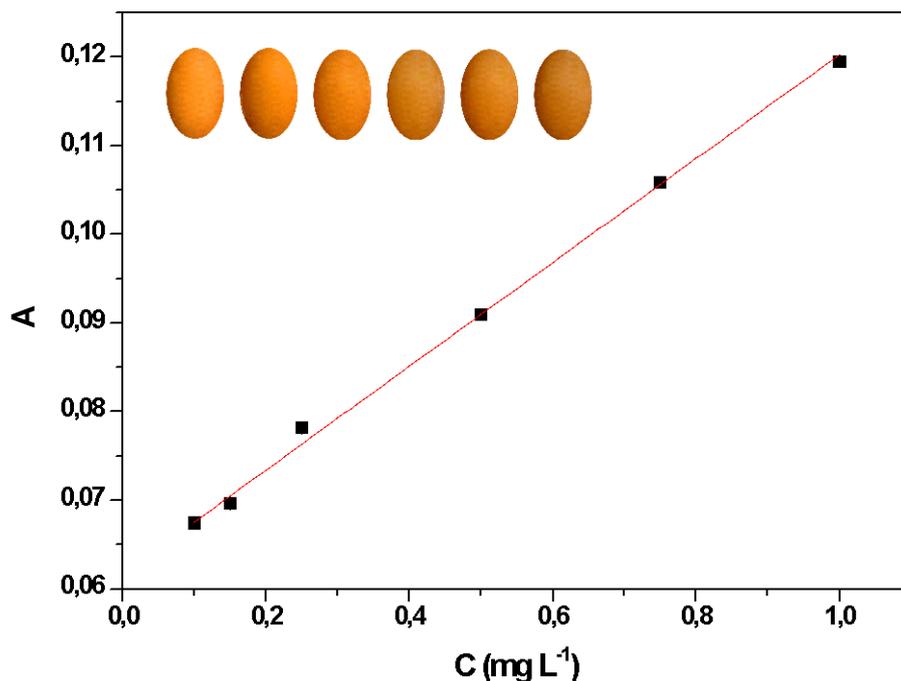
Para determinação da faixa linear, inicialmente, foram avaliadas soluções de Fe com concentrações até 70 mg L^{-1} para obtenção da curva de calibração (Figura 18).

Figura 18. Curva de calibração usando o canal vermelho (Curva A). ($y = 1,292 \pm 0,032x + 0,111 \pm 0,005$, $R = 0,998$). Condições: 250 μL de Fe 1 a 70 mg L^{-1} , 350 μL de HCl 0,1 mol L^{-1} e vazão 2 mL min^{-1} ($n=3$).



Porém, como a amostra de interesse era água doce, no qual a resolução CONAMA 357/2005 e portaria 888/2021 preconizam uma tolerância máxima de 0,3 mg L^{-1} de Fe total (BRASIL, 2021) foi necessário realizar um estudo para concentrações mais baixas. Diante dessa situação, a curva analítica foi refeita preparando soluções de 0,01 a 1,0 mg L^{-1} de Fe. Conforme pode ser observado na Figura 19, uma curva de calibração com boa linearidade conforme apresentado foi obtida. Assim, o método nas condições propostas apresentou boa linearidade ($R = 0,9992$), com limite superior da curva analítica igual a 1,0 mg L^{-1} .

Figura 19. Curva de calibração para análise das amostras de água potável (Curva B). ($y = 0,061 \pm 0,004x + 0,058 \pm 0,007$, $R = 0,9992$). Condições: 250 μL de Fe 0,1 a 1 mg L^{-1} , 350 μL de HCl 0,1 mol L^{-1} e vazão 2 mL min^{-1} ($n=3$).



A investigação das diferenças nos coeficientes angulares em curvas de calibração desempenha um papel crucial na compreensão e no aprimoramento de métodos analíticos em química. Neste estudo, focamos em duas curvas de calibração distintas, Curva A Figura 18 (com coeficiente angular de 0,292) e Curva B Figura 19 (com coeficiente angular de 0,061), buscando elucidar as implicações práticas dessa variação (SKOOG *et al.*, 2009).

A Curva A, com um coeficiente angular significativamente maior, demonstra uma resposta mais sensível às mudanças nas concentrações analisadas em comparação com a Curva B. Essa característica pode ser benéfica em situações em que a detecção de concentrações mais baixas é essencial, mas também pode tornar a curva mais suscetível a pequenas variações experimentais.

O alcance dinâmico, representado pela amplitude de concentrações que a curva pode quantificar com precisão, é outro parâmetro importante. A Curva A, devido ao seu coeficiente angular mais alto, pode oferecer um alcance dinâmico mais amplo, sendo capaz de abranger concentrações mais elevadas sem saturação. No entanto, a Curva B, com um coeficiente angular menor, pode ser mais adequada para

concentrações mais baixas, proporcionando uma resposta linear em uma faixa específica (SKOOG *et al.*, 2009).

A precisão das medidas é afetada diretamente pelo coeficiente angular. Enquanto a Curva A pode fornecer resultados mais precisos para concentrações mais elevadas, a Curva B pode se destacar na precisão de medidas em faixas inferiores. Essa distinção é crucial ao escolher um método analítico, pois as exigências específicas do experimento determinarão a preferência por uma curva sobre a outra. A escolha entre Curva A e Curva B dependerá das características específicas da amostra e das metas analíticas.

4.4.3. Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)

O limite de detecção que corresponde à menor concentração das espécies de interesse que pode ser detectada, foi calculado a partir das Equações 1 e 2. Para calcular o LOD e LOQ, foram realizadas 10 análises de soluções do branco analítico. Com o valor do desvio padrão das intensidades, e a sensibilidade da curva analítica de calibração ($s = 14,9785 \text{ A.L mg}^{-1}$), determinou-se LOD e LOQ iguais a 0,025 e 0,085 mg L^{-1} , respectivamente.

Já para a avaliação da precisão, realizou-se a determinação da intensidade máxima de 8 soluções de Fe^{2+} para 2 níveis de concentração (0,5 e 0,1 mg L^{-1}), sendo obtido $\text{RSD} < 1,05\%$.

A Tabela 3 resume as figuras de mérito do método proposto, e de outros métodos da literatura para determinação do teor total de Fe.

Tabela 3. Comparação entre as figuras de mérito do método proposto e de outros métodos para determinação íons metálicos por colorimetria digital.

Amostra	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)	Faixa Linear (mg L ⁻¹)	Coefficiente de correlação (r)	RSD (%)	Ref.
Água doce	0,025	0,085	0,1 – 1,0	0,9992	< 1,05	Presente trabalho
Água e alimentos	0,0008	0,0026	0,0005- 0,02	0,998	<4,8	SANTOS <i>et al.</i> , 2022
Suplementos alimentares	0,9	1,6	2,5 – 17,5	0,9998	< 1,5	BALLESTEROS <i>et al.</i> , 2021.
Vinho branco	0,04	0,14	0,25 – 2,0	0,997	< 4,7	NETO <i>et al.</i> , 2019.

Dentre os métodos relatados na literatura (Tabela 3), para determinação íons metálicos utilizando colorimetria por imagem digital, somente o método de Santos e colaboradores (2022) apresentou uma maior faixa linear de trabalho. Os métodos Ballestero e colaboradores (2021) e Neto (2019), apresentam faixa linear de trabalho mais estreitas em comparação ao o método proposto.

Em relação aos limites de detecção e quantificação, somente o método de Santos e colaboradores (2022) apresentou menor sensibilidade, com um limite 3x menor que o método proposto. Enquanto os métodos de Ballestero (2021) e Neto (2019) tem LOD 36 e 1,6 vezes, respectivamente, maior do que o método desenvolvido no presente trabalho.

Quando analisamos o desvio padrão relativo (RSD) avaliando a precisão e a variabilidade de um conjunto de dados obtidos, verificamos que o método proposto apresenta 78% melhor precisão, comparado com o método que apresentou maior RSD e 30% mais preciso que o método com o menor desvio (RSD).

Neto e colaboradores (2019) realizaram a especiação analítica de Fe²⁺ e Fe³⁺ em vinho branco. Eles utilizaram a reação do Fe II com a 1,2 orto-fenantrolina e fizeram a medição do ferro total adicionando a amostra agente redutor. O mesmo foi

avaliado no presente trabalho, porém os níveis de ferro II presentes nas amostras, foram abaixo do LOD o que não registrou sinal analítico.

4.5. Exatidão e aplicação do método em amostras reais

A avaliação da exatidão do método foi realizada na determinação de Fe²⁺ em 9 amostras de água potável, que foram retiradas de poços artesianos pertencente a bacia do São Francisco e analisadas através do método de referência 3500-FeB (BRIDGEWATER, 2017). Após a obtenção dos resultados, as mesmas amostras foram analisadas pelo método proposto e seus resultados foram comparados através da realização de testes estatísticos (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados para determinação de íons Fe (II) em água potável (n = 3).

Amostra	Mét. Proposto (mg L⁻¹)	Mét. Referência (mg L⁻¹)	f calculado	P calculado
1	0,32±0,06	0,31±0,01	0,54578	0,173095
2	0,27±0,05	0,26±0,01	0,430891	0,097566
3	0,27±0,04	0,25±0,06	0,626088	0,007853
4	0,21±0,06	0,20±0,06	0,976389	0,119396
5	0,24±0,07	0,22±0,01	0,468423	0,039528
6	0,17±0,05	0,16±0,06	0,795814	0,086496
7	0,44±0,01	0,43±0,02	0,90057	0,244463
8	0,37±0,08	0,36±0,01	0,872773	0,066119
9	0,19±0,06	0,17±0,07	0,824464	0,007095

Para 7 das amostras analisadas pelo método proposto não foi observada diferença significativa frente ao método de referência para 95% de confiança (XIE *et al.*, 2022). Contudo, as amostras 3 e 9 apresentaram diferença significativa em comparação ao método de referência ($p < 0,05$). (COZMA *et al.*, 2018).

A análise das concentrações de Fe na água potável, em conformidade com as normativas regulatórias estabelecidas em 0,3 mg L⁻¹, revela resultados significativos para a qualidade do abastecimento hídrico (BRASIL, 2021). Ao avaliar os dados, é possível afirmar que as amostras 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 9 atendem aos requisitos regulatórios, uma vez que as concentrações de Fe apresentaram valores iguais ou

abaixo do limite máximo permitido. Essa conformidade assegura a pureza essencial para a saúde pública, indicando que essas fontes de água mantêm-se dentro dos padrões de qualidade estabelecidos.

No entanto, as amostras 7 e 8 mostraram concentrações que excederam o limite regulatório estabelecido. Esse cenário acende um alerta para a necessidade de ações corretivas ou implementação de estratégias adicionais de tratamento da água.

5. CONCLUSÕES

Nesse trabalho, foi desenvolvido um método baseado em colorimetria digital em fase sólida para a determinação de ferro em nível de mg L^{-1} em amostra de água doce, no qual apresentou boa sensibilidade, seletividade e simplicidade de operação.

O procedimento MCFS-SP-DIC associado com o procedimento computacional para o tratamento de imagens digital demonstrou excelentes comportamentos para determinação de elementos traços. Quando comparado com trabalhos da literatura, pois o mesmo apresenta maior faixa de trabalho e menor LOD.

A utilização do TAN imobilizado em sílica C18 permitiu desenvolver uma fase sólida reacional o que diminuiu as etapas do método e permitiu construção de um sistema com pre-concentração e determinação simultâneo. A retenção reversível de íons ferrosos no suporte sólido C18@TAN com massa reduzida permitiu uma diminuição da impedância do fluxo, consumo de reagente e amostra, quando comparado com métodos relatados na literatura.

A detecção utilizando a calorimetria de imagens digitais permitiu uma maior simplicidade de operação e o baixo custo no desenvolvimento do método, além de atenuar as limitações em uma análise em fase sólida por espectrofotometria. Todas as etapas do procedimento, foram realizadas em linha através do sistema de multicomutação, o que reduz o consumo e o risco de contaminação.

Ao analisar as nove amostras, foi possível constatar que sete delas apresentaram valores de ferro total dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira ($0,3 \text{ mg L}^{-1}$). No entanto, em duas amostras, os valores de ferro excederam as recomendações, indicando a necessidade de implementar um processo de tratamento para torná-las adequadas ao consumo.

6. REFERÊNCIAS

1. ABDOLMALEKY, M. *et al.* Red-Green-Blue multi-channel quantum representation of digital images. *Optik*, v. 128, p. 121-132, 2017.
2. BRIDGEWATER, L. L.; Baird, R. B.; Eaton, A. D.; Rice, E. W. *Standard Methods for The Examination of Water and Waste Water*. 23. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2017. Acessado em: 20/03/2023 <https://studylib.es/doc/8946126/standard-methods-for-the-examination-of-water-and-wastewa>
3. BALIZA, P.X.; Ferreira, S. L. C.; Teixeira, L. S. G. Application of pyridylazo and thiazolylazo reagents in flow injection preconcentration systems for determination of metals. *Talanta*, v. 79, n. 1, p. 2-9, 2009.
4. BALLESTEROS, I J.; Caleja-Ballesteros, H. J. R.; Villena M. C. Digital image-based method for iron detection using green tea (*Camellia sinensis*) extract as natural colorimetric reagent. *Microchemical Journal*, v. 160, 2021.
5. BAKER, I.R.; Matzen, S. L.; Schuler, C. J.; Toner, B. M.; Girguis, P. R.; Bahar, I. Aerobic iron-oxidizing bacteria secrete metabolites that markedly impede abiotic iron oxidation. *PNAS NEXUS*, v. 2, 2023.
6. BEZERRA, M.A.; Santelli, R.E.; Lemos, V.A.; Alves, J.P.D.; Braz, B.F.; Santos, L.B. Strategies to Make Methods Based on Flow Injection Analysis Greener. *CLEAN-SOIL AIR WATER*, v. 48, 2020
7. BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. (2011) Resolução n.º 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n.º 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. *Diário Oficial da União, Brasília*, n. 92. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 15 mai. 2023.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Dispõe sobre a regulamentação do Programa Nacional de Apoio à Atenção Oncológica (PRONON) e do Programa Nacional de Apoio à Atenção da Saúde da Pessoa com Deficiência (PRONAS/PCD). *Diário Oficial da União, Brasília, DF*, 5 maio 2021. Seção 1, p. 59-62.
9. BOJKO, B. *et al.* SPME - Quo vadis?. *Analytica chimica acta*. v. 750, p 132-151, 2012

10. CAESAR, L. K.; Kvalheim, O. M.; Cech, N. B. Hierarchical cluster analysis of technical replicates to identify interferents in untargeted mass spectrometry metabolomics, *Analytica Chimica Acta*, v. 1021, p. 69-77, 2018.
11. CAPITAN-VALLVEY, L.F. et.al. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review, *Analytica Chimica Acta*, v. 899, p. 23-56 2015.
12. CHAPLENKO, A. A.; Monogarova, O.V.; Oskolok, K.V.; Garmay, A.V. Digital Colorimetry in Chemical and Pharmaceutical Analysis. Moscow university chemistry bulletin, v.77, p.61-67, 2022.
13. COZMA, D. G.; Costuleanu, C. L.; Sandu, I.; Lutic, D. Statistical Analysis of Raw and Potable Water Quality from a Preparation Plant, as a Basis to Purpose the Re-schedule of the Physico-Chemical Current Routine Analysis Periodicity, *Revista de Chimie*, v. 69, p. 214-221, 2018.
14. DIAS, T. R. Desenvolvimento de instrumentação e procedimento analíticos automáticos empregando fotometria em fase sólida para determinação de zinco em produtos farmacêuticos e água. Universidade de São Paulo, 2010.
15. DONOHUE, M. J.; Pham, M.; Brown, S.; Easwaran, K. M.; Vesper, S.; Mistry, J. H. Water quality influences Legionella pneumophila determination. *pergamon-elsevier science ltd*, v. 238, 2023.
16. Edsall, C.; Fergusson, A.; Davis, R. M.; Meyer, C. H.; Allen, S.P.; Vlaisavljevich, E. Probability of Cavitation in a Custom Iron-Based Coupling Medium for Transcranial Magnetic Resonance-Guided Focused Ultrasound Procedures. *Ultrasound in medicine and biology*. v 49, 2023.
17. FAHMI, A. R.; Mohammed, H. J.; Mahdi, R. A. Magnetic Solid Phase Extraction for Determination of Dyes in Food and Water Samples. *Indonesian Journal of Chemistry*, v. 23, p 1181-1198, 2023.
18. FAN, Y. et al. Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review. *Measurement*, v. 171, 2021.
19. FARHADI, K.; Maleki, R.; Nikkhahi, Y. The Use of Polyphenolic Compounds from Black Tea for the Solid Phase Extraction and Determination of Trace Iron in Drinking Water. *Clean-soil Air Water*, v. 37, p.884-888, 2009.

20. FARIAS, L. J. D. S. Aplicações de diferentes solventes na extração em fase sólida de pesticidas em água. Desenvolvimento e validação de metodologia. Unicamp, 2004.
21. FERNANDES, G.M.; Silva, W.R.; Barreto, D.N.; Lamarca R.S.; Gomes, P.C.F.L.; Petrucci, J.F.d.S.; Batista, A.D. Novel approaches to colorimetric measurements in analytical chemistry—A review, *Analytica Chimica Acta*, 2020.
22. HE, Z. X.; Liu, Z. W.; Xie, H. H.; Luo, P. J.; Li, X. M. An Ultrasensitive Lateral Flow Immunoassay Based on Metal-Organic Framework-Decorated Polydopamine for Multiple Sulfonylureas Adulteration in Functional Foods. *FOODS*, v.12, 2023.
23. JESUS, Jemmyson Romário et al. Applications of smartphones in analysis: Challenges and solutions. In: *Smartphone-Based Detection Devices*. Elsevier, p. 199-248, 2021.
24. Kelda, H. K.; Kaur, P. A review: Color models in image processing. *International, Computer Technology and Applications*, v. 5, p. 319-322, 2014.
25. Koussiouris, J.; Looby, N.; Kulasingam, V.; Chandran, V. A Solid-Phase Microextraction-Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Method for Analyzing Serum Lipids in Psoriatic Disease. *METABOLITES*. v. 13, 2023.
26. KUO, S.M.; Lee, B.H.; Tian, W. Real-time digital signal processing: fundamentals, implementations and applications, John Wiley & Sons, 2013.
27. LEMOS, V.A.; SANTOS, E.S.; SANTOS, M.S.; YAMAKI, R.T. Thiazolylazo dyes and their application in analytical methods. *Microchimica Acta*, v.158, n.3-4, p.189-204. 2007.
28. MINGWEI, W.; Hongyuan, Y.; Yehong, H.; Fengxia, Q. Miniaturized extraction and determination of swelling agents in fruits and vegetables based on deep eutectic solvent-molecularly imprinted hydrophilic resin. *Food chemistry*, v. 398, 2023.
29. NETO, J. H. S.; Porto, I.S.A.; Schneider, M. P.; Santos, A. M.P.; Gomes, A. A.; Ferreira, S. L.C. Speciation analysis based on digital image colorimetry: Iron (II/III) in white wine. *Talanta*, v. 194, p. 86–89, 2019.
30. OLIVEIRA, F. S. Exploração de modelagens matemáticas em determinações por espectrofotometria em fase-sólida em sistemas de análise por injeção em fluxo. UFBA, Salvador, 2001

31. PHATTHANAWIWAT, K.; Boonkanon, C.; Wongniramaikul, W.; Choodum, W. Catechin and curcumin nanoparticle-immobilized starch cryogels as green colorimetric sensors for on-site detection of iron. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, v. 29, 2022.
32. Pascual, M. I. R.; Parras, G. P.; Díaz, A. M. Solid-phase UV spectrophotometric method for determination of ciprofloxacin. *Microchemical Journal*, v. 77, p. 79-84, 2004
33. QUEIROZ, S. C. N.; Jardim, I. C. S. F. Novos sorventes baseados em poli (metiloctilsiloxano) sobre sílica para uso em extração em fase sólida. *Química Nova*, v. 29, p. 637-640. 2006.
34. RAI, P. K.; Islam, M.; Gupta, A. Microfluidic devices for the detection of contamination in water samples: A review. *Sensors And Actuators A-Physical*, v.347, 2022.
35. RAO, P. R.; Yeou-Lih, H. Recent applications of atomic spectroscopy coupled with magnetic solid-phase extraction techniques for heavy metal determination in environmental samples: A review. *the Chinese Chemical Society*, v. 70, p. 1326-1337, 2023.
36. REIS, B. F.; Rocha, F. R. P.; Teixeira, L. S. G.; Costa, A. C. S.; Korn, M. Construção de uma cela de fluxo para medidas por espectrofotometria em fase sólida. *Química Nova*, 23(1), 116-118. 2000.
37. SANTOS, L. B.; Assis, R. S.; Silva, U. N.; Lemos, V. A. Switchable-hydrophilicity solvent-based liquid-phase microextraction in an on-line system: Cobalt determination in food and water samples, *Talanta*, v. 238, 2022.
38. SIKAKWE, G.U.; Eyong, G.A.; Ojo, S.A. Geochemical modeling and hydrochemical analysis for water quality determination around mine drainage areas. *Water environment research*. v. 96, 2024.
39. SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. *Fundamentos de química analítica*. 8 São Paulo: Cengage Learning, 2009.
40. SUPACHA, W.; Wanlapa, A.; Fuangfa, U.; Saowarux, F.; Puttaruksa, V. Kanphitcha, M.; Thiracha, T.; Pumidech, P. Portable Quantitative Chemical Analysis: Digital Image Colorimetric Detection of Fe(III) with Curcumin Paper. *Journal of Chemical Education*, v. 100, p 3604-3611, 2023.

41. SHAIKH, A. A.; Firdaws, J.; Badrunnessa; Serajee, S.; Rahman, M. S.; Bakshi, P. K. Electrochemical Studies of the pH Dependence of Cu(II) Reduction in Aqueous Britton-Robinson Buffer Solution. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ELECTROCHEMICAL SCIENCE*. v.6, 2022.
42. TEIXEIRA, L. S. G.; Rocha, F. R. P. A green analytical procedure for sensitive and selective determination of iron in water samples by flow-injection solid phase spectrophotometry. *Talanta*, v. 71, p. 1507–1511. 2007.
43. TEIXEIRA, L. S. G.; Rocha, F. R. P. Espectrofotometria em fase sólida. *Revista Analytica*, v. 2, p. 36-43, 2003.
44. TEIXEIRA, L.S.G.; Costa, A. C. S.; Assis, J.C.R.; Ferreira, S.L.C.; Korn, M. Solid phase spectrophotometry for the determination of cobalt in pharmaceutical preparations. *Microchimica Acta*, v.137, p. 29-33, 2001.
45. VIDAL, M.; Garcia-Arrona, R.; Bordagaray, A.; Ostra, M.; Albizu, G. Simultaneous determination of color additives tartrazine and allura red in food products by digital image analysis, *Talanta*, v. 184, p. 58-64, 2018.
46. SHOGAH, Z. A. C; Bolshakov, D.S.; Amelin, V.G. Using Smartphones in Chemical Analysis. *ANALYTICAL CHEMISTRY*, v. 78, p. 426-449, 2023.
47. XIE, B.; Wu, X. F.; Luo, H. T.; Huang, X. L.; Huang, F.; Zhang, Q. Y.; Zhou, X.; Wu, Q. G. Chemical profiling and quality evaluation of Pogostemon cablin Benth by liquid chromatography tandem mass spectrometry combined with multivariate statistical analysis, *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 209, 2022.
48. YUAN, w.; Liu, Q.; Song, S. Lu, Y. L. Yang, S. J.; Fang, Z. L.; Shi Z. A climate-water quality assessment framework for quantifying the contributions of climate change and human activities to water quality variations. *ENVIRONMENTAL MANAGEMENT*. v 333, 2023.
49. ZHOU, W.; Wieczorek, M.N.; Javanmardi, H.; Pawliszyn, J. Direct solid-phase microextraction-mass spectrometry facilitates rapid analysis and green analytical chemistry. *Trac-trends in analytical chemistry*. v. 166, 2023.