

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

JUAN ANTÔNIO VÁZQUEZ DE ALMEIDA BARROS

***USO DE IMAGENS DIGITAIS PARA A
DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E DO
COMPRIMENTO DE ONDA DE ANALITOS DE
INTERESSE AMBIENTAL***

Alfenas/MG

2013

JUAN ANTÔNIO VÁZQUEZ DE ALMEIDA BARROS

***USO DE IMAGENS DIGITAIS PARA A
DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E DO
COMPRIMENTO DE ONDA DE ANALITOS DE
INTERESSE AMBIENTAL***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Alfenas,
como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre
em Química; Área de concentração: Química Analítica.
Orientador: Prof. Dr. Pedro Orival Luccas
Co-orientador: Prof. Dr. Célio Wisniewski

Alfenas/MG

2013

Barros, Juan Antônio Vázquez de Almeida.

Uso de imagens digitais para a determinação da concentração e do comprimento de onda de analitos de interesse ambiental / Juan Antônio Vázquez de Almeida Barros. - Alfenas, 2013.

72 f. -

Orientador: Pedro Orival Luccas

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2013.

Bibliografia.

1. Ondas eletromagnéticas. 2. Espectrofotometria. 3. Fotografia –Técnicas digitais. 4. Mínimos quadrados. I. Luccas, Pedro Orival. II. Título.

CDD: 543.55

JUAN ANTÔNIO VÁZQUEZ DE ALMEIDA BARROS

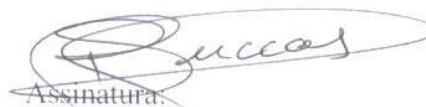
***USO DE IMAGENS DIGITAIS PARA A
DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E DO
COMPRIMENTO DE ONDA DE ANALITOS DE
INTERESSE AMBIENTAL***

Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Qualificação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Analítica

Aprovada em: 26/07/2013

Prof^o. Pedro Orival Luccas

Instituição: Universidade Federal de Alfenas


Assinatura:

Prof^o. André Fernando Oliveira

Instituição: Universidade Federal de Viçosa


Assinatura:

Prof^o. José Maurício S. da Silva

Instituição: Universidade Federal de Alfenas


Assinatura:

RESUMO

A presente dissertação apresenta uma alternativa ao uso de espectrofotômetros aplicados a determinação do comprimento de onda de absorção máxima e concentração de substâncias que absorvem radiação eletromagnética na região do visível (400-800 nm), empregando-se imagens digitais para tal fim. Câmeras digitais foram usadas para obter todas as imagens digitais, sendo utilizada em um primeiro momento uma câmera e como segunda abordagem, visando diminuir os custos e aumentar a portabilidade, uma *web cam*. As variáveis fotográficas foram obtidas utilizando-se um software desenvolvido utilizando a linguagem JAVA[®]. Ferramentas matemáticas foram desenvolvidas utilizando-se o Método dos Mínimos Quadrados (MMQ), considerando as variáveis fotográficas: R (Vermelho), G (Verde), B (Azul), H (Matiz), S (Saturação) e Br (Brilho). Utilizando-se ANOVA verificou-se que todos os modelos foram viáveis em um nível de confiança de 95%. Para verificar a exatidão, em um primeiro momento o método foi aplicado em três amostras comerciais: Isotônico (Amarelo Tartrazina), Antiácido (Amarelo Crepúsculo) e Suplemento de Ferro (Ferro total). Também foram coletadas amostras de água de mina, represas e correios da região focando a determinação dos seguintes analitos: Alumínio, Ferro, Fósforo e Nitrito. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) obtidos foram semelhantes aos resultados obtidos pelos métodos de referência. Foram efetuados testes de adição e recuperação, sendo as taxas de recuperação obtidas entre 93,50 e 108,30%. A precisão foi avaliada com o coeficiente de variação (n=3), sendo menor que 1,53%. As determinações com o método proposto e o método espectrofotométrico foram concordantes (teste-*t* pareado com 95% de confiabilidade). Em conclusão, este é um método simples e versátil, e mostra que imagens digitais podem ser aplicadas em determinações de concentração e ou comprimento de onda de máximo de absorção de analitos coloridos em solução aquosa.

Palavras chave: Análise de Imagens Digitais. Espectrofotometria. Fotografia. Mínimos-Quadrados.

ABSTRACT

This dissertation presents an alternative to the use of spectrophotometers applied to determine the wavelength of maximum absorbance and concentration of substances that absorb electromagnetic radiation in the visible region (400-800 nm), using for this purpose digital images. Digital cameras were used to obtain all the digital images being used at first a camera and, as second approach in order to reduce costs and increase portability, a web cam. The photographic variables were obtained using software developed using JAVA[®]. Mathematical tools were developed using the least squares method (LSM), considering the photographic variables: R (Red), G (Green), B (blue), H (Hue), S (Saturation) and Br (Brightness). Thru the use of ANOVA all models were feasible on a confidence level of 95%. To verify accuracy, at first, the method was applied to three commercial samples: Isotonic (Yellow Tartrazine), Antacid (Sunset Yellow) and Suplemeto Iron (Iron total). Also, samples of mine water, dams and streams of the region focusing on the determination of the following analytes: Aluminum, Iron, Phosphorus and Nitrite. The limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) were similar to results obtained by standard methods. Tests of addition and recovery, were performed and the recovery rates obtained between 93.50 and 108.30%. Precision was evaluated as the relative standard deviation ($n = 3$), being less than 1.53%. Determinations with the proposed method and the spectrophotometric method were concordant (paired t-test with 95% confidence). In conclusion, this is a simple and versatile method and shows that the use of digital images may be applied to determinate the concentration and or the wavelength of maximum absorption of analytes in colored aqueous solution.

Keywords: Digital Image Analysis. Spectrophotometry. Photography. Least Square Models.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da radiação eletromagnética e parâmetros empregados em sua quantificação.....	2
Figura 2 - Representação do espectro eletromagnético, destacando-se a faixa do visível (400-800 nm).....	4
Figura 3 - Representação da atenuação de um feixe de radiação com a matéria.	5
Figura 4 - Representação da coleta de informações de uma imagem real para compor uma ID.	7
Figura 5 - Quatro representações da mesma imagem, com variação do número de píxeis utilizados.....	8
Figura 6 - Representação dos Filtros RGB comumente empregados em sensores ópticos.....	12
Figura 7 - Representação da anatomia de um sensor óptico.....	13
Figura 8 - Representação Esquemática de um CMOS.	15
Figura 9 - Representação esquemática de um CCD.	16
Figura 10 - Matriz M, relacionando um conjunto de experimentos e as variáveis as quais regem o sistema em estudo, e Matriz R, exibindo as respostas obtidas através do conjunto de experimentos.	18
Figura 11 - Fluxograma descrevendo a metodologia para a obtenção dos modelos matemáticos para cálculo do comprimento de onda de máximo de absorção.	24
Figura 12 - Fluxograma descrevendo a metodologia para a obtenção dos modelos matemáticos para cálculo do das concentrações dos analitos.....	25
Figura 13 - Detector empregado e seus acessórios: Espectrofotômetro USB 4000 (UV-Visível), fonte de luz, fibra óptica e cubeta de quartzo.	26
Figura 14 - Ilustração que representa a montagem desenvolvida para a obtenção das fotografias, sendo seus componentes: Lâmpada Fluorescente de 40 watts (110v), câmara fotográfica e câmera fotográfica utilizada (NIKON COOLPIX P-90).....	27
Figura 15 - A câmara fotográfica portátil desenvolvida empregando-se uma web cam	29
Figura 16 - Software desenvolvido exibindo a obtenção das variáveis fotográficas R; G; B; H; S; Br (esta última denotada como B no software).	30
Figura 17 - Mapa da cidade de Alfenas-MG indicando os pontos onde foram efetuadas as coletas.	34

Figura 18 - Espectros obtidos para os analitos empregados na construção do modelo matemático para a determinação do comprimento máximo de absorção.....	39
Figura 19 - Erro percentual para o modelo desenvolvido para a determinação de comprimento de onda utilizando-se a câmara fotográfica.	41
Figura 20 - Curva analítica, equação linear e coeficiente de correlação obtido com Espectrofotometria UV-Vis, para o analito amarelo tartrazina no comprimento de onda 429,33 nm.	44
Figura 21 - Curva analítica, equação linear e coeficiente de correlação obtido com Espectrofotometria UV-Vis, para o analito amarelo crepúsculo no comprimento de onda 484,32 nm.	44
Figura 22 - Curva analítica, equação linear e coeficiente de correlação obtido com Espectrofotometria UV-Vis, para o analito ferroína no comprimento de onda 501,82 nm.	45
Figura 23 - Erro percentual versus concentração dos analitos.	45
Figura 24 - Espectros obtidos para os analitos empregados na construção do modelo matemático visando a determinação do comprimento máximo de absorção.	48
Figura 25 - Erro percentual para o modelo quadrático desenvolvido.....	51
Figura 26 - Estudos de variáveis de trabalho para os analitos: Alumínio (A), Ferro (B), Fósforo (C) e Nitrito (D). Sendo representadas em Vermelho as equações referente a variável R, em Verde referente a variável G, em Azul referente a variável B e em Lilás referente a R+G.	53
Figura 27 - Curvas analíticas obtidas, utilizando-se espectrofotometria UV-Vis, para os analitos: Alumínio (A), Ferro (B), Fósforo (C) e Nitrito (D).	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variáveis utilizadas na construção do modelo matemático para determinação do comprimento de onda de absorção máximo.	31
Tabela 2 - Coordenadas geográficas dos pontos de coleta	34
Tabela 3 - Experimentos realizados para avaliar os resultados obtidos pelo modelo estabelecendo comparação com dados obtidos por espectrofotometria de absorção molecular e os valores teóricos.....	40
Tabela 4 - Análise de variância para o modelo quadrático desenvolvido para o cálculo do comprimento de onda utilizando-se o modelo desenvolvido	41
Tabela 5 - Análise de variância para o modelo linear desenvolvido para o cálculo da concentração do analito amarelo tartrazina.	43
Tabela 6 - Análise de variância para o modelo linear desenvolvido para o cálculo da concentração do analito amarelo crepúsculo.	43
Tabela 7 - Análise de variância para o modelo linear desenvolvido para o cálculo da concentração do analito ferroína.....	43
Tabela 8 - Figuras de mérito (LD, LQ e Faixa Linear)	46
Tabela 9 - Determinações em amostras comerciais.....	46
Tabela 10 - Os experimentos realizados para avaliar os valores de comprimento de onda de absorção máximo obtidos pelo modelo estabelecendo comparação com dados obtidos via espectrofotometria de absorção molecular e os valores teóricos.	50
Tabela 11 - Análise de variância para o modelo quadrático desenvolvido para o cálculo do comprimento de onda utilizando-se o modelo desenvolvido	50
Tabela 12 - As variáveis utilizadas na determinação da concentração de cada analito, bem como as equações obtidas e os coeficientes de correlação (R^2)	53
Tabela 13 - Faixa linear da curva analítica, limites de detecção e quantificação, em mg L^{-1} ..	55
Tabela 14 - Teores máximos preconizados pela legislação ambiental brasileira para os analitos determinados em mg L^{-1}	55
Tabela 15 - Comprimentos de onda obtidos utilizando-se AID e comparação com metodologia de referência.....	57
Tabela 16 - Avaliação dos valores de recuperação para uso de AID na determinação de Alumínio em amostras ambientais.....	58

Tabela 17 - Avaliação dos valores de recuperação para uso de AID na determinação de Ferro em amostras ambientais.....	59
Tabela 18 - Avaliação dos valores de recuperação para uso de AID na determinação de Fósforo em amostras ambientais.....	60
Tabela 19 - Avaliação dos valores de recuperação para uso de AID na determinação de Nitrito em amostras ambientais.....	61

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA	2
2.1	RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA	2
2.2	ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR UV-VIS	4
2.3	OBTENÇÃO DE IMAGENS DIGITAIS	6
2.4	<i>PIXEIS</i>	8
2.5	O SISTEMA <i>RGB</i> E A COMPOSIÇÃO DAS CORES EM IMAGENS DIGITAIS	9
2.6	CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DE MÁQUINAS FOTOGRÁFICAS E ESPECTROFOTÔMETROS	10
2.7	FONTES DE RADIAÇÃO	10
2.8	SELETORES DE COMPRIMENTO DE ONDA	11
2.9	RECIPIENTES PARA A AMOSTRA	14
2.10	DETECTORES	14
2.10.1	CMOS (COMPLEMENTARY METAL OXIDE SEMICONDUCTOR)	14
2.10.2	CCD (CHARGED COUPLED DEVICE)	16
2.11	MÉTODO DOS MÍNIMOS QUADRADOS	17
2.12	ANÁLISE DE IMAGEM DIGITAL (AID)	19
2.13	AID APLICADA À QUÍMICA ANALÍTICA	19
3	JUSTIFICATIVA	22
4	OBJETIVOS	23
5	MATERIAIS E MÉTODOS	24
5.1	INSTRUMENTAÇÃO E ACESSÓRIOS	26
5.2	VARREDURA ESPECTRAL	26
5.3	CONSTRUÇÃO DA CÂMARA FOTOGRÁFICA	27

5.4	PORTABILIDADE: UTILIZANDO UMA <i>WEB CAM</i>	28
5.5	SOFTWARE PARA A OBTENÇÃO DAS FOTOGRAFIAS	29
5.6	SOFTWARE PARA OBTENÇÃO DAS VARIÁVEIS FOTOGRÁFICAS	30
5.7	OBTENÇÃO DOS MODELOS MATEMÁTICOS PARA DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA DE MÁXIMO DE ABSORÇÃO.....	31
5.8	REAGENTES E SOLUÇÕES	32
5.9	AMOSTRAS	33
5.10	DESCRIÇÃO DA ÁREA DE COLETA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA.....	33
5.11	PREPARO DAS AMOSTRAS	35
5.12	FIGURAS DE MÉRITO	35
5.12.1	LINEARIDADE	35
5.12.2	LIMITES DE DETECÇÃO (<i>LD</i>) E LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO (<i>LQ</i>).....	36
5.13	PRECISÃO.....	37
5.14	ERROS	37
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
6.1	CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DOS RESULTADOS OBTIDOS	38
6.2	ETAPA I: DETERMINAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COLORIDAS COMERCIAIS.....	38
6.2.1	VARREDURA ESPECTRAL.....	38
6.2.2	DETERMINANDO O COMPRIMENTO DE ONDA DE MÁXIMO DE ABSORÇÃO.....	39
6.2.3	OBTENÇÃO DO MODELO MATEMÁTICO PARA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS ANALITOS.....	42
6.2.4	LIMITES DE DETECÇÃO E LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO.....	46
6.2.5	DETERMINAÇÕES EM AMOSTRAS COMERCIAIS	46
6.3	ETAPA II: DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS DE INTERESSE AMBIENTAL...	48
6.3.1	VARREDURA ESPECTRAL.....	48
6.3.2	OBTENÇÃO DOS MODELOS MATEMÁTICOS PARA DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA.....	49

6.3.3 ESTUDO DE VARIÁVEIS E CONSTRUÇÃO DE CURVAS DE CALIBRAÇÃO	52
6.3.4 FIGURAS DE MÉRITO E VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA	55
7 CONCLUSÕES	62
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS...	63
REFERÊNCIAS	64
APÊNDICES -	68

1 INTRODUÇÃO

A espectrofotometria UV-Vis é uma técnica analítica amplamente utilizada em larga escala para a determinação das concentrações de analitos [1]. Visando a determinação de analitos em solução aquosa, é frequentemente explorada a capacidade que algumas substâncias possuem de absorver radiação na faixa espectral compreendida entre 400-800 nm.

Compostos que exibem cor são um exemplo, sendo alguns destes encontrados já coloridos, como exemplo os corantes, e outros analitos podem exibir cor a partir da reação com reagentes cromogênicos. Ambas as substâncias descritas são analisadas via espectrofotometria de absorção molecular [2].

Como alternativa às determinações espectrofotométricas de substâncias coloridas é empregada análise de imagens digitais (AID) fundamentadas no sistema computacional *RGB*, cuja sigla é proveniente dos nomes, em inglês, das três cores primárias: vermelho (*Red*), verde (*Green*) e azul (*Blue*) [3].

A AID revela-se um método de baixo custo comparado às técnicas espectrofotométricas e também preciso no que diz respeito à determinação de analitos de interesse ambiental, tais como fósforo em amostras de água [4] e alcalinidade total de águas minerais e de torneira [5].

Considerando o exposto, o método de AID se mostra um forte candidato como alternativa às determinações espectrofotométricas visando à quantificação de analitos. Assim o presente trabalho apresenta uma investigação da funcionalidade e aplicabilidade de AID para determinações em química analítica.

2 SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA

Nesta seção serão discutidos alguns aspectos teóricos relacionando com os conteúdos relacionados à radiação eletromagnética, espectrofotometria UV-Vis e imagens digitais. Será efetuada uma correlação entre a instrumentação de espectrofotômetros e os componentes principais de uma máquina fotográfica.

2.1 Radiação eletromagnética

Existem duas teorias que exploram a natureza das radiações eletromagnéticas, sendo a primeira a teoria clássica, chamada de modelo de onda. Segundo este modelo é possível entender a radiação eletromagnética como ondas senoidais, as quais são caracterizadas e quantificadas segundo os parâmetros: comprimento de onda (λ), amplitude de onda (A) e velocidade (v) [1]. Na Figura 1 são exibidos os parâmetros aplicados na caracterização e classificação da radiação eletromagnética.

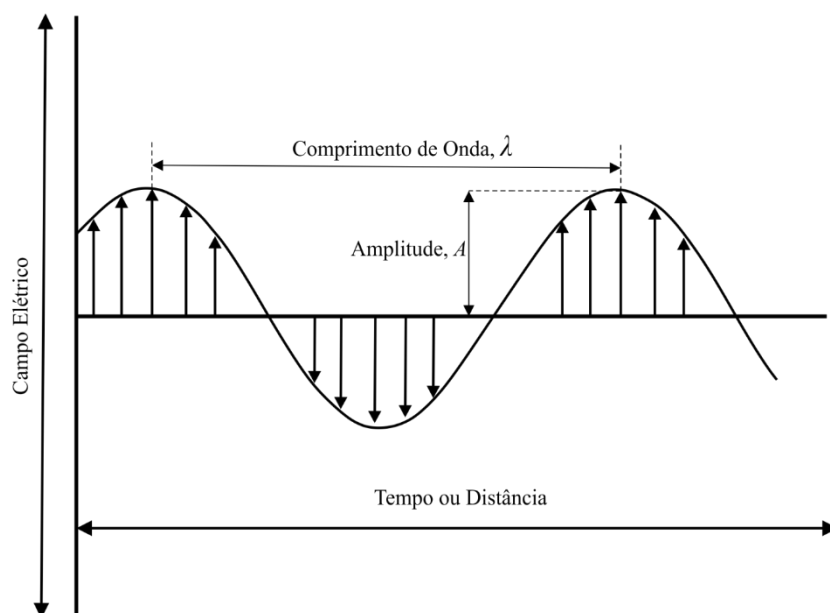


Figura 1: Representação da radiação eletromagnética e parâmetros empregados em sua quantificação.
Fonte: Do autor.

O comprimento de onda tem como unidade de medida o metro (m), sendo comumente expresso em nanômetros (nm). Um feixe de luz (radiação eletromagnética) é composto pela sobreposição em fase dos campos eletromagnéticos e elétricos na forma de ondas senoidais,

com os campos magnéticos e elétricos perpendiculares entre si [6]. Outro importante parâmetro a ser considerado quando é discutida a hipótese do modelo de onda é a frequência (f), que expressa a taxa de oscilação sendo medida em Hertz (Hz), onde 1 Hz equivale a uma oscilação por segundo. Os parâmetros v , λ e f , descrevem a equação do modelo de onda representada em EQUAÇÃO 1 [1].

$$v = \lambda \cdot f \quad (1)$$

Entender a radiação eletromagnética apenas como sendo uma onda não fornece embasamento teórico suficiente para explicar alguns fenômenos, tais como a absorção ou emissão de radiação pela matéria. Para tanto foi introduzido um novo modelo, chamado de modelo de partículas, que pautado sobre os princípios da física quântica, classifica a radiação como sendo pacotes discretos de energia, os *fótons* ou *quanta*.

Os *fótons* podem ser entendidos como sendo partículas carregadas de energia, onde a energia de cada *fóton* é diretamente relacionada à frequência da radiação. Com o uso da EQUAÇÃO 3 é possível calcular a energia (E) de um feixe de radiação, a partir do valor da frequência (ν), e de uma constante de proporcionalidade chamada constante de Planck (h) e, a partir da eq. 2, é possível estabelecer uma relação com a velocidade da luz (c) e o comprimento de onda (λ) [6].

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (2)$$

O valor da energia é expresso, segundo o sistema internacional (SI), com a unidade joule (J). A constante de Planck tem o valor de $6,63 \times 10^{-34}$ J.s, e a velocidade da luz, $3,00 \times 10^8$ ms⁻¹ para um feixe de luz se deslocando no vácuo. A absorção de *fótons* por moléculas e íons leva à promoção destas espécies de um estado fundamental para um estado energético mais excitado, porém, após determinado intervalo de tempo, estas espécies retornam ao seu estado energético inicial emitindo a energia anteriormente absorvida [6].

O modelo ondulatório clássico não é como um todo considerado errôneo, e tampouco o modelo quântico como sendo excludente, porém, ambos são considerados complementares, e são utilizados para explicar fenômenos de interação da radiação eletromagnética com a matéria. Esta dualidade de onda e partícula da radiação eletromagnética ficou conhecida como o princípio de De Broglie e várias situações práticas ora podem ser explicadas pelo modelo oscilatório, ora pelo comportamento corpuscular [1].

A separação e classificação das radiações eletromagnéticas podem ser realizadas segundo sua distribuição no espectro eletromagnético, que compreende um grande intervalo de comprimentos de onda e de frequências. Na Figura 2 é exibida uma representação qualitativa do espectro eletromagnético, onde são especificadas tecnologias que fazem uso de diferentes tipos de radiação [1].

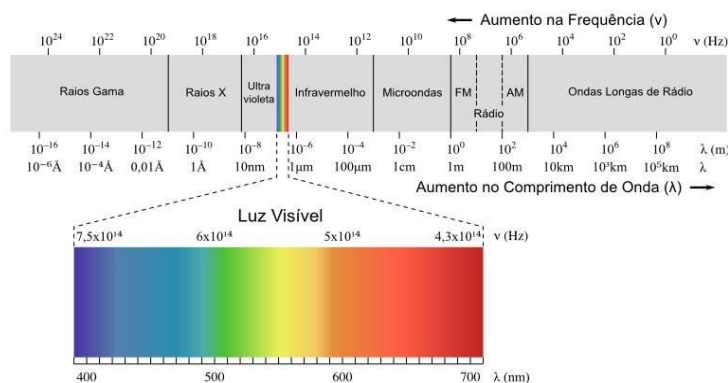


Figura 2: Representação do espectro eletromagnético, destacando-se a faixa do visível (400-800 nm).
Fonte: MADEIRA, (2010)

2.2 Espectrofotometria de absorção molecular UV-Vis

Os métodos espectrofotométricos são utilizados em larga escala para a determinação das concentrações de substâncias. Destaca-se a espectrofotometria UV-Vis, que exhibe relativo baixo custo, robustez e conseqüentemente um vasto número de aplicações [2]. Uma busca realizada em 12/08/2012 utilizando o portal do “*Science Direct*” com as palavras chaves: *Spectrophotometry* e UV-Vis, indicou 10.779 trabalhos publicados referentes ao uso da espectrofotometria entre os anos de 1990 e 2012.

A espectrofotometria baseia-se na interação da radiação eletromagnética com a matéria. A absorção de fótons por moléculas, átomos e íons leva a promoção destas espécies de um estado fundamental para um estado energético excitado [1]. O que permite a quantificação de espécies em solução aquosa, utilizando este método, é a relação direta existente entre a quantidade de energia absorvida e a concentração. Esta relação pode ser escrita como uma razão entre a potência de um feixe de radiação incidente (P_0) e a potência do feixe de radiação após atravessar o recipiente onde se encontra o analito, a Figura 3 exibe o comportamento descrito [1].

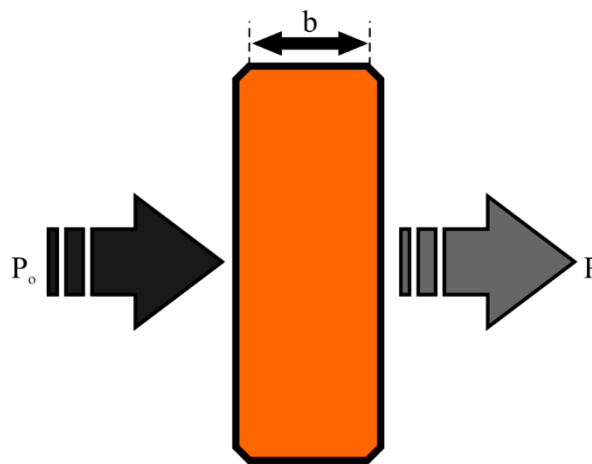


Figura 3: Representação da atenuação de um feixe de radiação com a matéria.
Fonte: Do autor.

Onde P é a potência do feixe de radiação após atravessar o recipiente onde se encontra a solução do analito, b é o caminho óptico, e P_0 é a potência do feixe de radiação incidente, e a razão entre ambos os valores de potência luminosa obtida é chamada de Transmitância (T), podendo ser expressa em porcentagem, calculada segundo a EQUAÇÃO 3 [6]:

$$T_{\%} = \frac{P}{P_0} \times 100 \quad (3)$$

A Absorbância (A), pode ser obtida através da EQUAÇÃO 4 [6]:

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{P_0}{P} \quad (4)$$

Com o intuito de se correlacionar a Absorbância (A), com a concentração ou caminho óptico tem-se a Lei de Beer-Lambert, que pode ser escrita como o produto da absorvidade (a), do caminho óptico (b) do recipiente onde se encontra o analito e da concentração do analito (c), o resultado desta relação direta é chamado de absorbância, expressa pela EQUAÇÃO 6:

$$A = abc \quad (6)$$

Para os valores de b e c são empregadas como unidades centímetros (cm), e gramas por litro (g L^{-1}) respectivamente, as unidades utilizadas para a dependem de b e c . A absorbância (A) é adimensional. Para que a condição descrita anteriormente seja satisfeita, a é comumente medido em $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Outra expressão, análoga a EQUAÇÃO 6, pode ser obtida através do uso das unidades mol L^{-1} para a quantificação da variável absorvidade, sendo chamada de absorvidade molar (ϵ), sendo esta última a mais importante e utilizada.

Com a proposição da Lei de Beer-Lambert-Bouguer têm-se claro as potencialidades da técnica espectrofotométrica para determinações quali e quantitativas, sendo os espectros característicos de cada substância e da magnitude da absorbância proporcional a concentração. Considerando que as técnicas fotográficas também estabelecem relações entre interações da radiação eletromagnética com a matéria, em princípio, esta também pode ser explorada para fins de química analítica.

2.3 Obtenção de imagens digitais

A digitalização de uma imagem envolve a captura de um sinal luminoso obtido no mundo real e sua transformação em sinal digital [7]. Estes processos podem ser divididos em dois estágios: a coleta das informações e sua quantificação [8].

Na Figura 4 é exibida uma representação da coleta de informações de uma imagem, estampada sobre uma grade de amostragem, onde os valores para sua quantificação são obtidos

a partir das distâncias horizontais (d_h) e verticais (d_v). Cada unidade bidimensional é denominada pixel. Uma variável relacionada à AID é bits por *pixel* (*bpp*) e a resolução de uma imagem digital (ID) esta relacionada com a densidade de amostragem, expressa em *pixels* por polegada (*ppi*) [8].

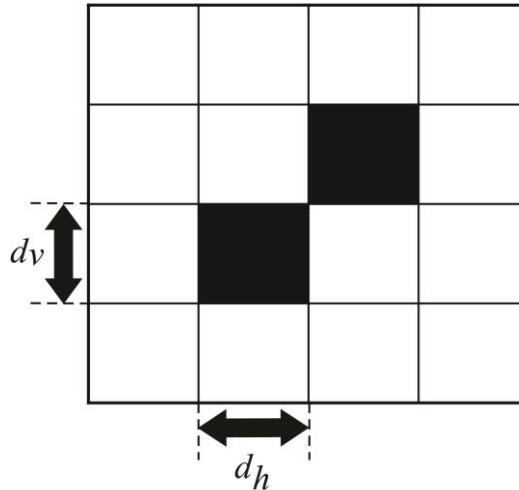


Figura 4: Representação da coleta de informações de uma imagem real para compor uma ID.
Fonte: Do autor.

A quantificação de um sinal obtido no mundo real a partir da coleta de informações utilizando uma grade de amostragem dá-se segundo a integração da amplitude de um sinal em um determinado tempo e espaço. O sinal luminoso obtido no mundo real é transformado em um sinal numérico (virtual) e contínuo cuja magnitude é definida pela quantidade de bits de informações atribuída a esse sinal [9].

Na maioria dos casos para se representar uma ID em cores utiliza o sistema *True color*, e o padrão escolhido para a composição das cores da imagem neste sistema é o padrão *RGB*. Este sistema que seu nome traduzido do inglês significa Cor Verdadeira é o que, dentre todos os sistemas para a composição de cores em imagens digitais, melhor representa as cores do mundo real, de forma que promove a composição das cores *pixel a pixel*, porém, cada um destes *pixels* contém informações a respeito de três cores básicas, verde, vermelho e azul. Utilizando-se combinações de 3 cores apenas é possível compor 16.777.216 cores [9]. Devido à versatilidade do sistema *True color*, este é amplamente usado para compor imagens em, por exemplo, uma tela de computador, telas de televisões e muitos outros dispositivos eletrônicos que geram imagens [10].

2.4 *Pixeis*

Quando é considerada a formação de uma ID em qualquer um dos dispositivos previamente mencionados é necessário se ater ao fato de que as imagens digitais são formadas por pequenas partes, que quando agrupados em uma grade retangular, (perfazendo uma matriz), compõem a imagem como um todo. Conforme mencionado acima, estas pequenas partes são chamadas de *Picture Elements (Pels)*, ou simplesmente *Pixeis*. Em uma ID em branco e preto, cada *pixel* representa um único componente do sistema relacionado à iluminação. A combinação de diversos *pixeis*, com diferentes condições de iluminação geram uma imagem composta por tons de cinza, a qual é chamada de escala de cinza [9].

Na Figura 5 é representada uma imagem onde é utilizada a escala de cinza, e desta forma, são visualizados os *pixeis* com diferentes intensidades de iluminação, bem como é explorada o conceito de diminuição do número de *pixeis* utilizados para compor a imagem. Nesse caso, observa-se a diminuição da resolução da fotografia à medida que o número de *pixeis* é reduzido. Desta forma quanto maior for à área a ser representada por meio de uma ID, se torna necessário um maior número de *pixeis* para que a imagem apresente resolução adequada e não se torne desfocada ou borrada [8].

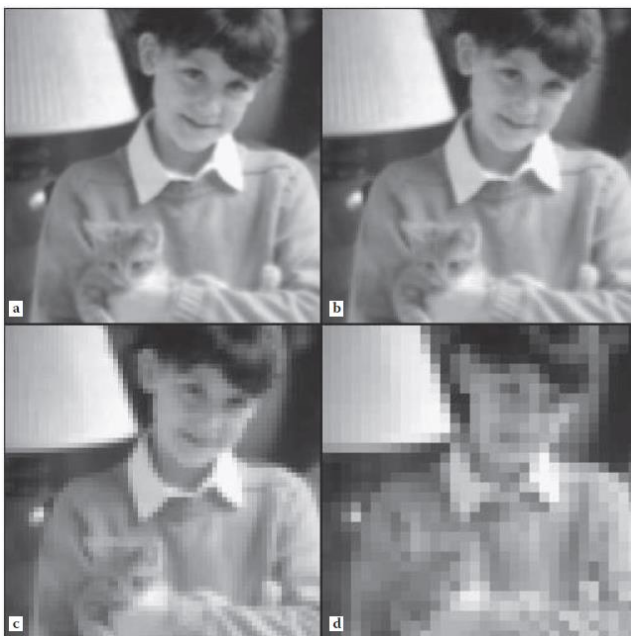


Figura 5. Quatro representações da mesma imagem, com variação do número de *pixeis* utilizados:

- a) 256 x 256;
- b) 128 x 128;
- c) 64 x 64;
- d) 32 x 32.

Fonte: RUSS, (2007, p. 22)

2.5 O sistema *RGB* e a composição das cores em imagens digitais

Um dos padrões mais utilizados para se representar uma cor em um espaço virtual é conhecido como padrão Bayer. Seu nome faz referência a seu criador, Bryce Bayer, então pesquisador da empresa fotográfica Kodak. Esse padrão baseia-se na combinação das três cores básicas (vermelho, verde e azul) em diferentes intensidades para a composição das demais que promovem a construção do espectro eletromagnético visível (380-700 nm). Esse sistema também é conhecido pela nomenclatura usual *RGB*, uma sigla que é composta pela primeira letra de cada uma das cores citadas anteriormente em inglês (R= Red, G= Green e B= Blue) [3]

O sistema *RGB* foi concebido de uma maneira muito similar à percepção de um estímulo luminoso pelo olho humano e possibilita descrever o espectro visível baseado na detecção de luz, no mesmo instante que toda a informação necessária para sua visualização, processamento e armazenamento é adquirida [8].

Uma das fundamentações teóricas a qual se baseia o sistema *RGB* é a Teoria Tricromática, (baseada no trabalho de Maxwell, Young e Helmholtz), que afirma a existência de três tipos de fotorreceptores no olho humano, sensíveis às luzes: vermelhas, verdes e azuis, que quando combinadas, compõem o espectro visível [11].

No olho humano, mais precisamente na região central da retina do olho humano, também chamada de fóvea, existem de fato três tipos de fotorreceptores (bastonetes), chamados de Long (L), Middle (M) e Short (S), referentes aos três tipos de comprimentos de onda (Longos, Médios e Curtos) aos quais são sensíveis. Dessa forma os trabalhos de Maxwell, Young e Helmholtz são condizentes com os estudos fisiológicos do corpo humano [12]. Como resultado das pesquisas, todos os dispositivos de captura de imagens apresentam detectores do tipo L-, M- e S-, aos quais são chamados de detectores *RGB* [8].

O sistema *True color*, é comumente empregado em computação para representar as cores de imagens digitais coloridas e se utiliza do padrão Bayer. Uma cor gerada por esse sistema é considerada uma componente que contém 1 *byte* formado de 8 *bits* de informações. Como esse sistema combina 3 cores básicas para compor as demais e cada uma possui 8 bits de informação um pixel pode conter 24 bits de informação de cores [10].

2.6 Considerações a respeito de Máquinas Fotográficas e Espectrofotômetros

A evolução da tecnologia permitiu a existência de diversos tipos de aparelhos voltados para medições de absorção das radiações ultravioleta, visível e infravermelha [1]. Este trabalho tem como enfoque medidas de radiação eletromagnética na faixa do Visível.

Verifica-se também uma variedade de dispositivos voltados para a captação de sinais luminosos e conversão destes em imagens digitais, destacam-se as câmeras digitais. Sendo encontradas nas mais diversas configurações, estes dispositivos oferecem um rol de possibilidades para a captação de imagens digitais, sendo inclusive muitos destes portáteis permitindo total mobilidade ao usuário para efetuar captura de imagens nas mais diversas situações.

Em relação aos espectrofotômetros e seus componentes básicos, seja para um aparelho de alto ou baixo custo, de maneira geral, são os mesmos, sendo estes: fontes de radiação, monocromadores, recipientes para a amostra, detectores de radiação processadores de sinal [1].

Os dispositivos fotográficos exibem instrumentação similar aos espectrofotômetros, no que tange ao conjunto óptico, monocromadores, sensores de captação de luz, sistema de amplificação de sinal e conversão analógica digital. Nas próximas sessões são correlacionados seus componentes principais e tecidas algumas considerações a respeito das semelhanças e diferenças entre estes componentes.

2.7 Fontes de radiação

A fonte de radiação tem como função a emissão de radiação, desta forma gerando o feixe de radiação incidente (P_0), previamente discutido. Uma fonte de radiação aplicável para determinações espectrofotométricas UV-Vis, não deve apresentar variações significativas na potência do feixe de luz gerado em todo o intervalo de comprimentos de onda emitidos, evitando assim variações na intensidade do feixe de luz incidente, podendo promover variações no valor da absorção calculada. Outras características desejáveis para uma fonte de radiação são o baixo custo e alta durabilidade [6].

Dentre a grande diversidade de fontes de radiação aplicadas a espectrofotometria de absorção molecular, destacam-se as lâmpadas de Tungstênio e Tungstênio-Halogênio, sendo

estas as mais utilizadas na construção de dispositivos voltados para a determinação de analitos que absorvem radiação na região do Visível [6].

Em uma câmera fotográfica a principal fonte de iluminação é decorrente da radiação eletromagnética que sensibiliza o filme fotográfico (no caso da utilização de uma câmera analógica), ou na sensibilização de um sensor de luz (no caso da utilização de uma máquina digital). Desta forma a qualidade da fotografia é diretamente dependente das condições de iluminação, bem como da intensidade luminosa [9].

Existem outras fontes de luz auxiliares que podem ser utilizadas quando se deseja obter fotografias em locais escuros, por exemplo, o *flash* fotográfico. Alguns dispositivos fotográficos portáteis apresentam incorporados em sua estrutura algum tipo de fonte de iluminação que forneça luz com intensidade contínua, e emita radiação eletromagnética que permita a cobertura de uma ampla faixa do espectro eletromagnético, desta forma evitando o favorecimento de um tipo de comprimento de onda específico, ou até mesmo de uma faixa de comprimentos de onda, o que é indesejável para a obtenção de imagens digitais, uma vez que poderia promover distorções nas cores geradas alterando assim a qualidade da imagem gerada quando comparada com a imagem real [13].

Neste trabalho optou-se, por utilizar luz proveniente de lâmpadas fluorescentes bem como *LED's* de alta luminosidade. Outros trabalhos também retratam o uso deste tipo de iluminação para a obtenção de imagens digitais aplicadas a química analítica [14] [15].

2.8 Seletores de comprimento de onda

Os seletores de comprimento de onda são componentes essenciais em um espectrofotômetro. Dentre as maneiras de se selecionar comprimentos de onda para uma determinação, destacam-se o uso de filtros de absorção e monocromadores com rede de difração ou prisma [6].

Os filtros de absorção absorvem uma porção do espectro emitido pela fonte de radiação, permitindo a passagem apenas dos comprimentos de onda de interesse [1].

Este tipo de filtro também é aplicado em dispositivos para a obtenção de imagens digitais, uma vez que os sensores que realizam a captação do sinal luminoso e o transformam em sinal elétrico, não exibem a característica de discernir qualitativamente o tipo de luz que está incidindo sobre sua superfície, sendo atribuída a estes sensores a nomenclatura inglesa

color blind (cegos a cor). Em um dispositivo fotográfico são empregados três tipos de filtros coloridos, baseados no sistema *RGB*, e na teoria tricromática, o padrão empregado é o padrão *Bayer*, que pode ser visualizado em Figura 6 [8].

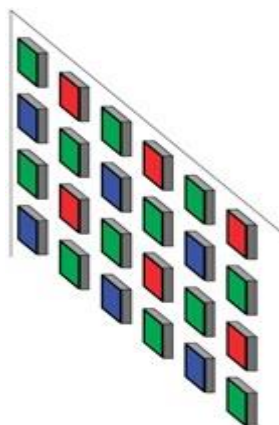


Figura 6: Representação dos Filtros RGB comumente empregados em sensores ópticos.
Fonte: RUSS, (2007, p. 14)

Estes filtros são posicionados sobre a superfície fotossensível do sensor, sendo criados *píxeis* compostos por três cores (vermelho; verde e azul). Para que seja realizada a leitura é feito um mapeamento via software que é responsável por identificar as coordenadas dos filtros, desta forma obtendo informações quantitativas a respeito da luz incidente em cada porção do sensor. A montagem descrita é exemplificada na Figura 7 [16].

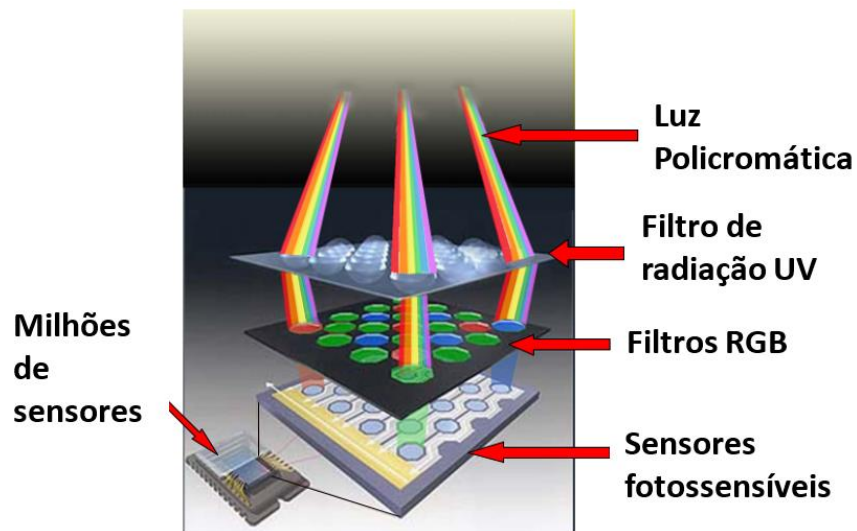


Figura 7: Representação da anatomia de um sensor óptico
Fonte: Adaptado de: CCD and CMOS Sensor Technology, (2010, p.1)

2.9 Recipientes para a amostra

Recipientes comumente denominados cubetas que tem a função de conter o analito, que se encontra geralmente em solução aquosa, os recipientes para a amostra são constituídos por algum material que permita a passagem do feixe de radiação incidente [1].

Dentre os materiais utilizados empregados na construção de cubetas estão o vidro, (comumente utilizado para leituras de absorbância na faixa do visível), e o quartzo (para leituras realizadas na faixa do ultravioleta). A espessura comumente empregada na construção de cubetas é de 1 cm, sendo este o caminho óptico (b) previamente mencionado [6].

Diferentemente da espectrofotometria de absorção molecular o uso de imagens digitais não requer um recipiente específico para conter a amostra, uma vez que se deseja obter uma fotografia digital, e não a medida de um feixe de luz que atravessou o analito.

Os trabalhos que retratam o uso de imagens digitais em química analítica utilizam diversos recipientes para conter os analitos: papéis de filtro [15], placas de toque de porcelana, membranas fotossensíveis [17], formas de bombom [3] e até mesmo cubetas de fluxo [5].

2.10 Detectores

Os detectores utilizados em espectrofotometria e fotografia digital seguem a mesma premissa, a conversão de um sinal luminoso em um sinal elétrico, desta forma algumas correlações entre estas técnicas são possíveis [7]. Neste trabalho serão abordados os detectores de estado sólido, com enfoque em dois tipos específicos: O *CMOS* (*Complementary Metal Oxide Semiconductor*) e *CCD* (*Charged Coupled Device*).

2.10.1 *CMOS* (*Complementary Metal Oxide Semiconductor*)

Em 1964 nos laboratórios das indústrias *Radio Corporation of America* (*RCA*, Nova Iorque, USA) foi desenvolvido o primeiro sensor de estado sólido, visando à substituição da película fotográfica, o *CMOS*. Este sensor exibia uma baixa sensibilidade à luz, e foi necessária grande evolução tecnológica no campo da microeletrônica para que este sensor pudesse ser

utilizado com o propósito de realizar a captação de sinais luminosos e transformá-los em uma imagem com qualidade [16].

O sensor em questão exibe vantagens significativas frente ao outro sensor que também é empregado em máquinas fotográficas digitais (*CCD*). Como pode ser observado em Figura 8, um *CMOS* incorpora em sua estrutura, todos os amplificadores operacionais e conversores analógico-digitais (*A/D*), o que permite uma condensação destas unidades no próprio sensor, dispensando qualquer outro circuito eletrônico adicional externo a este dispositivo para realizar as funções descritas. Tais características permitem a miniaturização, propiciando a utilização destes em microcâmeras, câmeras de celular, câmeras de segurança, dentre outros. Destacam-se também o baixo consumo de energia elétrica e rápida velocidade de leitura [16].

Como desvantagem principal, quando comparado a um *CCD*, exibe baixa sensibilidade à luminosidade, não permitindo sua aplicação, por exemplo, em câmeras fotográficas profissionais, telescópios eletrônicos, microscópios eletrônicos, dentre outros dispositivos onde é requerida alta sensibilidade luminosa [8].

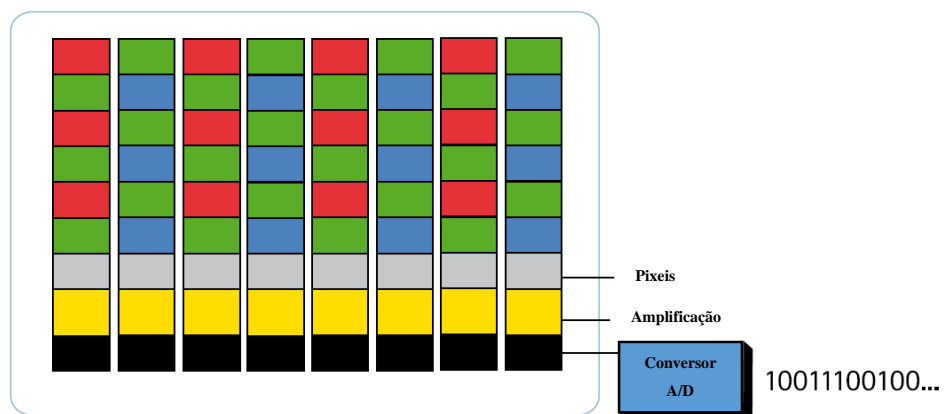


Figura 8: Representação Esquemática de um CMOS.
Fonte: CCD and CMOS sensor technology, (2010, p.2)

A Figura 8, exibe a estrutura de um *CMOS*, uma superfície fotossensível é dividida em pixels e recoberta por um conjunto de filtros *RGB*. Neste arranjo cada pixel responde a uma cor, diferentemente de um dispositivo utilizado para a visualização de imagens, onde a combinação das três unidades: *R*, *G* e *B*, compõem o *pixel* [8].

2.10.2 CCD (Charged Coupled Device)

Os sensores do tipo *CCD* surgiram em 1969 nos laboratórios *Bell*, na repartição de pesquisa e desenvolvimento da empresa *AT&T* (*American Telephone & Telegraph*) Norte Americana, e substituíram por um período os *CMOS*, devido ao fato de apresentarem alta sensibilidade à luminosidade e de produzirem fotografias com melhor resolução [16].

Devido a sua alta sensibilidade, o *CCD* é amplamente utilizado em espectrofotometria de absorção molecular [1] e atômica [18] e espectrometria com plasma indutivamente acoplado [19]. Recentemente relata-se uso desse dispositivo em espectrometria de absorção atômica de alta resolução HR-AAS [24].

O *CCD* exibe uma superfície fotossensível, onde coexiste um conjunto de eletrodos metálicos que através de sua polarização deslocam as cargas geradas por este sensor para a leitura [7]. Um óxido, comumente SiO_2 , é empregado como superfície fotossensível, e na parte inferior, chamado de substrato, é composta por um semicondutor de silício dopado do Tipo-p. [1].

Na Figura 9 está exibida a estrutura de um sensor do tipo *CCD* e todos seus componentes descritos anteriormente.

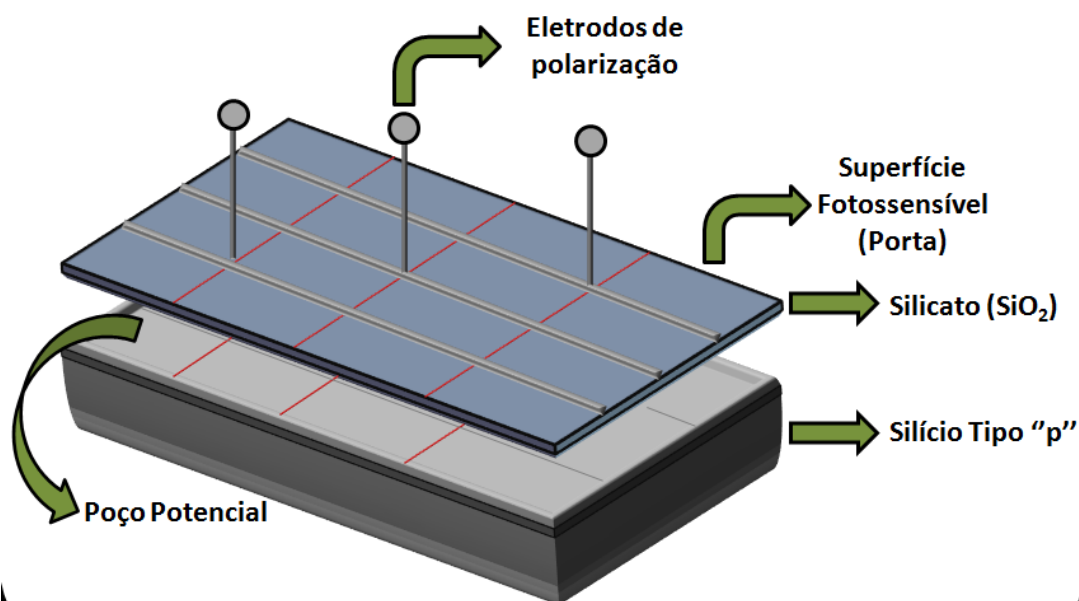


Figura 9: Representação esquemática de um CCD.
Fonte: Do autor.

O sistema de leitura atua de maneira similar a uma cadeia transportadora de elétrons, onde cada espaço vazio funciona como um *light collecting bucket* que significa “balde coletor de luz”, uma vez que apresenta cargas armazenadas que foram geradas na superfície fotossensível. Um aumento no tempo de exposição de luz permite ao *CCD* armazenar mais informações na forma de luz e, desta forma, a obtenção de uma imagem no caso de fotografias, ou de sinal em aplicações espectrofotométricas, com uma maior riqueza de detalhes [8].

Como desvantagens o *CCD* exibe um alto consumo de energia, uma vez que é requerida a aplicação de potencial elétrico sob os eletrodos para que a leitura possa ser efetuada, a este maior consumo de energia é atrelado o alto aquecimento do dispositivo, o que pode levar a desvios e interferências dos sinais obtidos, sendo este refrigerado com uma célula de *Peltier* em algumas aplicações espectrométricas. O *CCD* não permite a coexistência de outros circuitos eletrônicos em seu chip, como o *CMOS*, portanto, sua miniaturização é menos viável [16].

É importante mencionar que, tal como na técnica espectrofotométrica, o uso de imagens digitais também necessita de relações matemáticas entre sinais mensuráveis bem como dos parâmetros analíticos.

2.11 Método dos mínimos quadrados

O desenvolvimento de modelos matemáticos baseados em dados experimentais que permitam estabelecer uma relação entre as variáveis de um sistema e uma resposta, são comumente utilizados em química analítica. Os modelos matemáticos são concebidos a partir de duas matrizes, sendo uma formada pelo conjunto de dados referentes aos experimentos planejados e executados, a segunda matriz se refere aos dados obtidos como resultados/respostas na execução dos experimentos [20].

A Figura 10 exibe uma matriz (M), gerada a partir de um conjunto de experimentos realizados, por exemplo, em laboratório, sendo a estes atribuídos um número que identifica as condições as quais estes foram realizados. As variáveis do sistema aqui foram denotadas como sendo genéricas, e agrupadas em colunas, nomeadas segundo caracteres: b_0, b_1, b_2 até b_n [22].

As respostas obtidas experimentalmente são nomeadas segundo os caracteres R_1, R_2, R_3 até R_n , sendo geradas na forma de outra matriz chamada de matriz resposta (R), representada também em Figura 10 [23].

Experimentos		Variáveis					Respostas
1	b_0	$b_{1,1}$	$b_{02,1}$	$b_{03,1}$...	x_n	R_1
2	b_0	$b_{2,1}$	$b_{02,2}$	$b_{03,2}$...	x_n	R_2
3	b_0	$b_{3,1}$	$b_{02,3}$	$b_{03,3}$...	x_n	R_3
...	b_0	$b_{4,1}$	$b_{02,4}$	$b_{03,4}$...	x_n	...
4	b_0	$b_{05,1}$	$b_{02,5}$	$b_{03,5}$...	x_n	R_n

Figura 10: Matriz M, relacionando um conjunto de experimentos e as variáveis as quais regem o sistema em estudo, e Matriz R, exibindo as respostas obtidas através do conjunto de experimentos.
Fonte: Do autor

Para a obtenção do modelo matemático (y), cálculo matricial é executado segundo a EQUAÇÃO 7 [21].

$$y = (M^t M)^{-1} (M^t R) \quad (7)$$

Onde: M^t é a matriz M transposta constituída do conjunto de experimentos realizados; a expressão $(M^t M)^{-1}$ indica que calculou-se a matriz inversa do produto entre as matrizes; R é o vetor resposta descrita anteriormente.

Como exemplo pode-se mencionar a averiguação da influência de três fatores que compõem um sistema, estes fatores podem assumir as seguintes variações no caso do desenvolvimento de um modelo matemático descrito em EQUAÇÃO 8 [23]:

$$y = b_0 + b_1 x_{1,1} + b_2 x_{2,2} + b_3 x_{3,3} + b_{1,2} x_{1,1} x_{2,2} + b_{1,3} x_{1,1} x_{3,3} + b_{2,3} x_{2,2} x_{3,3} + b_{1,1} x_{1,1}^2 + b_{2,2} x_{2,2}^2 + b_{3,3} x_{3,3}^2$$

Onde:

y (resposta)

b_0 ; (intercepto com o eixo y)

$b_1 x_{1,1}$; $b_2 x_{2,2}$; $b_3 x_{3,3}$ (termos lineares que dependem unicamente dos 3 fatores)

$b_{12} x_{1,1} x_{2,2}$; $b_{13} x_{1,1} x_{3,3}$; $b_{23} x_{2,2} x_{3,3}$ (interações entre os fatores).

$b_{11} x_{1,1}^2$; $b_{22} x_{2,2}^2$; $b_{33} x_{3,3}^2$ (termos quadráticos que dependem unicamente dos 3 fatores)

Desta forma, utilizando-se o método dos mínimos quadrados é possível: *i*) gerar equações lineares se considerarmos a contribuição dos fatores apenas, e ou, *ii*) interações entre

os fatores; *iii*) gerar equações quadráticas ou de maior grau, considerando-se a interação de cada fator consigo mesmo [21].

2.12 Análise de imagem digital (AID)

Análise de imagem digital (AID) é uma ferramenta de grande abrangência, sendo utilizada em diversas áreas da ciência, tais como: ciências dos materiais, biologia, medicina, sensoriamento remoto e em química analítica, para a determinação das concentrações de analitos que apresentem cor em solução aquosa, ou até mesmo em fase sólida [15].

A facilidade da realização de um trabalho utilizando imagens digitais se encontra no tratamento que é possível ser aplicado para a obtenção e quantificação de diversos parâmetros, devido à existência de softwares de tratamento de imagens disponíveis em computadores pessoais, tais como *Paint (Microsoft)*, *Photoshop (Adobe)* e *Corel Photo Paint (Corel)*. [3].

2.13 AID aplicada à química analítica

Uma aplicação para AID em química analítica foi relatada por Gomes *et al.*, onde foi empregado um *scanner* para a determinação da concentração de ácido ascórbico em medicamentos utilizando o método do Azul da Prússia, que consiste na adição do reagente cromogênico Ferrocianeto de Ferro (III) ($\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$) em meio nítrico. Para a aquisição das imagens digitais pelo *scanner* as soluções das amostras, bem como os padrões utilizados para a construção da curva de calibração, foram depositadas em um recipiente plástico comumente empregado para a fabricação de bombons de chocolate [3].

As concentrações de ácido ascórbico obtidas pelos autores, utilizando um *scanner*, foram semelhantes aquelas obtidas por espectrofotometria, e ainda o coeficiente de correlação linear da curva analítica (r^2) gerada demonstra que 99,97 dos resultados podem ser explicados pela equação gerada [3].

Outro analito determinado pelo método fotográfico foi o fósforo. Análise de fósforo em águas minerais utilizando calibração multivariada e AID foi relatada por Chuan-Xian *et al.* [4], onde foi constatado que existe uma relação entre as quantidades das componentes *RGB* e a concentração dos analitos.

Paciornik et al. [15], também menciona o uso de AID para a determinação de analitos, na metodologia empregada foi utilizado um *scanner* para a determinação de mercúrio em amostras de peixe utilizando *spots tests*. Os autores relatam o uso do sistema HLS (*Hue-Lightness-Saturation*), das quais o uso da variável H exibiu uma relação linear com maior sensibilidade, obtendo-se assim baixos valores de limite de detecção ($0,007 \mu\text{g g}^{-1}$).

Outra aplicação para este método foi e a utilização de uma câmera para a determinação de Al(III) e Fe(III) em ligas metálicas utilizando o reagente cromogênico cromo azurol S (ACS), e, utilizando-se algoritmos de redes neurais foi possível construir um modelo para calcular a concentração dos analitos em questão [17]

Aplicações em titulometria de ácido base para a determinação de alcalinidade de águas minerais utilizando-se AID também são possíveis, visando aumentar a sensibilidade na detecção do ponto final de uma titulação, um sistema desenvolvido por Gaiao et al. [5], realiza as determinações conectando-se o sistema de titulação a uma cubeta de fluxo através de um sistema FIA e para a obtenção das imagens digitais é utilizada uma *web cam*.

As imagens obtidas por este sistema se encontram comprimidas e armazenadas no formato “jpg” utilizando o próprio software do fabricante da câmera. Para quantificar os valores de *RGB* de cada imagem obtida foi desenvolvido um software utilizando a linguagem de programação Kylix com o intuito de avaliar a variação das componentes *RGB*, em função do aumento da intensidade da cor do indicador ácido base utilizado na titulação nas imediações do ponto de equivalência [5].

Os resultados obtidos através do sistema descrito anteriormente permitiram, através da variação dos tons das cores básicas que compõem o sistema *RGB* determinar a concentração e simultaneamente avaliar os dados com um espectrofotômetro de varredura para observar a variação da intensidade do comprimento de onda dos analitos em questão [5].

Como alternativa ao uso do sistema *RGB*, Cantrell et al. [24], discutem a utilização do variáveis H, oriunda do padrão H (Hue), S (Saturation) e V (Value Color Space), para a quantificação de analitos, mediante a utilização de um sensor óptico bitonal, basicamente constituído de uma membrana de PVC que contém um ionóforo seletivo (L), e um reagente cromoionóforo (HC^+). O sensor bitonal testado pelos autores [24], apresentava como reagente cromoionóforo o composto Azul do Nilo, que exibe cor azul quando protonado e magenta quando desprotonado, o sistema foi aplicado para determinação de potássio em águas minerais.

As membranas foram dispostas de forma similar a um *spot test*, lado a lado, e sobre estas foram adicionadas os padrões. Utilizando uma máquina fotográfica e um *scanner* foi possível obter as imagens. Os valores de HSV foram obtidos utilizando *softwares* de edição de imagem.

Segundo os autores [24], o uso do padrão *HSV*, melhora a robustez do método AID, quando comparado ao padrão *RGB*, uma vez que o sistema *HSV* apresenta maior precisão para a quantificação de dados obtidos a partir da utilização de um sensor bitonal.

O uso de sensores de membrana, bem como do sistema *RGB* para a análise de fotografias foi relatado visando à determinação da dureza total de águas minerais e também a quantificação dos analitos magnésio e potássio [14].

Com um caráter qualitativo, a identificação e caracterização de adoçantes naturais e artificiais utilizando-se AID também foi estudado, onde uma reação entre o adoçante a ser caracterizado e um corante foi executada em um sensor em uma membrana de *sol gel*. A utilização de sensores de membrana como *spot tests* promove um aumento na quantidade de imagens obtidas, pois em uma única fotografia é possível obter informações de até seis soluções distintas incluindo, duplicatas e triplicatas [25]

Uma *web cam* equipada com um dispositivo de carga acoplada (CCD), combinada com o sistema de *RGB* foi usada para determinar a turvação de soluções que contêm concentrações baixas de sulfato de bário. O método alternativo e de baixo custo, revela elevada sensibilidade quando comparado com o método padrão turbidimétrico, e também mostra boa linearidade e reprodutibilidade [26].

Todos os trabalhos mencionados exploraram o uso de AID em química analítica e os resultados obtidos até o momento têm sido comparados com sucesso com espectrofotometria de absorção molecular. Com relação ao uso de AID, não existem trabalhos que façam inferências à determinação do comprimento de onda de absorção ou ao uso do método dos mínimos quadrados para determinação da concentração de analitos. Assim, no presente trabalho, pretende-se explorar essa ferramenta matemática e obter, além das informações quantitativas, mais informações sobre a seletividade (comprimento de onda) que até o momento não foi mencionado.

3 JUSTIFICATIVA

A necessidade de técnicas sensíveis, de baixo custo, rápidas e que possam ser realizadas em loco no que diz respeito à análise de águas faz-se necessária, uma vez que a demanda cresce diariamente com o fortalecimento das políticas e legislações de cuidado com o meio ambiente.

No que tange o uso de AID, aplicada a determinações de caráter ambiental, a literatura relata apenas as determinações de Fósforo e da alcalinidade total em águas. Este trabalho teve como foco a determinação dos analitos Alumínio, Ferro, Fósforo e Nitrito que são importantes parâmetros ambientais a respeito dos sistemas lacustres.

A aplicação de AID como técnica analítica voltada a análises ambientais se viável para aplicações ambientais, principalmente devido ao baixo custo e portabilidade (permitindo sua realização em loco) e com sensibilidade comparável com a técnica de referência (espectrofotometria de absorção molecular).

4 OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi propor o uso de Imagem Digital para a determinação do comprimento de onda de máxima absorção, bem como da concentração de analitos de interesse ambiental. A correlação entre os parâmetros da ID e as informações analíticas desejadas foi efetuada com modelos matemáticos empregando modelos matemáticos baseados nos mínimos quadrados para calcular comprimento de onda de absorção máximo, bem como as concentrações de analitos que são normalmente determinadas por espectrofotometria, utilizando AID. Aplicar a metodologia na determinação dos analitos: Ferro, Amarelo Tartrazina e Amarelo Crepúsculo, em analitos comerciais e Alumínio, Ferro, Fósforo e Nitrito em amostras de águas coletadas na região de Alfenas-MG.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram desenvolvidas duas metodologias uma para a determinação do comprimento de onda e outra para a determinação da concentração dos analitos. As metodologias e os materiais empregados para seus desenvolvimentos deram-se segundo os fluxogramas descritos em Figura 11 e 12.

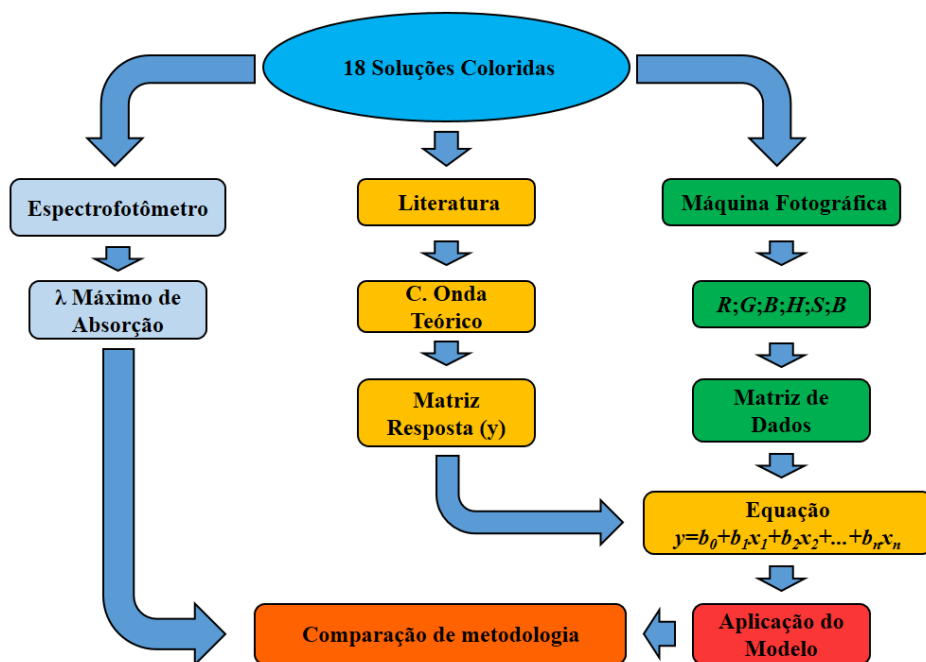


Figura 11: Fluxograma descrevendo a metodologia para a obtenção dos modelos matemáticos para cálculo do comprimento de onda de máximo de absorção.

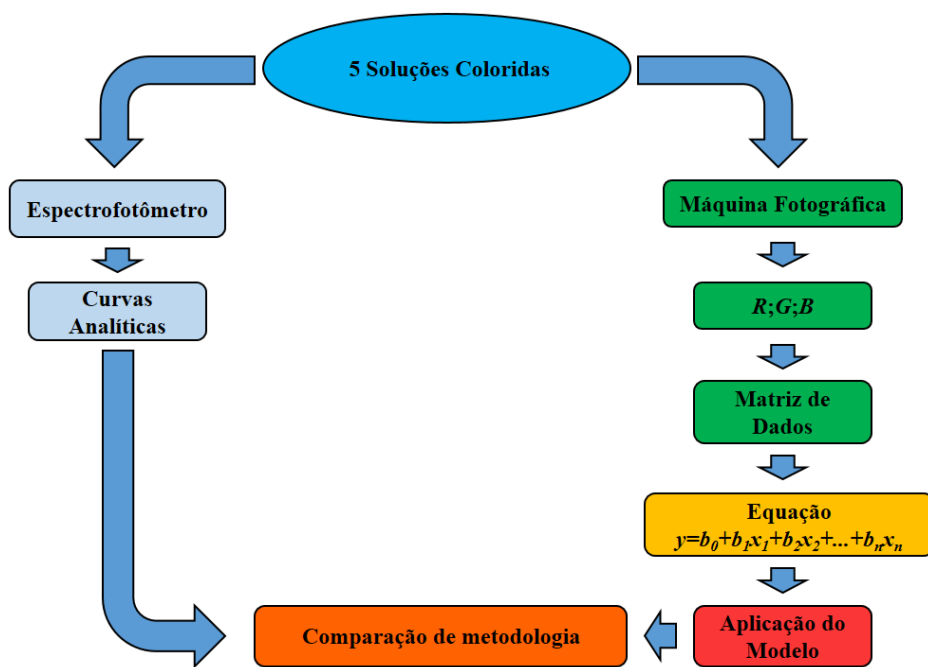


Figura 12: Fluxograma descrevendo a metodologia para a obtenção dos modelos matemáticos para cálculo do das concentrações dos analitos.

5.1 Instrumentação e acessórios

Todos as medidas espectrofotométricas foram feitas utilizando um espectrofotômetro modelo USB 4000 (Figura 13) Ocean Optics (UV-Visível), equipado com fibra óptica, lâmpada de tungstênio e cubetas de quartzo (Zeiss). A aquisição dos dados foi efetuada utilizando-se o *Software Spectroscopy Spectra Suite* e os registros feitos em um microcomputador PC.



Figura 13: Detector empregado e seus acessórios: Espectrofotômetro USB 4000 (UV-Visível), fonte de luz, fibra óptica e cubeta de quartzo.

5.2 Varredura espectral

Efetuu-se varredura espectral de 400 a 800 nm para cada substância, empregada na construção do modelo matemático, com o intuito de analisar os espectros obtidos e se determinar os valores dos comprimentos de máximo de absorção e estabelecer comparações com os valores obtidos em outros trabalhos.

5.3 Construção da câmara fotográfica

Em uma primeira etapa deste trabalho, para otimizar o sistema de variáveis, optou-se por desenvolver um modelo que permitisse a obtenção das fotografias no laboratório, desta forma, para obter condições fotográficas homogêneas foi necessária a construção de uma câmara fotográfica simples com dimensões de comprimento, largura e altura respectivamente (20x20x20 cm), que foi construído usando quatro placas quadradas de isopor. Cartolinas brancas coladas sobre as placas de isopor foram usadas para criar um fundo homogêneo. A fim de evitar o reflexo da luz, a cubeta foi colocado em cima de um pedaço quadrado cartolina preta de dimensões de (5x5 cm). As fotografias foram obtidas a uma distância de 30 cm. O esquema da câmara fotográfica descrita anteriormente é descrito na Figura 14.

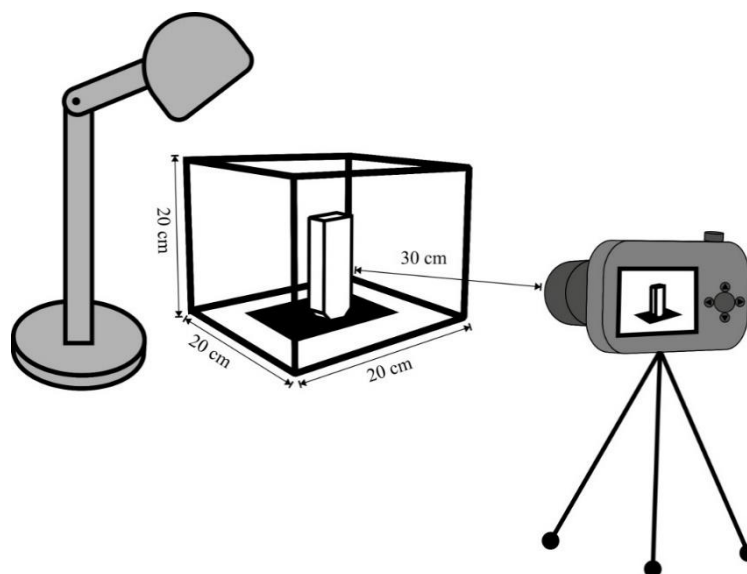


Figura 14: Ilustração que representa a montagem desenvolvida para a obtenção das fotografias, sendo seus componentes: Lâmpada Fluorescente de 40 watts (110v), câmara fotográfica e câmera fotográfica utilizada (NIKON COOLPIX P-90).

O sistema foi iluminado com uma luz fluorescente (110 V, 40 W). Para evitar a interferência da luz difusa o flash da câmera não foi utilizado, e para atingir os padrões de fotografia descritos anteriormente, a câmera digital foi usada na configuração manual, garantindo que todas as fotografias foram obtidas com as mesmas configurações.

A câmera fotográfica empregada na obtenção das imagens foi uma câmera de caráter semi profissional da marca NIKON, modelo COOLPIX P-90, com valor estimado de R\$900,00. O obturador da câmera (membrana mecânica que permite contato do sensor luminoso com luz do meio) foi configurado para uma velocidade média de abertura (1/50 segundos), e a abertura

foi ajustada para 5,0 cm, ISO para 100. Todas as fotografias foram obtidas com redução de ruído automática. Todas as fotos foram tiradas em máxima qualidade de imagem, definida pela câmara como "ótimo" pela configuração da câmera. Esta configuração permitiu a obtenção de imagens com 4000x3000 pixels.

A fim de evitar a interferência o zoom digital não foi utilizado, e todas as imagens foram obtidas a uma distância de 30 cm. Como a fonte de luz era fluorescente, foi utilizado um filtro digital de correção de luz para este tipo de iluminação, disponível dentre os ajustes da câmera fotográfica. As configurações descritas acima permitiram obter a imagem de forma que os parâmetros digitais da máquina não promovessem distorções na imagem, desta forma promovendo alterações na cor das fotografias.

5.4 Portabilidade: Utilizando uma *web cam*

Para a obtenção das fotografias foi necessária a construção de uma câmara fotográfica utilizando-se uma caixa de madeira, de 8,0 cm de altura, 15,0 cm de comprimento e 10,0 cm de largura. Optou-se por revestir a câmara com Etil Vinil Acetato (EVA) branco na porção interior visando a obtenção de um fundo homogêneo ideal para as fotografias.

Para a colocação da cubeta em seu interior foi desenvolvido um suporte de madeira que permitiu assim a estabilidade da mesma, não havendo mudança de posição, ou trepidação, quando sob agitação, ou sob ação de movimentos bruscos, desta forma, o dispositivo desenvolvido apresentou-se robusto e adequado para aplicações e no campo.

A captação das imagens utilizando uma *webcam* Multilaser, com 5,0 *megapixels* de resolução fotográfica, equipada com lente 2G de vidro. A *webcam* foi fixada no interior da câmara fotográfica, a uma distância de 8,5 cm do porta cubeta até a lente do aparelho, visando a obtenção das fotografias sem o uso do zoom mecânico disponível na lente.

A conexão entre a *web cam* e o computador foi realizada via *USB*, através do cabo da própria *webcam*, que foi exposto através de um orifício na parte traseira da câmara de fotografia de 4 cm de diâmetro. Em Figura 15-A, 15-B, 15-C e 15-D são exibidas imagens do dispositivo descrito anteriormente.



Figura 15: A câmara fotográfica portátil desenvolvida empregando-se uma web cam
Fonte: Do autor

5.5 Software para a obtenção das fotografias

Os primeiros experimentos, utilizando-se uma câmara fotográfica, dispensaram a utilização de qualquer software específico para a captação das imagens uma vez que foi utilizada a interface digital da própria câmara. Em um segundo momento, com o uso de uma *webcam*, foi utilizado o *software Dell Webcam Central* para a obtenção das fotografias, tendo suas configurações ajustadas visando à obtenção de fotografias com as condições homogêneas, melhorando assim a reprodutibilidade e, portanto, a precisão dos resultados.

Tais configurações foram adotadas visando também evitar diferenças significativas entre a fotografia obtida e a imagem real, prevenindo desta forma que o software modificasse a imagem através da inserção de filtros digitais e ou cálculos matemáticos de interpolação. Para que as condições supracitadas fossem alcançadas, optou-se por configurar os parâmetros da seguinte forma: Backlight = 1; Brilho = 0; Contraste = 10; Cor = 5; Gama = 110.

5.6 Software para obtenção das variáveis fotográficas

Foi realizada uma avaliação dos *softwares* para processamento de imagens disponíveis no mercado, destacando aqueles que se apresentam na forma gratuita. Apesar da grande quantidade de *softwares* disponíveis para este fim, optou-se pelo desenvolvimento de um programa, uma vez que se almejava a quantificação das variáveis *R*; *G*; *B*; *H*; *S* e *Br*, de determinada área (conjunto de pixels) de uma fotografia e os programas para tratamento de imagem existentes se utilizam da seleção de um único *pixel* para a obtenção de tais parâmetros.

Visando sanar as questões levantadas acima foi desenvolvido um software utilizando a linguagem JAVA[®], que permitisse a seleção dos parâmetros previamente descritos. O programa desenvolvido permite calcular o valor médio dos *pixels* selecionados em determinada área da fotografia.

Em Figura 16 tem-se a interface do software desenvolvido, exibindo uma situação onde ocorre seleção de determinada área da fotografia e é realizada a coleta dos valores médios das variáveis fotográficas acima descritas.

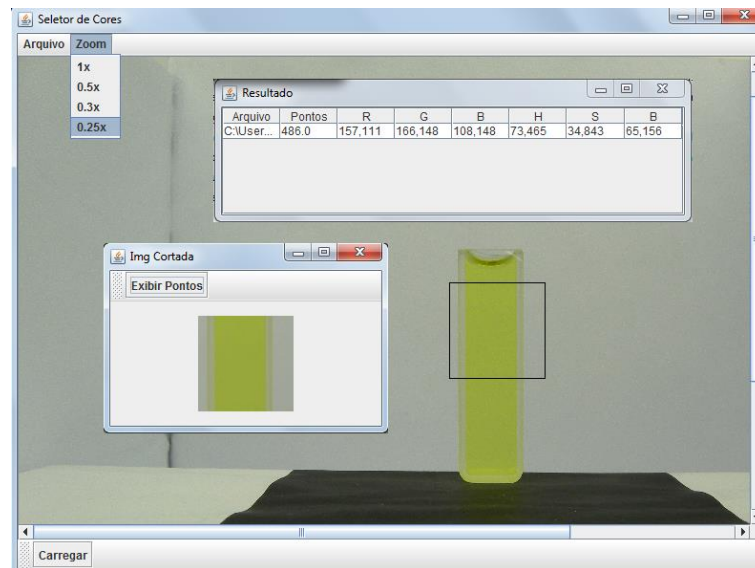


Figura 16: Software desenvolvido exibindo a obtenção das variáveis fotográficas *R*; *G*; *B*; *H*; *S*; *Br* (esta última denotada como *B* no software).

Fonte: Do autor

5.7 Obtenção dos Modelos Matemáticos para determinação do comprimento de onda de máximo de absorção

Foi utilizado o método dos mínimos quadrados para a obtenção de um modelo matemático que, baseado nas variáveis fotográficas R ; G ; B ; H ; S ; Br , permitisse a obtenção do comprimento de onda de absorção do analito.

A escolha das variáveis se deu segundo o seguinte critério: Através da utilização do sistema RGB , é possível a geração de 16581375 cores, porém outros parâmetros adicionais podem ser utilizados para descrever cores em uma ID, estes parâmetros são as variáveis H , S e B . As variáveis H , S e B são obtidas indiretamente através dos cálculos matemáticos, sendo, portanto parâmetros derivados do sistema R , G e B que permitem aumentar a quantidade de variações entre cores distintas, melhorando-se a exatidão do resultado obtido matematicamente.

Em um primeiro momento optou-se por desenvolver um modelo matemático linear, porém os melhores resultados foram obtidos considerando-se um modelo quadrático, onde as variáveis R , G e B foram escolhidas para serem consideradas como quadráticas. Na Tabela 1 estão dispostas as variáveis escolhidas para o desenvolvimento do modelo de determinação do comprimento de onda de absorção dos analitos.

Tabela 1: Variáveis utilizadas na construção do modelo matemático para determinação do comprimento de onda de absorção máximo.

Natureza das Variáveis	Representação
Variáveis	R, G, B, H, S e Br
Interações	RG, RB, GB, HS, HBr e SBr
Quadráticas	R^2, G^2 e B^2

O modelo quadrático é descrito em EQUAÇÃO 9:

$$y = \beta_0 + \beta_1R + \beta_2G + \beta_3B + \beta_4RG + \beta_5RB + \beta_6GB + \beta_7H + \beta_8S + \beta_9Br + \beta_{10}HS + \beta_{11}HBr + \beta_{12}BrS + \beta_{13}R^2 + \beta_{14}G^2 + \beta_{15}B^2 \quad (9)$$

Onde y é a variável dependente (comprimento de onda de absorção em nm), e β_i são os coeficientes de todas as variáveis e suas interações descritas anteriormente. Para o cálculo dos valores dos coeficientes β_i foi utilizada a EQUAÇÃO 10:

$$\beta_i = (X^t X)^{-1} X^t y \quad (10)$$

Onde X é a matriz com todas as variáveis fotográficas e y é a matriz composta pelos comprimentos de onda obtidos na literatura.

5.8 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico e todas as soluções preparadas em água deionizada proveniente de sistema de purificação Milli-Q 18M Ω .cm⁻¹ (Milli-Q, Bedford, MA, USA). Visando evitar contaminação das amostras, todas as vidrarias e frascos de polietileno foram mantidas em solução de HNO₃ 10% v/v durante 24 h, sendo estas lavadas com água deionizada e secas em ambiente livre de impurezas antes da utilização.

Foram preparadas soluções dos seguintes corantes (Merck) com suas respectivas concentrações: Amarelo Tartrazina (4,0, 5,0 e 6,0 mg L⁻¹), Amarelo Crepúsculo (6,50, 7,50 e 8,50 mg L⁻¹), Azul de Metileno (0,80, 1,20 e 1,60 mg L⁻¹), Azul Brilhante (0,30, 0,60 e 1,20 mg L⁻¹).

Também foram preparadas soluções onde a coloração era proveniente de reações químicas entre um analito e um reagente cromogênico, dentre estas: Tiocianato de Ferro contendo ferro nas concentrações de: (20,00, 25,00 e 30,00 mg L⁻¹), preparadas através da adição de alíquotas de soluções estoque de KSCN e Fe(NH₄)(SO₄)₂.12H₂O, soluções de Ferroína contendo ferro nas concentrações de : (0,75; 1,00; 1,25; 2,00; 3,00 e 4,00 mg L⁻¹), preparadas a partir da adição de solução estoque de Fe⁺² (Vetec), Ácido Ascórbico (Vetec) (1% m/v), solução tampão de acetato de amônio (Merck) (4 mol L⁻¹) e 1, 10-fenantrolina (0,25% m/v). As soluções de Alumínio foram preparadas nas concentrações 100; 200; 300; 400 e 500 μ g L⁻¹ foram obtidas a partir da adição de solução estoque de Al³⁺ (Fluka), Ácido Ascórbico (2% m/v), solução tampão de Acetato de Amônio pH=6,4 (Merck) (4 mol L⁻¹) e Eriocromo Cianina R (0,1% m/v). Para determinação de nitrito a cor foi obtida mediante a adição do reagente de Griess que foi preparado a partir da reação entre Sulfanilamida (Isofar) e N-(1-naftil) (Vetec) em presença de Ácido Fosfórico (H₃PO₄) (Vetec) as soluções padrão de Nitrito

de Sódio (Vetec) tiveram concentração de: $100\mu\text{gL}^{-1}$; $250\mu\text{gL}^{-1}$; $500\mu\text{gL}^{-1}$; $750\mu\text{gL}^{-1}$ e $1000\mu\text{gL}^{-1}$. Soluções de fósforo foram preparadas segundo o método oficial para análise de fósforo em água (*AOAC Official Method 937.55*), a partir de adições de alíquotas de uma solução estoque de dihidrogeno fosfato de potássio (KH_2PO_4) (Vetec) ($200\mu\text{gL}^{-1}$; $525\mu\text{gL}^{-1}$; $800\mu\text{gL}^{-1}$; $1000\mu\text{gL}^{-1}$ e $1500\mu\text{gL}^{-1}$) a um reagente combinado obtido a partir da mistura de Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) $2,5\text{ mol L}^{-1}$, Tartarato de Antimônio e Potássio ($\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$) (Lafan), Molibdato de Amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Vetec) e Ácido Ascórbico (Vetec).

5.9 Amostras

Em um primeiro momento o método desenvolvido foi aplicado na determinação de três amostras distintas, obtidas em farmácias e supermercados locais. As amostras de origem farmacêutica escolhidas foram: um antiácido sabor laranja, onde se desejava a determinação da concentração do amarelo crepúsculo e um medicamento que continha basicamente sulfato de ferro (II), onde se almejou obter a concentração de Ferro através de sua reação com o reagente colorimétrico 1,10-Fenantrolina. A terceira amostra foi um isotônico sabor limão, onde se desejava quantificar o corante amarelo tatrazina.

Como segunda abordagem, visando determinar os analitos de interesse ambiental: Alumínio, Ferro, Fósforo e Nitrito, foram coletadas amostras de água de ambientes lacustres na região de Alfenas – MG.

5.10 Descrição da área de coleta das amostras de água.

Foram coletadas amostras de água. Os pontos de coleta bem como suas coordenadas geográficas são descritos em Figura 17 e suas coordenadas geográficas são exibidas em Tabela 2. As águas coletadas nos pontos P1, P2 e P3 são proveniente de ambientes lacustres próximo ao parque industrial de Alfenas-MG. A amostra coletada no ponto P4 se tratava de água de mina. As amostras coletadas nos pontos P5 e P6 são oriundas de ribeirões onde é despejado esgoto tratado.



Figura 17: Mapa da cidade de Alfenas-MG indicando os pontos onde foram efetuadas as coletas.
 Fonte: Google Maps

Tabela 2: Coordenadas geográficas dos pontos de coleta

Ponto	Coordenada Geográfica
P1	-21° 24' 53.48" S, -45° 59' 52.16" W
P2	-21° 23' 53.58" S, -45° 58' 52.14" W
P3	-21° 23' 64.52" S, -45° 48' 53.12" W
P4	-21° 25' 34.44" S, -45° 56' 20.70" W
P5	-21° 25' 33.23" S, -45° 56' 32.64" W
P6	-21° 22' 1.92" S, -45° 56' 4.74" W

5.11 Preparo das amostras

Das amostras comerciais houve a necessidade de diluir o isotônico (fator de diluição 1:2) e também para o sulfato de ferro II (fator de diluição 1:100). A amostra de antiácido, foi medida uma massa de 5,10 g, e após ser dissolvida em água, foi necessário um período de espera de 10 minutos, até que todo o dióxido de carbono fosse liberado, então a solução foi diluída (fator de diluição 1:3), resultando em uma concentração de 1,7g de antiácido por litro.

As amostras ambientais foram submetidas a filtração utilizando bomba a vácuo (Prismatec 131) com pré-filtro de fibra de vidro 85/70 BF (Marcherney-Nagel) de tamanho 47 mm de membrana. Após a filtração as amostras foram armazenadas em frascos de polietileno de 500 ml previamente descontaminados, foi adicionado a cada frasco 0,5 ml de ácido nítrico (HNO_3) concentrado (Vetec) como preservante químico. Para as amostras em que foram feitas determinação de nitrito foram preservadas com ácido clorídrico. As amostras foram mantidas em geladeira.

5.12 Figuras de mérito

5.12.1 Linearidade

O conceito de linearidade de um método analítico está relacionado com a capacidade de demonstrar que os resultados obtidos, dentro de determinada faixa (faixa linear dinâmica), estão diretamente relacionados com a concentração do analito. O coeficiente de determinação é o parâmetro matemático que caracteriza a linearidade de uma curva analítica [6]

Neste trabalho a linearidade foi determinada a partir do cálculo do coeficiente de correlação obtido nas curvas analíticas dos analitos: Amarelo Tartrazina, Amarelo Crepúsculo, Ferro II, Alumínio, Nitrito e Fósforo. As curvas construídas para os analitos foram obtidas a partir de sucessivas diluições de soluções estoque com concentração 1000 mgL^{-1} . As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro e as curvas de calibração, bem como os coeficientes de correlação, foram obtidos com o software *Origin*[®].

Para o método proposto na primeira abordagem, onde se aplicou a metodologia na determinação de corantes e de ferro, calculou-se o coeficiente de correlação a partir dos valores de R , G e B .

Na segunda abordagem, para a determinação de analitos em amostras de água, os valores de R , G e B foram convertidos em absorvâncias, conforme será abordado a seguir.

5.12.2 Limites de Detecção (LD) e Limites de Quantificação (LQ)

Em métodos analíticos que se baseiam nas determinações de baixas concentrações de analitos são necessários os cálculos dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para que seja possível avaliar o desempenho e aplicabilidade do método [27].

Também se define limite de detecção como sendo a menor quantidade passível de detecção que difere de uma solução do branco.

O limite de quantificação representa a menor concentração que pode ser quantificada com precisão e exatidão consideráveis por determinado método [28].

O cálculo dos limites de detecção e quantificação, segundo a IUPAC (*International Union Pure and Applied Chemistry*), baseia-se na razão entre o desvio padrão (σ) obtido de dez leituras de sinal da solução do branco e o coeficiente angular da curva analítica (m), multiplicando-se esta razão por três para obter o limite de detecção e multiplicando-se este por dez para obter o limite de quantificação.

Segundo o sistema RGB , o branco é o resultado da interação das três cores (Vermelho, Verde e Azul) em seus máximos valores de escala, sendo estes 255, a obtenção destes valores das soluções de branco, geram valores de alta magnitude no sistema RGB , sendo necessária a subtração dos valores de b_0 das equações. Os valores de LD e LQ foram obtidos, por fim, a partir dos desvios padrão do branco e subtração dos coeficientes lineares obtidos em cada equação.

Nos experimentos com a web cam os valores de LD e LQ foram determinados a partir da conversão dos valores de R , G e B em absorvância. Foram obtidas dez fotografias da solução do branco, foi então calculado um valor médio de R , G e B para os valores e utilizou-os para os cálculos de LD e LQ .

5.13 Precisão

A precisão, expressa em condições experimentais, a dispersão dos resultados obtidos dentro de um conjunto de ensaios independentes, reproduzidos nas mesmas condições, em uma mesma amostra ou amostras diferentes. Avaliou-se então a precisão do método proposto para ambos os cálculos, do comprimento de onda e da concentração, obtidos segundo o cálculo do desvio padrão relativo ($n=3$), em todas as amostras.

5.14 Erros

Para um modelo matemático obtido por meio do método dos mínimos quadrados é possível calcular os erros e os coeficientes da equação do modelo. As estratégias para cálculo dos erros remetem ao cálculo da variância para cada um dos fatores.

A matriz $z = [(M'M)^{-1}]$ é obtida através do cálculo matricial descrito em EQUAÇÃO 7. O cálculo do valor da Média Quadrática dos Resíduos (MQ_r), obtido a partir do cálculo da ANOVA, fornece informações a respeito do erro do modelo. Sendo MQ_r multiplicado pela matriz z , o valor do erro a matriz toda. A diagonal da matriz resultante esta é composta pelos valores das variâncias de cada um dos efeitos. O procedimento descrito se encontra em EQUAÇÃO 13 [22].

$$z = (M' . M)^{-1} = \begin{pmatrix} b_0 & - \\ - & b_1 \end{pmatrix} \quad (13)$$

$$= \begin{pmatrix} b_0 & - \\ - & b_1 \end{pmatrix} \times MQ_r = \begin{pmatrix} v_0 & - \\ - & v_1 \end{pmatrix}$$

O valor do erro (E) pode ser obtido finalmente pela radiciação de cada termo que compõe a diagonal principal da matriz obtida em EQUAÇÃO 13, multiplicados por um valor de t tabelado com 95% de probabilidade estatística, com o número de graus de liberdade correspondente ao utilizado na obtenção da MQ_r , demonstrado pela EQUAÇÃO 14 [22]:

$$E = (\sqrt{v}) \times t_{95\%} \quad (14)$$

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Considerações a respeito dos resultados obtidos

Os resultados obtidos neste trabalho são apresentados em duas etapas, sendo que na primeira etapa, os resultados foram obtidos utilizando-se uma câmera fotográfica semiprofissional. Foram empregadas as variáveis R , G e B na construção dos modelos matemáticos. As amostras estudadas na primeira etapa foram: isotônicos e sulfato ferroso.

Na segunda etapa, visando-se a redução de custos e aumento da portabilidade, optou-se por desenvolver uma câmera fotográfica portátil, onde as fotografias foram obtidas utilizando-se uma *webcam*. Visando aumentar a sensibilidade e explorar diferentes metodologias os valores de R , G e B foram convertidos em absorbâncias. Na segunda etapa a metodologia descrita foi aplicada na determinação de analitos de interesse ambiental, tais como alumínio, ferro, nitrito e fósforo.

6.2 Etapa I: Determinação de substâncias coloridas comerciais

6.2.1 Varredura espectral

Procurando abranger a faixa de comprimentos de onda da região visível do espectro eletromagnético, a escolha das substâncias utilizadas na construção do modelo foi segundo seu comprimento de onda de máxima absorção. A Figura 18 exhibe os espectros obtidos em uma faixa de comprimento de onda de 400 a 800 nm para os analitos utilizados na construção dos modelos matemáticos para determinação do comprimento de onda de máximo de absorção. Em Tabela 3 se encontram os valores de comprimento de onda de absorção obtido para cada analito através da varredura espectral, para efeito de comparação também são apresentados valores da literatura.

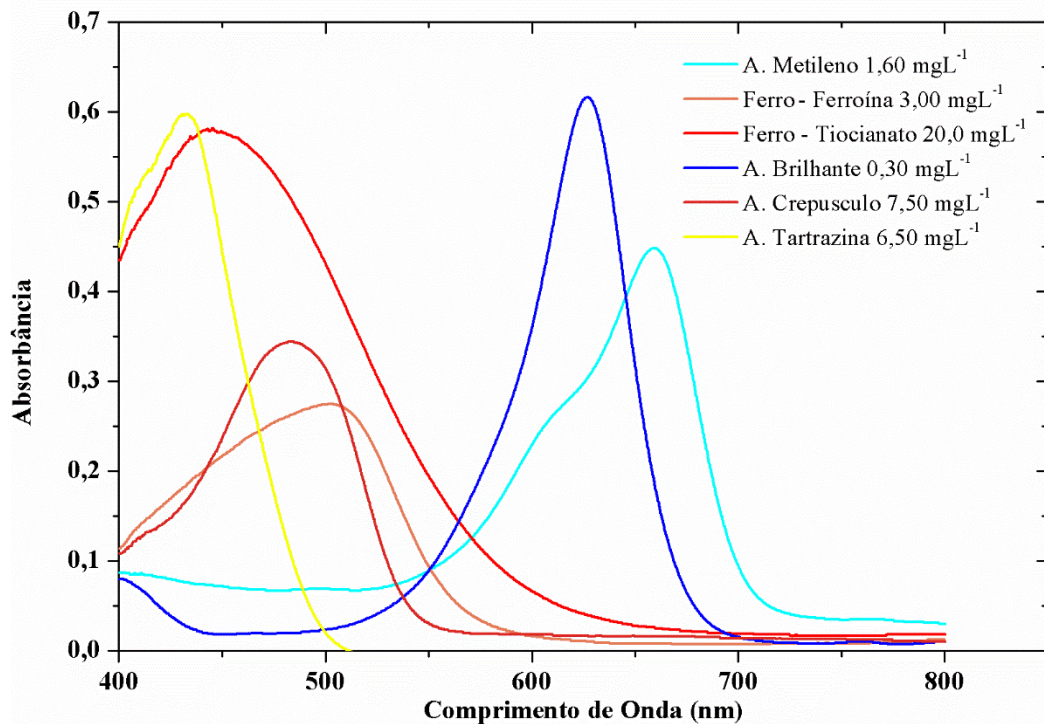


Figura 18: Espectros obtidos para os analitos empregados na construção do modelo matemático para a determinação do comprimento máximo de absorção.
Fonte: Do autor

6.2.2 Determinando o comprimento de onda de máximo de absorção

Para calcular o comprimento de onda de absorção das amostras utilizando a câmara fotográfica, foi obtida a EQUAÇÃO 15. Os valores das variáveis utilizados para o cálculo estão dispostos no Apêndice A.

$$\begin{aligned}
 y_{(C.Onda)} = & -19408,65 (\pm 684,10) + 168,79 (\pm 10,09)R - 48,09 (\pm 2,57)G + 93,45 \\
 & (\pm 4,38)B - 0,74 (\pm 0,05)RG - 0,58 (\pm 0,01)RB - 0,40 (\pm 0,01)GB + 12,75 (\pm 3,59)H \\
 & + 111,47 (\pm 4,35)S + 147,96 (\pm 5,66)Br + 0,39 (\pm 0,08)HS - 0,20 (\pm 0,06)HBr \\
 & - 3,24 (\pm 0,15) BrS + 0,09 (\pm 0,01)R^2 + 0,63 (\pm 0,03)G^2 + 0,07 (\pm 0,01)B^2
 \end{aligned} \quad (15)$$

Como foram utilizados 6 analitos distintos em três níveis de concentração, um total de 18 experimentos foram realizados. Na Tabela 3 se encontram dispostos todos os analitos empregados, bem como os níveis de concentração utilizados na construção deste modelo. Como respostas (y_i), foram considerados os comprimentos de onda de absorção teóricos compilados na literatura.

Tabela 3: Experimentos realizados para avaliar os resultados obtidos pelo modelo estabelecendo comparação com dados obtidos por espectrofotometria de absorção molecular e os valores teóricos.

Analitos	Conc.(mgL⁻¹)	$\lambda_{\text{Teórico}}$	$\lambda_{\text{Método Proposto}}$	Erro (%)	$\lambda_{\text{Referência}}$	Erro (%)
A. Tartrazina	4,00	426,00 ^a	424,84	-0,27	427,33	0,31
	5,00	426,00 ^a	426,99	0,23	430,63	1,09
	6,00	426,00 ^a	425,89	-0,03	431,87	1,38
A. Crepúsculo	6,50	480,00 ^a	484,16	0,87	483,48	0,72
	7,50	480,00 ^a	475,67	-0,90	484,60	0,96
	8,50	480,00 ^a	479,96	-0,01	484,90	1,02
A. Metileno	0,80	665,00 ^a	665,10	0,02	659,57	-0,82
	1,20	665,00 ^a	663,98	-0,15	659,76	-0,79
	1,60	665,00 ^a	665,78	0,12	659,57	-0,82
Ferroína	2,00	512,00 ^a	512,81	0,16	501,01	-2,15
	3,00	512,00 ^a	509,95	-0,40	502,43	-1,87
	4,00	512,00 ^a	513,00	0,20	502,02	-1,95
A. Brilhante	50,00	629,00 ^b	629,05	0,01	626,48	-0,40
	60,00	629,00 ^b	628,81	-0,03	626,09	-0,46
	70,00	629,00 ^b	629,12	0,02	626,09	-0,46
T. de Ferro	20,00	450,00 ^a	450,90	0,20	439,50	-2,33
	25,00	450,00 ^a	450,27	0,06	445,26	-1,05
	30,00	450,00 ^a	449,72	-0,06	445,26	-1,05

^aDisponível em: MARCZENKO e BALCERZAK, 2000

^bDisponível em: PRADO e GODOY, 2003

Para verificar a viabilidade do modelo, estes foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Os resultados obtidos para os experimentos realizados se encontram dispostos em Tabela 4. Com 95% de confiança a regressão foi significativa, uma vez que a razão $MS_{\text{regressão}}/MS_{\text{resíduos}}$ foi de 58.031,44, maior do que os respectivos valores tabelados de $F_{(15,2)}$ de 19,43. O modelo também apresenta coeficiente de correlação adequado ($r > 0,997$) indicando que, nesse nível de confiança (95%), mais de 99% da variância dos dados são explicados pelo modelo. Também, baixos valores de erro percentual foram obtidos e podem ser verificado na Figura 19 para o primeiro modelo. A porcentagem de resíduos não foi maior do que 1% em ambos os casos.

Tabela 4: Análise de variância para o modelo quadrático desenvolvido para o cálculo do comprimento de onda utilizando-se o modelo desenvolvido

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F crítico
Regressão	133552,56	15	8903,50		
Resíduos	45,60	2	22,80	58.031,44	19,43
Total	133835,00	17	7872,65		

% de variância explicada pelo modelo: 99.79%

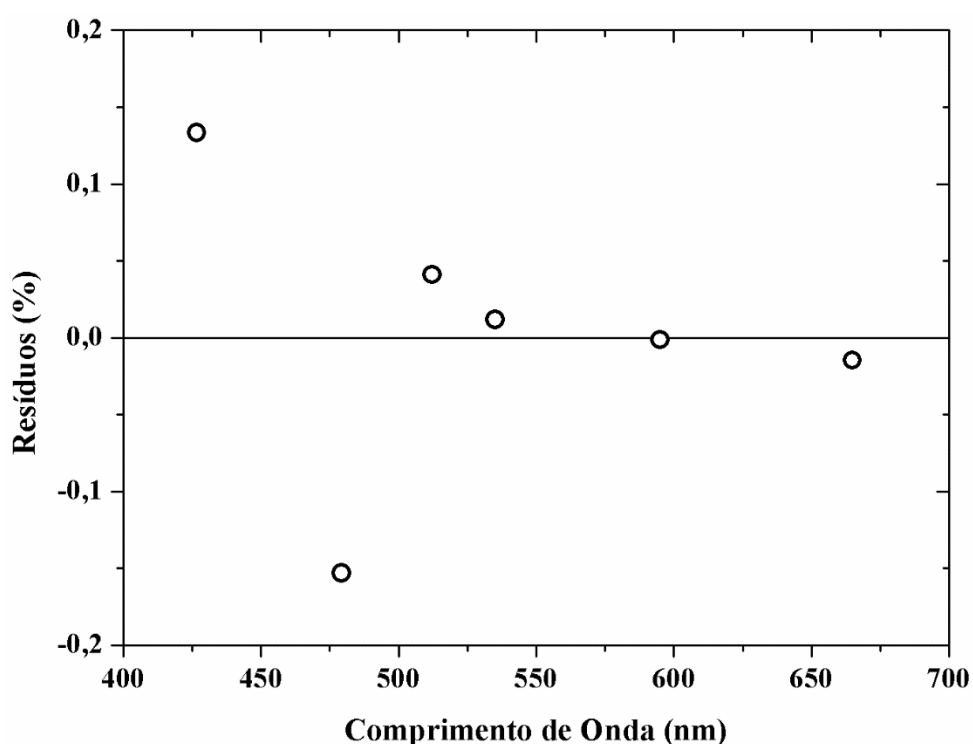


Figura 19: Erro percentual para o modelo desenvolvido para a determinação de comprimento de onda utilizando-se a câmara fotográfica.

Fonte: Do autor

Também foi estabelecida uma comparação entre os dados obtidos por espectrofotometria, o modelo matemático proposto e os dados obtidos na literatura, que podem ser verificados em Tabela 3, previamente descrita. Pode ser verificado que os desvios percentuais sempre foram menores do que 2,33 % para os dados obtidos através da espectrofotometria e menores do que 0,90 % para o método proposto, portanto, o modelo proposto se mostra preciso. Os comprimentos de onda obtidos pelo modelo foram comparados com os valores da literatura (Tabela 3) mediante a aplicação do teste-*t* pareado, onde o valor de

$t_{\text{calculado}}$ ($5,18 \times 10^{-6}$) foi menor do que o valor de t_{tabelado} (2,11), indicando que os dados são similares com 95% de confiabilidade.

6.2.3 Obtenção do Modelo Matemático para determinação da concentração dos analitos

Os modelos utilizados na determinação da concentração foram obtidos utilizando apenas as componentes fotográficas R , G e B . Da mesma forma que o modelo matemático anterior, o método dos mínimos quadrados (Equação 11), foi empregado para o cálculo dos coeficientes β_i . Nesse caso, a matriz resposta é composta pelos valores da concentração de trabalho dos padrões de calibração. Utilizando-se a câmara fotográfica descrita previamente, foram obtidos os valores de R , G e B descritos em Apêndices B, C e D, obtendo-se também as EQUAÇÕES 16, 17 e 18, para os analitos: amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo e ferroína respectivamente.

$$y = 6,62 (\pm 1,55) + 0,62R (\pm 0,12) - 0,62G (\pm 0,14) - 0,04B (\pm 0,02) \quad (16)$$

$$y = -13,32 (\pm 1,81) + 0,59R (\pm 0,08) - 0,51G (\pm 0,07) + 0,03B (\pm 0,01) \quad (17)$$

$$y = -7,92 (\pm 0,75) + 0,136 (\pm 0,013)R - 0,083 (\pm 0,008)G + 0,004B (\pm 0,001) \quad (18)$$

Os modelos matemáticos foram também submetidos à ANOVA para avaliar sua viabilidade, e os resultados obtidos estão dispostos em Tabelas Tabela 4, 5 e 6. Com 95% de confiabilidade todas as três regressões são significativas. As porcentagens de variância explicadas pelas regressões foram maiores do que 99,98% para todos os analitos determinados. Os coeficientes de correlação obtidos para os modelos foram maiores do que 0,9998, indicando ajustes satisfatórios para os modelos.

Nas Figuras: Figura 20, Figura 21 e Figura 22; são exibidas as curvas analíticas, bem como as equações obtidas para os analitos: amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo e ferroína respectivamente. Também são exibidas as equações lineares obtidas bem como os coeficientes de determinação (R^2), em todas as curvas analíticas os coeficientes de correlação não foram menores do que 0,9975, portanto as curvas exibem linearidade adequada dentro da faixa de concentração de trabalho escolhida. Para avaliar a viabilidade de todos os três modelos, um gráfico dos erros percentuais em relação às concentrações foi feito, e é exibido em Figura 23. A porcentagem de resíduos não é superior a 2%, assim, o método desenvolvido se mostra preciso.

Tabela 5: Análise de variância para o modelo linear desenvolvido para o cálculo da concentração do analito amarelo tartrazina.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F_{calculado}	F_{crítico}
Regressão	9,99	3	3,33		
Resíduos	$1,37 \times 10^{-4}$	1	$1,37 \times 10^{-4}$	24354,43	215,70
Total	10,00	4	2,50		

Tabela 6: Análise de variância para o modelo linear desenvolvido para o cálculo da concentração do analito amarelo crepúsculo.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F_{calculado}	F_{crítico}
Regressão	9,99	3	3,33		
Resíduos	$3,38 \times 10^{-4}$	1	$3,38 \times 10^{-4}$	8597,45	215,70
Total	10,00	4	2,50		

Tabela 7: Análise de variância para o modelo linear desenvolvido para o cálculo da concentração do analito ferroína.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F_{calculado}	F_{crítico}
Regressão	9,98	3	3,32		
Resíduos	0,01	1	0,01	360,39	215,70
Total	10,00	4	2,50		

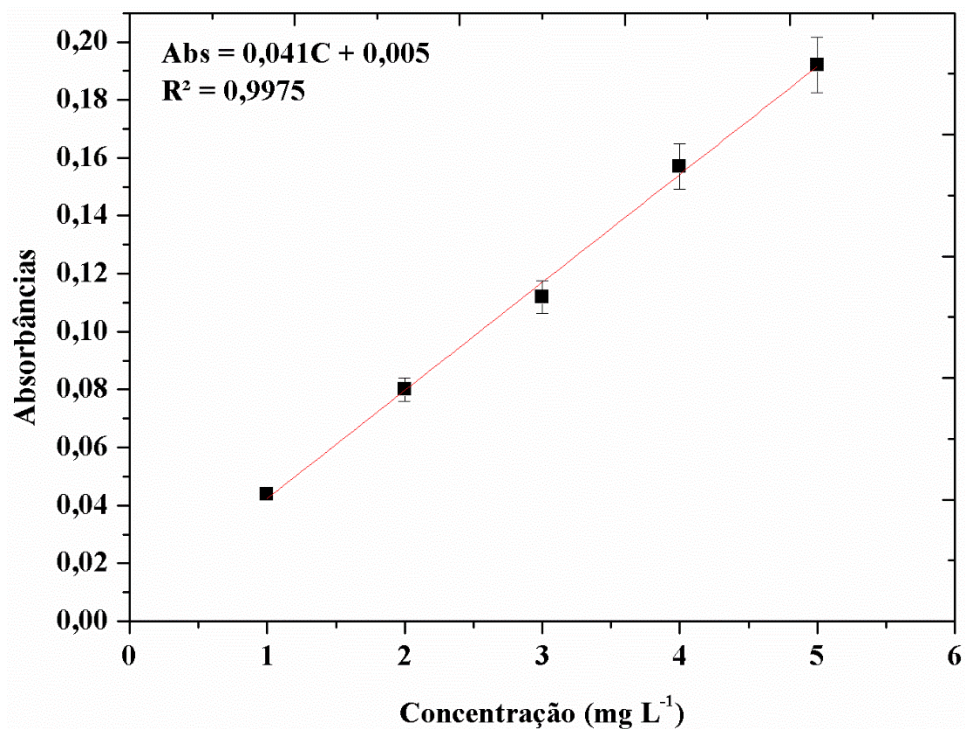


Figura 20: Curva analítica, equação linear e coeficiente de correlação obtido com Espectrofotometria UV-Vis, para o analito amarelo tartrazina no comprimento de onda 429,33 nm.
Fonte: Do autor

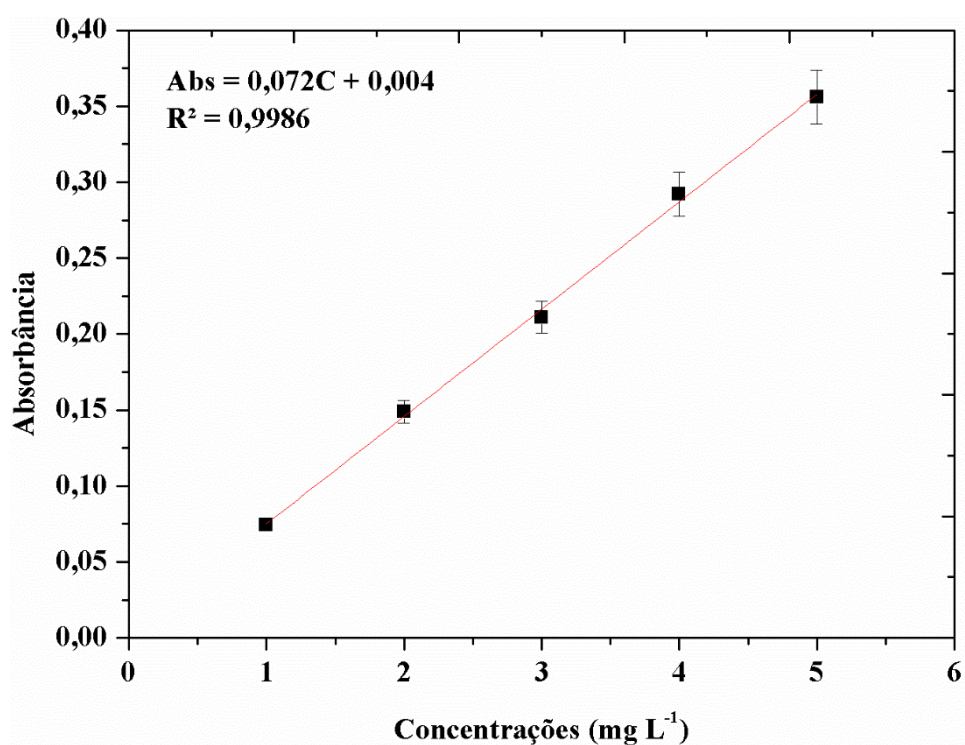


Figura 21: Curva analítica, equação linear e coeficiente de correlação obtido com Espectrofotometria UV-Vis, para o analito amarelo crepúsculo no comprimento de onda 484,32 nm.
Fonte: Do autor

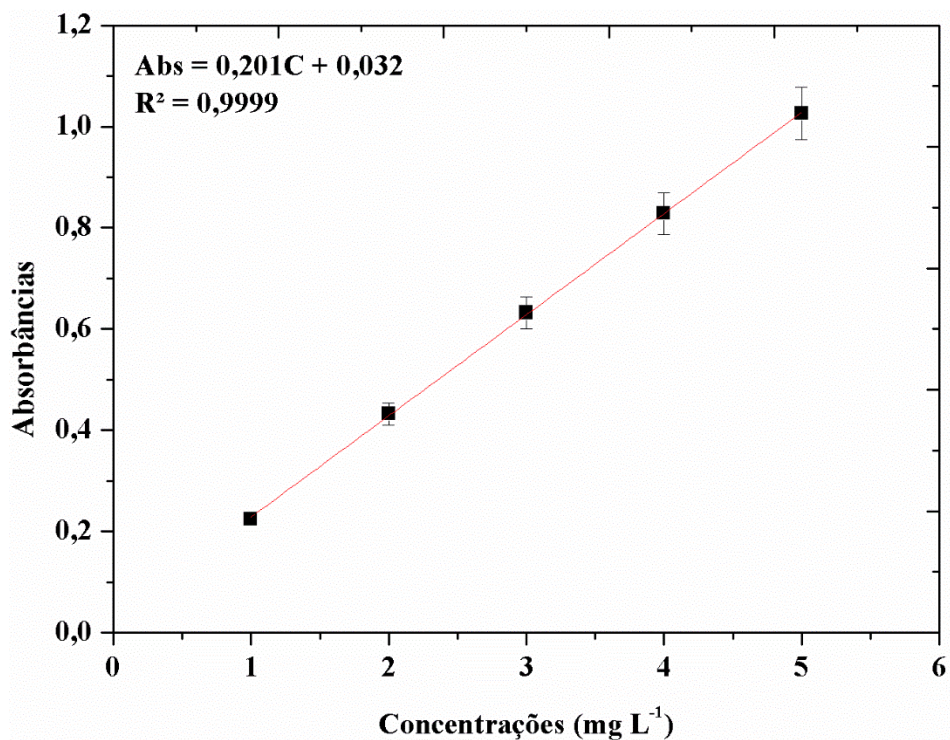


Figura 22: Curva analítica, equação linear e coeficiente de correlação obtido com Espectrofotometria UV-Vis, para o analito ferroína no comprimento de onda 501,82 nm.
Fonte: Do autor

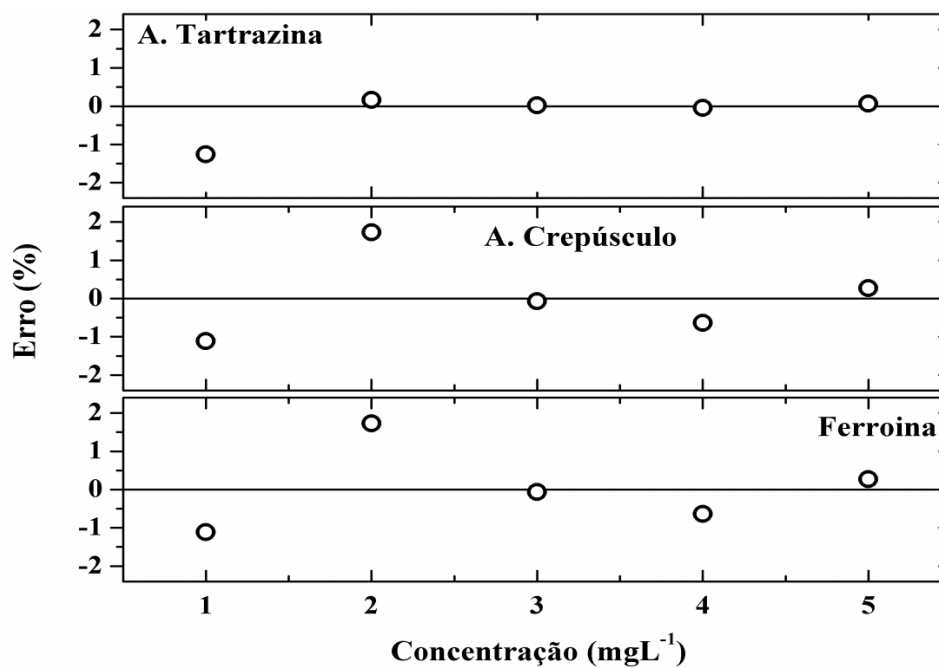


Figura 23: Erro percentual versus concentração dos analitos.
Fonte: Do autor

6.2.4 Limites de Detecção e Limites de Quantificação

Na Tabela 8 se encontram os valores de *LD* e *LQ* obtidos para o método desenvolvido comparados com os valores obtidos utilizando-se espectrofotometria de absorção molecular (método de referência). Pode se notar a similaridade entre os valores sendo, em geral, melhores para o método proposto.

Tabela 8: Figuras de mérito (*LD*, *LQ* e Faixa Linear)

Analitos	AID			Método de Referência		
	<i>LD</i>	<i>LQ</i>	FL ^a	<i>LD</i>	<i>LQ</i>	FL ^a
A. Tartrazina	0,37	0,75	0,75-5,00	0,31	0,80	0,80-5,00
A. Crepúsculo	0,17	0,56	0,56-5,00	0,20	0,67	0,67-5,00
Ferroína	0,05	0,18	0,18-5,00	0,09	0,29	0,29-5,00

^aFaixa Linear

^bEm mg L⁻¹

6.2.5 Determinações em amostras comerciais

Em todas as amostras foram determinados o comprimento de onda bem como a concentração dos analitos: Amarelo Tartrazina, Amarelo Crepúsculo e Ferro. Na Tabela 9 estão os resultados obtidos para todos os analitos citados:

Tabela 9: Determinações em amostras comerciais

Analitos	AID		Método de Referência ^c	
	Concentração	λ (nm)	Concentração	λ (nm)
A. Tartrazina	5,39±0,27 ^a	431,87±0,25	5,21±0,20 ^a	435,69±2,80
A. Crepúsculo	2,95±0,19 ^b	486,44±0,13	3,04±0,17 ^b	483,88±0,55
Ferro	2,12 x 10 ³ ±0,11 ^a	514,82±0,82	2,18x10 ³ ±0,12 ^a	506,47±1,05

^aValores em mg L⁻¹

^bValores em mg g⁻¹

^c Método de Referência: Espectrofotometria UV-Vis

Os resultados obtidos utilizando-se AID foram comparados com o método de referência através de um teste-*t*. Os valores de $t_{\text{calculado}}$ para os analitos foram 0,78; 2,84 e 1,40 para as amostras de isotônico (amarelo tartrazina), antiácido (amarelo crepúsculo) e suplemento de ferro (ferroína), respectivamente. Os valores de $t_{\text{calculado}}$ foram sempre menores do que o valor de t_{tabelado} de 3,18, indicando que com 95% de confiança os dados são similares.

6.3 Etapa II: Determinação dos analitos de interesse Ambiental

6.3.1 Varredura espectral

Similarmente ao descrito na sessão 6.2.1 anteriormente foi obtido o espectro na região do visível dos analitos a serem determinados, permitindo dessa forma uma comparação com os resultados obtidos utilizando-se o método de referência e com o método proposto. A Figura 24 exhibe os espectros obtidos em uma faixa de comprimento de onda de 400 a 800 nm para os analitos utilizados na construção dos modelos matemáticos para determinação do comprimento de onda de máximo de absorção. Na Tabela 11 se encontram os valores de comprimento de onda de absorção obtidos para cada analito através da varredura espectral, permitindo estabelecer correlação com os valores obtidos na literatura, sendo esses condizentes. Os valores obtidos com o método de referência são condizentes tanto com os valores obtidos na literatura quanto com os da espectrofotometria. De uma maneira geral os erros variaram entre 0,90% e 0,20% o que comprova a exatidão do sistema proposto.

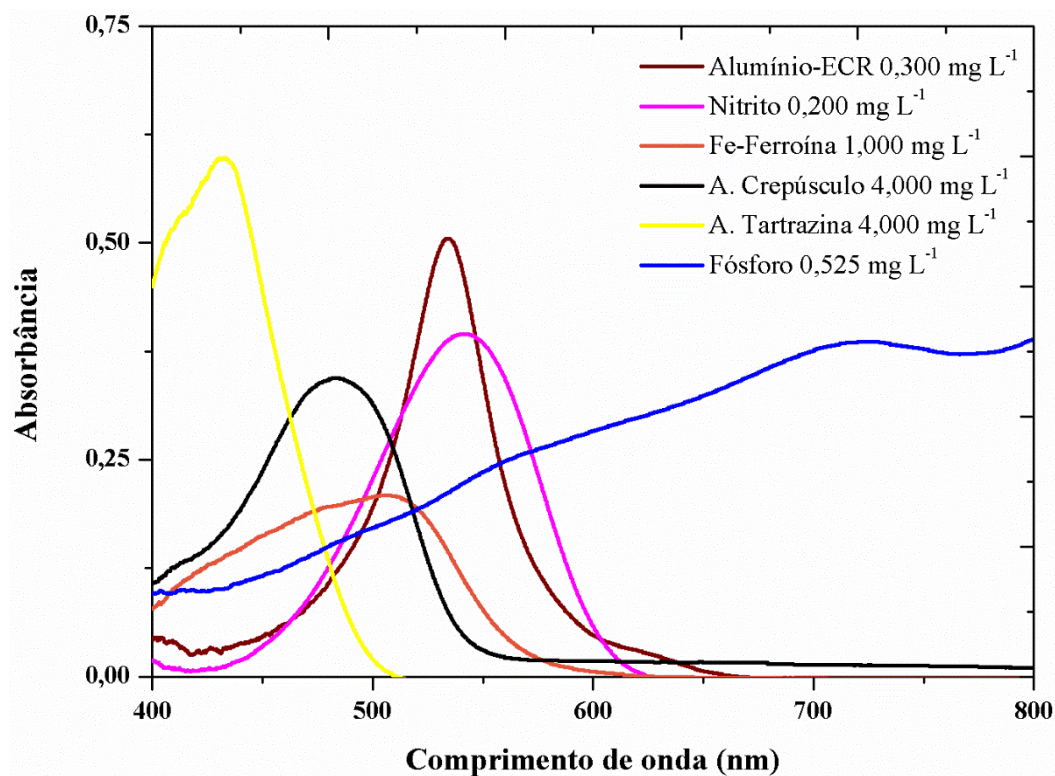


Figura 24: Espectros obtidos para os analitos empregados na construção do modelo matemático visando a determinação do comprimento máximo de absorção.

Fonte: Do autor

6.3.2 Obtenção dos Modelos Matemáticos para determinação do comprimento de onda

Assim como foi descrito na primeira etapa, foi utilizado o método dos mínimos quadrados (MMQ) para a obtenção de um modelo matemático, que baseado nas variáveis fotográficas R ; G ; B ; H ; S ; Br , permitisse a obtenção do comprimento de onda de absorção dos analitos. As variáveis empregadas, bem como as interações são descritas em **Tabela 1** descrita no item **5.7** supracitada. Foram utilizadas 16 variáveis e foram realizados 18 experimentos (6 analitos de cores diferentes em 3 níveis de concentração). Foi desenvolvido um modelo quadrático, da mesma forma como descrito na SEÇÃO 6. Para calcular o comprimento de onda de absorção das amostras utilizando a câmara fotográfica, foi obtida a EQUAÇÃO 19. Os valores das variáveis utilizados para o cálculo estão dispostos no Apêndice D.

$$y_{(C.Onda)} = -1974,91 (\pm 113,80) + 37,32 (\pm 8,01)R - 16,75 (\pm 0,57)G + 35,46 (\pm 1,08)B - 0,07 (\pm 0,01)RG - 0,12 (\pm 0,01)RB - 0,04 (\pm 0,01)GB - 14,07 (\pm 2,12)H - 13,71 (\pm 1,18)S - 36,99 (\pm 2,74)Br - 0,11 (\pm 0,01)HS + 0,20 (\pm 0,02)HBr + 0,45 (\pm 0,05) BrS - 0,10 (\pm 0,01)R^2 + 0,04 (\pm 0,03)G^2 - 0,01 (\pm 0,01)B^2 \quad (19)$$

O modelo foi submetido a ANOVA para avaliar sua viabilidade, os resultados obtidos para os experimentos realizados se encontram dispostos em Tabela 11. Com 95% de confiança a regressão foi significativa, uma vez que a razão $MS_{regressão} / MS_{resíduos}$ foi de 166,94, maior do que os respectivos valores tabelados de $F_{(15,2)}$ de 19,43. O coeficiente de correlação calculado para o modelo foi adequado ($r > 0,999$) indicando que, com 95% de confiabilidade e com mais de 99% da variância dos dados são explicados pelo modelo e também, exibe baixos valores de erro percentual relativo o que pode ser verificado em Figura 25 para o primeiro modelo. Observa-se que os resíduos não foram superiores a 0,06 % em ambos os casos.

Tabela 10: Os experimentos realizados para avaliar os valores de comprimento de onda de absorção máximo obtidos pelo modelo estabelecendo comparação com dados obtidos via espectrofotometria de absorção molecular e os valores teóricos.

Analitos	Conc (mg L⁻¹)	$\lambda_{\text{Teórico}}^a$	$\lambda_{\text{Método Proposto}}$	Erro (%)	$\lambda_{\text{Referência}}$	Erro (%)
A. Tartrazina	4,00	426,00	424,42	0,37	427,33	0,31
	5,00	426,00	425,87	0,03	430,63	1,09
	6,00	426,00	427,31	-0,31	431,87	1,38
A. Crepúsculo	6,50	480,00	479,71	0,06	483,48	0,73
	7,50	480,00	482,92	-0,61	484,60	0,96
	8,50	480,00	478,14	0,39	484,90	1,02
Alumínio ECR	0,20	535,00	536,95	-0,36	534,01	-0,19
	0,30	535,00	533,02	0,37	534,08	-0,17
	0,40	535,00	535,54	-0,10	534,16	-0,16
Ferroína	0,75	512,00	510,44	0,30	507,71	-0,84
	1,00	512,00	516,71	-0,92	506,31	-1,11
	1,25	512,00	507,88	0,80	507,35	-0,91
Nitrito	0,10	543,00	545,00	-0,37	541,82	-0,22
	0,20	543,00	541,49	0,28	542,37	-0,12
	0,50	543,00	543,40	-0,08	542,07	-0,17
Fósforo	0,53	700,00	696,86	0,45	715,00	2,14
	0,80	700,00	704,10	-0,59	716,92	2,42
	1,00	700,00	698,24	0,25	714,95	2,14

^aDisponível em: MARCZENKO e BALCERZAK, 2000

Tabela 11: Análise de variância para o modelo quadrático desenvolvido para o cálculo do comprimento de onda utilizando-se o modelo desenvolvido

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F_{calculado}	F_{crítico}
Regressão	127971,79	15	8531,45		
Resíduos	102,21	2	51,11	166,94	19,43
Total	128074	17	7533,76		

% de variância explicada pelo modelo: 99.92%

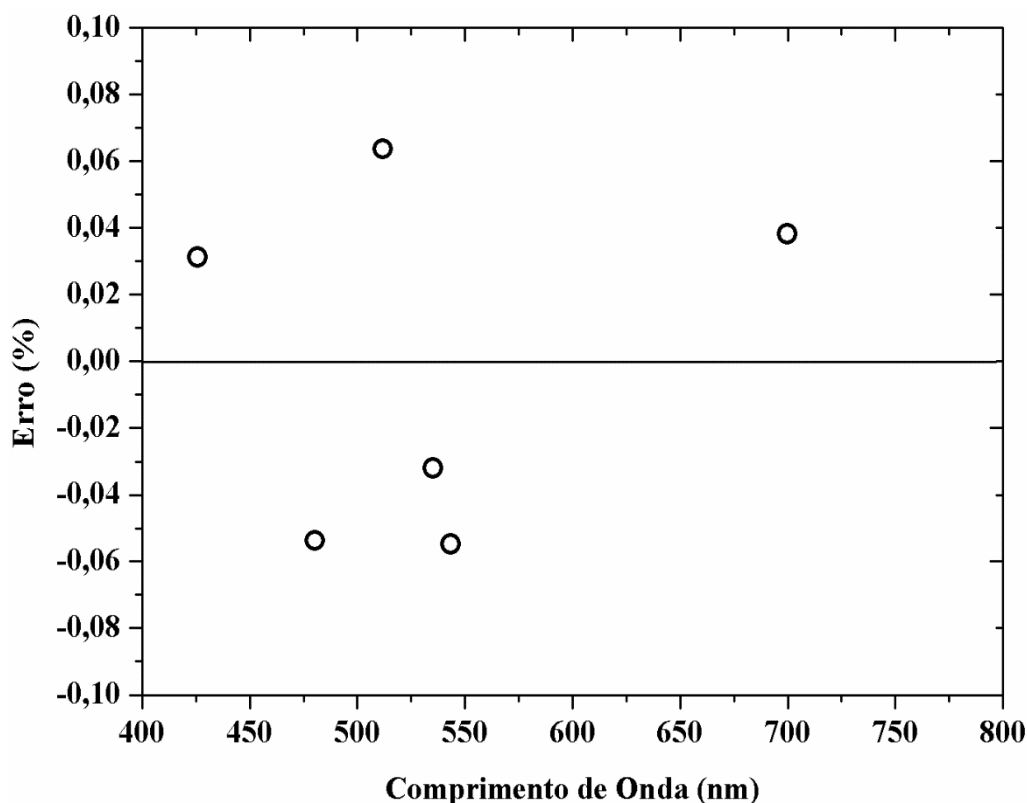


Figura 25: Erro percentual para o modelo quadrático desenvolvido.
 Fonte: Do autor

Comparando-se ambos os modelos matemáticos desenvolvidos, com uma câmera semi-profissional e com uma web cam, é possível perceber que o segundo modelo exibe uma média quadrática de resíduos ligeiramente maior ($MQ_r = 51,11$) do que o primeiro modelo ($MQ_r = 20,80$). Isso pode ser atribuído à perda de sensibilidade, uma vez que a web cam apresentava uma resolução de 5.0 megapixels sendo desses 1.3 reais e o restante interpolados, a câmera semiprofissional exibia 12 megapixels de resolução sendo, portanto 10 vezes mais sensível. Por outro lado empregando-se a web cam foi possível obter erros percentuais relativos menores. Dessa forma o uso de uma web cam para o desenvolvimento de um modelo matemático que permita o cálculo do comprimento de onda se mostra possível, uma vez que o erro exibe precisão e exatidão adequadas. Para averiguar se os resultados obtidos pelo modelo estavam condizentes com o método de referência foi efetuado o teste- t , onde o valor de $t_{calculado}$ foi de 0,986, menor do que o valor de $t_{tabelado}$ de 2,11, indicando que os dados são similares com 95% de confiabilidade.

6.3.3 Estudo de variáveis e construção de curvas de calibração

Para o cálculo da concentração dos analitos, optou-se por uma abordagem diferente da utilizada anteriormente, os valores de R , G e B foram convertidos em absorbância como descrito segundo Gomes *et al.* Onde foram obtidas 10 fotografias do branco, os valores médios de R , G e B foram adotados como valor de potência do feixe de luz máxima (P_0), foram obtidas então três fotografias dos padrões e amostras. Calculado o valor médio das variáveis fotográficas da mesma forma como efetuado para o branco. Os valores de R , G e B dos padrões e amostras foram adotados como sendo a potencia do feixe de luz que atravessou a cubeta (P). Aplicando-se as equações 4 e 5 descritas no item 2.2, é possível transformar as variáveis fotográficas em absorbâncias.

Nesta abordagem não foi utilizado um sistema multivariado, dessa forma, para se determinar qual das variáveis é mais significativa para cada analito foram construídas curvas de calibração com as absorbâncias obtidas a partir das variáveis R , G e B dos analitos a serem determinados. Foi escolhida como variável de trabalho a que apresentou maior sensibilidade (analisando-se a sensibilidade analítica da equação obtida), e melhor correlação linear (R^2).

Na Figura 26 são exibidos os resultados de variáveis para os analitos: Alumínio (26-A), Ferro (26-B), Fósforo (26-C) e Nitrito (26-D) respectivamente. Observa-se para o Alumínio boas correlação linear ($R^2 = 0,9962$), e sensibilidade ($m = 0,7431$) quando se utiliza como variável de trabalho o Verde. O analito Ferro exibiu maior sensibilidade para o uso da variável Azul, porém, baixa correlação linear ($R^2 = 0,9878$), desta forma optou-se por trabalhar com a variável Verde pois apresentou melhor linearidade ($R^2 = 0,9926$). Para o analito Fósforo optou-se por somar as variáveis Vermelho e Verde (representada pela curva em lilás), uma vez que obtiveram-se melhores sensibilidade ($m = 0,6321$) e linearidade ($R^2 = 0,9961$). A variável de trabalho escolhida para quantificar o Nitrito foi o Verde exibindo linearidade ($R^2 = 0,9910$) e sensibilidade ($m = 0,5573$) adequadas.

Em Tabela 12 são exibidas as variáveis utilizadas na quantificação de cada analito, as equações obtidas e correlação linear. Todas as curvas de calibração obtidas através do método proposto exibiram coeficientes de correlação superiores a 0,9910, indicando ajuste satisfatório para os modelos.

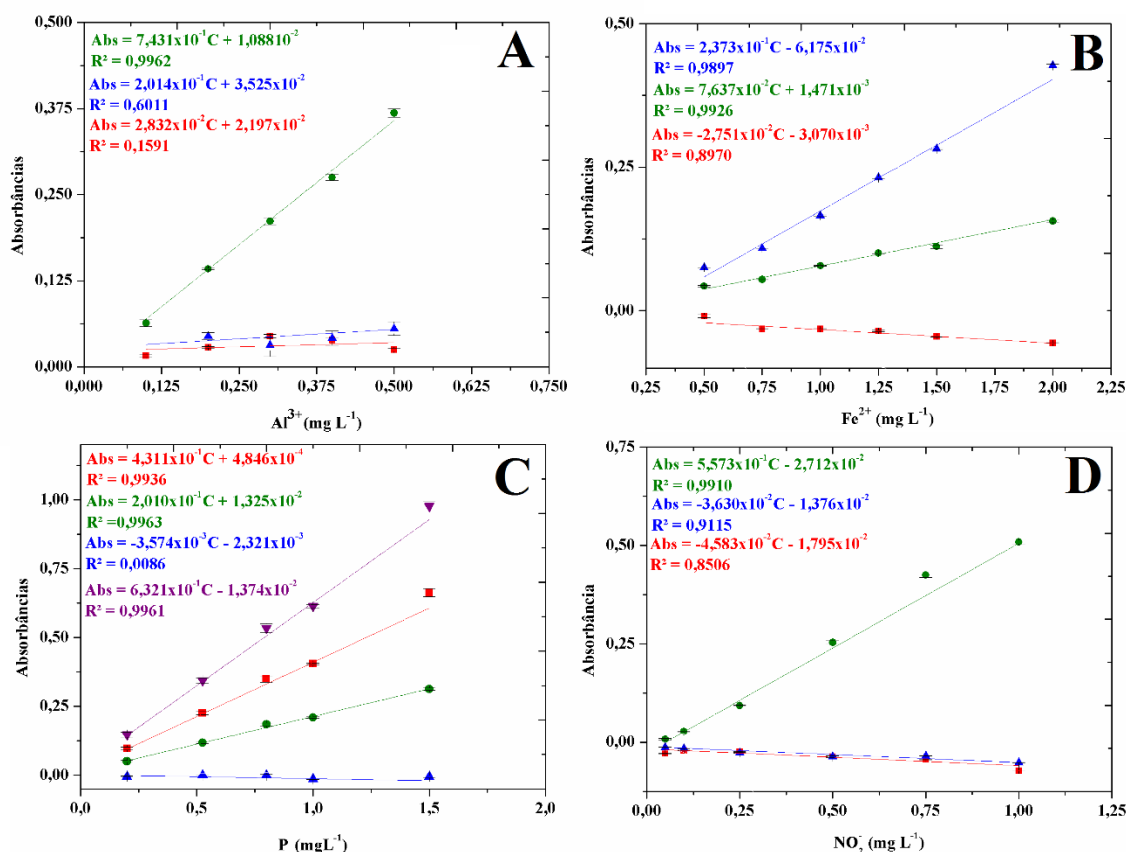


Figura 26: Estudos de variáveis de trabalho para os analitos: Alumínio (A), Ferro (B), Fósforo (C) e Nitrito (D). Sendo representadas em Vermelho as equações referente a variável R, em Verde referente a variável G, em Azul referente a variável B e em Lilás referente a R+G.

Fonte: Do autor

Tabela 12: As variáveis utilizadas na determinação da concentração de cada analito, bem como as equações obtidas e os coeficientes de correlação (R^2)

Analito	Variável	Equação	R^2
Alumínio	Verde (G)	$Abs = 0,07431C + 0,01088$	0,9962
Ferro	Verde (G)	$Abs = 0,07637C + 0,001471$	0,9926
Fósforo	Vermelho + Verde (R+G)	$Abs = 0,6321C - 0,01347$	0,9961
Nitrito	Verde (G)	$Abs = 0,5573C - 0,02712$	0,9910

São apresentadas na Figura 27 as curvas analíticas obtidas com espectrofotometria bem como as equações obtidas para os analitos: Alumínio (27-A), Ferroína (27-B), Fósforo (27-C)

e Nitrito (27-D) respectivamente. Também são exibidas as equações lineares obtidas bem como os coeficientes de correlação (R^2), em todas as curvas analíticas os coeficientes de correlação não foram menores do que 0,9998. Portanto as curvas exibiram linearidade adequada dentro da faixa de concentração de trabalho escolhida. Em ambos, estudos de variáveis e curvas analíticas, *Abs* é o sinal de absorvância obtido para cada solução, e *C* é a concentração do analito.

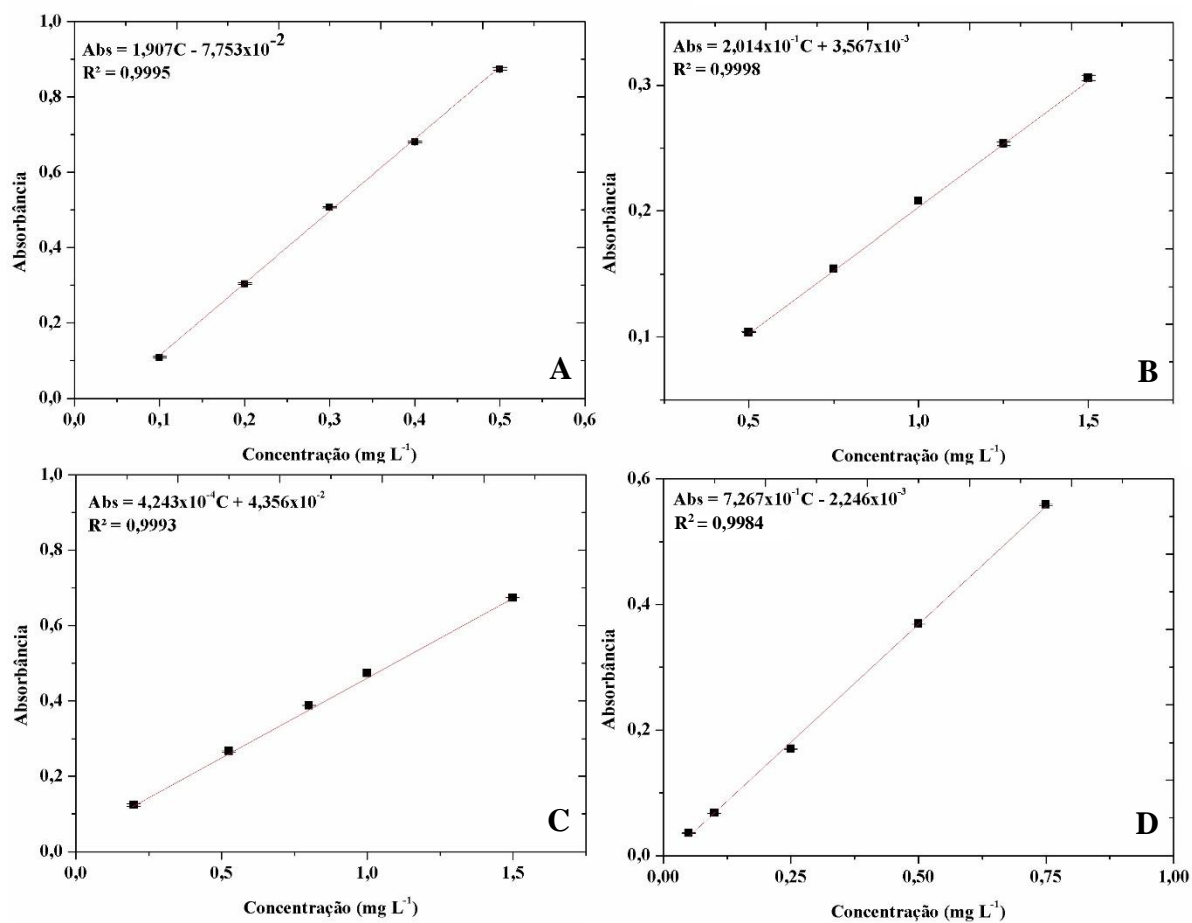


Figura 277: Curvas analíticas obtidas, utilizando-se espectrofotometria UV-Vis, para os analitos: Alumínio (A), Ferro (B), Fósforo (C) e Nitrito (D).

Fonte: Do autor

6.3.4 Figuras de mérito e validação da metodologia

Visando descrever o desempenho analítico da metodologia desenvolvida foram investigadas as seguintes figuras de mérito: Faixa linear da curva analítica, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão. Em Tabela 13 se encontram os valores de *LD*, *LQ* e faixa linear obtidos para o método desenvolvido comparados com os valores obtidos utilizando-se espectrofotometria de absorção molecular (método de referência), nota-se a similaridade entre os valores obtidos. Em Tabela 14 estão dispostos os limites preconizados pela legislação brasileira (CONAMA, resolução 357) para a classificação das águas em classes I, II e III. Comparando-se os valores de *LQ* fornecidos pelo método e os teores máximos estabelecidos pela legislação, este se mostra eficiente para a classificação de águas segundo as classes I, II e III, uma vez que os limites de quantificação obtidos pelo método são todos inferiores aos teores estabelecidos, podendo ser usado para tal fim.

Tabela 13: Faixa linear da curva analítica, limites de detecção e quantificação, em mg L⁻¹

Analitos	Método Proposto			Método de Referência		
	<i>LD</i>	<i>LQ</i>	FL ^a	<i>LD</i>	<i>LQ</i>	FL ^a
Alumínio	0,007	0,023	0,023-0,50	0,003	0,011	0,011-0,50
Ferro	0,049	0,164	0,164-2,00	0,038	0,127	0,127-2,00
Fósforo	0,016	0,052	0,052-1,50	0,091	0,291	0,291-5,00
Nitrito	0,006	0,022	0,022-1,00	0,007	0,025	0,025-1,00

^aFaixa Linear,

Tabela 14: Teores máximos preconizados pela legislação ambiental brasileira para os analitos determinados em mg L⁻¹.

Classe	Teores			
	Al ³⁺	Fe ²⁺	P	NO ₂ ⁻
Classes I e II	0,100	0,300	0,100	1,00
Classes III	0,200	5,00	0,150	1,00

Foi determinado o comprimento de onda utilizando-se o modelo matemático descrito pela Equação 19, os resultados obtidos estão dispostos em Tabela 15. Foi realizada a

comparação entre as metodologias utilizando teste- t pareado, os valores de $t_{\text{calculado}}$ foram todos menores do que o valor de t_{tabelado} .

Tabela 15: Comprimentos de onda obtidos utilizando-se AID e comparação com metodologia de referência

Amostras	λ AID (nm)				λ Espectrofotometria (nm)			
	Al ³⁺	Fe ²⁺	PO ₄ ³⁻	NO ₂ ⁻	Al ³⁺	Fe ²⁺	PO ₄ ³⁻	NO ₂ ⁻
P1	542,45±0,23	505,87±0,16	701,52±0,24	531,86±0,30	533,66±0,13	501,39±1,16	701,17±0,15	541,92±0,28
P2	539,20±0,42	507,93±0,45	701,64±0,26	535,59±1,08	533,24±0,13	504,93±0,53	703,61±0,07	542,82±0,28
P2	540,49±1,22	514,56±0,53	705,60±0,32	534,65±0,78	533,30±0,10	506,05±0,40	702,09±0,21	542,43±0,33
P4	535,38±0,42	506,94±0,83	701,57±0,37	544,72±0,26	532,82±0,11	505,22±0,40	701,83±0,14	541,92±0,35
P5	531,47±0,44	505,55±0,35	703,14±0,41	542,20±0,79	532,92±0,12	504,93±0,23	702,69±0,08	541,86±0,29
P6	536,69±0,93	506,32±0,84	700,53±0,17	542,44±0,50	532,80±0,12	506,16±0,34	703,18±0,16	541,77±0,26

Para verificar a exatidão do método foram realizados testes de adição e recuperação, os resultados são exibidos em Tabelas: Tabela 16, Tabela 17, Tabela 18 e Tabela 19 para os analitos Alumínio, Ferro, Fósforo e Nitrito respectivamente. O método exibiu boas taxas de recuperação, desta forma precisão e exatidão adequadas.

Os resultados obtidos utilizando-se AID foram ainda comparados com o método de referência através de um teste-*t* pareado. Os valores de $t_{\text{calculado}}$ para os analitos foram 1,23; 0,14; 1,47 e 0,33 para os analitos Alumínio, Ferro, Fósforo e Nitrito respectivamente. Os valores de $t_{\text{calculado}}$ foram sempre menores do que o valor de t_{tabelado} de 2,45, indicando que com 95% de confiança os dados são similares, assim foi confirmada a exatidão do método de AID. A Tabela 14 traz a classificação das águas coletadas segundo o teor dos analitos determinados e segundo os limites pré-estabelecidos pela legislação brasileira utilizando-se o método desenvolvido.

Tabela 16: Avaliação dos valores de recuperação para uso de AID na determinação de Alumínio em amostras ambientais.

Amostras	Concentração Adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração Encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
P1	0	60,80 \pm 0,82	95,83
	300	363,49 \pm 0,36	
P2	0	96,82 \pm 1,28	96,52
	300	410,61 \pm 1,11	
P3	0	96,30 \pm 0,24	91,07
	300	393,58 \pm 1,53	
P4	0	114,54 \pm 0,59	102,17
	300	449,66 \pm 0,70	
P5	0	119,34 \pm 0,39	108,30
	300	420,36 \pm 0,50	
P6	0	104,42 \pm 0,86	98,54
	300	426,13 \pm 1,19	

Tabela 17: Avaliação dos valores de recuperação para uso de AID na determinação de Ferro em amostras ambientais.

Amostras	Concentração Adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração Encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
P1	0	252,73 \pm 0,42	102,90
	1000	1231,13 \pm 0,12	
P2	0	ND	98
	1000	987,63 \pm 0,56	
P3	0	107,54 \pm 0,26	92,98
	1000	929,78 \pm 0,40	
P4	0	ND	104,94
	1000	1049,40 \pm 0,30	
P5	0	769,95 \pm 0,42	96,51
	1000	1581,05 \pm 0,28	
P6	0	1096,93 \pm 0,19	97,92
	1000	1856,71 \pm 1,20	

Tabela 18: Avaliação dos valores de recuperação para uso de AID na determinação de Fósforo em amostras ambientais.

Amostras	Concentração Adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração Encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
P1	0	ND	98,01
	525	514,56 \pm 0,90	
P2	0	ND	99,87
	525	524,32 \pm 1,53	
P3	0	ND	97,03
	525	509,41 \pm 1,07	
P4	0	ND	99,36
	525	521,62 \pm 0,81	
P5	0	ND	99,07
	525	520,14 \pm 0,69	
P6	0	ND	99,61
	525	522,97 \pm 1,04	

Tabela 19: Avaliação dos valores de recuperação para uso de AID na determinação de Nitrito em amostras ambientais.

Amostras	Concentração Adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração Encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
P1	0	ND	101,62
	250	306,02 \pm 0,87	
P2	0	ND	98,30
	250	245,75 \pm 0,53	
P3	0	ND	98,38
	250	245,95 \pm 0,74	
P4	0	ND	93,50
	250	233,76 \pm 0,12	
P5	0	70,88 \pm 0,12	98,98
	250	324,07 \pm 0,10	
P6	0	ND	105,03
	250	262,58 \pm 0,36	

7 CONCLUSÕES

Uma câmera digital foi utilizada para determinar o comprimento de onda de absorção assim como as concentrações de diferentes analitos coloridos. O uso do método dos mínimos quadrados tornou possível a construção de um modelo quadrático que correlacionasse as variáveis: R , G , B , H , S e Br para o cálculo dos comprimento de onda, e a construção de um modelo que permitisse a correlação das variáveis: R ; G e B para o cálculo das concentrações de analito.

Também foi possível o uso de uma webcam para realizar as determinações, sendo convertidos os valores de R , G e B em absorbâncias. O método foi aplicado amostras ambientais e os resultados estão de acordo com a metodologia padrão. As faixas de respostas lineares do método proposto são adequadas para a aplicação em amostras ambientais e comerciais.

As principais vantagens do método proposto foram: baixo custo, simplicidade de uso, versatilidade, precisão e exatidão adequadas. Com base nos resultados apresentados, conclui-se que a fotografia digital é adequada para determinar comprimentos de onda e a concentração de analitos coloridos e as figuras de mérito são semelhantes às do método espectrofotométrico, permitindo assim sua aplicação.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Os resultados obtidos utilizando-se uma *web cam* revelam-se satisfatórios para determinações dos analitos de interesse ambiental propostos, focando-se principalmente em sua portabilidade, como futuras aplicações sugere-se a exploração de determinações em campo utilizando-se o sistema proposto.

REFERÊNCIAS

- 1 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. 5. ed. Philadelphia: Saunders College, 1998.
- 2 ROCHA, F. R.; TEIXEIRA, L. R. ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DE SENSIBILIDADE EM ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS. **Química Nova**, 27, 2004. 807-812.
- 3 GOMES, M. S. et al. USO DE SCANNER EM ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR: APLICAÇÃO EM. **Química Nova**, 31, 2008. 1577-1581.
- 4 CHUAN-XIAO, Y.; XIANG-YING, S.; HUI-TING, L. Determination of Total Phosphorus in Water Sample by Digital Imaging Colorimetry. **CHINESE JOURNAL OF ANALYTICAL CHEMISTRY**, Quanzhou, 35, 2007. 850–853.
- 5 GAIAO, E. N. et al. Digital image-based titrations. **Analytica Chimica Acta**, 570, 2006. 283–290.
- 6 INGLE, J. D.; CROUCH, S. R. **Spectrochemical Analysis**. 1. ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, v. I, 1988.
- 7 KODAK. Kodak. **Kodak Image Sensors**, 2009. Disponível em: <http://www.kodak.com/ek/US/en/Image_Sensor_Solutions/Kodak_Image_sensor_Solutions.htm>. Acesso em: 11 set. 2011.
- 8 RUSS, J. C. **Image Processing Handbook**. 5 ed. Raleigh: CRC, v. I, 2007.
- 9 POYNTON, C. **Digital Video and HDTV Algorithms and Interfaces**. 1 ed. São Francisco: Morgan Kaufmann Publishers, v. I, 2003.
- 10 BERNS, R. S. **Principles of Color Technology**. 3 ed. Nova Iorque: Wiley & Sons, 2000.

- 11 POYNTON, C. Charles Poynton. **Charles Poynton**, 2012. Disponível em:
<<http://www.poynton.com/PDFs/ColorFAQ.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2011.
- 12 TKALČIČ, M.; TASIČ, J. F. **Colour spaces - perceptual, historical and applicational background**. Faculdade de Engenharia Elétrica da Universidade de Ljubljana. Ljubljana, p. 1-5. 2008.
- 13 STEINMUELLER, U.; GULBINS, J. **The Digital Photography Workflow Handbook: From Import to Output**. 2 ed. Heidelberg: DOP, 2010.
- 14 FERNANDEZ, A. L.; VALLVEY, L. F. C. Multi-ion detection by one-shot optical sensors using a colour digital photographic camera. **Analyst**, 3917–3926, 2011.
- 15 PACIORNIK, S. et al. Scanner Image Analysis in the Quantification of Mercury using Spot-Tests. **Brazilian Journal of Chemical Society**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 156-161, jan/fev, 2006.
- 16 CCD and CMOS sensor technology. **Axis**, 2010. Disponível em:
<http://www.axis.com/products/video/camera/ccd_cmos.htm>. Acesso em: 27 jun. 2012.
- 17 SAVAFI, A. et al. Single-step calibration, prediction and real samples data acquisition for artificial neural network using a CCD camera. **Talanta**, v. 64, n. 4, p. 830-835, jan/fev 2004.
- 18 PEREIRA, R. S. et al. A Simple Method Based on the Application of a CCD Camera as a Sensor to Detect Low Concentrations of Barium Sulfate in Suspension. **Sensors**, v. 11, n. 1, p. 864-875, dez/jan 2011.
- 19 SAVAFI, A.; TABRIZI, N. M.; SEDAGHATPOUR, F. CCD camera full range pH sensor array. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 498-501, dez/jan 2007.
- 20 BRERETON, R. G. **Chemometrics**. 1. ed. Sussex: Wiley, v. 1, 2003. Cap. 2, p. 30-37.

- 21 POYNTON, C. Charles Poynton. **Charles Poynton**, 2012. Disponível em: <<http://www.inforamp.net/~poynton/>>. Acesso em: 21 nov. 2011.
- 22 PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes Artificiais em Alimentos. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, Araraquara, v. 14, n. 2, p. 237-250, 2003.
- 23 COMMITTEE, A. M. Recommendations for the Definition, Estimation and Use of the Detection Limit. **Analyst**, Piccadilly, v. 112, n. 2, p. 199-204, fev 1987.
- 24 WELZ, B. et al. High-Resolution Continuum-source Atomic Absorption Spectrometry – What Can We Expect? **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 220-229, mar/abr, 2003.
- 25 IMPROVEMENT, A. C. O. E. Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry. **Analytical Chemistry**, v. 52, n. 14, p. 2242-2249, dez 1980.
- 26 MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 6 ed. Essex: Pearson Education Limited, v. I, 2010.
- 27 NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 1 ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1996.
- 28 CANTRELL, K. et al. Use of the Hue Parameter of the Hue, Saturation, Value Color Space As a Quantitative Analytical Parameter for Bitonal Optical Sensors. **Analytical Chemistry**, Granada, v. 82, n. 2, p. 531–542, jan 2010.
- 29 CONESA, S. P. S.; LASERNA, J. J. Analytical control of liquid steel in an induction melting furnace using a remote laser induced plasma spectrometer. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 19, p. 462 – 467, mar 2004.

- 30 WELZ, B. Atomic absorption spectrometry — pregnant again after 45 years. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 54, p. 2081–2094, 1999.
- 31 MUSTO, C. J.; LIM, S. H.; S, K. Colorimetric Detection and Identification of Natural and Artificial Sweeteners. **Analytical Chemistry**, v. 81, p. 6526–6533, 2009.
- 32 MARCZENKO, Z.; BALCERZAK, M. **Analytical Spectroscopy Library: Separation, Preconcentration and Spectrophotometry in Inorganic Analysis**. 1 ed. Amsterdam: Elsevier, v. 10, 2000.
- 33 MADEIRA, D. Dan Scientia. **Dan Scientia**, 2010. Disponível em: <http://dan-scientia.blogspot.com.br/2010/03/relacao-da-frequencia-com-o-comprimento.html>. Acesso em: 23 jul. 2012.

APÊNDICE A - VALORES DE R G B UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DA EQUAÇÃO 15

Exp	C	b ₀	b ₁ R	b ₂ G	b ₃ B	b ₄ RG	b ₅ RB	b ₆ GB	b ₇ H	b ₈ S	b ₉ B	b ₁₃ HS	b ₁₄ HB	b ₁₅ BS	b ₁₀ R ²	b ₁₁ G ²	b ₁₂ B ²	Y λ
A. Tart	4,00	1	154,33	163,07	109,74	25167,70	16936,66	17895,90	69,84	32,69	63,95	2283,12	4466,02	2090,75	23818,67	26593,13	12043,09	426,00
	5,00	1	152,00	162,59	97,52	24714,14	14822,89	15855,91	69,77	40,02	63,76	2791,95	4448,61	2551,56	23104,00	26436,48	9509,96	426,00
	6,00	1	151,96	164,85	84,96	25051,40	12911,23	14006,32	69,68	48,45	64,65	3376,23	4504,61	3132,45	23092,75	27176,18	7218,71	426,00
A.Crep	6,50	1	150,15	156,59	116,82	23512,13	17539,54	18292,41	69,72	25,39	61,41	1770,17	4281,37	1559,17	22544,42	24521,37	13645,74	480,00
	7,50	1	148,37	153,82	107,96	22821,53	16018,47	16606,33	67,05	29,80	60,32	1997,84	4044,21	1797,42	22013,66	23659,05	11656,01	480,00
	8,50	1	149,78	153,07	97,41	22927,12	14589,43	14910,48	63,51	36,36	60,03	2309,05	3812,26	2182,59	22433,45	23431,65	9488,12	480,00
A.Met	0,80	1	137,70	154,59	156,52	21288,07	21553,29	24196,74	185,63	12,18	61,50	2260,28	11415,75	748,78	18962,39	23899,00	24498,20	665,00
	1,20	1	122,26	158,00	146,30	19316,92	17886,00	23114,77	160,38	22,61	61,96	3626,44	9937,12	1401,06	14947,26	24964,00	21402,52	665,00
	1,60	1	112,82	156,74	144,04	17682,74	16249,53	22576,50	162,69	28,02	61,47	4558,55	10000,00	1722,31	12727,22	24567,74	20746,66	665,00
Ferroína	2,00	1	149,89	148,44	116,89	22250,12	17520,38	17351,47	57,47	22,09	58,84	1269,33	3381,24	1299,61	22466,71	22035,62	13663,04	512,00
	3,00	1	152,89	141,67	102,26	21659,33	15634,28	14486,73	46,69	33,11	59,96	1545,87	2799,11	1985,26	23375,05	20069,54	10456,90	512,00
	4,00	1	154,52	137,04	84,04	21174,82	12985,31	11516,18	45,10	45,61	60,60	2057,06	2733,02	2763,62	23876,12	18779,14	7062,22	512,00
C.Azul	500,00	1	6,30	106,96	179,44	673,44	1129,78	19193,87	205,10	96,49	70,37	19790,23	14432,54	6790,21	39,64	11441,08	32200,15	629,00
	600,00	1	5,56	104,52	163,78	580,71	909,95	17117,91	202,46	96,61	64,23	19559,26	13003,27	6204,91	30,87	10924,22	26823,23	629,00
	700,00	1	5,19	100,37	161,22	520,42	835,94	16181,85	203,39	96,78	63,22	19684,51	12858,88	6119,07	26,88	10074,14	25992,53	629,00
FeSCN	20,00	1	146,59	138,37	80,52	20284,07	11803,52	11141,41	52,55	45,07	57,49	2368,08	3020,83	2590,65	21489,51	19146,26	6483,31	450,00
	25,00	1	148,33	128,67	36,22	19085,56	5372,92	4660,58	49,47	75,57	58,17	3738,72	2877,73	4396,14	22002,68	16555,20	1312,03	450,00
	30,00	1	148,59	117,15	8,33	17407,37	1238,23	976,19	46,54	94,39	58,27	4393,10	2712,04	5500,41	22079,88	13723,65	69,44	450,00

APÊNDICE B: VALORES DE *R G B* UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DA EQUAÇÃO 16

b₀	Variáveis			Concentração Teórica (mg L⁻¹)
	R	G	B	Y
1,00	142,04	160,15	174,37	1,00
1,00	132,82	153,89	172,15	2,00
1,00	119,15	143,37	168,00	3,00
1,00	108,11	135,52	166,04	4,00
1,00	101,89	132,26	166,89	5,00

APÊNDICE C: VALORES DE *R G B* UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DA EQUAÇÃO 17

b₀	Variáveis			Concentração Teórica (mg L⁻¹)
	R	G	B	Y
1	150,59	151,41	145,00	1,00
1	152,33	150,30	129,52	2,00
1	153,63	149,74	125,96	3,00
1	153,82	147,78	113,59	4,00
1	152,59	143,52	102,44	5,00

APÊNDICE D - VALORES DE *R G B* UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DA EQUAÇÃO 18

b₀	Variáveis			Concentração Teórica (mg L⁻¹)
	R	G	B	Y
1	151,67	147,33	109,85	1,00
1	155,44	135,30	76,07	2,00
1	155,04	122,48	37,19	3,00
1	157,22	114,33	20,04	4,00
1	161,59	109,26	0,00	5,00

APÊNDICE E – VALORES DE R G B UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DA EQUAÇÃO 19

Exp	Conc*	b ₀	b ₁ R	b ₂ G	b ₃ B	b ₄ RG	b ₅ RB	b ₆ GB	b ₇ H	b ₈ S	b ₉ B	b ₁₃ HS	b ₁₄ HB	b ₁₅ BS	b ₁₀ R ²	b ₁₁ G ²	b ₁₂ B ²	Y λ
Ferroína	0,75	1	176,41	157,84	153,38	27844,13	27057,94	24209,92	11,39	13,05	69,18	148,64	787,91	902,86	31119,66	24913,36	23526,34	512
	1,00	1	176,42	149,32	134,59	26343,15	23744,78	20097,42	21,10	23,73	69,18	500,54	1459,56	1641,47	31124,02	22296,66	18115,10	512
	1,25	1	177,86	142,02	115,58	25261,08	20557,52	16415,21	25,47	35,03	69,75	892,03	1776,29	2443,23	31635,60	20171,01	13358,74	512
A.Crep	3,00	1	171,80	164,78	134,33	28309,19	23078,78	22135,13	48,82	21,81	67,37	1064,94	3289,45	1469,56	29516,04	27151,68	18045,44	480
	4,00	1	180,53	166,28	118,36	30019,36	21367,25	19681,04	46,25	34,47	70,80	1594,25	3274,14	2440,51	32591,32	27650,37	14008,62	480
	5,00	1	179,26	163,98	98,57	29394,17	17669,17	16162,70	48,65	45,05	70,30	2191,41	3419,90	3166,62	32133,91	26888,02	9715,58	480
Nitrito	0,10	1	176,09	171,80	207,28	30252,10	36499,88	35611,94	247,24	17,12	81,29	4233,03	20097,81	1391,73	31006,40	29516,16	42966,66	543
	0,20	1	177,44	147,67	212,38	26202,61	37686,10	31361,84	267,61	30,48	83,29	8156,02	22288,47	2538,38	31486,49	21805,44	45106,40	543
	0,50	1	182,32	102,05	217,36	18605,70	39628,86	22181,24	281,76	53,06	85,24	14949,95	24016,98	4522,63	33240,83	10414,07	47244,50	543
Al³⁺ECR	0,20	1	206,16	88,91	36,23	18330,50	7470,16	3221,76	18,60	82,46	80,85	1533,84	1503,90	6666,43	42502,22	7905,64	1312,95	535
	0,30	1	213,88	75,83	35,15	16217,60	7517,40	2665,19	13,65	83,60	83,87	1141,44	1145,12	7012,09	45743,09	5749,73	1235,41	535
	0,40	1	211,30	65,49	36,00	13838,66	7606,68	2357,78	10,09	82,99	82,86	837,39	836,13	6876,36	44646,28	4289,46	1296,00	535
Fósforo	0,20	1	136,06	161,52	200,89	21976,51	27333,31	32447,20	216,46	32,30	78,78	6992,22	17052,76	2544,81	18512,87	26088,17	40356,26	700
	0,52	1	101,22	138,07	198,73	13976,21	20115,75	27439,28	217,34	49,10	77,93	10670,18	16937,50	3826,11	10245,96	19064,52	39492,95	700
	0,80	1	76,11	118,56	198,73	9023,39	15125,41	23560,37	219,23	61,72	77,93	13531,20	17085,20	4810,15	5792,88	14055,45	39492,95	700
A Tart.	3,00	1	170,09	183,44	162,85	31201,44	27698,90	29874,22	98,99	11,23	71,94	1112,00	7121,31	808,11	28929,47	33651,82	26520,67	426
	4,00	1	166,68	182,31	138,63	30387,09	23106,70	25273,39	81,44	23,97	71,49	1952,28	5822,68	1713,77	27782,00	33236,45	19218,18	426
	5,00	1	167,54	182,31	151,61	30544,54	25400,36	27638,91	88,83	16,86	71,49	1497,61	6350,85	1205,31	28070,66	33236,45	22984,08	426

*Concentração em mg L⁻¹