



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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Desenvolvimento de um fotômetro LED-Vis portátil e
microcontrolado por Arduino**

Aline Santos de Pontes

SAPIENTIA AEDIFICAT

João Pessoa – PB – Brasil
Abril/2014



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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Desenvolvimento de um fotômetro LED-Vis portátil e
microcontrolado por Arduino**

Aline Santos de Pontes*

- Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração de Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva

***Bolsista do Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e tecnológico**

João Pessoa – PB – Brasil
Abril/2014

P814d Pontes, Aline Santos de.

Desenvolvimento de um fotômetro LED-Vis portátil e microcontrolado por Arduino / Aline Santos de Pontes.- João Pessoa, 2014.

76f. : il.

Orientador: Edvan Cirino da Silva

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN

*1. Química analítica. 2. Fotômetro de LED-RGB.
3. Microcontrolador Arduino. 4. Corante alimentício.
5. Permanganato de potássio.*

UFPB/BC

CDU: 543(043)

Desenvolvimento de um fotômetro LED-Vis portátil e microcontrolado por Arduino

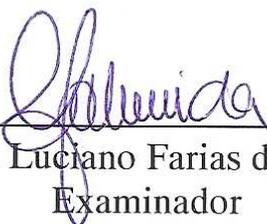
Dissertação de Mestrado de Aline Santos de Pontes aprovada pela banca examinadora em 28 de abril de 2014:



Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva
Orientador/Presidente



Profa. Dra. Ana Paula Silveira Paim
Examinadora



Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida
Examinador

Aos meus pais, Adilson e Fátima.

Aos meus irmãos, Adilson Filho, Thereza Klein, Wellando e Cristiane,

Ao meu Pai celestial pelo amor incondicional,

com muito carinho, dedico.

AGRADECIMENTOS

- ✚ Ao meu amado pai Celestial, Deus;

- ✚ Aos meus pais Adilson Dias de Pontes e Maria de Fátima Santos pelo apoio, carinho, cuidado, amor e incentivo em todos os momentos;

- ✚ Ao professor Edvan Cirino da Silva, pela orientação e confiança durante toda iniciação científica e mestrado;

- ✚ Ao professor Mário César Ugulino de Araújo, pelos ensinamentos, confiança e sugestões;

- ✚ A amiga Fátima Sanches, pela relevante contribuição para a dissertação de Mestrado;

- ✚ A Julys Pablo pela ajuda no desenvolvimento da programação do Arduino.

- ✚ Aos amigos Wellington, Renato, Urijatan, Daniel, Flaviano, David Harding, Mayara, Marcelo Batista e a todos do LAQA, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

- ✚ E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPQ, pela bolsa concedida;

SUMÁRIO

Lista de Figuras	vii
Lista de Tabelas	x
Lista de Siglas e Abreviaturas	xii
Resumo.....	xiii
Abstract	xiv
Capítulo 1 - Introdução	1
1.1 Contextualização	2
1.2 Objetivos.....	3
1.2.1 Objetivo geral.....	3
1.2.2 Objetivos específicos	3
1.3 O espectro eletromagnético e a luz visível	4
1.3.1 Interação luz-objeto e cores complementares	5
1.4 Espectrometria de absorção molecular UV-Vis	7
1.4.1 A lei de Beer e a análise quantitativa	8
1.4.2 Instrumentação	9
1.5 Diodos emissores de luz (LEDs).....	10
1.5.1 Vantagens do uso de LEDS	13
1.6 Instrumentação a base de LEDs	15
1.7 Arduino	19
1.7.1 Ambiente de desenvolvimento integrado ao hardware do Arduino.....	21
1.8 Características do corante alimentício amarelo crepúsculo	22
1.9 Característica do permanganato de potássio	24
Capítulo 2 - Parte Experimental	25
2.1 Reagentes, soluções e amostras.....	26
2.2 Material e equipamentos	28
2.3 Desenvolvimento do fotômetro	29
2.3.1 Fonte de radiação	29
2.3.2 Fototransdutor.....	31
2.3.3 Suporte para célula de medida.....	32
2.3.4 Plataforma Arduino UNO	33

2.3.5 Circuito externo acoplado ao Arduino para o desenvolvimento do fotômetro LED-Vis	34
2.3.6 Interface da execução dos comandos para a geração da resposta intrumental do fotometro desenvolvido	35
2.4 O sistema contendo o instrumento proposto	37
2.5 Estratégia para aplicação do fotômetro proposto	38
2.6 Avaliação do desempenho do instrumento analítico proposto	39
2.6.1 Estabilidade da fonte de radiação(LED)	39
2.6.2 Parâmetro de validação da curva analítica	39
2.6.2.1 Linearidade da curva analítica.....	39
2.6.2.2 Função da resposta(gráfico analítico)	40
2.6.2.3 Sensibilidade	40
2.6.2.4 Precisão.....	41
2.6.2.5 Limite de detecção(LOD)/quantidade(LOQ)	41
2.6.2.6 Desvio padrão conjunto	42
2.6.2.7 Teste de recuperação	42
2.6.3 Procedimento e tratamentos estatísticos da curva analítica.....	43
2.6.4 Testes estatísticos para validação dos resultados analíticos	45
2.6.4.1 Aplicação do teste t emparelhado baseado no teste de hipóteses	45
2.6.4.2 Aplicação do teste t emparelhado baseado no conceito de intervalo de confiança.....	46
Capítulo 3 - Resultados e Discussão	47
3.1 Avaliação do desempenho do instrumento analítico proposto e tratamento estatísticos da curva analítica	48
3.1.1 Estabilidade da fonte	48
3.1.2 Faixa de trabalho, obtenção e validação da curva analítica	48
3.1.2.1 Faixa de trabalho do amarelo crepúsculo	48
3.1.2.1.1 Característica do desempenho analítico para do corante AC.....	54
3.1.2.2 Faixa de trabalho do Permanganato de potássio.....	54
3.1.2.2.1 Característica do desempenho analítico para o permanganato	59
3.2 Aplicações analíticas do sistema proposto	60

3.2.1 Determinação analítica do corante amarelo crepúsculo em refrigerantes e bebidas energéticas	60
3.2.1.1 Teste de Recuperação do AC	62
3.2.2 Determinação analítica do permanganato de potássio em medicamentos	63
3.2.2.1 Teste de recuperação do permanganato.....	66
Capítulo 4 - Conclusões	67
4.1 Conclusão.....	68
4.2 Proposta futura	69
Capítulo 5 - Referências	70
5.1 Referências.....	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Espectro eletromagnético destacando a região da luz visível.	4
Figura 1.2 – Radiação absorvente a e cor complementar.	5
Figura 1.3 – Intensidade da luz emergente (I_0) é transmitida (I) após passar por uma cubeta contendo uma solução absorvente com o caminho óptico b.....	8
Figura1.4 – Uma foto esquemático dos constituintes e do funcionamento de um LED comum.	11
Figura 1.5 – Espectros de emissão típicos de uma seleção de LEDs, comercialmente disponível, na faixa espectral do UV-Vis.	13
Figura 1.6 – Ambiente IDE do Arduino	21
Figura 1.7 – Estrutura química do corante amarelo crepúsculo	23
Figura 2.1 – Vista frontal do fotômetro proposto.....	29
Figura 2.2 – LED-RGB utilizados no fotômetro.	29
Figura 2.3 – Espectro de emissão do LED especificando o λ_{\max} para cada região	30
Figura 2.4 – Dimensões e pinagem do LED utilizado no fotômetro, unidade mm	31
Figura 2.5 – (a) Dimensões e pinagem do fototransistor utilizado no fotômetro, unidade mm. (b) Fototransistor utilizado no fotômetro.	31
Figura 2.6 – Suporte da cubeta usado no fotômetro de LED proposto.....	32
Figura2.7 –Plataforma do Arduino uno, onde se identificam os componentes e os pinos de ligação. 1.porta USB, 2.pinos digitais, 3.pinos de alimentação e 4. pinos analógicos... ..	33

Figura 2.8 – Circuito externo acoplado na plataforma Arduino. O circuito de acionamento dos LEDs cujos botões são mostrados na Figura 2.1: B _R - Botão de acionamento do LED-vermelho, B _G - Botão de acionamento do LED-verde e B _B - Botão de acionamento do LED-azul. E o circuito do fototransistor.	34
Figura 2.9 – Diagrama das principais linhas de comando.	36
Figura 2.10 – Ambiente de saída no serial monitor.	36
Figura 2.11 – Sistema contendo o do fotômetro proposto.	37
Figura 3.1 – Curva analítica ($R^2=0,9992$) obtida com o fotômetro proposto para determinação do corante em amostras de refrigerante e bebida energética.	49
Figura 3.2 – Curva analítica ($R^2=0,9998$) obtida com o fotômetro Micronal (referência) para determinação do corante em amostras de refrigerante e bebida energética.	49
Figura 3.3 – Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo linear da curva analítica obtida com o fotômetro proposto.	50
Figura 3.4 – Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo linear da curva analítica obtida com o fotômetro Micronal.	50
Figura 3.5 – Curva analítica ($R^2=0,9988$) do permanganato de potássio relacionado ao fotômetro proposto.	55
Figura 3.6 – Curva analítica ($R^2=0,9993$) do permanganato de potássio relacionado ao instrumento comercial	55
Figura 3.7 – Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo linear da curva analítica obtida com o fotômetro.	56
Figura 3.8 – Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo linear da curva analítica obtida com o fotômetro micronal.	56

Figura 3.9 - Espectros de absorção do corante amarelo crepúsculo registrados com o instrumento HP. (—) refrigerantes, (—) energéticos, (—) solução padrão de 10,8 mg L⁻¹.60

Figura 3.10 - Espectros de absorção do permanganato de potássio registrados com o instrumento HP. (—) solução padrão de 14,0 mg L⁻¹, (—) amostra.63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 – Intervalos de comprimentos de onda (λ), radiações absorvidas e cores complementares.....	6
Tabela 1.2 – Principais modelos de Arduino comercialmente disponível. .	20
Tabela 2.1 – Coeficientes de correlação da reta .	40
Tabela 2.2 – Equações para a ANOVA dos dados experimentais adaptados aos modelos lineares estimados pelos métodos dos mínimos quadrados .	43
Tabela 3.1 – ANOVA para o ajuste de um modelo de calibração linear para determinação do amarelo crepúsculo (AC) usando o fotômetro proposto	51
Tabela 3.2 – ANOVA para o ajuste de um modelo de calibração linear para determinação do amarelo crepúsculo (AC) usando o fotômetro Micronal .	52
Tabela 3.3 – Resultados dos testes F de falta de ajuste e de significância estatística da regressão para os modelos lineares estimados para a determinação do AC usando ambos os instrumentos.	52
Tabela 3.4 – Parâmetro de regressão linear e limites dos intervalos de confiança para os coeficientes dos modelos obtidos para quantificação do corante AC.	53
Tabela 3.5 – Valores de LOD, LOQ (mg L^{-1}) e sensibilidade do fotômetro proposto e do fotômetro Micronal para o corante AC.	54
Tabela 3.6 – ANOVA para o ajuste de um modelo de calibração linear para determinação do permanganato de potássio usando o fotômetro proposto.	57
Tabela 3.7 – ANOVA para o ajuste de um modelo de calibração linear para determinação do permanganato de potássio usando o fotômetro Micronal.	57

Tabela 3.8 – Médias quadráticas (MQ) calculadas na ANOVA para os modelos de calibração do permanganato de potássio.	58
Tabela 3.9 – Parâmetros de regressão linear e limites dos intervalos de confiança para os coeficientes dos modelos obtidos para quantificação do permanganato de potássio.....	59
Tabela 3.10 – Valores de LOD, LOQ (mg L^{-1}) e sensibilidade do fotômetro proposto e do fotometro Micronal para o permanganato.....	59
Tabela 3.11 – Valores médios ($n=5$) das concentrações do corante estimadas, em mg L^{-1} , via curva analítica utilizando o fotômetro e do fotômetro (Micronal).....	61
Tabela 3.12 – Resultados dos testes de recuperação (%) do corante AC ($n=3$).	62
Tabela 3.13 – Valores médios das massas (mg) dos comprimidos de permanganato de potássio.....	64
Tabela 3.14 – Valores médios ($n=5$) das massas (mg) estimadas das amostras (medicamentos de permanganato de potássio), utilizando o fotômetro proposto e o comercial..	65
Tabela 3.15 – Resultados dos testes de recuperação (%) na determinação do permanganato de potássio nas amostras de comprimido.	66

LISTAS DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AC - Amarelo crepúsculo

AD - Analógico digital

ANOVA – Analysis of variance (análise de variância)

DPC - Desvio padrão conjunto

ICSP - In Circuit Serial Programming (programa serial em circuito)

IDE – Integrated Development Environment (ambiente integrado de desenvolvimento de software)

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry (União Internacional de Química Pura e Aplicada)

LCD – Liquid crystal display (display de cristal líquido)

LED – Light emitting diode (diodo emissor de luz)

LOD – Limit of detection (limite de detecção)

PIC – Peripheral interface controller

PWM - Pulse-width modulation

RAD – Rapid Application Development (Desenvolvimento rápida de aplicação)

RGB – Sistema de cores red, green and blue (vermelho, verde e azul)

RISC - Reduced instruction set computer (computador com um conjunto reduzido de instruções)

Rx - Indicadores de recepção

Tx - Indicadores de transmissão

USB - Universal serial bus

UV-Vis – Radiação ultravioleta e visível

RESUMO

Titulo: Desenvolvimento de um fotômetro LED-Vis portátil e microcontrolado por Arduino

Autor: Aline Santos de Pontes

Orientador (a): Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva

Um fotômetro portátil e de baixo custo é proposto neste trabalho. Esse instrumento utiliza um diodo emissor de luz (LED-Light Emitting Diode) tricolor como fonte de radiação nos comprimentos de onda do máximo de emissão de 480 (azul), 534 (verde) e 630 nm (vermelho). Além disso, emprega um fototransistor com sensibilidade espectral na região do visível como fototransdutor, bem como um microcontrolador Arduino como unidade de controle. Seu desempenho analítico foi avaliado por meio de análises quantitativas baseadas em curvas analíticas, cujos modelos foram validados por meio da Análise de Variância (ANOVA). O instrumento foi aplicado à determinação do corante amarelo crepúsculo em amostras de refrigerantes e bebidas energéticas e de permanganato de potássio em amostras de medicamentos. Para fins de comparação, um espectrofotômetro comercial foi empregado para construir as curvas analíticas do instrumento de referência. Aplicando o teste *t*-emparelhado ao nível de 95% de confiança para os resultados de concentração obtidos com os dois instrumentos, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa. Ademais, resultados precisos nas estimativas das concentrações dos analitos foram obtidos sendo atestado pelo baixo desvio padrão relativo conjunto de 0,2 e 0,5%, respectivamente, para o corante e permanganato. O fotômetro proposto pode ser uma alternativa economicamente viável para análises espectrométricas, sobretudo, em laboratórios de ensino com poucos recursos financeiros e carentes de pessoal altamente qualificado.

Palavras-chave: Fotômetro de LED-RGB, microcontrolador Arduino, corante alimentício, permanganato de potássio.

ABSTRACT

Title: Development of a LED-Vis photometer with a portable and Arduino microcontroller.

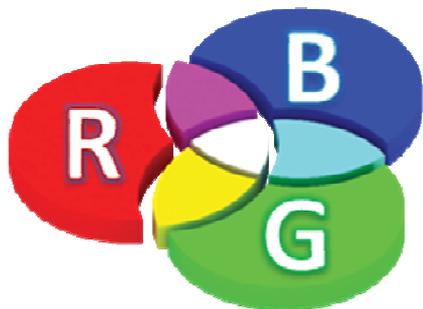
Author: Aline Santos de Pontes

Supervisor (a): Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva

A portable and low-cost photometer is proposed in this work. The instrument uses a tri-color light emitting diode (LED) as its radiation source in maximum emission wavelengths of 480 (blue), 534 (green) and 630 nm (red). It employs a phototransistor with spectral sensitivity in the visible region, as well as an Arduino microcontroller. Its analytical performance was evaluated by means of quantitative analysis (analytical curves), whose models were validated by analysis of variance (ANOVA). The instrument was applied to determine sunset yellow dye in energy drinks and sodas, and potassium permanganate pills. For comparison purposes, a commercial spectrophotometer was used to construct the calibration curves for the reference method. Applying the paired t-test at a 95 % confidence level for the concentration results obtained with the two instruments, we observed no statistically significant difference. Furthermore, accurate concentration estimates were obtained for the analytes as confirmed by the low relative standard deviation range of 0.2 and 0.5%, respectively, for both the dye and the permanganate. The proposed photometer might be an economically viable alternative to spectroscopic analysis, especially in teaching laboratories with limited financial resources or lacking in highly qualified personnel.

Keywords: Photometer tri-color LED, Arduino microcontroller, food coloring, potassium permanganate.

CAPÍTULO 1



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Contextualização

As análises químicas instrumentais são realizadas cotidianamente para as determinações qualitativas e quantitativas de uma grande variedade de analitos inorgânicos, orgânicos e bioquímicos^[1]. A espectrofotometria nas regiões ultravioleta e visível (UV-Vis) é uma técnica analítica muito usada nessas determinações^[2], haja vista sua robustez, confiabilidade e vasto campo de aplicações.

Um grande número de análises quantitativas realizadas no mundo, sobretudo no campo das análises bioquímicas clínicas^[1], são implementadas usando um fotômetro ou fotocolorímetro. Esses instrumentos se caracterizam pelo uso de filtros ópticos para selecionar, geralmente, a faixa do espectro visível para realização das medidas na análise de interesse. O fotômetro é uma ferramenta viável para análises quantitativas tendo vista suas características: baixo custo de aquisição e manutenção, simplicidade de operação e vida útil longa especialmente quando se utiliza LED (do inglês "Light-Emitting Diode") como fonte de radiação^[3,4,5].

O advento do uso de LED em fotômetros possibilitou a implementação de circuitos eletrônicos mais simples para controlar a fonte de radiação e o processamento do sinal. Além disso, visto que os LEDs emitem luz em regiões bem estreitas do espectro visível, os fotômetros podem ser construídos sem a utilização de filtros e lentes ópticas^[4,5]. Essa característica tem contribuído para o desenvolvimento e montagem de instrumentos mais simples, compactos e portáteis.

Apesar do uso de LED nos fotômetros ter permitido construir instrumentos capazes de diminuir os custos nos componentes necessários para o seu desenvolvimento, a necessidade do uso de um microcomputador para aquisição e tratamento dos dados prejudica sua autonomia. Para superar essa limitação, introduziu-se nos fotômetros o microcontrolador PIC (Peripheral Interface Controller)^[6] como unidade de

controle e um dispositivo LCD (*Liquid Crystal Display*) que dispensa a utilização de microcomputador. Além disso, os fotômetros a base de LED e microcontrolados possibilitam a realização de análises químicas no campo (*in situ*) em virtude de sua portabilidade e autonomia. Apesar dessas melhorias, o desenvolvimento desses aparelhos requer experiência em instrumentação analítica e, sobretudo, um expressivo conhecimento em eletrônica.

Neste trabalho, propõe-se o desenvolvimento de um fotômetro de LED-Vis baseado no uso de uma plataforma de prototipagem eletrônica Arduino,^[7] que simplifica drasticamente a complexidade dos circuitos e a montagem do instrumento. O fotômetro proposto utiliza um LED-RGB como fonte de radiação vermelha (máximo de emissão em 630 nm), verde (máximo em 534 nm) e azul (máximo em 480 nm), bem como um fototransistor para realizar a detecção e transdução da radiação.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

O objetivo principal desse trabalho foi desenvolver um fotômetro portátil, a base de LED-RGB, empregando um Arduino como unidade de controle e aquisição de dados.

1.2.2. Objetivos específicos

- Montagem dos circuitos eletrônicos do fotômetro;
- Elaboração do programa computacional de controle e aquisição de dados;
- Montagem e acoplamento entre os dispositivos ópticos usados;
- Levantamento de parâmetros operacionais do instrumento;
- Validar as curva analíticas, usando ANOVA (Análise de Variância), obtidas usando o instrumento proposto e o comercial;

- Aplicar o fotômetro proposto à quantificação do amarelo crepúsculo em bebidas e permanganato de potássio em medicamentos.

1.3. O espectro eletromagnético e a luz visível

O espectro eletromagnético (EM) é composto por vários tipos de radiação eletromagnética desde a radiação gama altamente energética até as ondas de rádio de baixa energia^[8,9], conforme ilustrado na **Figura 1.1**. Nesse contexto destaca-se a região visível, cujos comprimentos de onda da radiação eletromagnética encontram-se aproximadamente na faixa de 400 a 780 nm. Dado que a visão humana é produzida nessa região visível, então essa radiação eletromagnética foi denominada de luz.

A radiação eletromagnética exibe em certos fenômenos (refração, reflexão, etc) um comportamento ondulatório, enquanto noutros (a exemplo do efeito fotoelétrico) apresenta característica de partículas (fótons)^[1,10]. A natureza ondulatória é proveniente das oscilações periódicas de campos elétricos e magnéticos associados à radiação. As principais características ondulatórias da luz estão associadas ao comprimento de onda (λ) e à frequência (ν)^[1,10].

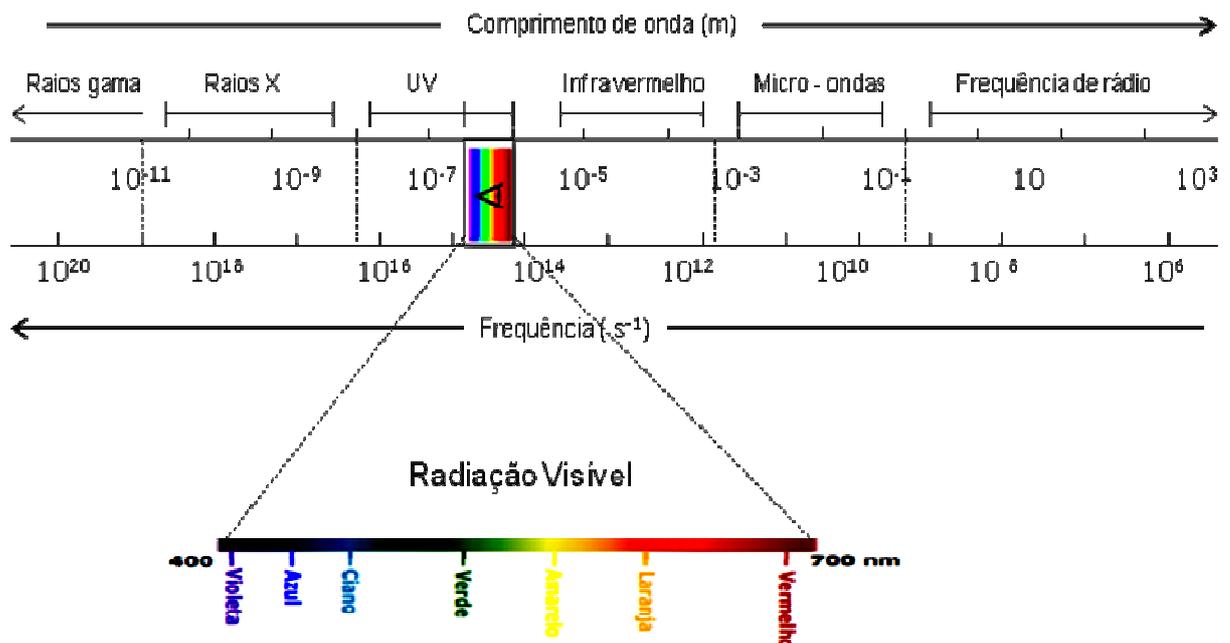


Figura 1.1. Espectro eletromagnético destacando a região visível. Adaptado da Ref.^[1].

Como visto na **Figura 1.1**, cada faixa de comprimento de onda (frequência) origina um tipo de informação diferente. A absorção nos diferentes comprimentos de onda na faixa do micro-ondas e no infravermelho fornece informações sobre a estrutura molecular e a ligação química (ou grupos funcionais)^[11]. O visível não é uma região tão rica em informações estruturais, mas pode dar valiosas informações quantitativas. Os raios x podem fornecer informações sobre a composição elementar independente de como os átomos se encontram quimicamente ligados mesmo que a medida seja realizada a partir da amostra sólida ou líquida, pois essa radiação interage com o(s) elétron(s) do cerne atômico^[11]

As radiações compostas por um único comprimento de onda são chamadas radiações monocromáticas^[1,10]. Contudo, na maioria dos casos, as fontes de energia radiante emitem radiações em comprimentos de onda diferentes, que se misturam, formando espectros de emissão em bandas^[10].

1.3.1. Interação luz-objeto e cores complementares

A luz refletida por um objeto determina a forma como as cores são percebidas pelo olho humano. Quando uma amostra é submetida a uma radiação, a luz incide sobre essa amostra contendo a espécie molecular absorvente, resultando em uma radiação emergente na qual será detectável pelo olho humano como uma cor complementar da radiação absorvida^[12], conforme ilustrado na **Figura 1.2**.

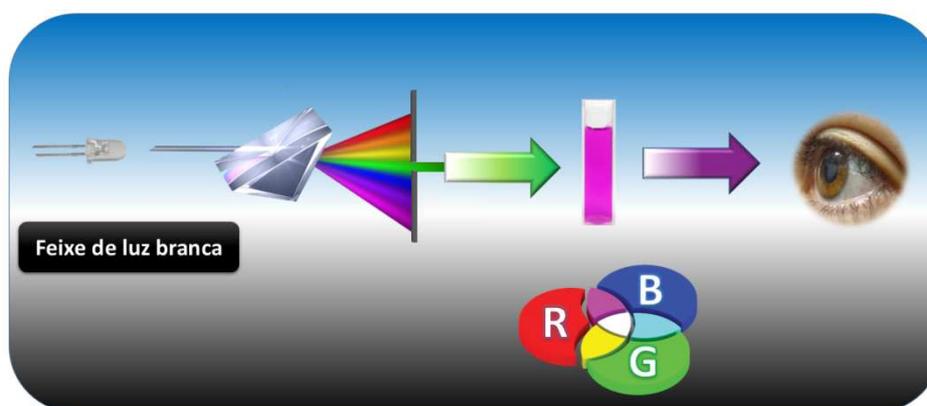


Figura 1.2. Radiação absorvente e a cor complementar.

INTRODUÇÃO

A radiação emergente será um complemento da radiação branca menos a radiação absorvida por uma ou mais substâncias. Assim, a cor de uma solução colorida que nossos olhos percebem é uma cor complementar da radiação absorvida.

As cores das radiações absorvidas, seus complementos e os intervalos de comprimento de onda são mostrados na **Tabela 1.1**.

Tabela 1.1. Intervalos de comprimentos de onda (λ), radiações absorvidas e cores complementares. Adaptado da Ref.^[17].

INTERVALO DE λ (nm)	COR ABSORVIDA	COR COMPLEMENTAR
400- 465	Violeta	Verde-amarelada
465-482	Azul	Amarelo
482-487	Azul- esverdeado	Alaranjado
487-493	Azul-Turquesa	Vermelho-alaranjado
493-498	Verde Azulado	Vermelho
498-530	Verde	Vermelho-purpura
530-559	Verde-amarelada	Púrpura-avermelhado
559-571	Amarelo-verde	Púrpura
571-576	Amarelo-esverdeado	Violeta
576-580	Amarelo	Azul
580-587	Laranja_ amarelado	Azul
587-597	Alaranjado	Azul- esverdeado
597-617	Laranja- avermelhado	Azul-turquesa
617-780	Vermelho	Azul-turquesa

A título de exemplo, considere a cor verde observada nas folhas das plantas devido à presença de clorofila. Essa substância é responsável pela cor verde devido à forte absorção da radiação nas regiões do azul e do vermelho. Isto significa dizer que quando olhamos para uma folha, estamos recebendo em nossos olhos a luz filtrada, isto é, a luz branca (que possui todos os comprimentos de onda no visível) subtraídos do azul e do vermelho^[13]. Isso faz com que somente a radiação não absorvida seja captada pelos nossos olhos, isto é, a radiação verde^[13]. Da mesma forma, todas as colorações que vemos são resultado da absorção seletiva de alguma faixa estreita de λ , resultando na cor complementar observada.

1.4. Espectrometria de absorção molecular UV-Vis

Essa técnica se baseia na absorção de fótons da radiação eletromagnética Ultra-Violeta e Visível (UV-Vis) por espécies moleculares em solução. Os comprimentos de onda da radiação nas duas regiões espectrais abrangem, aproximadamente, a faixa de 200 a 780 nm^[1,11]. Ao interagir com essa radiação, as moléculas estão sujeitas a transições eletrônicas (acompanhadas por transições vibracionais) associadas à absorção de energia quantizada^[1,14], produzindo o sinal analítico. Esse fenômeno origina o sinal analítico na espectrometria de absorção molecular UV-Vis. Todavia, a medida do sinal está sujeita ao ruído instrumental e pode ser afetada por outras fontes de interferência tais como pela presença de concomitantes (interferência de matriz e/ou espectral), efeito de solvente, etc.

Para que a absorção molecular ocorra é necessário que haja: i) mudança no momento de dipolo elétrico da molécula e ii) presença de grupo(s) cromóforo(s) (C=C, C=O, etc) responsável(is), principalmente, pelas transições dos elétrons dos orbitais pi ligante para orbitais pi antiligante ($\pi \rightarrow \pi^*$) e dos orbitais não-ligantes para um orbital pi antiligante ($n \rightarrow \pi^*$)^[1,15,16]. O resultado desse fenômeno pode ser registrado como um espectro que consiste, usualmente, em um gráfico de absorvância versus comprimentos de onda. A partir do espectro da amostra, pode-se extrair a informação analítica para a identificação e/ou quantificação da espécie absorvente de interesse (analito).

A intensidade das bandas e os comprimentos de onda referentes aos picos e/ou vales do espectro, são duas características fundamentais do ponto de vista analítico. O perfil da banda fornece informação qualitativa, ao passo que a intensidade serve de base para implementar uma análise quantitativa^[1]. Além disso, o comprimento de onda do sinal máximo corresponde ao do fóton absorvido, cuja energia é igual à diferença de energias entre os estados envolvidos na transição eletrônica. A

intensidade de absorção depende da absorvidade molar, do percurso óptico e da concentração da espécie absorvente^[1].

1.4.1. A lei de Beer e a análise quantitativa

A lei de Lambert-Beer, ou simplesmente lei de Beer^[1,15,17], fundamenta a análise espectrofotométrica quantitativa, estabelecendo uma relação linear entre a absorbância e a concentração da espécie absorvente. De acordo com essa lei, quando um feixe de radiação monocromática (I_0) atravessa um recipiente transparente (cubeta), contendo uma espécie absorvente, percorre o caminho óptico b conforme ilustrado na **Figura 1.3**. A intensidade da radiação diminui para (I) como resultado da absorção por moléculas do composto absorvente, sendo que a razão entre I_0 e I determina a transmitância (T) da solução.

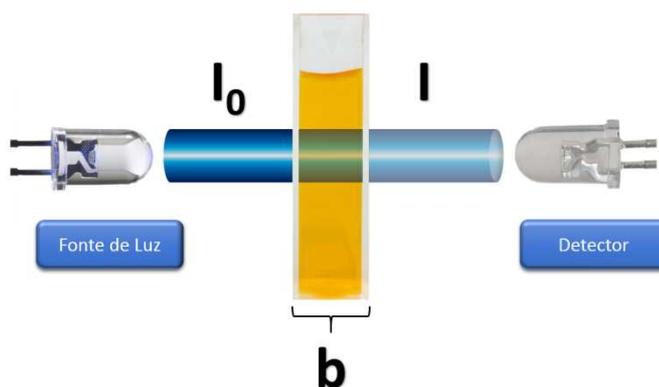


Figura 1.3. Intensidade da luz emergente (I_0) e transmitida (I) após passar por uma cubeta contendo uma solução absorvente com o caminho óptico b .

A absorbância (A) medida se relaciona com a transmitância (T) e a concentração (c) da espécie absorvente de acordo com a **Equação 1.1**

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \epsilon bc \quad (1.1)$$

onde, ϵ é uma constante denominada absorvidade molar da espécie absorvente, c é a concentração expressa em mol L⁻¹ e b é o comprimento do percurso óptico dado em cm.

1.4.2. Instrumentação

Tradicionalmente, os instrumentos utilizados para análises quantitativas por absorção molecular UV-Vis são classificados de acordo com o tipo de seletor de radiação em: (i) fotômetros e (ii) espectrofotômetros. Os instrumentos da classe (i) são aqueles baseados no uso de filtros ópticos para isolar a faixa da radiação de interesse e os da classe (ii) utilizam, geralmente, um monocromador de prisma ou rede de difração para a seleção. Os aparelhos da primeira classe usam componentes mais simples e baratos que os da segunda, porém são mais limitados e não possibilitam a obtenção de espectros. Ademais, utilizam como seletores de radiação os filtros de absorção (restritos à região visível do espectro) e os de interferência que podem também operar na região ultravioleta^[1].

Em geral, os componentes utilizados nos fotômetros são basicamente^[1,11,19]:

- Uma lâmpada de tungstênio como fonte de radiação;
- Filtro de absorção ou interferência;
- Um recipiente (cubeta) para a amostra;
- Detector de radiação (fototransdutor);
- Processador de sinal.

Os espectrofotômetros e os fotômetros são instrumentos ópticos utilizados em ampla escala em todo o mundo para medidas quantitativas na região espectral do UV-Vis^[17]. A detecção espectrofotométrica é uma técnica bastante consolidado na literatura científica. O crescente desenvolvimento de novos fotômetros, abre uma variedade de possibilidades para técnicas de detecção mais simples, econômicos e analiticamente satisfatórios.

A incorporação de LEDs, como fonte de radiação, nos fotômetros trouxe muitas vantagens, a saber: eliminação do uso de seletor de radiação, fonte de alimentação e circuito de processamento do sinal menos complexo e desenvolvimento de instrumentos mais simples, portáteis de baixo custo^[6,18].

A seguir é apresentada uma descrição sobre a constituição, montagem e características dos LEDs que motivaram seu uso como fonte de radiação em fotômetros.

1.5. Diodos emissores de luz (LEDs)

Os diodos são produzidos empregando materiais semicondutores (por exemplo, o silício) aos quais são adicionados diferentes impurezas dopantes, mediante processo chamado de dopagem^[20]. Quando a matriz é baseada no silício ou elemento com configuração eletrônica similar, a dopagem com átomos de elementos do grupo 3 produz o semicondutor do tipo positivo (P). Se a dopagem for realizada com átomos de elementos do grupo 5, o semicondutor obtido é denominado como sendo do tipo negativo(N)^[20]. Essas dopagens promovem um aumento da condutividade do semicondutor, devido ao surgimento de lacunas (deficiência de elétrons) no cristal dopado P e ao surgimento de elétrons livres no cristal do tipo N^[20].

Quando se unem cristais dos tipos P e N, forma-se a junção P-N. Os elétrons livres do cristal do tipo N, que estiverem próximos da junção, eventualmente passarão para o lado P, onde serão capturados por lacunas, fazendo recombinação^[21]. Esta recombinação irá ocorrer com todos os elétrons e lacunas que estiverem próximos da junção, formando pares de íons próximos da junção^[21]. Isto resultará em uma coluna de íons positivos do lado N e uma coluna de íons negativos do lado P. A região em torno da junção onde se encontram esses íons é chamada de camada de depleção^[21]. Como a camada de depleção é ionizada, cria-se uma diferença de potencial na junção chamada barreira de potencial^[21].

Os diodos emissores de luz (LEDs) são dispositivos onde a luz é emitida pela passagem de corrente elétrica nos materiais semicondutores fazendo com que ocorra a recombinação de elétrons livres do material do semicondutor N com as lacunas em excesso do tipo P, proporcionando a movimentação em direção a junção P-N do diodo. Este fenômeno ficou

INTRODUÇÃO

conhecido como eletroluminescência^[20,22,42], que é a emissão de luz por estímulo elétrico. O componente mais importante de um LED é o chip semiconductor responsável pela geração de luz. Na **Figura 1.4.** é ilustrado um diagrama esquemático dos constituintes e do funcionamento de um LED comum e seu funcionamento.

O cientista norte americano Henry Joseph Round, em 1907, ao usar o carbeto de silício (SiC), foi quem primeiro conseguiu produzir o fenômeno da eletroluminescência, dando início aos estudos do que hoje se entende por LED^[23,24]. Nos anos de 1923 e 1937 ocorreram, respectivamente, os seguintes fatos: a descrição da eletroluminescência em cristais de carbeto de silício pelo cientista russo O. W. Lossey e o acontecimento do mesmo fenômeno usando pó de sulfeto de zinco (ZnS_2) foi observado pelo cientista E. Destriau^[23]. Em 1962, surgiu o primeiro LED com o material semiconductor a base de, arseneto de gálio (GaAs)^[25], emitindo radiação no comprimento de onda de 840 nm, e diodos feitos de fosfeto e arseneto de gálio, na região de 710 nm^[26]. Essa mudança de comprimento de onda está relacionada ao material que constitui o LED.

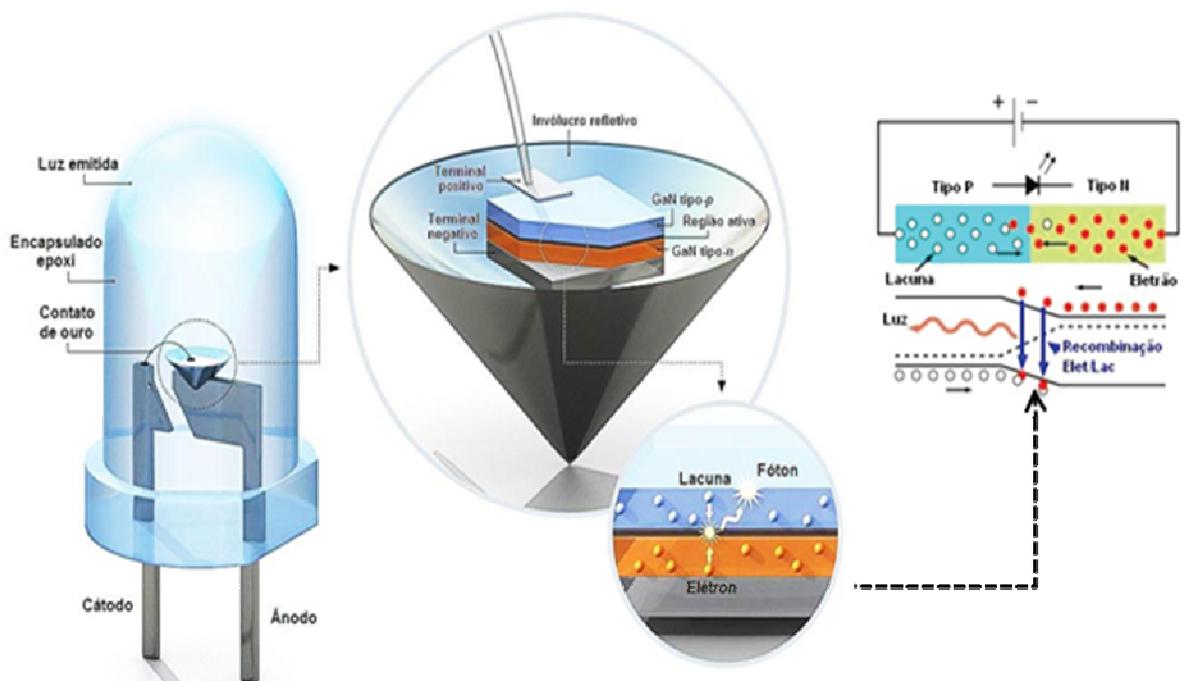


Figura 1.4. Diagrama esquemático dos constituintes e do funcionamento de um LED comum. Adaptado da Ref. ^[33].

A utilização de diferentes materiais semicondutores em diferentes níveis de dopagem proporciona a obtenção de LEDs com diferentes comprimentos de onda, ou seja, uma grande variedade de LEDs que emitem na região UV-Vis. Utilizando-se InGaN como material semicondutor, obtém-se um LED que emite radiação na região verde^[27]. Os LEDs que abrangem a região do azul, são constituídos de carbeto de silício e nitreto de gálio^[28]. Desde então, um progresso notável no desempenho do LED em relação ao aumento da eficiência de emissão na região do visível tem melhorado quase uma ordem de magnitude a cada 10 anos^[29,30]. Tal desempenho dos LEDs é atribuído principalmente ao grande avanço das novas tecnologias de produção de semicondutores. Estas tecnologias possibilitaram o desenvolvimento de diodos bicolores^[6], usualmente no verde e vermelho e tricolores emitindo no verde, vermelho e verde. Nestes dispositivos os materiais semicondutores que proporcionam as emissões em diferentes comprimentos de onda são dispostos em um único corpo e podem ser acionados selecionando o par de terminais adequado para produzir a emissão desejada^[20].

Os diodos emissores de luz disponíveis comercialmente não se limitam apenas a regiões do visível, mas também cobrem as regiões do ultravioleta e do infravermelho próximo^[31]. Na **Figura 1.5** podem ser vistos espectros típicos de emissão de vários LEDs, comercialmente disponíveis, na faixa espectral do ultravioleta-visível.

O espectro de emissão da maior parte dos LEDs na região visível exhibe normalmente larguras de bandas menores do que 20 nm que são comparáveis aos filtros ópticos, que oferecem largura de banda de 10 a 30 nm^[6]. A intensidade da luz emitida por um LED é cerca de 5 vezes maior do que a intensidade de um feixe originalmente da fenda de saída de um monocromador^[6]. A elevada estabilidade dos LEDs tem permitido atingir desvios padrão nas medidas de absorvância de até $7,5 \times 10^{-7}$. Alguns LEDs que, atualmente, encontram-se disponíveis são "ultrabrilhantes", têm vida útil extremamente longa e alta estabilidade de emissão^[6]. Portanto, são fontes de radiação bastante adequadas para a

construção de fotômetros usados nas análises por absorção molecular na região UV-Vis.

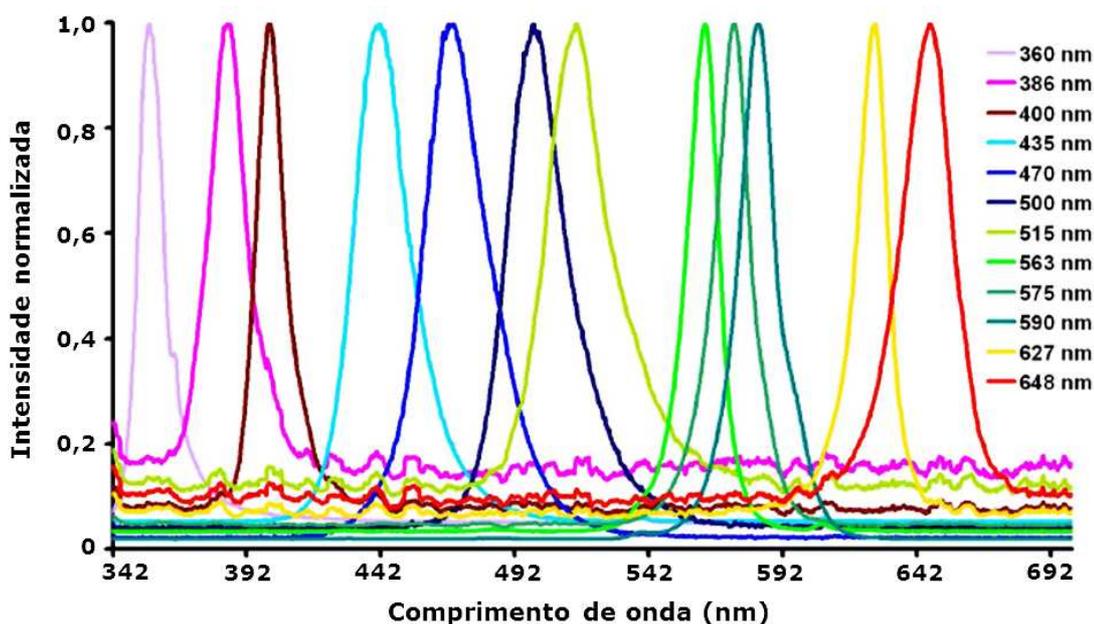


Figura 1.5. Espectros de emissão típicos de uma seleção de LEDs, comercialmente disponíveis, na faixa espectral do UV-vis. Adaptado da Ref. [31].

1.5.1. Vantagens do uso de LEDs

Pode-se mencionar as inúmeras vantagens do uso de LEDs como fonte de luz:

- ✚ **Maior vida útil:** os LEDs podem acender e apagar rapidamente, sem perda da vida útil[32];
- ✚ **Custos reduzidos:** o custo do LED varia de centavos a poucos reais, de acordo com as características desejadas para o LED[23];
- ✚ **Eficiência:** apresentam maior eficiência que as lâmpadas de halogêneo[32];
- ✚ **Baixa voltagem de operação:** não apresenta risco para o instalador;
- ✚ **Radiação monocromática:** emite radiação em uma faixa estreita de comprimentos de onda, permitindo maior obediência à Lei de Beer, evitando ou reduzindo problemas com a linearidade das curvas de calibração[33];

- ✚ **Ecologicamente correto:** não utiliza mercúrio ou qualquer outro elemento que cause dano ao meio ambiente^[32];
- ✚ **Ausência de ultravioleta:** não emitem radiação ultravioleta sendo ideais para aplicações onde este tipo de radiação é indesejada^[32];
- ✚ **Ausência de infravermelho:** também não emitem radiação infravermelho, fazendo com que o feixe luminoso seja frio^[32];
- ✚ **Robustez mecânica:** ao contrário de lâmpadas com bulbo de vidro, os LEDs são resistentes a impactos mecânicos, pois são dispositivos de estado sólido^[32];
- ✚ **Temperatura:** quase toda a energia fornecida ao LED é gasta na emissão de luz, praticamente não há liberação de calor^[32].
- ✚ **Compactibilidade:** podem ser encontrados comercialmente em diversos formatos e com dimensões da ordem de milímetros a poucos centímetros^[32];
- ✚ **Facilidade de aquisição:** podem ser encontrados em lojas de comércio eletrônico, inclusive em cidades de porte intermediário^[23].
- ✚ **Potência luminosa elevada:** Na faixa de 10 a 150 mW, que corresponde à cerca de cinco vezes a radiação de uma lâmpada de tungstênio de 40 W e à radiação proveniente da fenda de saída de um monocromador em condições similares de banda passante^[33].

Os LEDs são usados como componentes eletroeletrônicos em vários produtos disponíveis comercialmente, tais como: televisão, produtos de microeletrônica como sinalizador de avisos, relógios digitais, controles, câmeras, monitores, notebooks, telefones celulares etc. Além disso, são usados em comunicações, serviços médicos, sinalização e iluminação em geral^[34-38]. Com a diminuição dos custos de produção e elevação dos níveis de eficiência luminosa, começaram a ser utilizados em instrumentações analíticas.

Na **Seção 1.6**, são descritos os trabalhos reportados na literatura sobre o uso de LEDs em instrumentação analítica, com foco nos fotômetros, bem como suas aplicações.

1.6. Instrumentação a base de LEDs

O emprego de LEDs que emitem radiação monocromática de potência considerável e de baixo custo, minimiza os custos associados à construção de espectrofotômetros comerciais que utilizam caros sistemas ópticos^[4]. Os instrumentos construídos a base de LEDs são utilizados para análises dedicadas, as quais exploram regiões espectrais onde ocorrem absorção específicas do analito.

O diodo emissor de luz (LED) foi utilizado pela primeira vez como fonte de radiação para detecção fotométrica por Flaschka e colaboradores^[39] e, depois, por Betteridge e colaboradores^[40]. Após esses trabalhos pioneiros, foram desenvolvidos novos instrumentos, na pesquisa científica, usando o LED como fonte de radiação.

Rostami e colaboradores^[41] desenvolveram um fotômetro de LED capaz de executar medições de absorbância em três comprimentos de onda sequencialmente, permitindo a sua aplicação na análise simultânea de misturas binárias e ternárias baseadas nas diferenças de proporções de absorbância em dois e/ou três comprimentos de onda. Foram utilizados dois LEDs RGB e dois LDRs (*light dependent resistor*) como detector para emissão de radiação e captura do sinal do branco e da amostra, respectivamente, atuando como feixe duplo. A absorbância da solução da amostra foi calculada descontando a absorbância do branco e exibidas em um dispositivo LCD. O instrumento proposto utiliza diodos emissores de luz vermelho-verde-azul como fonte de luz para a determinação simultânea de tartrazina, amarelo-crepúsculo, carmosina e azul brilhante em alimentos industrializados.

Mota^[42] desenvolveu um fotômetro para fins didáticos para uso na contextualização de temas químicos sociais (como química ambiental) e

em aulas de instrumentação analítica. O instrumento foi utilizado para determinação de ortofosfato total em águas. Na construção do instrumento foi utilizado um LED amarelo, um LDR (Resistor Dependente de Luz) como detector e celas de acrílico. O sinal do fotômetro gerado era em valores de resistividade, a qual era medida pelo uso de um multímetro digital. A determinação do ortofosfato foi realizada utilizando-se o método do azul de molibdênio. As amostras de águas utilizadas foram de um igarapé poluído. O sistema apresentou resposta linear na faixa de concentração entre 8 a 48 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, apresentando valores de R^2 acima de 0,99. Os testes de recuperação apresentaram variações entre 97,6 e 107,3%. A precisão intermediária e repetibilidade apresentaram coeficientes de variação médios de 3,0 e 2,8, respectivamente.

Pires e colaboradores^[43] desenvolveram uma instrumentação a base de LEDs empregando microbombas multicomutáveis para especificação e quantificação de cromo em águas naturais. Para isso, quatro microbombas solenóides foram utilizadas para propulsão e comutação dos fluidos, um LED verde como fonte de radiação, um fotodiodo como sensor da radiação e uma cela de fluxo (com percurso óptico de 100 mm de caminho óptico e diâmetro interno de 2 mm). As condições operacionais fixadas para o método permitiram uma resposta linear variando de 10 a 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ Cr(III) e Cr(IV) ($r = 0,999$, $n = 7$), com limites de detecção de 2,05 e 1,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para Cr(III) e Cr(VI), respectivamente. Um desvio padrão relativo menor que 2,0% foi obtido para uma solução sintética de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$, e velocidades analíticas de 67 e 105 determinações por hora para Cr total e Cr(VI), respectivamente, foram obtidas.

O fotômetro MULTI-LED proposto por Gaião e colaboradores^[44] é composto por seis LEDs como fontes de radiação com os comprimentos de onda no máximo de emissão de: 430, 485, 560, 580, 600, 660 nm, um fototransistor como detector e um microcontrolador (PIC - Controlador Programável de Interrupção). Os valores das medidas de transmitância e absorvância foram apresentados no mostrador LCD do fotômetro. Para avaliar o seu desempenho, foram realizadas determinações de íon ferroso

em amostras de xarope e de proteínas totais, albumina, glicose, ureia, cálcio, cloreto e hemoglobina em amostras de soro sanguíneo. Uma grande concordância entre os valores obtidos empregando o fotômetro proposto com os instrumentos de referência (HP e Micronal) foi observada. De fato, nenhuma diferença sistemática estatisticamente significativa, ao nível de 95% de confiança, foi verificada entre os resultados aplicando-se o teste-*t* emparelhado.

Fonseca e colaboradores^[45] desenvolveram um fotômetro multicanal baseado em um conjunto de oito LEDs como fontes de luz, usando feixes de fibra óptica para orientar a radiação para uma célula de medição e, a partir daí, para o fotodiodo. O controle das medidas e o armazenamento dos dados foram feitos através do uso de um microcomputador. O fotômetro foi idealizado para realizar medidas em um único comprimento de onda assim como nos comprimentos de onda (470, 500, 525, 562, 590, 612, 636 e 654 nm), sequencialmente, o que permitiu sua aplicação em análise multivariada. O aparelho foi aplicado para a determinação simultânea de Zn (II) e Cu (II) em amostras de fármacos e de ligas metálicas. Os resultados mostraram não haver diferenças significativas no nível de confiança de 95%.

Um fotômetro baseado em LED tricolor com máximas emissões em 470, 565 e 660 nm foi construído por Gros^[46], com uma câmara de microreação proporcionando um baixo consumo de reagentes e amostras e uma rápida e eficaz homogeneização dos reagentes. O instrumento foi avaliado na determinação de cálcio em águas por meio de medidas de absorvância do complexo metálico com orto-cresolftaleína. A abordagem experimental possibilitou uma fácil execução, robustez, economia, e resultados confiáveis.

Cantrell e colaboradores^[47] desenvolveram um fotômetro simples, portátil e de baixo custo baseado em um arranjo de três LEDs (473, 590, 624 nm), com um microcontrolador programável e um chip de memória. O instrumento pode ser configurado para efetuar medidas e armazenar

dados automaticamente, em intervalos de tempo definidos pelo operador, dispensando o monitoramento por parte do mesmo.

Dasgupta e colaboradores^[48] construíram um fotômetro multifuncional para análises em fluxo baseado em um arranjo de doze LEDs diferentes, os quais emitem radiação na faixa de 375 a 600 nm. O instrumento foi utilizado em diferentes determinações empregando medidas de absorvância, fluorescência e luminescência.

Rocha e colaboradores^[49] desenvolveram um fotômetro associando um LED bicolor (vermelho e verde) com um fotodiodo de silício como fototransdutor. Esta última foi combinada com um amplificador de baixo ruído e alto ganho. A cor do LED foi selecionada por um programa computacional. O instrumento foi construído com intuito de realizar a análise, por injeção em fluxo, de especiação de nitrogênio inorgânico (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+) em águas de rio.

Um fotômetro multi-comprimento de onda, cobrindo a gama do visível, compacto e de baixo custo foi desenvolvido por Hauser e colaboradores^[50]. Cada luz proveniente dos sete LEDs de cores diferentes era direcionada a uma célula de medição por meio de um acoplador de fibra óptica. A detecção foi efetuada por fotodiodos conectados a um amplificador produzindo leituras de absorvância diretas. Este fotômetro foi empregado para as determinações de alumínio com LED-VIS (verde, 546 nm), de amônia (laranja, 629 nm), de cobre (amarelo, 599 nm e vermelho, 735 nm), de cálcio (vermelho, 670 nm), de cromo (azul, 442 nm), nitrato (azul, e verde em 535 nm) e de fosfato com LED-IR (733 nm). Em todas essas aplicações, foram obtidos bons resultados quando comparados aos dos métodos de referência ou convencionais.

Araújo e colaboradores^[6], desenvolveram um fotômetro a base de um LED bicolor (verde e vermelho) e um fototransistor, adaptados a uma cela de fluxo tubular. A performance do instrumento foi avaliada nos parâmetros clínicos, tais como: proteínas totais, albumina, uréia, hemoglobina, ácido úrico e glicose em amostras de soro, plasma e sangue total. As mesmas amostras foram também analisadas usando um

fotocolorímetro clássico e não constatou diferenças estatisticamente significativas nas determinações.

Trojanowicz e colaboradores^[51] desenvolveram um fotômetro LED-Vis com máxima emissão (563, 580 e 638) com intuito de empregá-lo na determinação simultânea de Zn e Al. O instrumento foi construído com intuito de realizar a análise, por injeção em fluxo, das misturas binárias dos respectivos metais, empregando medidas de absorbâncias dos complexos metálicos com diferentes reagentes cromogênicos.

O desenvolvimento de instrumentação, que pode substituir o uso de um seletor de radiação, e de circuitos de processamentos do sinal menos complexo, usando uma plataforma de prototipagem eletrônica Arduino, possibilita a montagem do instrumento mais simples. Além disso, pode reduzir a necessidade do uso de outros componentes eletrônicos.

1.7. Arduino

Arduino é um microcontrolador de placa única projetado para tornar o processo de uso de eletrônicos em vários projetos acadêmicos, tecnológicos, científicos e artísticos mais acessível^[52]. Foi criado na Itália em 2005 com o objetivo de oferecer uma plataforma de prototipagem eletrônica de baixo custo e de fácil manuseio por qualquer pessoa interessada em criar projetos com objetos e ambientes interativos^[53, 54]. A plataforma Arduino é constituída de uma placa eletrônica (*hardware*) e de um ambiente de desenvolvimento (*software*) para criação dos projetos.

Existem diversos projetos de hardware livres ou hardware abertos encontrados na internet, entre eles, o projeto RepRap e o projeto Aurora^[54]. Porém, o projeto de *hardware* livre mais conhecido e difundido na internet é o Arduino, referente a uma placa de prototipagem eletrônica dotada de entradas e saídas nos domínios digital e analógico para interfaceamento com um mundo externo^[54]. Pode ser usado de várias maneiras, tanto por amadores quanto por profissionais; sua aplicabilidade é ilimitada e só possui como limite a imaginação^[55].

INTRODUÇÃO

A placa eletrônica do Arduino contém diversas entradas e saídas, analógicas e digitais, e uma interface serial via conexão USB para comunicação com o computador^[56]. O microcontrolador desta placa é da família AVR, com arquitetura Harvard e tecnologia RISC, a qual é muito superior aos antigos 8051 e PIC de 8bits^[56] por permitir milhares de gravações e regravações em sua memória de programa. As três linhas principais de modelos Arduino^[53,54], estão na **Tabela1.2**, na qual são caracterizados da seguinte forma:

- ✚ Os de "pequeno porte": NANO
- ✚ Os de "médio porte": Duemilanove, UNO
- ✚ Os de "grande porte": Mega1280, Mega2560.

Tabela1.2. Principais de modelos de Arduino disponível comercialmente. Adaptado da Ref.^[54]

Modelos de Placas	Hardware
<p><i>Nano</i></p> <ul style="list-style-type: none">✚ Microcontrolador ATMEGA328✚ Conexão USB(chip FT232)✚ Utilização em breadbord(matriz de contatos)✚ Tem 14 pinos digitais de entrada / saída	
<p><i>Uno</i></p> <ul style="list-style-type: none">✚ Microcontrolador ATMEGA328✚ Conexão USB (chip ATmega8U2)✚ Suporte a —Shields para aumento das funcionalidades✚ Melhor identificação de entradas e saídas✚ Tem 14 pinos digitais de entrada / saída	
<p><i>Duemilanove</i></p> <ul style="list-style-type: none">✚ Microcontrolador ATMEGA 168/328✚ Conexão USB (chip FT232)✚ Suporte a —Shields para aumento das funcionalidades✚ Tem 14 pinos digitais de entrada / saída	
<p><i>Mega</i></p> <ul style="list-style-type: none">✚ Microcontrolador ATMEGA2560/1280✚ Conexão USB (chip ATmega8U2)✚ Maior capacidade de memória de programa✚ 54 pinos digitais de entrada/saída	

1.7.1. Ambiente de desenvolvimento integrado ao hardware do Arduino

Para escrever os códigos de programação dos projetos para Arduino é necessário o uso de um ambiente de desenvolvimento integrado ao *hardware* (IDE - Integrated Development Environment) para o desenvolvimento da programação, geração de códigos, que serão enviadas para a placa eletrônica. [54]

A ferramenta IDE é fornecida pelo próprio fabricante do Arduino e baixado na página oficial do Arduino (<http://www.arduino.cc/>). Além de instalar o IDE, também foi instalado os drives do Arduino, pois sem eles o mesmo não funciona. Na **Figura 1.6**, mostra-se a Interface IDE. Este ambiente de desenvolvimento é construído em Java, compatível com qualquer sistema operativo existente no mercado. E de fácil programação através de sua própria linguagem baseada em C++ ou auxiliada pelo uso de bibliotecas [60]. Particularmente para quem se inicia em programação de microcontroladores, é um ambiente amigável e simples.

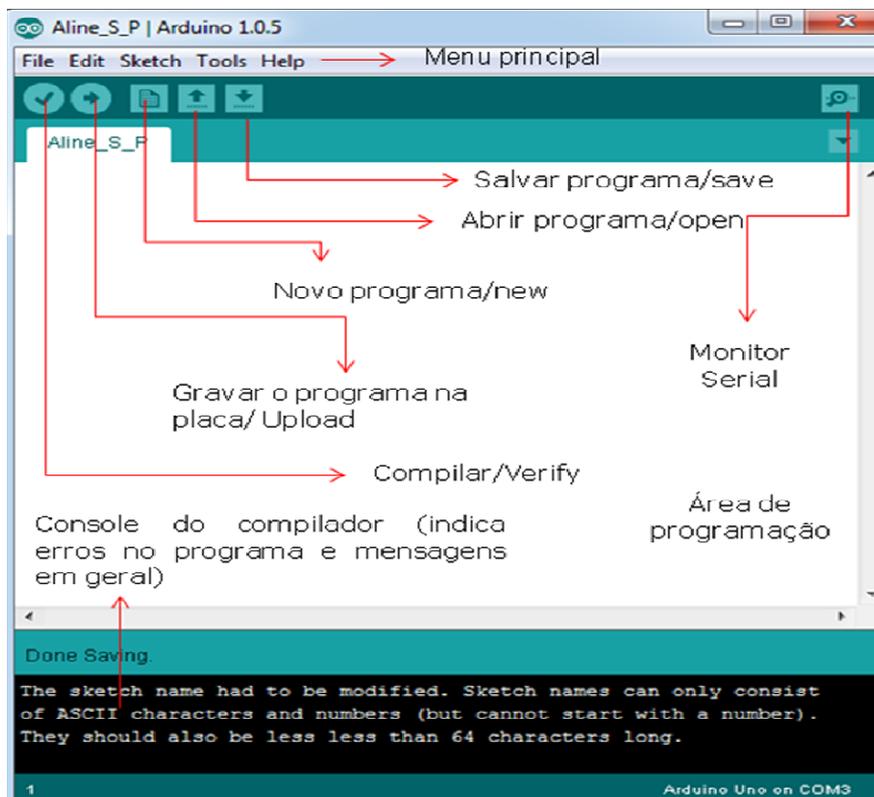


Figura 1.6. Ambiente IDE do Arduino

A IDE pode ser identificada como um ambiente de desenvolvimento integrado que traz características e ferramentas que dão apoio ao desenvolvimento de *software*, com o objetivo de agilizar o processo. Na maioria das vezes, a IDE apresenta a técnica RAD (Rapid Application Development), desenvolvendo assim, códigos com maior rapidez e facilidade^[57,58]. A IDE é um conjunto de ferramentas que auxiliam o programador no desenvolvimento de aplicações. Entre as ferramentas mais comuns encontradas em uma IDE, pode-se destacar: um editor de programas, compilador, linker, loader e depurador. Cada um destes componentes tem uma função bem definida^[59].

- ✚ **Editor de Programas:** é um editor de texto construído especialmente para facilitar a edição de um programa usando uma determinada linguagem de programação;
- ✚ **Compilador:** tem como principal função fazer a tradução do código fonte em um formato que o computador pode entender;
- ✚ **Linker ou linkeditor:** liga os vários pedaços de código-fonte, compilados em linguagem de máquina, em um programa executável que pode ser em um computador, ou outro dispositivo computacional;
- ✚ **Loader ou carregador:** carrega o executável na memória para que a CPU possa executar o programa. Esse recurso é importante no IDE, pois ajuda a agilizar o trabalho;
- ✚ **Depurador:** auxilia o programador na verificação, localização e correção no código-fonte do programa, na tentativa de aprimorar a qualidade de software.

1.8. Características do corante alimentício amarelo crepúsculo

Os corantes artificiais são introduzidos nos alimentos e bebidas com o único objetivo de conferir cor, tornando-os mais atrativos. Por esse motivo, o seu uso é quase que exclusivamente motivado por interesse comercial e tecnológico^[61], não sendo tão recomendados do ponto de

vista da saúde. Mesmo assim, os corantes são amplamente utilizados nos alimentos e bebidas devido à sua grande importância no aumento da aceitação dos produtos.

Os corantes sintéticos podem ser classificados de acordo com sua estrutura química, podendo ser do tipo azo, triarilmetano e fenilmetano, xantana, quinolina, antraquinona ou fenol. Dentre estes, um dos grupos mais importantes e extensivamente utilizados na indústria alimentícia, são os corantes que apresentam o grupo azo, ou seja, ligações do tipo -N=N- [62,63].

O corante Amarelo Crepúsculo (2-hidróxi-1-(4-sulfonatofenilazo) naftaleno-6-sulfonato dissódico) [63] é um dos corantes do tipo azo, como se pode verificar na estrutura molecular ilustrada na **Figura 1.7**. Apresenta alta solubilidade em meio aquoso, podendo ser identificado e quantificado por espectrofotometria UV-VIS, cujo máximo de absorção localiza-se geralmente no comprimento de onda próximo a 480 nm (soluções aquosas em pH 7) [63,65]. Isso ocorre pelo fato dos corantes serem compostos químicos que em sua estrutura encontram-se grupos cromóforos que são tipicamente representados por estruturas aromáticas ou quinônicas [63]. Essas estruturas encontram-se unidas por ligações duplas, grupos alifáticos unidos a grupos carbonílicos por ligações duplas, grupos azo ou nitro, grupos hidroxílicos ou amino que podem aumentar a intensidade de absorção específica para um determinado corante [64].

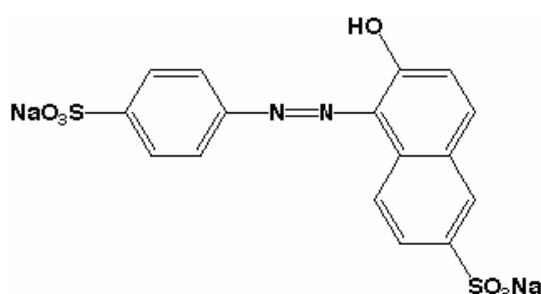


Figura 1.7. Estrutura química do corante amarelo crepúsculo.

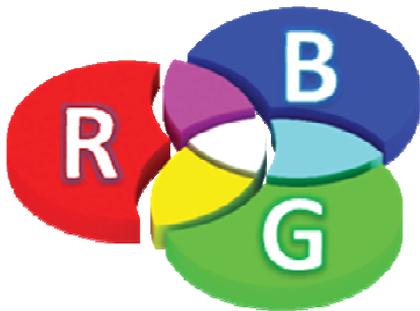
O interesse de desenvolver pesquisas no controle de aditivos nos alimentos é devido às diversas reações e doenças que os corantes podem causar quando ingeridos em excesso^[61,62]. Os aditivos são inofensivos à saúde desde que obedecendo aos percentuais máximos de 0,01g/100mL estabelecidos pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Caso contrário, o corante amarelo crepúsculo pode ocasionar urticária, anafilaxia e quando associado ao ácido benzóico pode ser responsável por hiperatividade em crianças, ou até mesmo outros distúrbios de comportamento^[61,62].

1.9. Características do permanganato de potássio

O permanganato de potássio é um agente oxidante forte, possuindo propriedades desinfectantes e desodorizantes. Os íons resultantes da redução do permanganato exercem um efeito adstringente. Possui capacidade para oxidar certos fármacos e venenos^[66]. Ele é empregado como um agente de branqueamento de gorduras, óleos, algodão, seda e outras fibras. Também tem sido utilizado como anti-séptico e anti-infectivo, como um componente em kits de sobrevivência na selva, na destruição da matéria orgânica em tanques de peixes, na fabricação de circuitos impressos, na neutralização dos efeitos do pesticida rotenone^[67].

Além disso, o permanganato de potássio serve para eliminar as bactérias e os fungos da pele, sendo também um bom cicatrizante para as feridas. Em geral, ele é utilizado diluído em água e utilizado no banho em casos de feridas generalizadas, sendo ideal para tratar a catapora e as queimaduras. Diante disso, optou-se por analisar o medicamento (permanganato de potássio), cuja forma farmacêutica usada consiste de comprimidos com 100 mg cada.

CAPÍTULO 2



PARTE EXPERIMENTAL

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Reagentes, soluções e amostras

A limpeza das vidrarias, dos frascos âmbar e da cubeta foi realizada usando uma solução de HNO_3 15% em um banho ultrassônico (UltraSonic Cleaner, Unique, modelo USC-1800A) durante 15 minutos.

A água utilizada no preparo de todas as soluções foi sempre recém-destillada.

Reagentes

Os reagentes utilizados na realização do trabalho foram: fosfato monossódico (NaH_2PO_4 , Synth 99% P.A), hidróxido de potássio (NaOH , Synth 97% P.A), permanganato de potássio (KMnO_4 , Sigma 99,7% P.A), o corante amarelo crepúsculo (E-110, Sigma 90% P.A), oxalato de sódio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, Synth P.A) e ácido sulfúrico (H_2SO_4 , Vetec 99% P.A).

Solução tampão

Uma solução tampão^[68] de fosfato com pH 7,00 foi utilizada na preparação das soluções de calibração do corante e das amostras. Essa solução tampão foi preparada, misturando-se 500 mL de uma solução de NaH_2PO_4 0,10 mol.L⁻¹ com uma solução 0,10 mol L⁻¹ NaOH usada para o ajuste do pH.

Soluções estoque e de calibração

Foram preparadas três soluções estoque autênticas do corante amarelo crepúsculo (E-110) com concentração de 750 mg L⁻¹. Para cada solução, dissolveu-se 0,0417g do corante em solução-tampão (pH 7,00) e completou-se o volume do balão de 50 mL com o mesmo tampão.

As três soluções estoque autênticas do permanganato de potássio foram preparadas com concentração de 1000 mg L⁻¹, através da

dissolução de 0,253 g do permanganato de potássio em 250 mL de água recém destilada e fervida para a eliminação de CO₂. Esta solução foi filtrada com lá de vidro e devidamente padronizada.

As soluções de calibração usadas para quantificação do corante e permanganato de potássio foram preparadas na faixa de concentração (mg L⁻¹) de 1,8 a 18,0 e 6,0 a 38,0, respectivamente.

Amostras de permanganato de potássio

Foram adquiridas 20 cartelas de 10 diferentes lotes (2 cartelas/lote) do fármaco permanganato de potássio em farmácias de João Pessoa, sendo que cada cartela continha 10 comprimidos.

Seguindo o procedimento recomendado pela farmacopeia brasileira^[69], mediu-se a massa dos 20 comprimidos das 2 cartelas de cada lote. Logo em seguida, encontrou-se a média das amostras e as macerou. O valor da média serviu para definir a massa usada da amostra referente a cada lote.

Uma solução estoque foi preparada a partir da dissolução do valor média dos 20 comprimidos de cada lote em água recém destilada e fervida. A partir dessa solução foram preparadas as soluções das amostras a serem analisadas.

As alíquotas das amostras a serem analisadas foram baseadas na faixa de concentração das soluções de calibração, de forma a garantir que os sinais das amostras estejam dentro da curva analítica.

Amostras de refrigerante e bebida energética

As amostras de refrigerante e de bebida energética, contendo o amarelo crepúsculo, foram adquiridas em diferentes supermercados localizados na cidade de João Pessoa (PB). Foram adquiridas 8 amostras de refrigerante de laranja (de 4 marcas diferentes) e 8 amostras de energético de tangerina da mesma marca (porém de lotes diferentes).

A preparação de todas as amostras foi através de diluições com solução-tampão (pH 7,00). Nas amostras de bebida energética, retirou-se

uma alíquota de 5 mL da amostra original e dilui-se para 10 mL com o referido tampão. No caso dos refrigerantes, as amostras foram submetidas ao banho ultrassônico por 20 minutos com o intuito de expulsar completamente o gás dissolvido^[70]. Em seguida, retirou-se uma alíquota de 3 mL de cada amostra para ser diluída para 10 mL com o mesmo tampão.

As alíquotas das amostras foram baseadas na faixa de concentração das soluções de calibração, garantindo que os sinais das concentrações do analito nas amostras estejam dentro da curva analítica.

2.2. Material e Equipamentos

O espectrofotômetro com arranjo de fotodiodos da HP, modelo 8453, foi usado para verificar o comportamento espectral dos padrões e das amostras do amarelo crepúsculo e do permanganato de potássio. Para isso, foram registrados os espectros e identificou-se o comprimento de onda associado ao máximo de absorção para efetuar as medidas com maior sensibilidade.

Utilizou-se uma balança analítica da marca Scientech, modelo SA 120, um pHmetro da Metrohm e micropipetas de 100 μ L, 1 mL e 5 mL da marca Labmate soft.

Um *notebook*, processador Intel[®] Core[™] i5-2410M de 2,3 GHz e memória RAM de 6 Gb, foi usado para interfacear o fotômetro proposto por intermédio da porta USB. A conexão está diretamente ligada à plataforma Arduino, permitindo controlar no sistema: o monitoramento dos sinais gerados pelo detector.

Para fins de comparação de desempenho com o instrumento proposto, utilizou-se um fotômetro da Micronal, modelo B34211.

2.3. Desenvolvimento do fotômetro

O instrumento proposto emprega componentes compactos e de fácil aquisição. O fotômetro foi desenvolvido em uma caixa plástica (marca patola e modelo PB 114) com dimensões 14,8 x 9,7 x 5,5 cm, conforme ilustrado na **Figura 2.1**. Para a sua montagem foi utilizado: um LED que abrange três regiões do visível (RGB), um fototransistor, uma plataforma Arduino Uno e um suporte para célula de medida.



Figura 2.1. Vista frontal do fotômetro proposto.

2.3.1. Fonte de radiação

O LED-RGB utilizado no fotômetro proposto tem intensidade radiante alta, sendo constituído de uma estrutura com lente esférica e corpo cilíndrico de epóxi transparente (**Figura 2.2**).



Figura 2.2. LEDs RGB utilizados no fotômetro.

O referido LED, que é formado por três "chips", emite radiação com comprimentos de onda em três regiões do espectro visível. Os comprimentos de onda, registrados no Espectrofluorímetro Ocean Optics 400 USB, correspondentes à intensidade máxima (λ_{max}) são, respectivamente, 630 nm, 534 nm, 480 nm como indicado nos espectros apresentados na **Figura 2.3**.

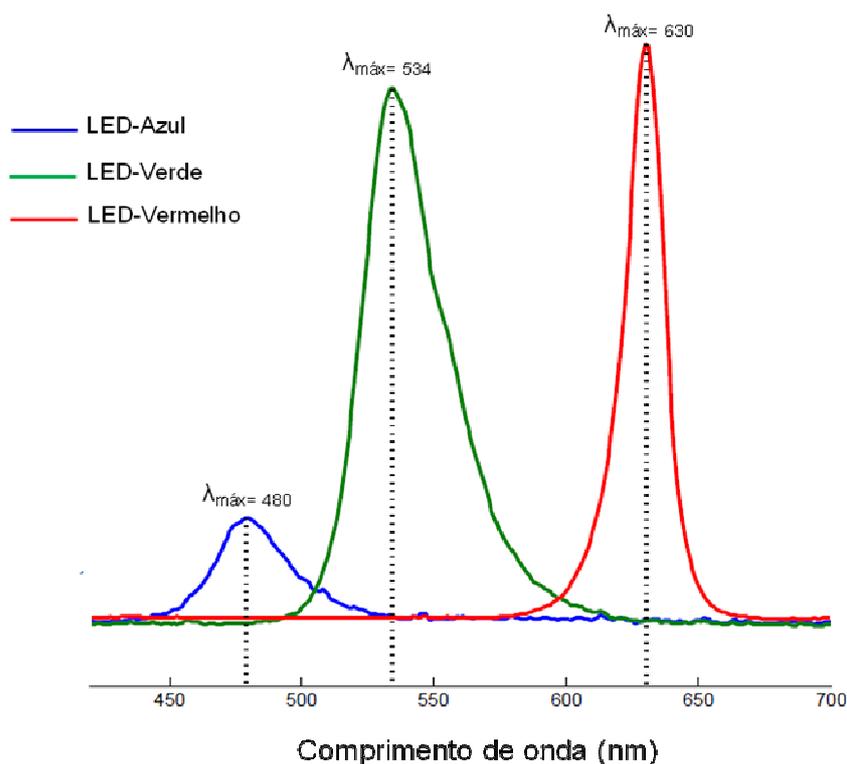


Figura 2.3. Espectros de emissão do LED tricolor especificando o λ_{max} para cada região.

Na **Figura 2.4** são mostradas a pinagem e as dimensões do LED-RGB utilizado no fotômetro.

Na alimentação para o funcionamento do LED, a tensão não pode ser aplicada diretamente entre seus terminais, uma vez que a corrente deve ser limitada para não danificá-lo. Assim, o uso de um resistor limitador é comum nos circuitos que os utilizam.

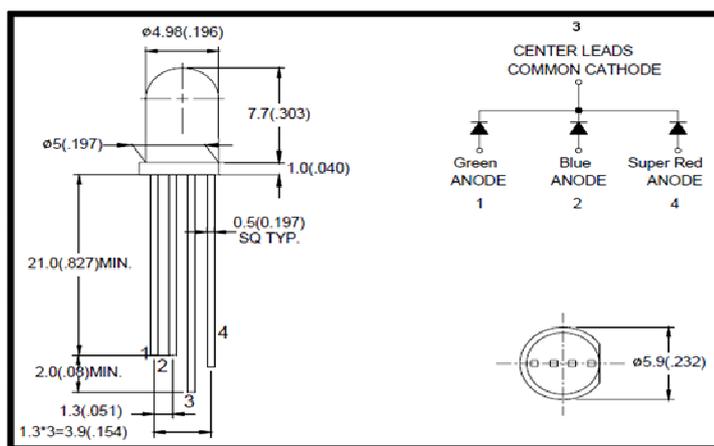


Figura 2.4. Dimensões e pinagem do LED (L200CWRGB1K-4C-IL) utilizado no fotômetro, unidade em mm.

2.3.2. Fototransdutor

O detector de radiação escolhido para aquisição dos sinais analíticos foi um fototransistor por ser barato e de fácil aquisição, e por apresentar uma boa relação sinal/ruído e permitir amplificação. Sua aparência é semelhante à de um LED com espessura de 5 mm, porém possui encapsulamento transparente e opera com polarização inversa. Ele possui dois terminais, correspondendo ao coletor e emissor do transistor. As dimensões e pinagem encontram-se ilustradas na **Figura 2.5**.

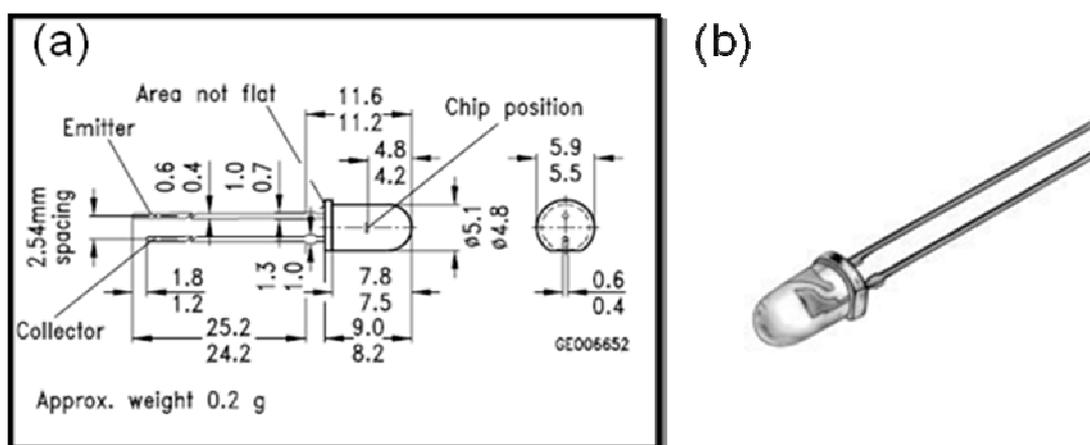


Figura 2.5. (a) Dimensões e pinagem do fototransistor (BP 103 B) utilizado no fotômetro, unidade mm. (b) Fototransistor utilizado no fotômetro.

A resposta do fototransistor abrange praticamente toda a região espectral do visível. Esta característica favorece o uso desse dispositivo para aplicações fotométricas.

2.3.3. Suporte para célula de medida

O suporte da cubeta do fotômetro LED-VIS, mostrado na **Figura 2.6**, foi construído levando em consideração a espessura da cubeta de plástico escolhida para a realização das análises. Sendo assim, a distância entre o emissor (LED) e o receptor (fototransistor) foi estabelecida como sendo de, aproximadamente, 1 cm. Deste modo, os componentes foram posicionados a fim de que ficassem alinhados um em direção ao outro.



Figura 2.6. Suporte para cubeta usada no fotômetro de LED proposto.

Para efetuar uma medida, coloca-se a solução absorvente (calibração e/ou amostra) na cubeta até uma altura acima de aproximadamente 2,5 mL. Garantindo assim, que a solução absorvente estará no caminho óptico.

2.3.4. Plataforma Arduino UNO

A escolha do Arduino para o desenvolvimento do fotômetro proposto foi motivada pelo fato da grande facilidade de instalação e programação.

A placa dispõe de um vasto conjunto de dispositivos de apoio ao microcontrolador, o que tornou a montagem do instrumento mais simples. Para começar a utilizar o Arduino Uno foi preciso ligá-lo a um computador por intermédio de um cabo USB.

Na **Figura 2.7**, encontra-se uma fotografia da plataforma do Arduino Uno. Os principais componentes e os pinos de ligação utilizados, são os seguintes:

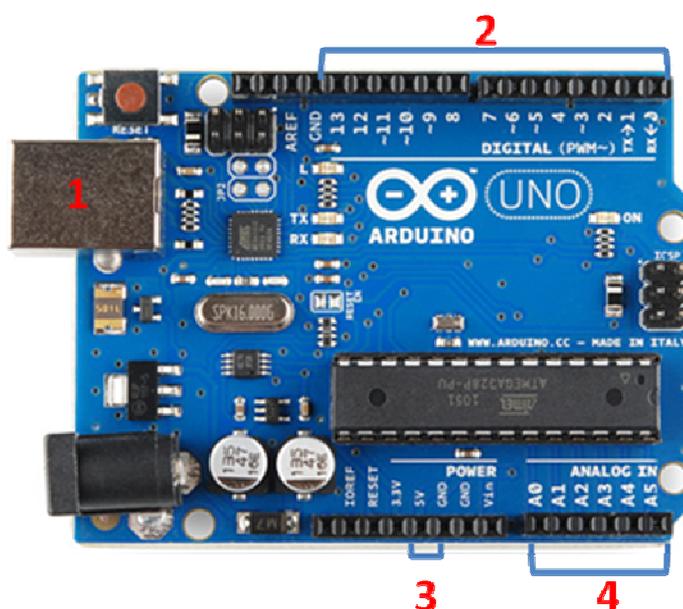


Figura 2.7. Plataforma do Arduino Uno, onde se identificam os componentes e os pinos de ligação. 1.porta USB, 2.pinos digitais, 3. pinos de alimentação e 4.pinos analógicos.

1. **PortaUSB:** foi usada para comunicação serial com um computador;
2. **Pinos digitais:** foram usados os pinos 11, 12, e 13 para a alimentação dos LEDs RGB (vermelho, verde e azul), respectivamente;
3. **Pinos de alimentação:** são usados para alimentação dos circuitos externos do Arduino. Serviu para alimentar o fototransistor com 5V.

4. Pinos analógicos: são usados para leituras de sinais de sensores. Dos cinco pinos disponíveis, foi utilizado o pino A₂. Onde sinais analógicos são convertidos em sinais digitais;

2.3.5. Circuito Externo acoplado ao Arduino para o desenvolvimento do fotômetro LED-VIS

O circuito eletrônico responsável pelo acionamento da fonte de radiação e do detector acoplados à plataforma Arduino é muito simples, conforme mostrado na **Figura 2.8**.

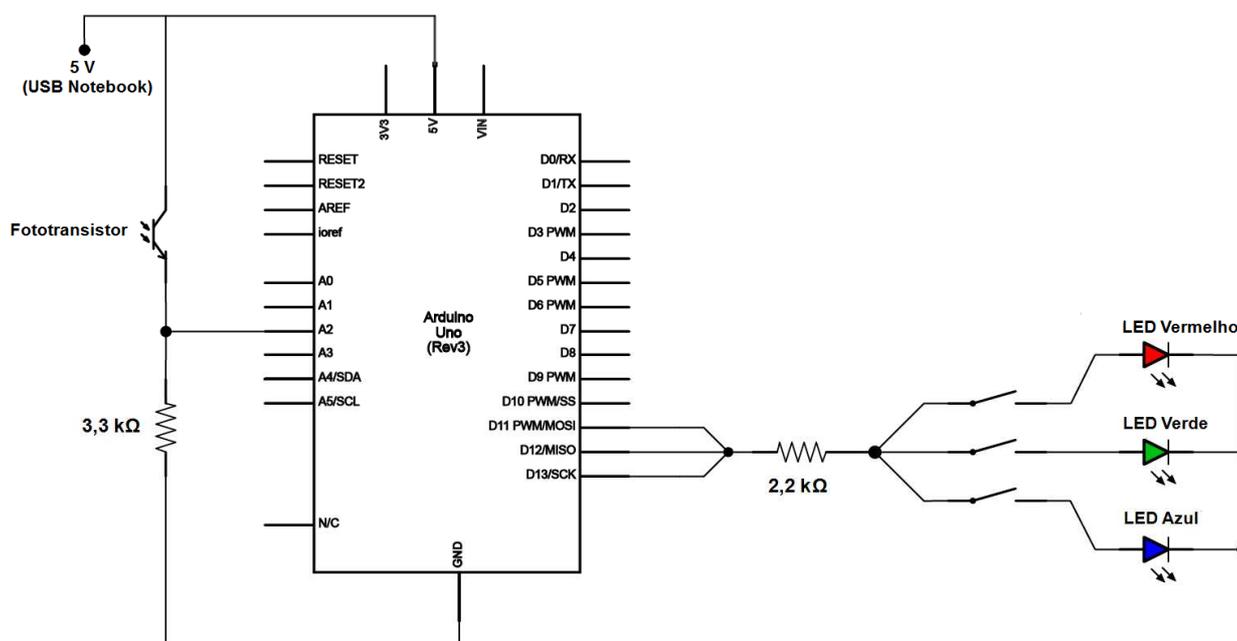


Figura 2.8. Circuito externo acoplado à plataforma Arduino. Acionamento dos LEDs, cujos botões são mostrados na **Figura 2.1**: B_R - Botão de acionamento do vermelho, B_G - Botão do verde e B_B - Botão de acionamento do azul, bem como do fototransistor.

Os terminais do LED foram conectados aos pinos digitais 11, 12 e 13 do Arduino, os quais permitem efetuar a alimentação referente a cada cor do LED-RGB. O pino 11 alimenta o LED azul, o pino 12 o LED verde e o pino 13 o LED vermelho. A corrente que passa em cada LED é limitada por um resistor de 2,2 kΩ. O acionamento de cada botão permite ao LED-RBG

irradiar cada cor individualmente, possibilitando a realização das medidas correspondentes ao comprimento de onda associado a cada cor do LED.

A potência radiante emergente da cubeta é captada por um fototransistor, o qual foi alimentado pelo pino de alimentação de 5 V do Arduino. A corrente de resposta gerada pelo fototransistor é proporcional à potência radiante captada, porém fez-se necessário a implementação de um divisor de voltagem, pois os pinos analógicos do Arduino Uno podem apenas realizar medições de voltagem. O resistor de 3,3 k Ω define um nível específico de sensibilidade para as medidas. Os sinais analógicos produzidos durante as medidas são enviados para um conversor analógico-digital de resolução igual a 10 bit interno ao microcontrolador Atmega 328 através do pino analógico A2. O sinal digital gerado pelo conversor foi filtrado e processado posteriormente.

2.3.6. Interface da Execução dos comandos para a geração da resposta instrumental do fotômetro desenvolvido

Ao executar a IDE (Integrated Development Environment) é necessário saber qual placa vai ser utilizada para que a IDE a reconheça. Para isso, é preciso selecionar as seguintes ferramentas: *Tools/Board* e escolher a placa Arduino UNO. Depois, seleciona-se a porta serial correspondente ao Arduino Uno. Após estabelecer essas configurações, abre-se o monitor de comunicação serial para então dar prosseguimento ao processo de análise.

A programação foi desenvolvida com base nas posições dos terminais da fonte de radiação e do detector, localizados no Arduino, como descrita na **seção 2.3.5**, assim como para as leituras dos sinais (branco e analito). A operação do instrumento baseia-se no envio de determinados caracteres para que o Arduino execute tarefas específicas. As principais linhas de comando estão ilustradas no diagramas de bloco na **Figura 2.9**.

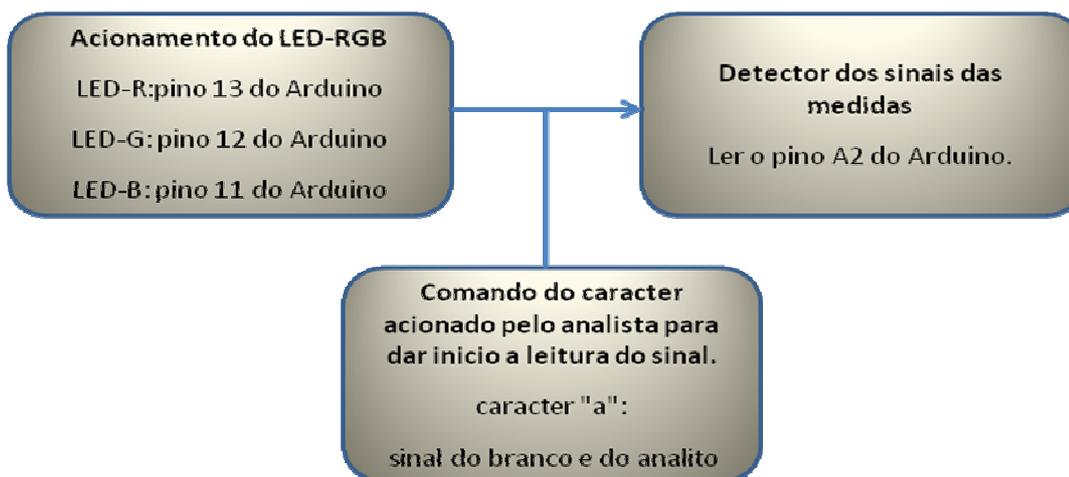


Figura 2.9. Diagrama das principais linhas de comando.

Depois da programação finalizada, é efetuada uma compilação para verificação de erros existentes e, em seguida, o *upload* no qual os códigos são enviados para placa. Depois disso, abre-se o serial monitor conforme ilustrado na **Figura 2.10** para observar o monitoramento dos sinais durante as medidas.

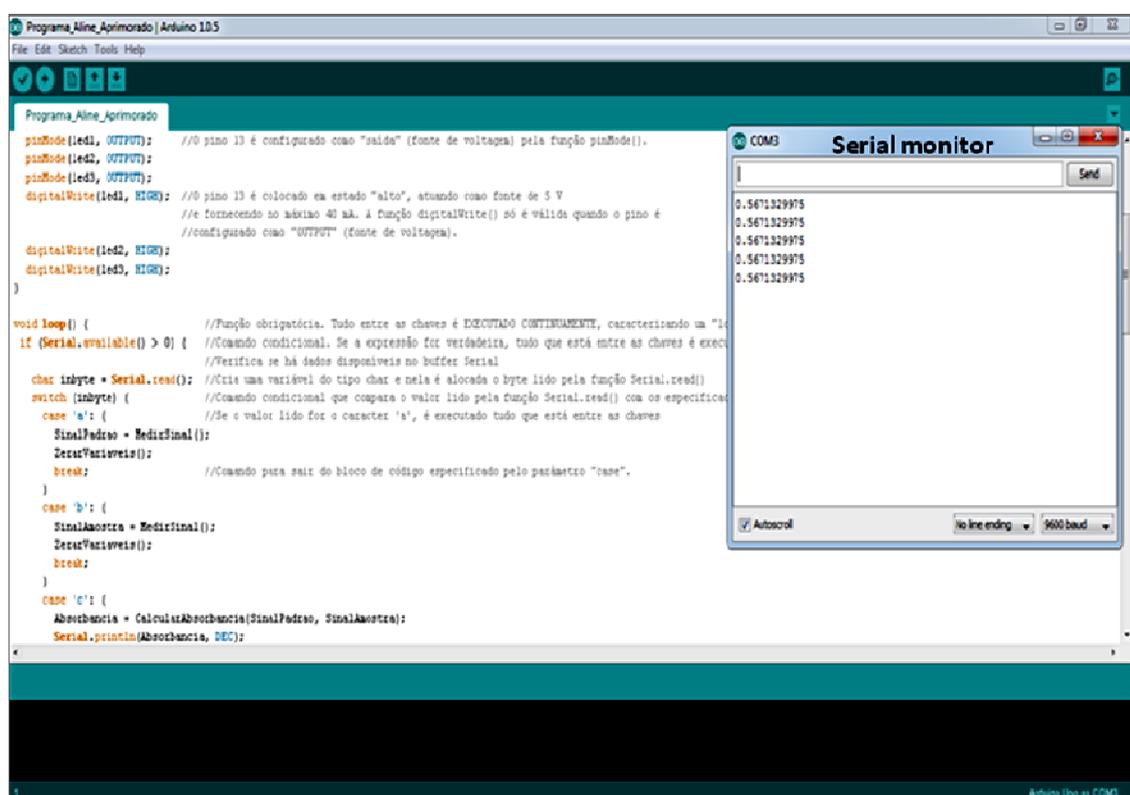


Figura 2.10 – Ambiente de saída no serial monitor

2.4.0 sistema contendo o instrumento proposto

O princípio de funcionamento do sistema contendo o instrumento proposto (**Figura 2.11**) é muito simples: conecta-se o Arduino no computador por meio de um cabo USB, abre o *software* IDE e aciona o botão do LED desejado para a análise. Em seguida, o analista deve adicionar a solução absorvente (padrão ou amostra) e colocá-la no porta cubeta do aparelho. A leitura da potência radiante emergente da cubeta capitada pelo fototransistor é iniciada através de uma linha de comando, acionado pelo analista, descrita na **seção 2.3.6**. Assim como a leitura do sinal do branco. Na tela da **Figura 2.10** pode-se visualizar as informações enviadas da placa para o computador. Em outras palavras, tem-se o monitoramento dos valores dos sinais das soluções de calibração, do branco e das amostras analisadas no instrumento desenvolvido.



Figura 2.11. Sistema contendo o fotômetro proposto.

Todos os valores dos sinais (branco, soluções de calibração e analito), visualizados no ambiente de saída do serial monitor, são medidos em voltagem. Tais sinais são convertidos em transmitância e posteriormente em absorbância no programa Microsoft Excel. Da mesma

forma, realizou-se o cálculo da concentração do analito nas amostras usando o modelo de calibração (curva analítica) baseado na lei de Beer (**Seção 1.4.1**).

O cálculo da absorbância (A) é efetuado com base nos valores do sinal do branco e do analito, aplicando-se a expressão:

$$A = - \log (\text{sinal do analito} / \text{sinal do branco}) \quad (2.1)$$

onde a razão entre os valores dos sinais no argumento do logaritmo expressa a transmitância, conforme descrito na **Seção 1.4.1**.

2.5. Estratégia para aplicação do fotômetro proposto

O fotômetro LED-RGB microcontrolado permite realizar medidas fotométricas envolvendo as radiações azul, verde e vermelha. Das três possibilidades existentes para a quantificação das espécies absorventes, foram utilizadas apenas duas faixas de comprimentos de onda do LED-RGB: a região do verde (LED-G) e do azul (LED-B).

A solução de calibração de permanganato de potássio foi medido através do LED-G e a de amarelo crepúsculo foi medido através do LED-B. A não utilização do LED-vermelho está relacionada as amostras contendo o corante azul brilhante não corresponder ao mesmo comprimento de onda da solução padrão utilizado para o levantamento da curva analítica.

2.6. Avaliação do desempenho do fotômetro proposto

2.6.1. Estabilidade da fonte de radiação (LED)

A estabilidade foi monitorada pela intensidade da fonte de radiação gerada quando a radiação do LED sem a cubeta, incidia no fototransdutor. O período de monitoração da estabilidade da fonte foi de 8 (oito) horas, com intervalos de medição inicial de 10 (dez) minutos e, após 2 (duas) horas, o intervalo foi aumentado para 20 min até completar o período de 8 (oito) horas.

2.6.2. Parâmetros de validação da curva analítica

A análise de referência para as amostras de permanganato de potássio e amarelo crepúsculo foi realizada por meio de curvas analíticas univariadas. As curvas analíticas foram obtidas utilizando a média do valor de absorbância máximo do sinal analítico de cinco replicatas. Para que as curvas analíticas sejam usadas para a quantificação das amostras, é preciso validá-las.

Os parâmetros de validação para avaliar o desempenho analítico foram: linearidade da curva analítica, função da resposta (gráfico analítico), sensibilidade, precisão, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), desvio padrão conjunto e teste de recuperação. E são caracterizados nos tópicos a seguir^[71].

2.6.2.1. Linearidade da curva analítica

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, quando estão de acordo com a faixa analítica especificada. ^[71-73]

Para cada analito foram obtidas as faixas lineares de trabalho, que correspondem às concentrações do analito que fornecem uma resposta analítica diretamente proporcional a estas concentrações.

2.6.2.2. Função da resposta (gráfico analítico)

O gráfico analítico deve apresentar os dados estatísticos de intersecção, da equação da regressão linear, o coeficiente de correlação ou de determinação e a concentração estimada dos calibradores (soluções-padrão). Portanto, para que seja possível a obtenção da curva analítica, foi preciso ser preparadas as soluções padrão com níveis de concentrações diferentes.

Julga-se satisfatória a linearidade do gráfico (**Tabela 2.1**) quando o coeficiente de correlação da reta obtida não é estatisticamente diferente da unidade^[72,73].

TABELA 2.1. Coeficientes de correlação da reta.

R = 1	Correlação perfeita
0,91 < R < 0,99	Correlação fortíssima
0,61 < R < 0,91	Correlação forte
0,31 < R < 0,60	Correlação média
0,01 < R < 0,30	Correlação fraca
R = 0	Correlação nula

2.6.2.3. Sensibilidade

A sensibilidade é a capacidade do método em distinguir, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas^[74]. A sensibilidade está relacionada ao coeficiente angular do gráfico analítico.

O coeficiente angular foi obtido levando em consideração a quantidade de níveis de concentrações, pontos na curva, recomendados para a obtenção do gráfico analítico esperado. Ou seja, uma apropriada relação linear entre as concentrações das soluções padrões e à absorvância.

2.6.2.4. Precisão

A precisão está relacionada com a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra. Ou seja, refere-se à dispersão entre as medidas repetidas sob as mesmas condições.

Foram realizadas medidas com três repetições autênticas para as soluções padrão e cinco repetições para cada amostra, afim de estimar o desvio-padrão. Este parâmetro de desempenho representa a dispersão das medidas entre ensaios independentes e repetidos, de uma mesma amostra sob condições definidas.

2.6.2.5. Limite de detecção (LOD) / quantificação (LOQ)

O limite de detecção está relacionado a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada pela técnica instrumental utilizada, já o limite de quantificação corresponde à concentração mais baixa que pode ser quantificada dentro dos limites de reprodutibilidade das medidas pelo método empregado^[9,71].

O método da estimativa do limite de detecção e quantificação foi baseado em parâmetros da curva analítica. Visto que estes apresentam maior confiabilidade estatística e robustez, levando em consideração o intervalo de confiança da regressão^[75]. Neste caso, o LOD e o LOQ são estimados a partir do intervalo de confiança e podem ser estimados a 95% de confiança estatística^[75]. Tais estimativas foram realizadas por intermédio de uma análise de variância (ANOVA) descrita na **seção 2.5.3**.

Para cada curva analítica, os limites de detecção e quantificação foram estimados conforme as **Equações 2.1 e 2.2**:

$$LOD = \frac{3S_b}{\beta} \quad (2.2)$$

$$LOQ = \frac{10S_b}{\beta} \quad (2.3)$$

onde β é a inclinação da curva analítica estimada pela regressão linear através do método dos mínimos quadrados e S_b é o desvio padrão do branco para 20 medidas.

2.6.2.6. Desvio padrão conjunto

O desvio padrão é definido como sendo a raiz quadrada da variância. Foi medido o grau de dispersão dos dados numéricos em torno de um valor médio.

O desvio padrão conjunto foi determinado pela razão entre variâncias individuais calculadas para cada amostra do conjunto e o total de amostras analisadas.

Em casos específicos onde o número de determinações repetidas é mantido constante, pode se obter o desvio padrão conjunto, aplicando se a **Equação 2.3**.

$$s_{conj} = \sqrt{\frac{\sum s_i^2}{N}} \quad (2.4)$$

Onde N é o número total de amostras e s_i é a variância encontrada para o conjunto de medidas de cada amostra.

2.6.2.7. Teste de recuperação

Os testes de recuperação^[76] foram utilizados comparando-se resultados obtidos da análise das amostras puras com os resultados obtidos ao analisar as amostras contendo concentrações conhecidas de padrões.

Foram realizadas medidas das amostras, no instrumento proposto para avaliação da percentagem de recuperação nos analitos.

A quantidade percentual recuperada (R) foi calculada subtraindo-se a concentração determinada na amostra adicionada (C_1) da concentração determinada na amostra não adicionada (C_2), dividindo-se pela

concentração adicionada (C_3), multiplicando-se por 100, conforme a **Equação 2.4**:

$$R(\%) = 100(C_1 - C_2 / C_3) \quad (2.5)$$

2.6.3. Procedimentos e tratamentos estatísticos da curva analítica

Em análises químicas, o modelo de calibração pode ser usado para estimar a concentração do analito de maneira satisfatória apenas se for capaz de descrever o comportamento dos valores experimentais. Portanto, o modelo predito não pode apresentar evidências de falta de ajuste e deve refletir uma significativa regressão estatística. Desta forma, a validação do modelo de calibração é geralmente realizada por meio de uma análise de variância (ANOVA)^[77,78]. A **Tabela 2.2** apresenta as equações para ANOVA de dados experimentais adaptados para modelos lineares pelo método dos mínimos quadrados (MMQ).

TABELA 2.2. Equações para a ANOVA dos dados experimentais adaptados aos modelos lineares estimados pelos métodos dos mínimos quadrados.

Fonte de Variação	Soma Quadrática (SQ)	Graus de liberdade (gl)	Média Quadrática (MQ)
Regressão	$\sum n_i [(y_e)_i - y_m]^2$	$p - 1$	$SQ_{reg}/(p-1)$
Resíduo	$\sum \sum [y_{ij} - (y_e)_i]^2$	$n - p$	$SQ_r/(n-p)$
Falta de Ajuste	$\sum n_i [(y_e)_i - y_{im}]^2$	$m - p$	$SQ_{faj}/(m-p)$
Erro Puro	$\sum \sum [y_{ij} - y_{im}]^2$	$n - m$	$SQ_{ep}/(n-m)$

O índice **i** indica o nível da variável X; o índice **j** refere-se às medidas repetidas da variável Y em um dado nível de X; **p** = número de parâmetros do polinômio do modelo de calibração; **n** = número total de medidas; **m** = número de níveis da variável independente X.

A validação de modelos lineares pela aplicação do método dos mínimos quadrados consiste na análise dos resíduos, falta de ajuste e significância da regressão. Na análise dos resíduos deixados pelo modelo, verifica-se o comportamento dos erros de previsão em relação aos dados

experimentais. Nos gráficos dos resíduos é possível identificar o tipo de erro associado aos dados. Dessa forma, se os resíduos apresentam algum perfil ou estrutura, haverá uma falta de ajuste do modelo postulado.

Para corrigir o problema da falta de ajuste do modelo, faz-se necessário incluir provavelmente um termo quadrático na relação funcional.

A ausência de falta de ajuste está relacionado aos resíduos se distribuírem de forma aleatoriamente em torno do zero, evidenciando apenas a presença de erros aleatórios.

Os resíduos (ε) são calculados de acordo com a **Equação 2.5**:

$$\varepsilon = Y_i - \hat{Y} \quad (2.6)$$

onde: y_i = resposta analítica obtida experimentalmente e \hat{y} = resposta analítica prevista pelo modelo de calibração.

No teste de falta de ajuste^[77,78], compara-se a razão entre a média quadrática devida à falta de ajuste (MQ_{faj}) e a média quadrática associada ao erro puro (MQ_{ep}) com o valor do ponto da distribuição F correspondente aos respectivos graus de liberdade e nível de confiança adotado (geralmente de 95%). Se a razão (MQ_{faj}/MQ_{ep}) for menor que o valor de F , então o modelo adotado não apresentará evidência estatística de falta de ajuste. Do contrário, o modelo apresentará falta de ajuste no nível de confiança adotado.

No teste de significância estatística de regressão^[78,79], compara-se a razão entre a média quadrática devida à regressão (MQ_{reg}) e a média quadrática residual (MQ_r) com o valor do ponto da distribuição F referente aos graus de liberdade de MQ_{reg} e MQ_r no nível de confiança adotado. Se a razão for maior que o valor de F (de pelo menos cinco vezes como recomendado na literatura^[77]), indicará a existência de uma relação (linear, quadrática, etc, conforme postulado no modelo) estatisticamente significativa entre a variável y e x . Quanto maior for a razão MQ_{reg}/MQ_r em

comparação com o valor de F , mais significativa será a relação. Em caso contrário, a relação entre y e x assumida pelo modelo não terá nenhuma significância estatística.

2.6.4. Testes estatísticos para validação dos resultados analíticos

Para validar os resultados das determinações realizadas utilizando o fotômetro proposto e pelo espectrômetro Micronal, foram aplicados testes estatísticos para fins de comparação, tais como: teste t emparelhado baseado no teste de hipóteses ou teste t emparelhado baseado no conceito de intervalo de confiança^[72,78].

2.6.4.1. Aplicação do teste t emparelhado baseado no teste de hipóteses

O teste de hipóteses é, comumente, usado na formulação do teste t emparelhado para avaliar se há diferenças sistemáticas estatisticamente significativas entre os resultados dos dois instrumentos. Neste trabalho, os resultados referem-se às concentrações de amarelo crepúsculo e permanganato de potássio, ambas em mg L^{-1} , obtidas no instrumento proposto e de referência.

Para implementar o teste t emparelhado, calculou-se as diferenças (d_i) entre os valores de concentração para cada par de resultados assim como a média dessas diferenças (\bar{d}). Além disso, assumindo-se que se Δ é a diferença média verdadeira entre os resultados dos métodos, pode-se testar a hipótese nula (H_0) de que $\Delta = 0$. Sendo assim, o teste t pareado pode ser aplicado com base na **expressão 2.6**:

$$t = \frac{\bar{d} - 0}{\frac{S_d}{\sqrt{n}}} \quad (2.7)$$

onde n é o número de amostras analisadas por ambos os métodos e s_d é o desvio padrão das diferenças (par-a-par) sendo obtido pela **expressão 2.7**.

$$s_d = \sqrt{\frac{\sum (d_i - \bar{d})^2}{n-1}} \quad (2.8)$$

Depois do cálculo do valor de t , este foi comparado a um valor crítico de $t_{crít}$ para o número de graus de liberdade (v) dado por $v = n - 1$ e nível de confiança desejado. Normalmente, adota-se o nível de 95% de confiança como um compromisso entre confiança estatística e a precisão. Caso o valor de t seja maior que o de $t_{crít}$, a hipótese nula é rejeitada. O que revela uma diferença sistemática significativa entre os resultados no nível de confiança adotado. Isto significa que há uma probabilidade menor que 2,5% (em cada cauda) ou de 5% no total das diferenças nos valores advirem de erros aleatórios^[72]. Caso contrário, não há diferença sistemática estatisticamente significativa entre os resultados dos métodos analíticos.

2.6.4.2. Aplicação do teste t emparelhado baseado no conceito de intervalo de confiança

O conceito de intervalo de confiança pode também fundamentar a aplicação do teste t emparelhado de modo análogo ao teste de hipóteses. Isto significa que foi necessário encontrar também a média (\bar{d}) das diferenças (d_i) entre os valores de cada par de resultados. Supondo que Δ representa o valor populacional da média das diferenças entre os resultados dos métodos, o intervalo de confiança (Δ) é dado pela **Equação 2.8**

$$\Delta = \bar{d} \pm t_v \frac{S_d}{\sqrt{n}} \quad (2.9)$$

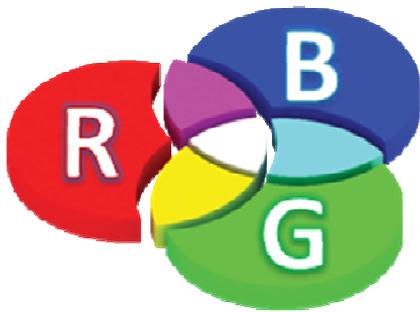
onde n é o número de amostras, s_d é o desvio padrão da média das diferenças e t é o ponto da distribuição de Student correspondente ao número de graus de liberdade ($v = n-1$) e nível de confiança adotado^[78].

A interpretação do intervalo de confiança é realizada da seguinte maneira:

- se intervalo incluir o valor "zero", então existe diferença sistemática estatisticamente significativa entre os resultados dos dois métodos. Neste caso, a hipótese nula deve ser aceita e a média das diferenças (\bar{d}) deve ser um ponto da distribuição t com média populacional $\Delta = 0$;

- se ocorrer o contrário, isto é, o intervalo não contiver o valor "zero", então existe diferença sistemática significativa entre os resultados dos métodos ao nível de confiança estatística considerado.

CAPÍTULO 4



RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Avaliação do desempenho do instrumento analítico proposto e tratamentos estatísticos da curva analítica

3.1.1. Estabilidade da fonte

No monitoramento da intensidade do LED relatado na **Seção 2.5.1.**, constatou-se uma pequena variação do sinal após um período de 8 h de funcionamento, sendo o desvio-padrão relativo de 1,2%. Assim, pode-se afirmar que o instrumento proposto possui uma fonte de radiação com estabilidade suficiente para ser utilizado em análises químicas rotineiras, envolvendo as jornadas habituais de trabalho.

3.1.2. Faixa de trabalho, obtenção e validação da curva analítica

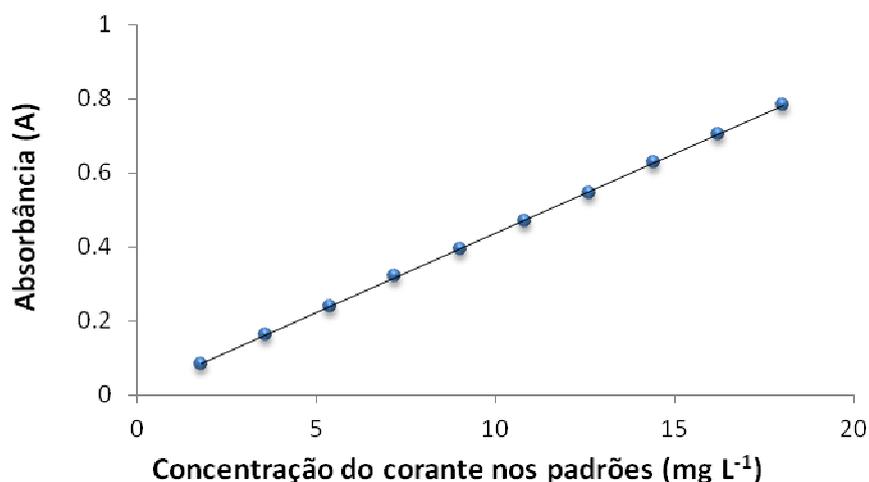
Primeiramente, realizou-se uma investigação da faixa de trabalho usando o fotômetro proposto e o instrumento comercial (Micronal). As curvas analíticas foram construídas pelo método dos mínimos quadrados e validadas por meio da ANOVA. Além disso, foram realizados os testes-*F* para falta de ajuste e de significância estatística da regressão para os modelos lineares obtidos na calibração.

3.1.2.1. Faixa de trabalho do amarelo crepúsculo

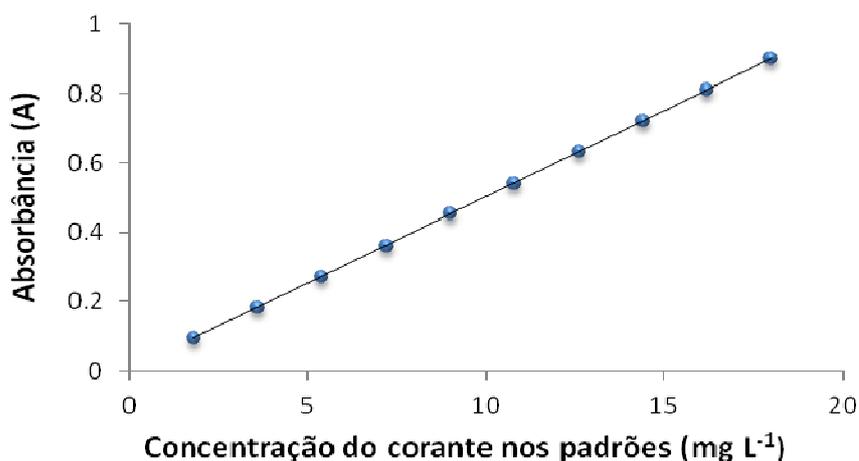
A faixa de trabalho para o amarelo crepúsculo foi, inicialmente, investigada entre as concentrações de 1,8 a 30,0 mg L⁻¹. Todavia, as concentrações acima de 18,0 mg L⁻¹ foram excluídas da faixa devido à falta de ajuste apresentada pelos modelos lineares indicada pela ANOVA. Assim, as concentrações escolhidas para calibração dentro da nova faixa foram 1,8; 3,6; 5,4; 7,2; 9,0; 10,8; 12,6; 14,4; 16,2 e 18,0 mg L⁻¹. As soluções de calibração com essas concentrações do corante foram preparadas em triplicatas autênticas. A curva analítica foi construída com

base na média dos sinais para ambos os instrumentos, o proposto e o de referência.

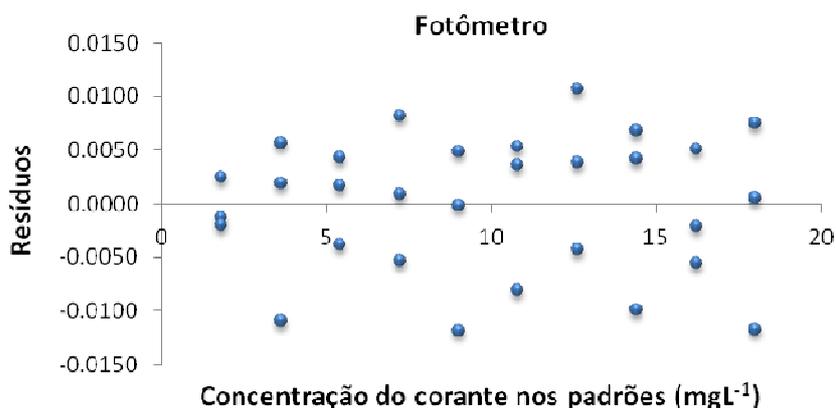
Nas **Figuras 3.1** e **3.2**, observa-se que as curvas analíticas exibem uma relação linear entre o sinal de absorvância medido e a concentração das soluções de calibração. Tal inferência é confirmada pela análise dos resíduos deixados pelos modelos, conforme ilustrado nas **Figuras 3.3** e **3.4**.



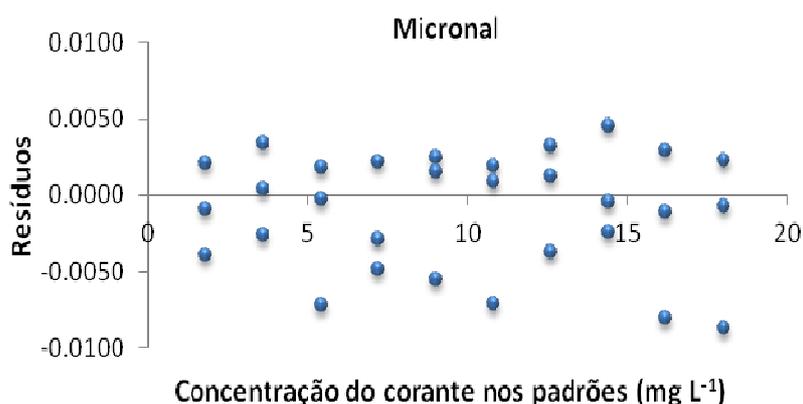
Figuras 3.1. Curva analítica ($R^2=0,9992$) obtida com o fotômetro proposto para determinação do corante em amostras de refrigerante e bebida energética



Figuras 3.2. Curva analítica ($R^2 = 0,9998$) obtida com o fotômetro Micronal (referência) para determinação do corante em amostras de refrigerante e bebida energética.



Figuras 3.3. Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo linear da curva analítica obtida com o fotômetro.



Figuras 3.4. Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo linear da curva analítica obtida com o fotômetro Micronal.

Nota-se que os resíduos (**Figuras 3.3 e 3.4**) se distribuem de maneira aleatória com, aparentemente, a mesma variância σ^2 não evidenciando uma estrutura sistemática que indique falta de ajuste dos modelos lineares assumidos para ambos os casos. Entretanto, a análise dos gráficos dos resíduos constitui um critério subjetivo, não podendo ser um único procedimento para concluir que os modelos não apresentam falta de ajuste. Para isso, recorreu-se à ANOVA para verificar se existe evidência estatística de falta de ajuste e avaliar a significância da regressão linear.

Para a implementação da ANOVA há necessidade de, primeiramente, definir os graus de liberdade (gl) em função de:

- **Número de parâmetros (p) do modelo** = 2 (polinômio de primeiro grau, $Y = b_0 + b_1x$)
- **Número de níveis (m) da variável independente X** = 10 (níveis de concentração das soluções de calibração)
- **Número total de medidas (n)** = 10 (3 repetições autênticas em cada um dos 9 níveis de concentração)

De posse dos graus de liberdade (gl), calcula-se as médias quadráticas a partir das somas quadráticas empregando as equações apresentadas na **Tabela 2.1**. Os resultados da ANOVA, usados para corroborar a validação dos modelos lineares estimados para ambos os métodos, são mostrados nas **Tabelas 3.1** e **3.2**.

Tabela 3.1. ANOVA para o ajuste de um modelo de calibração linear para determinação do amarelo crepúsculo (AC) usando o fotômetro proposto.

ANOVA - Fotômetro				
Analito	Fonte de Variação	Graus de Liberdade (gl)	Soma Quadrática (SQ)	Média Quadrática (MQ)
Amarelo Crepúsculo (AC)	Regressão	1	1,48	1,48
	Resíduo	28	$1,13 \times 10^{-3}$	$4,04 \times 10^{-5}$
	Falta de ajuste	8	$6,92 \times 10^{-5}$	$8,65 \times 10^{-6}$
	Erro puro	20	$1,06 \times 10^{-3}$	$5,31 \times 10^{-5}$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 3.2. ANOVA para o ajuste de um modelo de calibração linear para determinação do amarelo crepúsculo (AC) usando o fotômetro Micronal.

ANOVA - Micronal				
Analito	Fonte de Variação	Graus de Liberdade (gl)	Soma Quadrática (SQ)	Média Quadrática (MQ)
Amarelo Crepúsculo (AC)	Regressão	1	1,99	1,99
	Resíduo	28	$4,34 \times 10^{-4}$	$1,55 \times 10^{-5}$
	Falta de ajuste	8	$6,22 \times 10^{-5}$	$7,77 \times 10^{-6}$
	Erro puro	20	$3,72 \times 10^{-4}$	$1,86 \times 10^{-5}$

Os valores das médias quadráticas foram utilizados nos testes F de falta de ajuste e de significância estatística da regressão, cujos resultados encontram-se na **Tabela 3.3**. Observa-se que a razão MQ_{faj}/MQ_{ep} é menor que o ponto da distribuição F com os graus de liberdade correspondentes. Isso significa que, ao nível de 95% de confiança, não há evidência estatística de que exista falta de ajuste dos modelos lineares obtidos com ambos os instrumentos. Ademais, pode-se afirmar que MQ_{faj} e MQ_{ep} são variâncias amostrais provenientes da mesma distribuição populacional dos erros aleatórios que se distribuem de acordo com $N(0, \sigma^2)$.

Tabela 3.3. Testes F de falta de ajuste e significância estatística da regressão para os modelos lineares estimados para a determinação do AC usando ambos os instrumentos.

Instrumento	Fotômetro proposto	Fotômetro Micronal
MQ_{faj}/MQ_{ep}	0,17	0,42
MQ_{reg}/MQ_r	36519,61	128252,4
Graus de Liberdade	Falta de ajuste	8 e 20, respectivamente
	Significância de regressão	1 e 28, respectivamente
$F_{v1,v2}$ a 95%	Falta de ajuste	2,45
	Significância de regressão	4,20

A **Tabela 3.3** mostra também que as regressões lineares são altamente significativas. De fato, os valores de MQ_{reg}/MQ_r são muito maiores que o ponto da distribuição F considerando os mesmos graus de liberdade e o nível de 95% de confiança. Do ponto de vista puramente estatístico, esse resultado significa que a hipótese nula $\beta_1=0$ (não existe relação linear entre y e X) deve ser rejeitada. Então, MQ_{reg} e MQ_r são variâncias amostrais associadas a distribuições populacionais diferentes. Com efeito, pode-se inferir que, ao nível de confiança de 95%, a variância amostral MQ_{reg} advém de uma população cuja variável aleatória y_i (sinal analítico) se distribui de acordo com $N(\beta_0 + \beta_1 X_i, \sigma^2)$. Por outro lado, a variância amostral MQ_r provém da distribuição populacional normal, $N(0, \sigma^2)$, associada essencialmente aos erros aleatórios.

Na **Tabela 3.4**, são apresentados os intervalos de confiança para os valores populacionais dos coeficientes dos modelos estimados.

Tabela 3.4. Parâmetros de regressão linear e limites dos intervalos de confiança para os coeficientes dos modelos obtidos para quantificação do corante AC.

Analito	Instrumento	Modelo $Y = b_0 + b_1x$	
		$b_0 \pm t_{28} \cdot \text{erro padrão } (\alpha)$	$b_1 \pm t_{28} \cdot \text{erro padrão } (\beta)$
Amarelo Crepúsculo	Fotômetro proposto	0,0023 ± 0,0207	0,0429 ± 0,0004
	Fotômetro Micronal	-0,0003 ± 0,0127	0,0498 ± 0,0002

Pode-se observar que o limite do intervalo de confiança para os modelos obtidos não incluem o zero apenas para o coeficiente angular. Portanto, os parâmetros dos modelos são estatisticamente significativos para o coeficiente angular e não significativo para o coeficiente linear.

3.1.2.1.1 Características de desempenho analítico do corante AC

Tendo validado as curvas analíticas, foram estimados os valores de LOD, LOQ e a sensibilidade do instrumento proposto e de referência (comercial). A **Tabela 3.5** mostra os valores estimados para essas características de desempenho. Pode-se notar que ambos os instrumentos têm desempenho similar ou que o fotômetro Micronal foi ligeiramente melhor que o do fotômetro proposto. Não obstante, isso se justifica pelas características do fotômetro proposto que se baseia em um circuito eletrônico e processador do sinal muito simples.

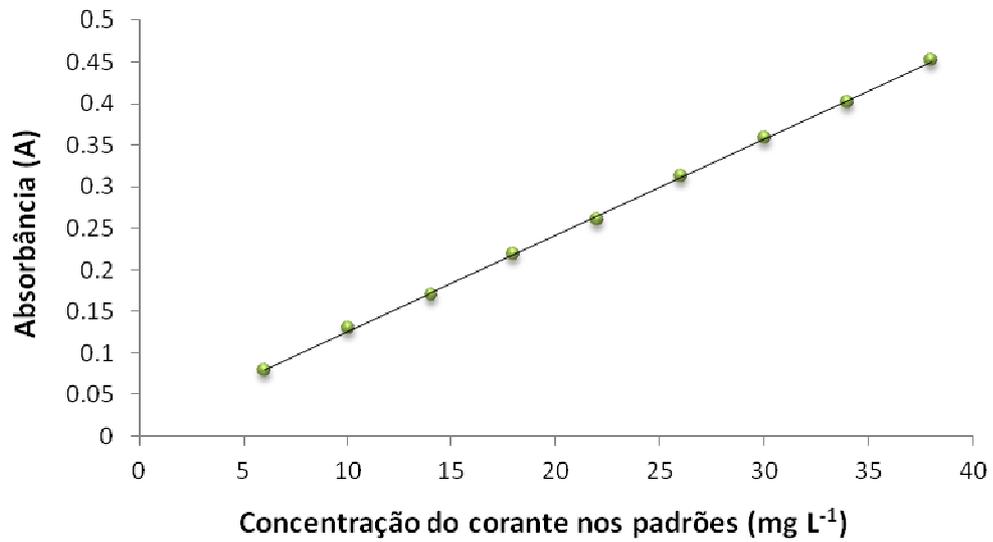
Tabela 3.5. Valores de LOD, LOQ (mg L^{-1}) e sensibilidade do fotômetro proposto e do fotômetro Micronal para o corante AC.

	Fotômetro proposto	Fotômetro Micronal
LOD	0,19	0,15
LOQ	0,64	0,47
Sensibilidade	0,043	0,050

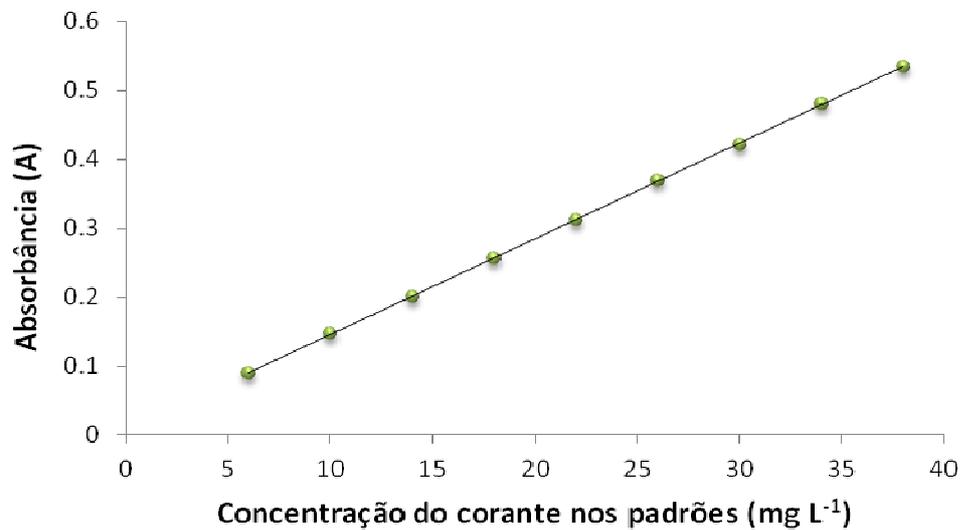
3.1.2.2. Faixa de trabalho do permanganato de potássio

O estudo para a determinação de permanganato revelou que a faixa linear de concentrações se estende de 3,0 a 110,0 mgL^{-1} . Contudo, as concentrações acima de 38,0 mgL^{-1} foram excluídas da faixa devido a falta de ajuste apresentada pelos modelos lineares indicada pela ANOVA.

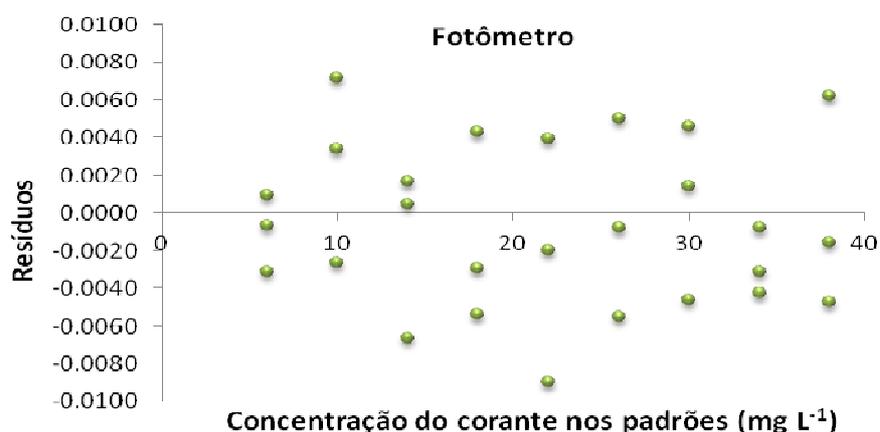
Nas **Figuras 3.5** e **3.6**, são mostradas as curvas analíticas obtidas a partir das concentrações 6,0; 10,0; 14,0; 18,0; 22,0; 26,0; 30,0; 34,0 e 38,0 mgL^{-1} de permanganato de potássio. Tal como ocorreu no caso da determinação do corante AC, observa-se um comportamento linear entre o sinal e a concentração das soluções de calibração. Essa observação visual pode ser corroborada pela análise do gráfico dos resíduos obtidos pelos modelos (**Figuras 3.7** e **3.8**).



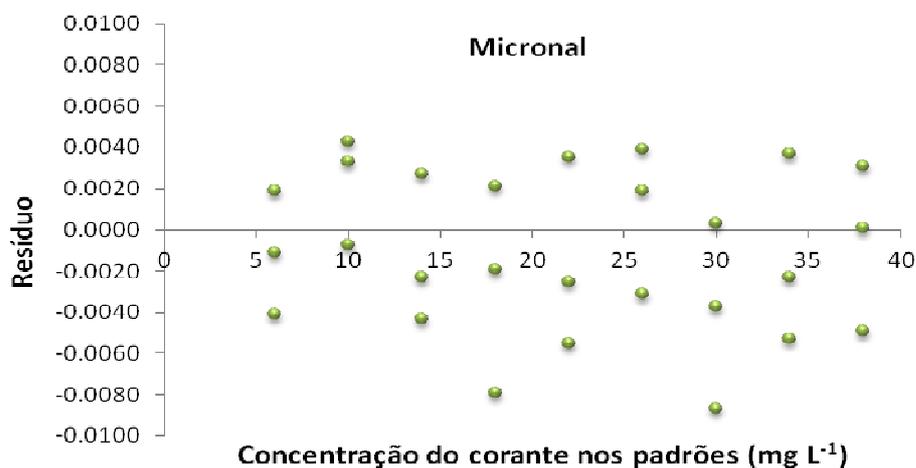
Figuras 3.5. Curva analítica ($R^2=0,9988$) do permanganato de potássio relacionada ao fotômetro proposto.



Figuras 3.6. Curva analítica ($R^2=0,9993$) do permanganato de potássio relacionada ao instrumento comercial Micronal.



Figuras 3.7. Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo linear da curva analítica do permanganato de potássio usando o fotômetro proposto.



Figuras 3.8. Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo linear da curva analítica do permanganato de potássio usando o fotômetro Micronal.

Ao verificar os gráficos dos resíduos, percebeu-se que os valores estão distribuídos aleatoriamente, significando que não há nenhuma estrutura sistemática que evidencie uma eventual falta de ajuste do modelo linear para ambos os métodos.

A implementação da ANOVA requer a definição dos graus de liberdade (gl), conforme descrito a seguir:

🌈 **Número de parâmetros (p) do modelo** = 2 (polinômio de primeiro grau, $Y = b_0 + b_1x$)

- **Número de níveis (m) da variável independente $X = 9$ (níveis de concentração das soluções de calibração)**
- **Número total de medidas (n) = 27 (3 repetições autênticas em cada um dos 9 níveis de concentração)**

Uma vez definidos esses graus de liberdade, as médias quadráticas foram encontradas a partir das somas quadráticas por meio das equações apresentadas na **Tabela 2.1**. Os resultados da ANOVA para a validação dos modelos obtidos a partir dos sinais medidos com o fotômetro proposto e com o Micronal (referência) são apresentados, respectivamente, nas **Tabelas 3.6 e 3.7**.

Tabela 3.6. ANOVA para o ajuste de um modelo de calibração linear para determinação do permanganato de potássio usando o fotômetro proposto.

ANOVA - Fotômetro proposto				
Analito	Fonte de Variação	Graus de Liberdade (gl)	Soma Quadrática (SQ)	Média Quadrática (MQ)
	Regressão	1	0,39	0,39
Permanganato de potássio	Resíduo	25	$4,75 \times 10^{-4}$	$1,90 \times 10^{-5}$
	Falta de ajuste	7	$7,52 \times 10^{-5}$	$1,07 \times 10^{-5}$
	Erro puro	18	$3,99 \times 10^{-4}$	$2,22 \times 10^{-5}$

Tabela 3.7. ANOVA para o ajuste de um modelo de calibração linear para determinação do permanganato de potássio usando o fotômetro Micronal.

ANOVA - Fotômetro Micronal				
Analito	Fonte de Variação	Graus de Liberdade (gl)	Soma Quadrática (SQ)	Média Quadrática (MQ)
	Regressão	1	0,56	0,56
Permanganato de potássio	Resíduo	25	$4,00 \times 10^{-4}$	$1,60 \times 10^{-5}$
	Falta de ajuste	7	$1,08 \times 10^{-4}$	$1,55 \times 10^{-5}$
	Erro puro	18	$2,92 \times 10^{-4}$	$1,62 \times 10^{-5}$

Na **Tabela 3.8** são apresentados os valores de MQ_{faj}/MQ_{ep} e MQ_{reg}/MQ_r que permitem a realização dos teste F de, respectivamente, falta de ajuste e significância estatística da regressão. No que se refere aos valores de MQ_{faj}/MQ_{ep} , estes são menores que o ponto da distribuição F para o nível de 95% de confiança, considerando os mesmos graus de liberdade para ambos os casos. Dessa forma, não há evidência de falta de ajuste para os modelos lineares obtidos com ambos os instrumentos.

Tabela 3.8. Médias quadráticas (MQ) calculadas na ANOVA para os modelos de calibração do permanganato de potássio.

Instrumento		Fotômetro proposto	Fotômetro Micronal
MQ_{faj}/MQ_{ep}		0,48	0,95
MQ_{reg}/MQ_r		20398,62	34749,15
Graus de Liberdade	Falta de ajuste	7 e 18, respectivamente	
	Significância de regressão	1 e 25, respectivamente	
$F_{v1,v2}$ a 95%	Falta de ajuste	2,58	
	Significância de regressão	4,24	

A **Tabela 3.8** mostra também que as regressões lineares são notavelmente significativas. Com efeito, os valores de MQ_{reg}/MQ_r são muito maiores que o ponto da distribuição F , considerando os mesmos graus de liberdade e o nível de confiança de 95%. Assim, as curvas analíticas correspondentes podem ser usadas para fins de quantificação.

Os intervalos de confiança estimados ao nível de confiança de 95% para os valores populacionais dos coeficientes dos modelos, baseados em ambos os instrumentos, são apresentados na **Tabela 3.9**.

Tabela 3.9. Parâmetros de regressão linear e limites dos intervalos de confiança para os coeficientes dos modelos obtidos para quantificação do permanganato de potássio.

Analito	Instrumento	Modelo $Y = b_0 + b_1x$	
		$b_0 \pm t_{26} \cdot \text{erro padrão } (\alpha)$	$b_1 \pm t_{26} \cdot \text{erro padrão } (\beta)$
Amarelo Crepúsculo	Fotômetro proposto	0,0060 ± 0,0159	0,0116 ± 0,0001
	Fotômetro Micronal	0,0021 ± 0,0146	0,0139 ± 0,0001

Da mesma forma que no caso do AC, os intervalos de confiança não incluem o valor “zero” apenas para o coeficiente angular dos modelos para quantificação do permanganato de potássio. Portanto, somente o coeficiente angular é estatisticamente significativo para os modelos de calibração obtidos com ambos os instrumentos.

3.1.2.2.1. Características de desempenho analítico para o permanganato

Com as curvas analíticas devidamente validadas, foram obtidos os valores de LOD, LOQ e a sensibilidade do instrumento proposto e referência, como pode ser visto na **Tabela 3.10**. Novamente, o fotômetro apresentou desempenho similar ou discretamente inferior ao fotômetro micronal, pelas mesmas razões argumentadas no caso do corante AC.

Tabela 3.10. Valores de LOD, LOQ (mg L^{-1}) e sensibilidade do fotômetro proposto e do fotômetro Micronal para o permanganato.

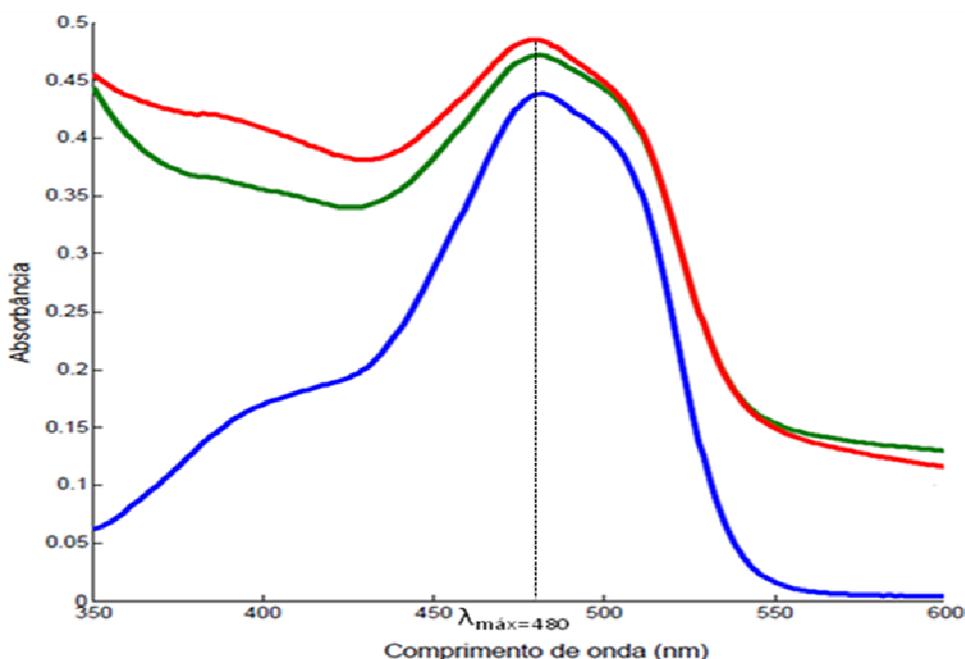
	Fotômetro proposto	Fotômetro Micronal
LOD	0,59	0,59
LOQ	1,96	1,80
Sensibilidade	0,012	0,014

3.2. Aplicações analíticas do fotômetro proposto

3.2.1. Determinação analítica do corante AC em refrigerantes e bebidas energéticas

Na **Figura 3.9** são apresentados os espectros de absorção no visível do corante presente em uma solução de calibração de $10,8 \text{ mg L}^{-1}$ com tampão fosfato pH 7,00, bem como em uma amostra de refrigerante e uma de bebida energética. Esses espectros foram registrados no espectrofotômetro HP, com o intuito de verificar se havia semelhança nos perfis espectrais entre o corante e as amostras. Assim como escolher o comprimento de onda mais adequado para as medidas de absorbância.

Observa-se na **Figura 3.9** que para comprimentos de onda abaixo de 450 nm o corante apresenta um perfil espectral um pouco diferente das amostras. Todavia, os perfis são similares em torno do comprimento de onda no máximo de absorção ($\lambda_{\text{máx}}$), mostrando-se adequado para as medidas.



Figuras 3.9. Espectros de absorção do corante amarelo crepúsculo registrados com o instrumento HP. (—) refrigerantes, (—) energéticos, (—) solução padrão de $10,8 \text{ mg L}^{-1}$.

A **Tabela 3.11** apresenta os resultados das concentrações do corante presente nas amostras utilizando o fotômetro proposto e o instrumento de referência (Micronal).

Tabela 3.11. Valores médios (n=5) das concentrações do corante, em mg L⁻¹, utilizando o fotômetro proposto e o fotômetro Micronal.

Amostras	Fotômetro	Micronal	Erro absoluto
Refrigerante			
	Média ± DP	Média ± DP	
1	33,6±0,3	33,7±0,2	-0,1
2	33,4±0,2	33,7±0,3	-0,3
3	33,4±0,2	33,2±0,1	0,2
4	33,7±0,3	33,8±0,2	-0,1
5	38,5±0,3	37,3±0,2	1,2
6	37,5±0,6	37,8±0,2	-0,3
7	39,3±0,7	38,5±0,4	0,8
8	39,5±0,2	39,2±0,2	0,3
DPC*	0,39	0,25	
Energético			
1	21,3±0,1	21,4±0,1	-0,1
2	21,2±0,2	21,0±0,1	0,2
3	21,3±0,2	21,0±0,2	0,3
4	22,5±0,2	22,4±0,2	0,1
5	21,1±0,2	21,0±0,2	0,1
6	21,4±0,2	21,4±0,2	0,0
7	22,6±0,1	22,6±0,1	0,0
8	21,2±0,1	21,4±0,1	-0,2
DPC*	0,17	0,12	

*DPC - Desvio Padrão Conjunto

Pode-se observar na **Tabela 3.11** a grande concordância entre os resultados obtidos por ambos os instrumentos. Para corroborar essa inferência, aplicou-se o teste *t* emparelhado empregando as metodologias descritas nas Seções **2.6.4.1** e **2.6.4.2**. A inferência, baseada no teste de hipóteses, pode ser corroborada pelo teste *t* emparelhado, baseado no intervalo de confiança construído para o valor de Δ . Para o nível de 95% de confiança, os limites desse intervalo são:

$$\Delta = [0,1174; -0,3993]$$

Como se pode observar, o intervalo contém o valor “zero”, evidenciando que não existe diferença sistemática estatisticamente significativa entre os resultados ao nível de confiança de 95%. Portanto, a hipótese nula de $\Delta = 0$ não pode ser rejeitada. Além disso, os valores do desvio padrão relativo (DPR %) foram, em geral, menores que 2,0% para ambos os métodos.

O corante artificial amarelo crepúsculo presente nas amostras está dentro dos limites máximos estabelecidos pela ANVISA.

3.2.1.1 - Teste de Recuperação do AC

Os valores das percentagens de recuperação do fotômetro proposto são apresentados na **Tabela 3.12**, bem como os obtidos pelo método de referência baseado no uso do fotômetro Micronal.

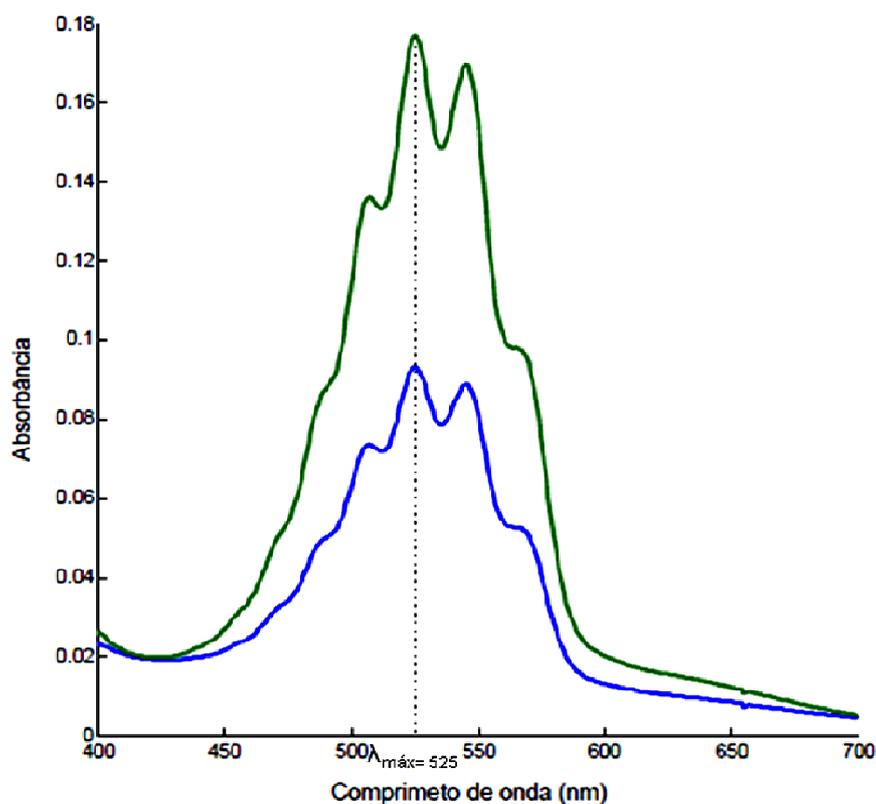
Tabela 3.12. Resultados dos testes de recuperação (%) para as amostras do corante AC (n=3).

Amostras	Fotômetro proposto	Fotômetro Micronal
Refrigerantes		
	Média ± DP	Média ± DP
1	98,4±1,4	99,5±1,2
2	99,5±1,3	99,4±1,4
3	97,3±1,4	98,4±1,2
4	96,5±1,4	95,3±1,3
5	97,6±1,3	97,2±1,2
6	97,3±1,2	96,4±1,2
7	97,1±1,4	95,5±1,3
8	96,4±1,3	96,3±1,3
Bebidas Energéticas		
1	97,5±1,1	96,5±1,1
2	98,6±1,2	97,2±1,2
3	97,3±1,1	98,4±1,2
4	98,7±1,1	99,1±1,1
5	95,6±1,2	97,3±1,2
6	99,2±1,2	96,4±1,2
7	96,4±1,3	98,2±1,2
8	97,2±1,1	99,1±1,1

Observa-se na **Tabela 3.12** que valores entre 95 a 99 % foram obtidos nos testes de recuperação para as amostras de refrigerantes e bebidas de energéticas. Isto significa que, para ambas as determinações, as percentagens de recuperação indicam que não têm evidência de erro sistemático nos resultados. Sendo assim, o método proposto é adequado para a quantificação do corante nessas matrizes e que os concomitantes presentes não interferem nas análises.

3.2.2. Determinação de permanganato de potássio em medicamentos

O mesmo estudo do perfil espectral, feito para análise do corante das amostras de refrigerantes e bebidas energéticas, foi realizado para o permanganato de potássio. Na **Figura 3.10**, são apresentados os espectros de absorção do padrão e de uma amostra de comprimido.



Figuras 3.10. Espectros de absorção do permanganato de potássio registrados com o instrumento HP. (—) solução padrão de 14 mg L^{-1} , (—) amostra.

Pode-se observar na **Figura 3.10** que a amostra apresenta o mesmo perfil espectral do permanganato de potássio na solução de calibração. Assim, a determinação desse analito nas amostras de fármaco pode ser realizada por meio de uma curva analítica obtida a partir dos sinais medidos no máximo de absorção ($\lambda_{\text{máx}}$). Com isso, as medidas de absorbância terão maior relação sinal/ruído, contribuindo para uma maior sensibilidade do método baseado no fotômetro proposto.

Os comprimidos não apresentavam exatamente 100 mg, conforme especificado na embalagem, por essa razão, vinte comprimidos foram pesados individualmente e tomada a média das massas. Assim, as massas a serem estimadas encontram-se especificadas na **Tabela 3.13**.

Tabela 3.13. Valores médios das massas (mg) dos comprimidos de permanganato de potássio.

Amostras	Massa (mg)
1	107,6
2	104,3
3	99,7
4	99,6
5	98,4
6	107,3
7	99,1
8	105,6
9	101,0
10	100,0

Na **Tabela 3.14**, são mostrados os resultados da quantificação do permanganato de potássio no equipamento proposto e comercial. Pode-se observar a similaridade entre os resultados obtidos por ambos os métodos. A aplicação do teste *t* emparelhado revelou que não há diferença sistemática, estatisticamente significativa, entre os resultados ao nível de 95% de confiança.

Tabela 3.14. Valores médios (n=5) das massas (mg) estimadas das amostras (medicamentos de permanganato de potássio), utilizando o fotômetro proposto e o comercial.

Amostras	Fotômetro	Micronal	Erro absoluto
Fármacos			
1	107,2±0,5	107,4±0,8	-0,2
2	104,7±0,6	104,9±0,6	-0,2
3	99,2±0,5	98,8±0,4	0,4
4	99,9±0,4	99,6±0,5	0,3
5	98,9±0,7	98,1±0,6	0,8
6	107,1±0,7	106,5±0,6	0,6
7	101,1±0,4	101,0±0,6	0,1
8	105,6±1,2	105,7±0,9	-0,1
9	100,5±1,3	100,6±0,6	-0,1
10	99,6±1,1	99,8±0,8	-0,2
DPC*	0,54	0,42	

*DPC - Desvio Padrão Conjunto

O teste de hipóteses, pode ser corroborada pelo teste *t* emparelhado, baseado no intervalo de confiança construído para o valor de Δ . Para o nível de 95% de confiança, os limites desse intervalo são:

$$\Delta = [-0,1356; 0,4170]$$

Observa-se que o intervalo contém o valor "zero", evidenciando que não existe diferença sistemática estatisticamente significativa entre os resultados ao nível de confiança adotado. Logo, a hipótese nula de $\Delta = 0$ não pode ser rejeitada. Esses testes estatísticos reforçam a inferência de que há uma boa concordância entre os valores obtidos por ambos os métodos analíticos. Além disso, a similaridade entre os resultados também se manifesta em termos de precisão. De fato, os valores do desvio padrão relativo (DPR %) foram menores que 2% para ambos os métodos.

3.2.2.1 – Teste de Recuperação do permanganato

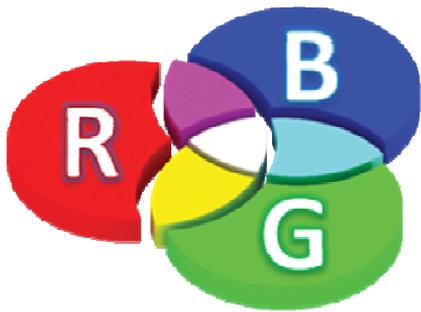
O teste de recuperação foi também avaliada na determinação do permanganato de potássio nas amostras de comprimido, empregando ambos os instrumentos (proposto e referência). Os valores obtidos para a percentagem de recuperação são apresentados na **Tabela 3.15**.

Tabela 3.15. Resultados dos testes de recuperação (%) na determinação do permanganato de potássio nas amostras de comprimido.

Amostras	Fotômetro proposto	Fotômetro Micronal
Fármacos		
1	102,3±1,4	99,3±1,7
2	101,2±1,6	103,2±1,5
3	99,1±1,2	98,5±1,3
4	102,4±1,4	103,4±1,5
5	98,5±1,3	100,3±1,5
6	99,1±1,7	98,4±1,4
7	102,3±1,4	101,5±1,6
8	99,2±1,5	102,3±1,4
9	101,4±1,4	99,5±1,7
10	101,3±1,6	98,7±1,6

Pode-se notar na **Tabela 3.15** que foram obtidos valores próximos a 100% nos testes de recuperação. Isso indica que os resultados não foram afetados por erros sistemáticos na quantificação de permanganato de potássio nos comprimidos. Por conseguinte, o fotômetro e método propostos são adequados para determinação de permanganato de potássio nas amostras de medicamento estudadas.

CAPÍTULO 4



CONCLUSÕES

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi desenvolvido um fotômetro a base de LED-RGB, portátil e de baixo custo, empregando um microcontrolador Arduino como unidade de controle e aquisição de dados para medidas espectrométricas na região do visível; possibilitando assim, a simplicidade da eletrônica dos circuitos dos LEDs e do detector no Arduino, a facilidade de montagem, manutenção e operação.

O desempenho do instrumento proposto foi atestado por meio da quantificação do corante AC em bebidas não alcoólicas (refrigerantes e energéticos) e de permanganato de potássio em medicamentos. Além disso, seu desempenho foi comparado ao instrumento comercial(micronal). A aplicação do teste t emparelhado revelou que não existe diferença sistemática, estatisticamente significativa ao nível de 95% de confiança, entre os resultados obtidos por ambos os instrumentos.

Os modelos das curvas analíticas para ambas as determinações foram validados mediante a aplicação da ANOVA, envolvendo testes de F de falta de ajuste e de significância estatística da regressão. Segundo a ANOVA, os modelos lineares postulados não apresentaram evidência estatística de falta de ajuste e expressam uma regressão altamente significativa.

Em todas as aplicações, o fotômetro proposto produziu resultados satisfatórios com desempenho em termos de sensibilidade, limites de detecção e quantificação similares ao do instrumento de referência.

O fotômetro proposto pode ser utilizado em outras aplicações analíticas que envolvem determinações colorimétricas e que respondam nos comprimentos de onda do LED-RGB, sem a necessidade de modificações em sua configuração física e no programa de aquisição de dados.

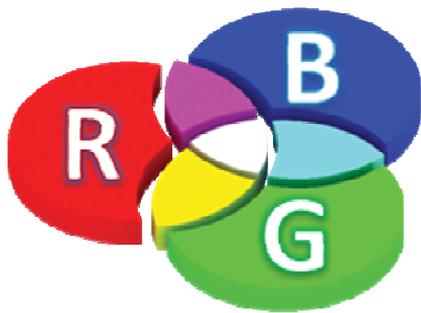
O instrumento proposto pode ser uma alternativa economicamente viável para análises espectrométricas, especialmente em laboratórios

didáticos com poucos recursos financeiros e carentes de pessoal altamente qualificado na área de eletrônica. Essas potencialidades se justificam tendo em vista a sua simplicidade, performance analítica, bem como pelo uso de uma plataforma de prototipagem eletrônica (Arduino) de fácil manuseio e baixo custo.

4.1 Proposta futura

Os estudos realizados para avaliar a eficiência do fotômetro desenvolvido neste trabalho, não levaram em consideração os estudos envolvendo o LED vermelho. Desta forma, como proposta futura para a melhoria do fotômetro LED-Vis, deverá ser realizada uma investigação das espécies absorventes na região de 630 nm.

CAPÍTULO 5



REFERÊNCIAS

5. REFERÊNCIAS

- [1] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A.; Princípios de Análise Instrumental, 5ª Ed., Bookman: Porto Alegre, **2002**
- [2] NASCIMENTO, J. A.; DIONÍSIO, A. G. G.; NASCIMENTO, E. C. L.; FREITAS, S. K. B.; ARAÚJO, M. C. U.; Análise Screening de Vinhos Empregando Um Analisador Fluxo-Batelada, Espectroscopia Uv-Vis e Quimiometria. Quím. Nova. **33: 351, 2010**
- [3] SILVA, I. K. V.; SOUZA, S. P. M. C.; COSTA, A. P. S.; MELO, J. V.; Desenvolvimento de um Fotômetro Multi-led para Aplicação em Ensino de Química de análise. Quím. Nova. **25: 1003, 2002.**
- [4] DASGUPTA, P. K.; BELLAMY, H.S; LIU, H.; LOPEZ, J. L; LORRE, E. L., MORRIS, K.; PETRESERN, K; MIR, K. A.; Light emitting diode based flow-trought optical absorption detectors. Talanta. **40: 53, 1993.**
- [5] DASGUPTA, P. K.; EOMI, I.; LI, J.; Light emitting diode based detectors. Absorbance, Fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-trough cell. Anal. Chem. Acta. **500: 337, 2003.**
- [6] ARAÚJO, M. C. U.; SANTOS, S. R. B.; SILVA, E. A.; VÉRAS, G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. S.; Um Fotômetro de Fluxo para Análises Clínicas a Base de um Diodo Emissor de Luz Bicolor, Quím. Nova. **20, 1997.**
- [7] ARDUINO. Arduino. Disponível em: < <http://www.arduino.cc/>>. Acessado em: janeiro **2014.**
- [8] Capítulo1. Eletromagnética radiação e o espectro eletromagnético Comprehensive, Analytical Chemistry. **35: 1, 2001.**
- [9] ANDREWS, D. L. Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry. 2ª Edition. **451, 1999.**
- [10] BROWN, T.L.; LEMAY Jr, H.E.; BURSTEN, B.E.; BURDGE, J.R. Química: a ciência central. Tradução de Robson Mendes Matos. 9ª Ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, **2005.** 972p. Título original: Chemistry – The central Science.
- [11] WILLARD, H.; MERRIT Jr.; DEAN, J. Análise instrumental, Fundação Calouste Gulbenkian, 2ª Ed., Lisboa, **1979.**

- [12] OHLWEILER, O. A. "Fundamentos de Análise Instrumental" - Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, Brasil, **1981**.
- [13] SILVA, C. C.; MARTINS, R. A. Newton's color theory: an example of the use of the History of Science in classroom situations. *Ciência & Educação*. **9: 53, 2003**
- [14] NUNES, P. G. A.; Uma Nova Técnica para seleção de variáveis em calibração Multivariada Aplicada as Espectrometrias UV-VIS e NIR. João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, Tese de Doutorado, 106p, **2008**.
- [15] HARRIS, D.C., BONAPACE, J.A.P., BARCIA, O.E. Análise Química Quantitativa. 6ª Ed., editora LTC, **2005**.
- [16] CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos, 2ª Ed., p.189-207, Campinas, SP: Editora da Unicamp, **2003**.
- [17] CROUCH, S.R.; HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A. Princípios de análise instrumental, 6ª Ed., Porto Alegre, Bookman, **2009**.
- [18] GAIÃO, E. N.; MEDEIROS, E. P.; LYRA, W. S.; MOREIRA, P. N. T.; VASCONCELOS, P. C.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U. desenvolvimento de um fotômetro multi-led microcontrolado, portátil e de baixo custo. *Quím. Nova*. **8: 1102, 2005**.
- [19] UGUCIONE, C.; CARDOSO, A. A. Flow cell within an LED: a proposal for an optical absorption detector. *Anal. Bioanal. Chem.* **389, 2007**.
- [20] FONSECA, A. Desenvolvimento de um fotômetro multicanal baseado em um arranjo de diodos emissores de luz. Campinas, Programa de pós-graduação em química, Unicamp, Dissertação de Mestrado, **2004**.
- [21] ZANCO. W. S.; *Eletrônica básica*, **2006**
- [22] RODRIGUES, C. R. B. S.; contribuições ao uso de diodos emissores de luz em iluminação pública. Juiz de Fora, Programa de Pós-Graduação em Química, UFJF, Tese de Doutorado, 216p, **2012**.
- [23] NETO, J. G. V.; Um Espectrômetro Microcontrolado Baseado em LED Branco como Fonte de Radiação e Mídia de CD como Grade de Difração. João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, Tese de Doutorado, 116p, **2008**.
- [24] GURNETT, K.W. The light emitting diode (LED) and its application. *Microelectronics Journal*, **27: 37, 1996**.
- [25] HALL, R.N.; FENNER, G.E.; KINGSLEY, J.D.; SOLTYS, T.J.; CARLSON, R.O. Coherent light emission from GaAs junctions. *Physical Review Letters*. **9: 366, 1962**.

- [26] HOLONYAK, N.; BEVACQUA, S. F. Coherent (visible) light emission from Ga(As_{1-x}P_x) junctions. *Applied Physics Letters*. **1: 82, 1962.**
- [27] GHANG, M-H; DAS. D; VARDE.P. V; PECHT, M. Light emittion diodes reliability review. *Microelectronics Reliability*. **52: 762, 2012.**
- [28] XIE, W.; GRUB, D. C.; KOBAYASHI, M.; HE, L. GUNSHOR, R. L.; JEON, H.; DING, J.; NURMIKKO, A.V.; HUA, G. C.; OTSUKA, N. Blue and blue/green laser diodes and LED-based display devices. *Journal of Crystal Growth*. **127: 287, 1993.**
- [29] YAM, F.K.; HASSAN, Z. Innovative advances in LED technology. *Microelectronics Journal*. **36: 129, 2005.**
- [30] TIAN, K.; DASGUPTA, S. J.; CALDWELL, J. *Process Anal. Chem.* **5:115, 2000.**
- [31] O´TOOLE, M.; DIAMOND, D. Absorbance based light emitting diode optical sensors and sensing devices. *Sensors*. **8: 2453, 2008.**
- [32] UNICAMP, Laboratório de iluminação. Benefícios no uso dos LEDs. Disponível em <<http://www.iar.unicamp.br/lab/luz/dicasemail/led/dica36.htm>>. Acessado em: 03 janeiro **2014.**
- [33] SANTOS, S .R. B. Um sensor a base de led e fototransistor adaptado no injetor proporcional para detecção multilocalizada em FIA, João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, Dissertação de Mestrado, 114p, **1998.**
- [34] KRAMES, M. R.; SHCHEKIN, O. B.; MUELLER-MACH, R.; MUELLER, G. O.; ZHOU, L.; HARBERS, G. et al. Status and future of high-power light-emitting diodes for solid-state lighting. *J Disp Technol*. **3:160, 2007**
- [35] Steigerwald DA, Bhat JC, Collins D, Fletcher RM, Holcomb MO, Ludowise MJ, et al. Illumination with solid state lighting technology. *IEEE J Sel Top Quant Electron*. **2:310, 2002.**
- [36] Steranka FM, Bhat J, Collins D, Cook L, Craford MG, Fletcher R, et al. High power LEDs – technology status and market applications. *Phys Status Solidi A*. **8:194, 2002.**
- [37] Schubert EF, Kim JK, Luo H, Xi J-Q. Solid-state lighting-a benevolent technology. *Rep Prog Phys* **69:3069, 2006.**
- [38] AOYAMA, Y.; YACHI, T. An LED module array system designed for streetlight use. *IEEE Energy*. **2030:1, 2008.**

- [39] FLASCHIKA, H.; McKEITHAN, C.; BARNES, R.; Light emitting diodes and phototransistors in photometric modules; *Anal. Lett.* 6, 585, **1973**.
- [40] BETTERIDGE, D.; DAGLESS, E. L.; CAMPOS, B.; GRAVES, F.; *Analista*. **103: 897, 1978**.
- [41] SOROURADDIN, M. H.; SAADATI, A.; ROSTAMI, A.; SAADATI, A. M. A simple and portable multi-colour light emitting diode based photocolourimeter for the analysis of mixtures of five common food dyes. *Food Chemistry*. **127: 308, 2011**.
- [42] Mota, F. A. C.; Dissertação de mestrado intitulada: Desenvolvimento de um fotômetro com fins didáticos. Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, **2010**.
- [43] Pires, C. K. et al, Speciation of chromium in natural waters by micropumping multicommutated light emitting diode photometry. *Talanta*, 72: 1370, **2007**.
- [44] GAIÃO, E. N.; MEDEIROS, E. P.; LYRA, W. S.; MOREIRA, P. N. T.; VASCONCELOS, P. C.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U. desenvolvimento de um fotômetro multi-led microcontrolado, portátil e de baixo custo. *Quím. Nova*. **8: 1102, 2005**.
- [45] FONSECA, A.; JUNIOR, I. M. R. A multichannel photometer based on an array of light emitting diodes for use in multivariate calibration. *Anal. Chim. Acta*. **522: 223, 2004**.
- [46] GROS, N. spectrometer with microreaction chamber and tri-colour light emitting diode as a light source. *Talanta* **62: 143, 2004**.
- [47] CANTRELL, M. K.; INGLE, J. D.; The slim spectrometer. *Anal. Chem.* **75: 27, 2003**.
- [48] DASGUPTA, P. K.; LI, Q.; MORRIS, K. J; RAIMUNDO Jr, I. M.; TEMKIM, H. Portable flow-injection analyser with liquid-core waveguide based fluorescence, luminescence, and long path absorbance detector. *Anal. Chim. Acta*. **479: 151, 2003**.
- [49] ROCHA, F.R.P.; REIS, B.F. A flow system exploiting multicommutation for speciation of inorganic nitrogen in waters. *Anal. Chim. Acta*, **409: 227, 2000**
- [50] HAUSER, P. C.; RUPASINGHE, T. W. T.; CATES, N. E. A MULTI wavelength photometer based on light-emitting diodes. *Talanta*. **42: 605, 1995**.

- [51] TROJANOWICZ, M.; SZPUNAR-LOBINSKA, J.; MICHALSKI, Z. Multicomponent analysis with a computerized flow injection system using LED photometric detection. *Mikrochim. Acta.* **1: 159, 1991.**
- [52] AL-KADIA, T.; AL-TUWAIJIRIB. Z.; AL-OMRANA, A. Arduino Wi-Fi network analyzer. *Procedia Computer Science.* **21:522, 2013.**
- [53] ARDUINO. Arduino. Disponível em: < <http://www.arduino.cc/>>. Acessado em: janeiro **2014.**
- [54] PINTO, M. C. aplicação de arquitetura pedagógica em curso de robótica educacional com hardware livre, Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Informática, UFRJ, 158p, Dissertação de Mestrado, **2011.**
- [55] HERNANDES, H. X.; KALIL, F. Viabilidade da plataforma Arduino e do protocolo ZigBee na elaboração de redes de sensores sem fio (RSSF). *IMED,* **2013.**
- [56] GAMESH. Arduino. Brasil Robotics. Disponível em <<http://brasilrobotics.blogspot.com.br/search/label/Arduino>>. Acessado em: janeiro **2014.**
- [57] SEBESTA, R. W. Conceitos de linguagem de programação. 4ª Ed. Rio de Janeiro: Alta Books, **2000.**
- [58] CHAVES, A. M.; SILVA, G. proposta de uma arquitetura de software e funcionalidades para implementação de um ambiente integrado de desenvolvimento para a linguagem PHP. I Jornada Científica e VI FIPA do CEFET Bambuí /MG, **2008.**
- [59] CASARELLA, E. ambientes integrados de desenvolvimento em linguagem C. Disponível em <<http://linguagemc.com.br/ambientes-integrados-de-desenvolvimento-em-linguagem-c/>>. Acessado em: janeiro de **2014.**
- [60] SILVA, J.A., Arduino-cartilha para programação em C, Ed. 1.0, **2012.**
- [61] PRADO, A. M.; GODOY. H. T., Corantes Artificiais em Alimentos. Alimento Nutritivo., Araraquara. **14: 237,2003.**
- [62] ANTUNES, L. M. G.; ARAÚJO, M. C. P. Mutagenicidade e antimutagenidade dos principais corantes para alimentos. *Revista de Nutrição.* **13: 81, 2000.**

- [63] SANTOS, M. L. análise simultânea dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo por espectrofotometria Uv-Vis empregando-se métodos de calibração multivariada. Ponta Grossa, dissertação, 103p, **2005**.
- [64] DELGIOVINE, L.; BOCCA, A. P. Determination of synthetic dyes in ice-cream by apillary electrophoresis. Food Control. **14: 131, 2003**.
- [65] DIRETIVA 95/45/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 26 de Julho de 1995. Diário Oficial das Comunidades Europeias, **1995**.
- [66] INFRAMED. Permanganato de potássio, folheto informativo, 2006. Disponível em <http://www.infarmed.pt/infarmed/download_ficheiro.php?med_id=6818&tipo_doc=fi>. Acessado em: janeiro de **2014**.
- [67] SKOOG, D. A., et al., Fundamentos de Química Analítica, 8ª Ed., São Paulo:Thomson, **2006**.
- [68] MORITA, T. Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação com indicadores de segurança e de descarte de produtos químicos. 2ª Ed. São Paulo: Blücher, **2007**.
- [69] Farmacopeia Brasileira. Parte II, 5ª Ed., janeiro de **2010**.
- [70] ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4ª Ed. 1ª Ed. digital, SãoPaulo: Instituto Adolfo Lutz, **2008**.
- [71] BRITO, N. M.; et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente. **13: 129, 2003**.
- [72] Validation of analytical procedures: methodology. London: ICH (ICH Harmonised Tripartite Guideline), **1996**. 9 p. CPMP/ICH/281/95.
- [73] CURRIE, L. A.; SVEHLA, G. Nomenclature for the presentation of results of chemical analysis. Pure & Appl.Chem. **66: 595, 1994**.
- [74] AMARANTE Jr., O. P. de; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R. dos; VALE, M. L. B. F. Validação de métodos analíticos: uma breve revisão. Cad. Pesq: **12: 116, 2001**.
- [75] FERREIRA, A. A. C.; RIBEIRO, F. A. L.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R.; SCHNEIDER, R. P. planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. Quim. Nova. **31: 164, 2008**.

REFERÊNCIAS

[76] INIMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; Orientações sobre validação de métodos de ensaios, químicos, DOQ-CGCRE-008, **2003**.

[77] PIMENTEL, M. F; NETO, B. B. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. Quím. Nova. **19: 3, 1996**.

[78] BARROS NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S. e BRUNS, R. E. Como fazer experimentos. 4ª Ed., Editora bookman: Porto Alegre, **2010**.

[79] BADER, M. A Systematic Approach to Standard Addition Methods in Instrumental Analysis. Journal of Chemical Education. **57: 703, 1980**.