

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

PATRICIA FERNANDA FERREIRA LOVATO

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
QUANTIFICAÇÃO DE FERRO TOTAL EM SEDIMENTOS DE FUNDO POR
IMAGEM DIGITAL**

CURITIBA

2022

PATRICIA FERNANDA FERREIRA LOVATO

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
QUANTIFICAÇÃO DE FERRO TOTAL EM SEDIMENTOS DE FUNDO POR
IMAGEM DIGITAL**

**Development and validation of analytical methods for quantification of
total iron in bottom sediments by digital image analysis**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Curitiba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Química.

Área de Concentração: Química Analítica

Orientadora: Prof. Dra. Poliana Macedo dos Santos

CURITIBA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença



PATRICIA FERNANDA FERREIRA LOVATO

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE FERRO TOTAL EM SEDIMENTOS DE FUNDO POR IMAGEM DIGITAL

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Química Analítica.

Data de aprovação: 02 de Agosto de 2022

Dra. Poliana Macedo Dos Santos, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Dr. Alex Virgilio, Doutorado - Centro de Energia Nuclear Na Agricultura / Universidade de São Paulo (Cena/Usp)
Eder Lisandro De Moraes Flores, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 26/10/2022.

Dedico este trabalho aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a toda minha família, em especial ao meu esposo Cezar que me apoiou e não mediu esforços em todos os momentos na realização desta etapa. A minha filha Fernanda pela compreensão e amor neste período. A minha irmã Josiane e meus sobrinhos Ana Carolina e Guilherme por me apoiarem e serem compreensíveis nesta fase em que estive ausente. As minhas queridas amigas Júlia e Paola pelo incentivo diário durante esses anos.

Agradeço imensamente a Prof.^a Dr.^a Poliana Macedo dos Santos por todo conhecimento e ajuda durante realização deste estudo.

Agradeço ao meu amigo Gustavo, por toda paciência e contribuição nesses anos de mestrado.

Agradeço também aos professores Dr. Éder Lisandro de Moraes Flores e Dr. Marcos André Bechlin, membros da banca de Qualificação de Mestrado, pelos conselhos, sugestões e interesse em contribuir para desenvolvimento deste projeto.

Por fim agradecer imensamente a UTFPR, PPGQ e ao LAMAQ.

“Não me entrego sem lutar
Tenho, ainda, coração
Não aprendi a me render
Que caia o inimigo então”
(Legião Urbana)

RESUMO

LOVATO, Patricia Fernanda Ferreira. Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para quantificação de ferro total em sedimentos de fundo por imagem digital. Dissertação. Mestrado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2022.

Nos últimos anos, a busca por métodos analíticos que forneçam rapidez, portabilidade, baixo custo vem crescendo. Assim, a aplicação de procedimentos analíticos, tais como, *spot tests*, que são amplamente difundidos na química analítica, combinados com a análise por imagem digitais têm sido amplamente explorados. Neste contexto, este estudo teve como objetivo explorar a aplicação da análise por imagens digitais para a quantificação de ferro a partir da combinação das de reações colorimétricas com orto-fenantrolina e tiocianato e análise por imagens digitais. As imagens foram obtidas utilizando um scanner de mesa e os dados foram analisados no software Matlab. De acordo com os resultados obtidos, ambos os métodos analíticos apresentaram linearidade na faixa de 2,0 a 10,0 mg L⁻¹, utilizando o canal G. O método desenvolvido com a reação colorimétrica orto-fenantrolina apresentou um limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) igual a 0,33 e 1,1 mg L⁻¹, enquanto que os valores obtidos com o método com tiocianato foi 0,29 e 0,96 mg L⁻¹, respectivamente. A exatidão dos procedimentos analíticos foi verificada a partir da análise do material de referência certificado (MRC) de sedimento (NIST 8704). A partir de um teste t, com 95% de confiança, verificou-se que a concentração obtida com os métodos propostos não é estatisticamente diferente do valor de referência ($t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$). Os métodos foram aplicados para a análise de doze amostras de sedimento de fundo e os resultados foram comparados com os obtidos por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Os resultados apresentam boa concordância, com valores de erro relativo inferiores a 10%.

Palavras chaves: Sedimento. Ferro. Imagem Digital.

ABSTRACT

LOVATO, Patricia Fernanda Ferreira. Development and validation of analytical methods for quantification of total iron in bottom sediments by digital image analysis. Dissertation. Master in Chemistry. Federal Technological University of Paraná. Curitiba, 2022.

In recent years, the new trend in the development of portable, low cost and fast methods has been growing. Thus, the combination of colorimetric reactions with digital image analysis has been widely explored. In this context, this study presents a novel method for iron determination by the combination of spot test and digital image analysis. The methods are based on the colorimetric spot test reaction of the analyte with ortho-phenanthroline and thiocyanate. Digital images were acquired using a flatbed scanner and converted to RGB values in Matlab software. According to the results, both analytical methods showed linear responses in the 2.0 - 10.0 mg L⁻¹ range using the G channel. The method developed with the ortho-phenanthroline showed a limit of detection (LOD) and quantification (LOQ) equal to 0.33 and 1.11 mg L⁻¹, respectively. Similar values were obtained for the method developed with thiocyanate (LOD = 0.29 mg L⁻¹ and LOQ = 0.96 mg L⁻¹). The accuracy of the methods was checked by analyzing certified reference material (CRM) (NIST 8704) and the results agreed at a confidence level of 95%. The methods were applied in the analysis of twelve samples of bottom sediment and the results were compared with those obtained by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). The results show good agreement, with relative error values within 10%.

Keywords: Sediment. Iron. Digital Image Analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação do modelo de cores RGB	18
Figura 2. a) Triângulo de cores do modelo HSV e b) Cubos de cores do modelo RGB	18
Figura 3. Sólido de cores do modelo HSV	19
Figura 4. Representação dos acessórios utilizados para aquisição de imagens digitais	25
Figura 5. Representação da reação entre Fe^{2+} com orto-fenantrolina	29
Figura 6. Espectro UV-Vis complexo $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ e as curvas dos canais de cores R, G e B.....	29
Figura 7. Curvas analíticas de ferro com reagente colorimétrico orto-fenantrolina na faixa de concentração de 0,0 a 14 mg L^{-1} para os canais de cores a) R, b) G e c) B.....	30
Figura 8. Curvas analíticas de ferro com o reagente colorimétrico orto-fenantrolina na faixa de concentração de a) 0,2 - 1,0 mg L^{-1} e b) 2,0 - 10,00 mg L^{-1}	31
Figura 9. Imagem da curva analítica obtida com o reagente colorimétrico orto-fenantrolina na faixa de concentração de a) 0,2 - 1,0 mg L^{-1} e b) 2,0 - 10,0 mg L^{-1}	32
Figura 10. Espectros UV-Vis e curva analítica obtidos com as soluções de ferro de 1,5 - 10 mg L^{-1} com o reagente colorimétrico orto-fenantrolina	33
Figura 11. Espectro UV-Vis complexo $\text{Fe}(\text{III})\text{-SCN}$ e as curvas dos canais de cores R, G e B.....	36
Figura 12. Curvas analíticas de ferro com reagente colorimétrico tiocianato na faixa de concentração de 0,0 a 16 mg L^{-1} para os canais de cores a) R, b) G e c) B.....	37
Figura 13. Curvas analíticas de ferro com o tiocianato na faixa de concentração de a) 0,2 - 1,0 mg L^{-1} e b) 2,0 - 10,00 mg L^{-1}	38
Figura 14. Imagem das curvas analíticas de ferro a) 0,2 - 1,0 mg L^{-1} e b) 2,0 - 10,0 mg L^{-1} obtidos com o método tiocianato	39
Figura 15. Espectros UV-Vis e curva analítica obtida com as soluções de Fe de 2,0 a 10,0 mg L^{-1} para o reagente colorimétrico tiocianato.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação granulométrica dos sedimentos.....	15
Tabela 2. Parâmetros instrumentais do ICP OES	26
Tabela 3. Análise da Variância.....	27
Tabela 4. Resultados da análise ANOVA com relação a regressão do método por imagem digital utilizando o reagente colorimétrico orto-fenatrolina.....	32
Tabela 5. Comparação dos resultados obtidos para quantificação de ferro em amostras de sedimento por imagem digital (orto-fenantrolina) e ICP OES	34
Tabela 6. Comparação dos métodos analíticos para quantificação de ferro por imagem digital utilizando a reação colorimétrica orto-fenantrolina.....	35
Tabela 7. Resultados da análise ANOVA com relação a regressão do método por imagem digital utilizando o reagente colorimétrico tiocianato.....	39
Tabela 8. Comparação dos resultados obtidos para quantificação de ferro em amostras de sedimento por imagem digital (método tiocianato) e ICP OES.....	41
Tabela 9. Comparação dos métodos analíticos para quantificação de ferro por imagem digital utilizando a reação colorimétrica com tiocianato	42
Tabela 10. Comparação dos resultados obtidos para quantificação de ferro em amostras de sedimento por imagem digital com o método orto-fenantrolina e tiocianato.....	42

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CMYK	Ciano, Magenta, Amarelo e Preto
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CV	Coefficiente de variação
Dpi	Pontos por polegada
DPR	Desvio padrão relativo
FAAS	Espectrometria de absorção <i>atômica</i> com chama
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HSI	Matiz, Saturação e Intensidade
HSV	Matiz, Saturação e Valor
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado
JPEG	<i>Joint Photographic Expert Group</i>
LIBS	Epectroscopia de emissão <i>atômica</i> em plasma induzido por laser
LOD	<i>Limite de detecção</i>
LOQ	Limite de quantificação
MIP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas
MRC	Material de referência certificado
PA	Para análise
RGB	Vermelho, Verde e Azul
RSD	Desvio padrão relativo
TXRF	Espectroscopia de fluorescência de raios X por reflexão total
Uv	Ultravioleta
Vis	Visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1. SEDIMENTOS.....	14
2.2. IMAGEM DIGITAL.....	16
2.2.1. APLICAÇÕES DE IMAGENS DIGITAIS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS	20
3. OBJETIVOS	23
3.1. OBJETIVOS GERAIS.....	23
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
4. MATERIAS E MÉTODOS	23
4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES	23
4.2 AMOSTRAS	24
4.3 PREPARO DE AMOSTRA	24
4.4 MÉTODO ORTO-FENANTROLINA	24
4.5 MÉTODO TIOCIANATO DE POTÁSSIO.....	25
4.6 AQUISIÇÃO E ANÁLISE DE IMAGENS DIGITAIS	25
4.7 ANÁLISE POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS	26
4.8 ANÁLISE POR ICP OES.....	26
4.9 VALIDAÇÃO.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1. MÉTODO ORTO-FENANTROLINA.....	28
5.2 MÉTODO TIOCIANATO.....	36
5.3 COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE FERRO EM SEDIMENTOS.....	42
6. CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a busca por métodos analíticos que fornecem portabilidade, baixo custo e eficiência na determinação de analitos vem crescendo. Neste contexto, a química analítica desempenha um importante papel por ser responsável pelo desenvolvimento e proposição de novos procedimentos de análises em diversas áreas.

Em meio aos procedimentos analíticos bem estabelecidos para quantificação de metais em amostras ambientais destaca-se as técnicas espectroanalíticas de absorção e emissão atômica, como espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*), espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) e espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*). Apesar das vantagens apresentadas por estas técnicas, elas apresentam como principais desvantagens o alto custo do equipamento e manutenção. Além disso, para realização das análises utilizando as técnicas de emissão atômica (ICP OES e ICP-MS), o elevado custo de argônio acaba sendo um fator limitante.

Nos últimos anos, procedimentos analíticos, tais como, *spot tests*, que são amplamente difundidos na química analítica, combinados com a análise por imagem digitais têm sido amplamente explorados (FERNANDES et al. 2020). As imagens podem ser obtidas através do uso de câmeras digitais, scanner de mesa ou de um simples celular. Essa metodologia pode trazer inúmeros benefícios para as análises, entre eles, baixo custo de implementação, fácil manuseio, portabilidade e menor geração de resíduos.

Neste contexto, este estudo tem como objetivo explorar a aplicação da análise química por imagens digitais para a quantificação de ferro associado as reações colorimétricas com orto-fenantrolina e tiocianato. O ferro, um dos metais presentes no sedimento de fundo, é considerado um elemento fundamental no equilíbrio do corpo humano e vegetal, no entanto, quando em excesso pode resultar retardo no desenvolvimento. Os procedimentos desenvolvidos foram aplicados em amostras de sedimento de fundo e os resultados comparados com os obtidos por ICP OES.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. SEDIMENTOS

Sedimentos são camadas de partículas minerais e orgânicas, frequentemente de granulometria fina, que são encontrados no fundo de corpos de água naturais como lagos, rios e oceanos (BAIRD; CANN, 2011). Sua composição varia de matéria mineral pura ao predomínio de matéria orgânica (MANAHAN, 2005). Os sedimentos são de grande importância ambiental por serem depositantes de muitos produtos químicos, principalmente metais pesados e compostos orgânicos. Portanto, o monitoramento da qualidade dos sedimentos é um dos componentes de qualquer atividade de gestão da água (BAIRD; CANN, 2011). Além disso, uma importância especial é a transferência de espécies químicas dos sedimentos para as cadeias alimentares aquáticas mediada por organismos que passam expressiva parte de seus ciclos de vida em contato com sedimentos ou vivendo neles. Entre eles estão os diversos tipos de crustáceos (camarão, lagostim, caranguejo), moluscos, além de uma variedade de vermes, insetos e organismos menores que causam preocupação especial por se localizarem na base da cadeia alimentar (MANAHAN, 2005).

As fontes de contaminação dos sedimentos podem ser classificadas em dois grupos distintos: litogênicos e antropogênicos (ROCHA et al., 2009). O primeiro é formado pelas espécies presentes nos solos e rochas da região, ou seja, origem natural. São exemplos de fonte naturais os processos físicos e químicos como intemperismo, atividade vulcânica e carreamento de solo e de rochas. O segundo é constituído pelas espécies introduzidas pela ação do homem no meio e são os responsáveis pelas alterações causadas à biota, ou seja, origem antropogênica. Como exemplo de fontes antropogênicas temos os descartes de efluentes urbanos, industriais, agropecuárias, praguicidas, queima de combustíveis etc.

A legislação brasileira que se refere a sedimentos é a Resolução Conama nº 454, de 1 de novembro de 2012 (CONAMA, 2012). Esta resolução apresenta planejamento detalhado da amostragem do material a ser dragado, explicitando a metodologia de coleta (número de amostras, localização dos pontos de coleta e equipamentos a serem utilizados na coleta), formas de identificação, de armazenamento e preservação e transporte das amostras.

As características físicas básicas do material a dragar incluem volume do material a ser dragado e a distribuição granulométrica, de acordo com classificação indicada na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação granulométrica dos sedimentos

Classificação	Phi (ϕ)*	(mm)
Areia muito grossa	-1 a 0	2 a 1
Areia grossa	0 a 1	1 a 0,5
Areia média	1 a 2	0,5 a 0,25
Areia fina	2 a 3	0,25 a 0,125
Areia muito fina	3 a 4	0,125 a 0,062
Silte	4 a 8	0,062 a 0,00394
Argila	8 a 12	0,00394 a 0,0002

*Phi (ϕ) corresponde à unidade de medida em diâmetro da partícula do sedimento, cuja equivalência em milímetros (mm) é apresentada na coluna 3 da Tabela 1.

A caracterização química do material a dragar deve determinar as concentrações das substâncias poluentes contidas na fração total da amostra. Para disposição em solo, a comparação dos resultados deve ser realizada com os valores nacionais estabelecidos na Resolução Conama nº 420 de 28 de dezembro de 2009 (CONAMA, 2009). Esta resolução estabelece critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. A resolução consiste em estabelecer limites de concentração de contaminantes para solo e água subterrânea, os quais foram estabelecidos com base em ensaios de fitotoxicidade ou em avaliação de risco ecológico. Valores de prevenção (VP) e valores de intervenção (VI) são apresentados, onde VP é a concentração de determinada substância, acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais à qualidade do solo e da água subterrânea e VI é a concentração de determinada substância no solo ou na água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, considerado um cenário de exposição genérico (CETESB, 2001). Ao todo são estabelecidos valores de concentrações para vinte metais, além dos compostos orgânicos.

A quantificação de metais em sedimentos é frequentemente realizada através das técnicas espectroanalíticas de absorção e emissão atômica, como espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS, do inglês *flame atomic absorption*

spectrometry) (SAFAROVA et al., 2011) e espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) (LARIOS et al., 2012; PROCH, NIEDZIELSKI, 2021). Recentemente, procedimentos analíticos também têm sido propostos com a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES, do inglês *Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*) (SERRANO et al., 2022; PROCH, NIEDZIELSKI, 2021). A principal vantagem do MIP OES em relação a ICP OES é a utilização do gás nitrogênio em vez de argônio reduzindo custo. No entanto, devido à complexidade das amostras, e a necessidade de obter soluções líquidas homogêneas, as análises com as técnicas espectroanalíticas de absorção e emissão atômica necessitam de uma etapa de preparo da amostra, consumindo reagentes e gerando resíduos.

Uma outra técnica analítica que tem sido explorada na análise de metais em sedimentos é a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS, do inglês *laser-induced breakdown spectroscopy*) (HARMON et al., 2013). Uma das características mais atrativas da LIBS é a possibilidade da análise direta com o mínimo ou nenhum preparo de amostras.

Apesar destas técnicas espectroanalíticas serem amplamente utilizadas em análises de rotina, as mesmas apresentam como principais desvantagens o alto custo do equipamento e manutenção, principalmente as técnicas de emissão atômica. Diante deste contexto, este projeto de mestrado teve como objetivo propor um método simples, rápido e barato para quantificação de ferro em amostras de sedimento a partir da análise de imagens digitais.

2.2. IMAGEM DIGITAL

Uma imagem digital é a conversão de uma cena real de uma área delimitada através de dispositivos de captura de imagem que geralmente utilizam sensores sensíveis a qualquer comprimento de onda na região visível do espectro eletromagnético (MARQUES FILHO; VIERA NETO, 1999). Esses dispositivos convertem uma cena de três dimensões em duas dimensões em um arquivo com informações espaciais e espectrais. A área delimitada é dividida em quadrados e pode ser representada de forma matricial. Essa matriz é composta de n linhas e m colunas, cada elemento dessa matriz denomina-se *pixel* (abreviação de "*Picture element*"). De

maneira geral, quanto maior a quantidade de pixels presentes na imagem digital, maior será sua qualidade quando ampliada.

As imagens digitais podem ser coloridas ou monocromáticas. O número de tons que uma imagem digital pode apresentar depende da profundidade de cor, termo denominado de *color depth*. Quanto maior a quantidade da profundidade da cor presente na imagem, maior é a escala de cores disponível. como mostra a equação 1.

$$2^n = \text{número de tons} \quad \text{equação 1}$$

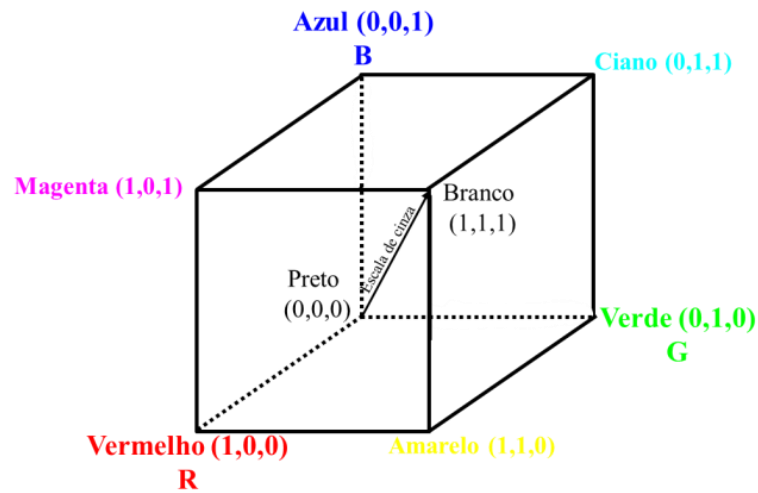
onde n representa a profundidade de cor.

Desta forma, uma imagem digital de profundidade de cor $n = 1$, é formada por apenas dois tons, se $n = 2$ a imagem é formada por 4 tons e assim sucessivamente.

As imagens digitais também podem ser classificadas quanto a sua forma de armazenar as informações através da representação numérica dos pixels. Assim, uma imagem pode ser binária (*black e white*), em tons de cinza (*grayscale*), coloridas indexadas (*indexed*) ou RGB (*truecolor*) (GONZALEZ, WOODS, 2000). Uma imagem binária contém apenas dois valores discretos de intensidade (I) para representar os pixels, sendo eles $I = 0$ (representa a cor preta) e $I = 1$ (representa a cor branca). Uma imagem em nível de cinza possui valores de intensidade entre 0 e 1, onde os valores intermediários representam diversos tons de cinza. Usualmente, estas imagens têm uma profundidade de 8 bits. Isto significa que os pixels podem apresentar 256 tons – entre 0 (preto) e 255 (branco). Uma imagem digital indexada é aquela cujo valor dos pixels contém os índices das cores: vermelho, verde e azul. Esta imagem é formada por uma matriz de dimensão $m \times 3$, onde cada linha m especifica as quantidades dos componentes em vermelho, verde e azul da cor.

Nas imagens RGB cada pixel também possui três valores pertencentes às cores primárias vermelho, verde e azul. No entanto, este tipo de imagem é formada por um arranjo de dimensão $m \times n \times 3$, em que cada matriz apresenta os valores referentes às cores primárias. As imagens RGB normalmente são de 24 bits (8 bits para cada cor), totalizando cerca de 16 milhões de cores ($256^3 = 16.777.216$) (GONZALEZ, WOODS, 2000). Este modelo pode ser representado na forma de um cubo, onde três de seus vértices correspondem às cores vermelho, verde e azul (Figura 1). O vértice da origem corresponde a cor preta (ausência de cor) e o afastado da origem a cor branca (mistura de todas as cores).

Figura 1. Representação do modelo de cores RGB

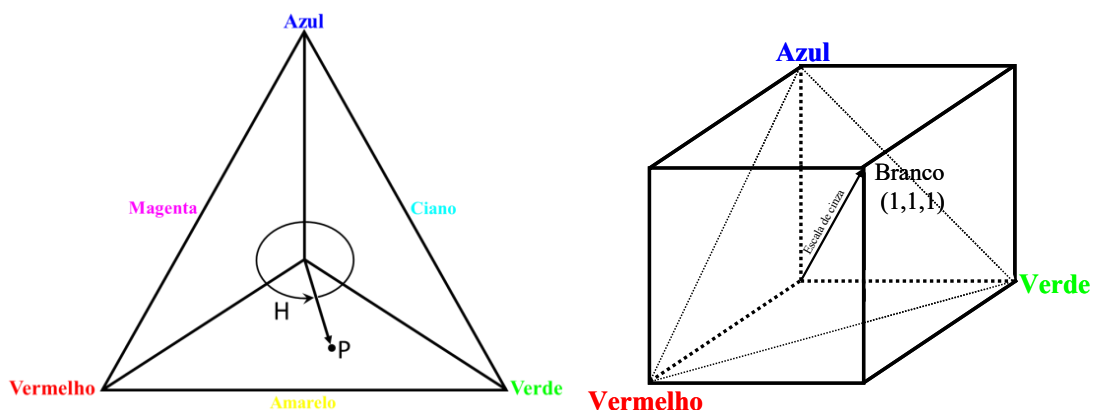


Fonte: SANTOS (2013)

Outro modelo que pode ser utilizado nas análises de imagem digital é o modelo HSI. Este modelo fornece informações de como percebemos as cores. A matriz é definida como o comprimento de onda dominante do objeto, ou seja, a cor percebida pelo observador. A saturação expressa a pureza da cor em relação a quantidade de luz branca. A intensidade é definida como a luminosidade ou escurecimento relativo da cor, onde no brilho mínimo temos a cor preta e brilho máximo a cor branca.

O modelo HSI pode ser representado como um triângulo de cores como ilustrado na Figura 2a, o qual é obtido a partir, de um corte transversal, no cubo de cores do modelo RGB (Figura 2b). Neste triângulo os vértices contêm as cores RGB e o centro corresponde à combinação destas cores em iguais proporções.

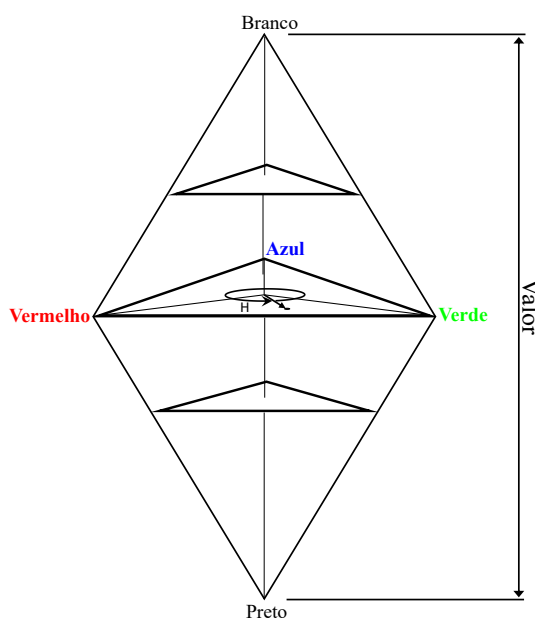
Figura 2. a) Triângulo de cores do modelo HSV e b) Cubos de cores do modelo RGB



Fonte: SANTOS (2013)

Na Figura 2a, o valor do H (*Hue*) no ponto P, corresponde ao ângulo do vetor da cor P em relação a cor vermelha. Assim, quando $H = 0^\circ$, a cor é vermelha, $H = 120^\circ$ é verde, $H = 240^\circ$ é azul e assim por diante. O valor da S (*Saturation*) no ponto P é a medida que a cor esta diluída pelo branco. Esta propriedade é proporcional à distância do ponto P até o centro do triângulo. Quanto mais distante o ponto P estiver do centro do triângulo, mais saturada (pura) será a cor. O valor é medido em relação a uma linha perpendicular ao triângulo, passando através do seu centro, conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3. Sólido de cores do modelo HSV



Fonte: SANTOS (2013)

A conversão do modelo RGB para o modelo HSV é facilmente obtida através de softwares matemáticos utilizando as equações mostradas a seguir.

$$V = \max(R, G, B) \quad \text{equação 2}$$

$$S = 1 - \frac{3}{R + G + B} [\min(R, G, B)] \quad \text{equação 3}$$

$$H = \cos^{-1} \left\{ \frac{1/2[(R - G) + (R - B)]}{[(R - G)^2 + (R - B)(G - B)]^{1/2}} \right\} \quad \text{equação 4}$$

onde min e max são o menor e o maior valor para as cores R, G e B, respectivamente.

Além dos modelos citados anteriormente, outros modelos podem ser utilizados para representação de cores, dentre eles: CMY (cyan, magenta, yellow), CMYK (variante do modelo CMY, onde K denota black), YCbCr (padrão normalizado pela recomendação ITU-R BT.601 e utilizado em várias técnicas de compressão de vídeo) e YIQ (padrão NTSC de TV em cores) (GONZALEZ, WOODS, 2000). No entanto, a maior parte das aplicações envolvendo as análises por imagens digitais baseiam-se no uso do modelo RGB as quais serão apresentadas a seguir.

2.2.1. APLICAÇÕES DE IMAGENS DIGITAIS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

As imagens nas escalas RGB apresentam diversas aplicações analíticas na área ambiental, tais como: determinação de nitrito, fosfato, cromo e fenol em amostras de água (KILIÇ et al. 2018), especiação de cromo em água (SAADATI, 2022; KHOSHMMARAM, MAHAMMADI, 2021), determinação de ferro (MASAWAT et al., 2017; ALTALHI et al. 2021), fluoreto (LEVIN et al., 2016), cálcio (LOPEZ-MOLINERO et al., 2013) e vanádio (NUNES et al., 2021) em água, dióxido de nitrogênio em ar (PASSARETTI FILHO et al., 2015), entre outros (BARROS et al., 2017; FIRDAUS et al. 2014; PHUANGSAIJAI et al., 2021; SANTOS et al., 2020). Estes estudos têm mostrado que com as informações de cores da imagem é possível associar a intensidade da cor de uma reação colorimétrica, por exemplo, com a concentração do analito. A aquisição das imagens tem sido realizada através de diferentes dispositivos eletrônicos (*e.g.*, câmeras fotográficas, scanners e celulares) que apresentam como principais vantagens o baixo custo, fácil acesso e portabilidade.

Lopez-Molinero et al. (2013) desenvolveram um método para quantificação de cálcio em amostras de água a partir da reação colorimétrica com glioxalbis-(2-hidroxianilo). As imagens foram obtidas utilizando uma câmera digital e os valores de RGB foram obtidos no software MATLAB 6.5 (Mathworks, Natick, MA, USA). Os melhores resultados foram obtidos utilizando o canal G, com uma faixa linear de 0,2 – 2,0 mg L⁻¹, limite de detecção (LOD) de 0,07 mg L⁻¹ e repetibilidade inferior a 6% (1,0 mg L⁻¹ de Ca). O método foi aplicado para quantificação de Ca em quatro amostras diferentes e os resultados obtidos foram comparados com a FAAS.

Khosmaram e Mohammadi (2021) propuseram um método para a especiação de cromo (III) e (IV) em água utilizando a reação colorimétrica entre cromo (IV) com difenilcarbazida formando um complexo de cor vermelho-púrpura. A quantificação de

cromo total foi realizada oxidando cromo (III) a cromo (IV). As imagens foram adquiridas utilizando uma câmera de celular e os valores de R, G e B extraídos no aplicativo ColorGrab. O método apresentou LOD e limite de quantificação (LOQ) de 0,9 e 3 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A exatidão do método foi verificada a partir de experimentos de adição e recuperação e por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*). De acordo com resultados obtidos, pode-se concluir que as recuperações foram aceitáveis (99-109%) e os resultados analíticos de cromo total nas amostras estudadas concordaram com os obtidos por GF AAS. Um método similar foi proposto por Saadati (2022). Em condições otimizadas, o método apresentou linearidade na faixa de concentração de 20 - 250 e 30 - 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cr(VI) e Cr(III), respectivamente. O método proposto foi aplicado com sucesso na especiação de cromo em amostras de água enriquecidas, com LOD de 5 e 7 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cr(VI) e Cr(III), respectivamente.

Passaretti Filho, Petrucci e Cardoso (2015) desenvolveram um método para a determinação de dióxido de nitrogênio via formação de corante vermelho violeta (reação de Griess-Saltzman). O NO_2 coletado foi pré-concentrado usando cartucho C-18 impregnado com trietanolamina, seguido de eluição com solução de metanol a 5%. Para a reação colorimétrica foi necessário apenas um volume de 300 μL de amostra contendo reagente, minimizando a geração de resíduos químicos. As imagens foram adquiridas utilizando uma impressa multifuncional e convertidas para a escala de cinza. O procedimento apresentou uma faixa linear de 5,1 - 100,0 ppb (9,4 - 188,0 mg m^{-3}), para uma taxa de fluxo de amostragem de 0,50 L min^{-1} e tempo de coleta de 60 min. O LOD foi de 5,0 ppb (9,6 mg m^{-3}). Os valores obtidos com o método proposto foram comparados com as concentrações obtidas utilizando um analisador comercial. A partir de um teste t pareado verificou-se que os resultados não eram estatisticamente diferentes.

Nunes et al. (2021) desenvolveram um procedimento para a determinação em vanádio em água. O método baseou-se na aplicação da microextração em gota única por imersão direta (DI-SMDE). As imagens foram obtidas diretamente no frasco de extração, com auxílio de uma câmera digital. O método apresentou um LOD de 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ e um LOQ de 1,8 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para confirmar a exatidão do método, análises foram realizadas utilizando o material de referência certificado (MRC) BCR-414 (Plankton) e a partir de um teste t verificou-se que os resultados obtidos não eram estatisticamente

diferentes. O método foi aplicado para quantificação de vanádio em seis amostras diferentes e as concentrações encontradas foram abaixo dos limites aceitáveis pela legislação brasileira.

Em relação as aplicações para determinação de ferro, na literatura podem ser encontrados diversos trabalhos aplicando a reação colorimétrica com orto-fenatrolina (Santos Neto et al., 2019; Mohamed e Shalaby, 2019; Masawat et al., 2017; Barros et al., 2017; Peng et al., 2017) e tiocianato (Firdaus et al., 2014; João et al., 2019). Por exemplo, Santos Neto et al (2019) utilizaram a reação entre Fe (II) com orto-fenatrolina na determinação de Fe (II) e (III) em amostras de vinho branco. As imagens foram adquiridas por uma webcam e os valores de RGB foram extraídos no software ImageJ. Os dados obtidos com o canal de cor azul apresentaram maior sensibilidade e por isso foram utilizadas nas aplicações analíticas. O procedimento foi aplicado para análise de seis amostras de vinho branco e apresentou um LOD e LOQ de 0,042 e 0,141 mg mL⁻¹, respectivamente.

Mohamed e Shalaby (2019) utilizaram esta mesma reação colorimétrica para realizar a quantificação de ferro em amostras de água do rio Nilo, solos, materiais vegetais e amostras de carne e fígado. As imagens digitais foram obtidas a partir de diversos dispositivos (câmera digital de alta e baixa resolução, smartphone e scanner) e analisadas no software ImageJ. Além do modelo de cor RGB, as análises também foram realizadas utilizando HSI e HSV. Para o modelo RGB, os melhores resultados foram obtidos com o canal G, com um LOD de 0,33 µg mL⁻¹ e faixa linear igual 0,1 a 3,0 µg mL⁻¹.

Masawat et al. (2017), Barros et al. (2017) e Peng et al. (2017) também aplicaram o reagente colorimétrico orto-fenatrolina para quantificação de Fe em amostras ambientais. No estudo desenvolvido por Peng et al. (2017), um ensaio simples e de baixo custo para quantificação de ferro total foi proposto utilizando a microextração líquido-líquido dispersivo (DLLME) juntamente com a análise de imagens. Após otimização, o procedimento apresentou uma faixa linear de 0,047 a 1,0 µg mL⁻¹, com LOD e LOQ iguais a 14,1 e 46,5 µg mL⁻¹, respectivamente.

A reação colorimétrica com tiocianato utilizada por João e colaboradores na quantificação de Fe (III) em amostras de etanol combustível (João et al., 2019). As imagens foram capturadas por um smartphone e analisadas pelo aplicativo Color Grab. O método apresentou uma resposta linear na faixa de concentração entre 0,5 e 10 mg L⁻¹, com LOD igual a 0,1 mg L⁻¹.

Firdaus et al. (2014) aplicou essa reação colorimétrica para determinação de ferro em águas. Para a análise das imagens obtidas, dois métodos diferentes de processamento foram testados: uni e multivariado. A partir dos resultados obtidos os autores verificaram que os modelos não apresentaram diferenças significativas. Quando comparado os resultados do método proposto com obtido por UV-Vis, o método não apresentou um bom limite de detecção que pode ser melhorado utilizando outro reagente colorimétrico como a orto-fenantrolina ou aplicando etapas iniciais de preparo da amostras, como co-precipitação que consiste na remoção de compostos solúveis com o precipitado, troca iônica removendo íons indesejados por íons equivalentes ou pré-concentração de resina quelante.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVOS GERAIS

Desenvolvimento e validação de procedimentos analíticos simples, rápidos e de baixo custo para quantificação de ferro total em sedimentos de fundo.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Desenvolver método para a determinar a concentração de Ferro total por meio da reação colorimétrica com orto-fenantrolina;
- b) Desenvolver método para a determinar a concentração de Ferro total por meio da reação colorimétrica com tiocianato;
- c) Comparar os resultados obtidos por imagem digital com o método de referência (ICP OES);

4. MATERIAS E METÓDOS

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Os seguintes reagentes foram utilizados nas análises: solução padrão de Ferro (III) 1000 mg L⁻¹, cloridrato de hidroxilamina PA (NH₂OH.HCl), acetato de amônio PA (NH₄C₂H₃O₂), ácido acético glacial PA (CH₃COOH), 1,10 fenantrolina monoidratada PA (C₁₂H₈N₂.H₂O), ácido nítrico PA (HNO₃), ácido clorídrico PA (HCl), tiocianato de

potássio PA (KSCN). O material de referência certificado (MRC) Buffalo River Sediment (NIST RM 8704) foi empregado para avaliar a exatidão dos procedimentos. Para análise de interferentes, utilizou-se um padrão multielementar contendo 19 elementos (Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, Sr e Zn) na concentração de 100 mg L⁻¹.

Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (Gehaka, Brasil) com resistividade inferior a 18,2 Ωcm⁻¹. Com o objetivo de evitar contaminação, frascos de vidros e polipropileno foram devidamente descontaminados em banho de HNO₃ 10% (v/v) por um período mínimo de 24 horas, seguidos por enxague com água ultrapura. A secagem ocorreu de modo natural em temperatura ambiente (25°C).

4.2 AMOSTRAS

Ao total foram analisadas 12 amostras de sedimento de fundo. Estas amostras foram coletadas na bacia do rio Paraná.

4.3 PREPARO DE AMOSTRA

Para o preparo de amostras, utilizou-se o micro-ondas da marca CEM, modelo MARS 5. Para digestão, aproximadamente 0,2 g de amostras de sedimentos de fundo e dos MRC foram pesados e 9,0 mL de HNO₃ concentrado, e 3,0 mL de HCl concentrado e 5 mL de água ultrapura foram adicionados às amostras e também ao MRC. O seguinte programa de aquecimento foi utilizado: uma rampa de 15 min até 160 °C, uma rampa de 5 min até 180 °C e um patamar de 5 min a 180 °C. Depois do resfriamento, os volumes dos digeridos das amostras e dos MRC foram ajustados para 50 mL e 15 mL com água ultrapura, respectivamente.

4.4 MÉTODO ORTO-FENANTROLINA

A quantificação de ferro pelo método colorimétrico com orto-fenantrolina baseou-se no procedimento descrito na NBR 13.934 (ABNT, 1997).

Para a reação colorimétrica, adicionou-se 0,2 mL de hidroxilamina (1,4 mol L⁻¹), 2 mL de orto-fenantrolina (0,3%) e 5,0 mL da solução tampão (ácido acético/acetato, pH = 4,7) em 0,1 mL da amostra ou solução de referência. Após a mistura de todos

os reagentes, completou-se o volume para 10 mL com água ultrapura. Antes de efetuar a leitura, esperou-se um período de 10 minutos. A curva analítica foi obtida variando as concentrações de ferro de 2 a 10 mg L⁻¹.

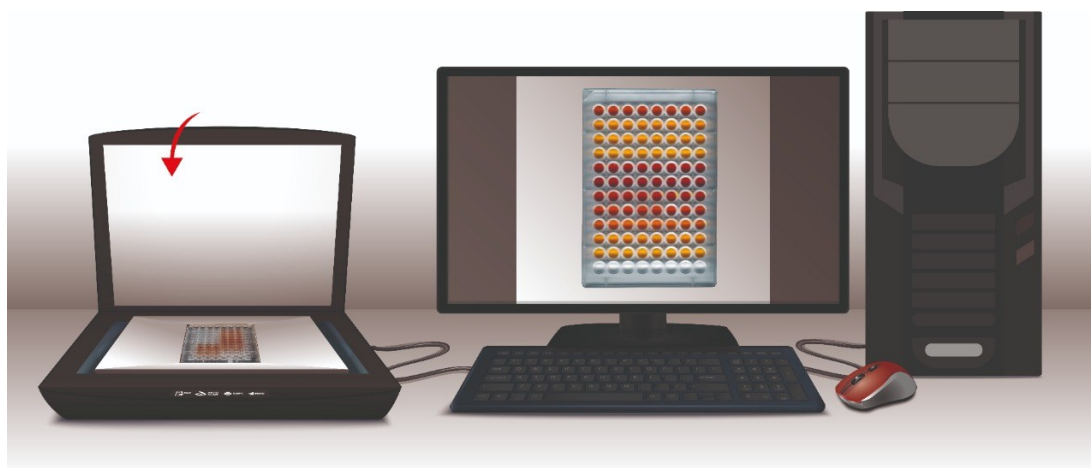
4.5 MÉTODO TIOCIANATO DE POTÁSSIO

A determinação de ferro por reação com tiocianato baseou-se no procedimento proposto por João et al. (2019). Para a reação colorimétrica, 0,1 mL da solução de referência ou amostra foram transferidos para um tubo Falcon de 15 mL e misturado com 1 mL de KSCN (2,0 mol L⁻¹). Após a adição de tiocianato, completou-se o volume para 10 mL com água ultrapura. A curva analítica foi obtida variando as concentrações de ferro de 2 a 10 mg L⁻¹, mantendo a concentração do KSCN em 0,20 mol L⁻¹ no volume final.

4.6 AQUISIÇÃO E ANÁLISE DE IMAGENS DIGITAIS

As imagens digitais foram adquiridas utilizando um escâner de mesa, modelo Canon® CanoScan LIDE 120. Para aquisição das imagens, utilizou-se microplacas de 96 poços, com fundo liso e volume aproximado de 0,3 mL. Um anteparo foi utilizado para impedir a entrada de fontes difusas de iluminação, que não fossem provenientes do *scanner*, durante o processo de digitalização, conforme apresentado na Figura 4.

Figura 4. Representação dos acessórios utilizados para aquisição de imagens digitais



Fonte: Autoria própria (2022)

As imagens foram obtidas no formato *Joint Photographic Experts Group* (jpeg) de 24 bits, com uma resolução de 600 dpi (*dots per inch*). A obtenção dos valores de RGB foi realizada no programa MatLab®, utilizando rotinas desenvolvidas no laboratório. Para isso, as imagens foram importadas para o MatLab® e uma área de 28 x 28 *pixels* foi selecionada da região central de cada poço presentes nas microplacas.

As curvas analíticas foram obtidas de modo análogo aquele realizado pelo espectrofotômetro UV-Vis: concentração vs. $-\log(I/I_0)$, onde I_0 é o sinal de RGB do branco, neste caso água e I é o sinal de RGB para uma amostra ou solução de referência.

4.7 ANÁLISE POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

Os espectros das curvas analíticas foram obtidos de 400 a 700 nm no Spectrometro Uv-Vis Varian Cary 50. As medidas foram realizadas no comprimento de onda 510 nm.

4.8 ANÁLISE POR ICP OES

As análises de ICP OES foram realizadas no equipamento da marca Agilent Technologies, modelo 7000 series. A Tabela 2 dispõe dos parâmetros instrumentais.

Tabela 2. Parâmetros instrumentais do ICP OES

Parâmetro	ICP OES
Potência de radiofrequência aplicada (kW)	1,20 kW
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15,0 L/min
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,50 L/min
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,75 L/min
Nebulizador	concêntrico de vidro
Comprimento de onda	259,94 nm

Fonte: Autoria própria (2022)

4.9 VALIDAÇÃO

Os procedimentos analíticos foram validados a partir dos seguintes parâmetros: linearidade, LOD, LOQ, exatidão e precisão.

A linearidade dos métodos foi verificada a partir da análise de três curvas analíticas autênticas na faixa de concentração de 2,0 - 10,0 mg L⁻¹. Os resultados obtidos foram analisados pelo método de regressão linear simples, análise de resíduos e análise da variância (ANOVA). Os parâmetros obtidos na ANOVA podem ser visualizados na Tabela 3.

Tabela 3. Análise da Variância

Fonte de variação	Soma quadrática (SQ)	Graus de liberdade	Média quadrática (MQ)
Modelo	$SQ_{reg} = \sum_{l=1}^n (\hat{y}_l - \bar{y})^2$	p-1	$MQ_{reg} = SQ_{reg} / p - 1$
Resíduos	$SQ_r = \sum_{l=1}^n (y_l - \hat{y}_l)^2$	n-p	$MQ_r = SQ_r / n - p$
Erro puro	$SQ_{ep} = \sum_{l=1}^m \sum_{j=1}^{n_j} (y_{lj} - \bar{y}_l)^2$	n-m	$MQ_{ep} = SQ_{ep} / n - m$
Falta de ajuste	$SQ_{faj} = \sum_{l=1}^m \sum_{j=1}^{n_j} (\hat{y}_l - \bar{y}_l)^2$	m-p	$MQ_{faj} = SQ_{faj} / m - p$
Total	$SQ_T = \sum_{l=1}^n (y_l - \bar{y})^2$	n-1	

n = número total de observações, p = número de parâmetros do modelo e m = número de experimentos independentes, \bar{y} = média global, y_l = valor observado e \hat{y}_l = valor previsto

Quando a razão $MQ_{reg}/MQ_r > F_{tab}$, a equação de regressão é estatisticamente significativa e quando a razão $MQ_{faj}/MQ_{ep} < F_{tab}$, a equação de regressão não apresenta falta de ajuste.

Além disso, os dados das curvas obtidas foram submetidos a testes de verificação de *outliers* (valores dispersos), homoscedasticidade (homogeneidade da variância dos resíduos), independência (autocorrelação de resíduos) e normalidade dos dados e resíduos (SOUZA; JUNQUEIRA, 2005). No presente trabalho, para a

análise de *outliers* foi escolhido o teste Jackknife, para a verificação da homoscedasticidade optou-se pelo teste Brown-Forsythe, a independência foi verificada pelo teste de Durbin-Watson e a normalidade analisada com base no teste de Shapiro-Wilk.

Os LD e LQ foram calculados através da divisão do desvio padrão dos coeficientes lineares das curvas de calibração do ensaio de linearidade pela média dos coeficientes angulares destas respectivas curvas, multiplicados por 3,3 e 10 (equações 5 e 6), respectivamente (BRASIL, 2022).

$$LD = 3,3 \frac{s}{a} \quad \text{equação 5}$$

$$LQ = 10 \frac{s}{a} \quad \text{equação 6}$$

onde “s” representa o desvio padrão do intercepto (coeficiente linear), e “a” simboliza a inclinação da reta (coeficiente angular).

A precisão método foi verificada a partir da estimativa do desvio padrão relativo (DPR) também conhecido como coeficiente de variação (CV), conforme apresentado na equação 7 (BRASIL, 2003).

$$\text{DPR (\%)} \text{ ou } \text{CV (\%)} = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad \text{equação 7}$$

onde s é o desvio padrão e \bar{x} a concentração média determinada.

Para o cálculo do valor de DPR, realizou-se 10 análises consecutivas do MRC (Sedimento - NIST 8704).

A exatidão do método foi verificada a partir da comparação dos resultados obtidos com os métodos propostos com os obtidos por ICP OES. E, foi confirmada determinando-se a concentração de Fe em uma amostra de MRC (Sedimento - NIST 8704).

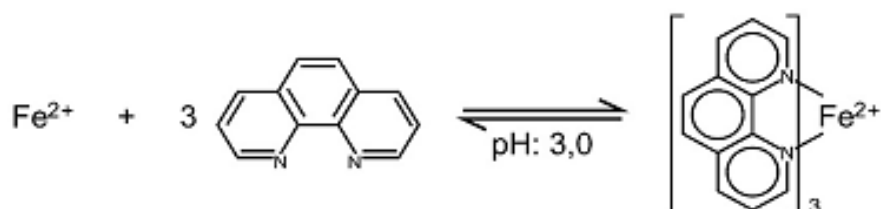
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. MÉTODO ORTO-FENANTROLINA

Uma das reações colorimétricas mais conhecidas para determinação de Fe(II) e ferro total ocorre entre o Fe (II) com orto-fenantrolina, um reagente bastante seletivo. Para determinações de ferro total, o Fe (III) é reduzido a Fe (II), empregando

hidroxilamina ou ácido ascórbico. O complexo formado apresenta uma composição de 3 ligantes para 1 centro metálico, conforme mostrado na Figura 5 (BREITKREITZ et al. 2014), e é estável em soluções com valores de pH de 2 a 9.

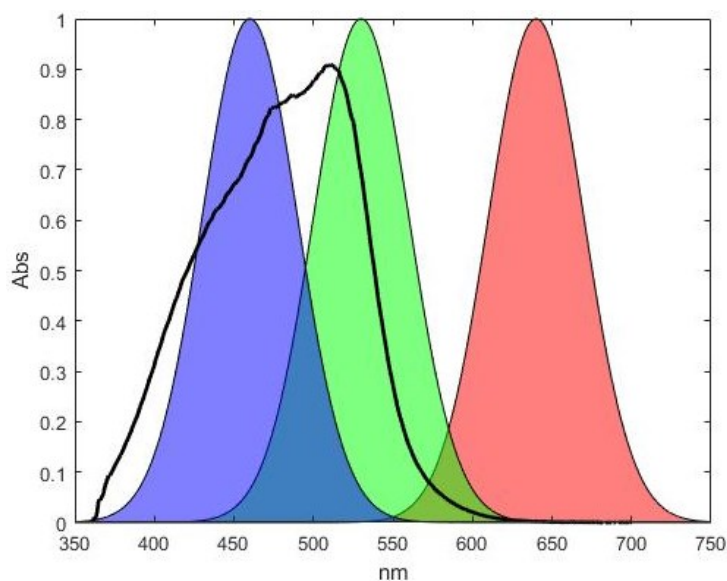
Figura 5. Representação da reação entre Fe^{2+} com orto-fenantrolina



Fonte: Adaptado de Breitzkreitz (2014)

O complexo $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ exibe uma coloração vermelho-alaranjado, e quando submetido a análise por espectroscopia absorve na região visível do espectro eletromagnético no comprimento de onda de 510 nm (Figura 6). Ao comparar o espectro de absorção do composto $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$, com os espectros das cores R, G e B, observa-se uma sobreposição com as cores B e G. Assim, espera-se que estas cores (B e G) apresentem melhores correlações com as concentrações de ferro nas amostras estudadas.

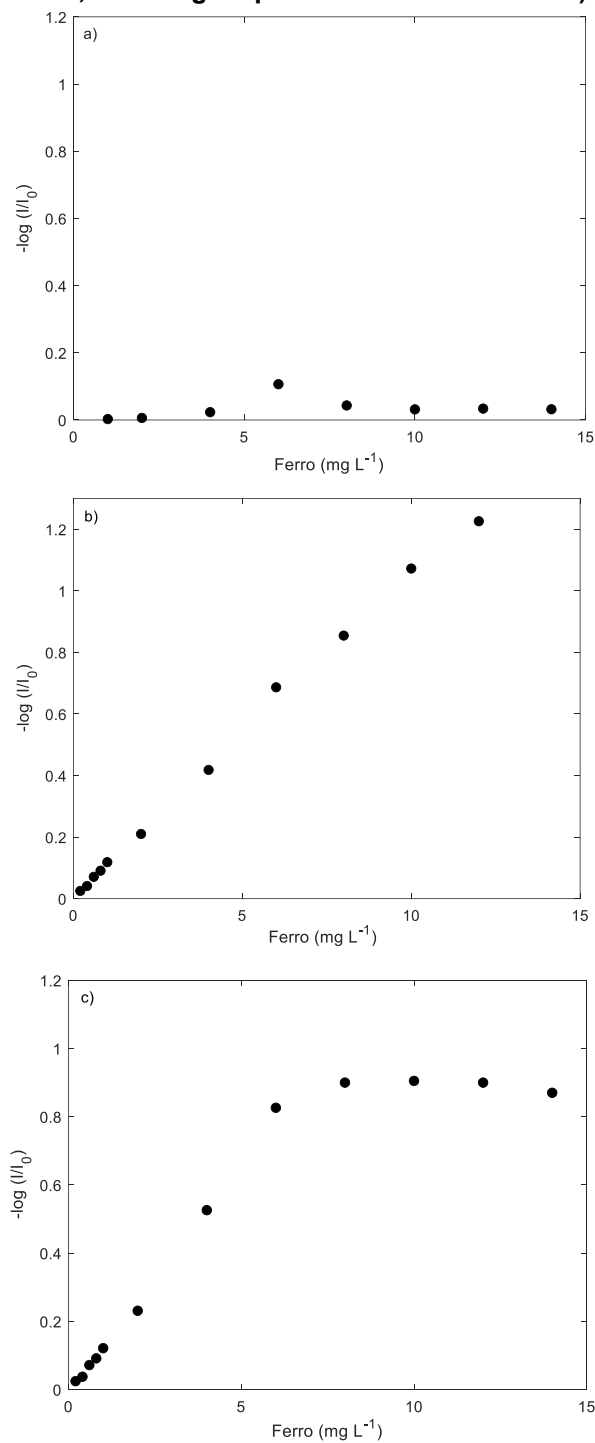
Figura 6. Espectro UV-Vis complexo $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ e as curvas dos canais de cores R, G e B



Fonte: Autoria própria (2022)

Com o objetivo de confirmar qual o canal de cor que apresentava uma melhor resposta analítica em relação a concentração de ferro, curvas analíticas foram obtidas na faixa de concentração de 0,2 a 14 mg L⁻¹ para os três canais de cores: R, G e B. Os resultados obtidos podem ser visualizados na Figura 7.

Figura 7. Curvas analíticas de ferro com reagente colorimétrico orto-fenantrolina na faixa de concentração de 0,0 a 14 mg L⁻¹ para os canais de cores a) R, b) G e c) B

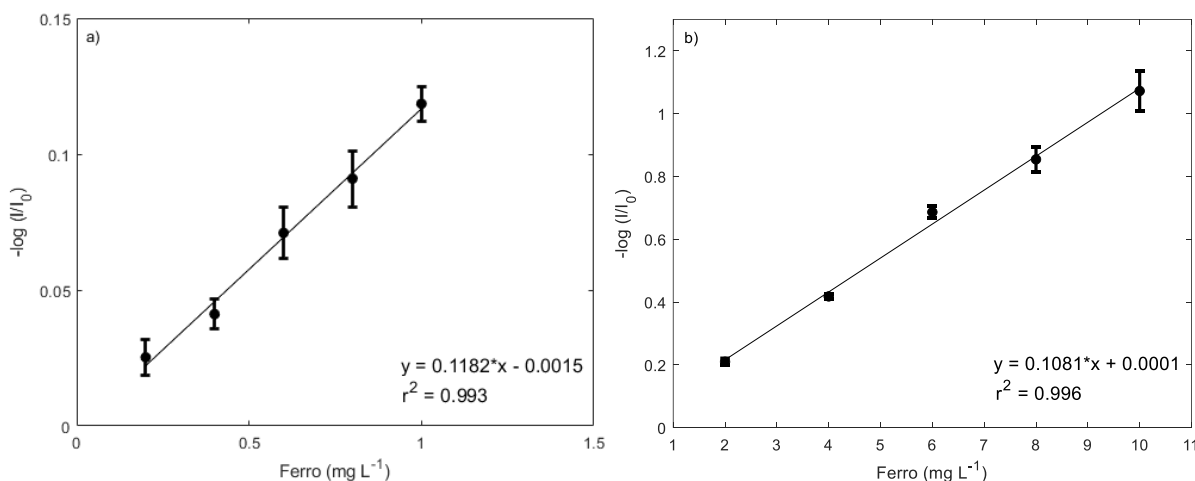


Fonte: Autoria própria (2022)

A partir destes resultados é possível observar que o canal G apresentou uma tendência linear para toda a faixa de concentrações estudada (Figura 7b). O canal B apresentou uma resposta linear até a concentração de 6,0 mg L⁻¹ (Figura 7c), enquanto o canal R (Figura 7a) não apresentou nenhuma relação linear entre a cor e a concentração de ferro. Conforme mencionado anteriormente (Figura 6), este resultado já era esperado uma vez que as cores G e B são as cores complementares do complexo [Fe(phen)₃]²⁺ (vermelho-alaranjado).

Devido a ampla faixa linear apresentada pelo canal G, este canal foi selecionado para as análises futuras. Em seguida, curvas analíticas foram obtidas em duas faixas de concentrações: 0,2 – 1,0 mg L⁻¹ e 2,0 – 10,0 mg L⁻¹. Na Figura 8 são apresentados os resultados obtidos onde é possível verificar que as duas faixas analíticas apresentam sensibilidade similares, com coeficiente angulares iguais a 0,1182 e 0,1081, e r² maior que 0,99. No entanto, observa-se que os pontos da curva analítica de 0,2 - 1,0 mg L⁻¹ (Figura 8a) apresentam maiores desvios, quando comparado com os obtidos na curva analítica de 2,0 - 10,0 mg L⁻¹ (Figura 8b).

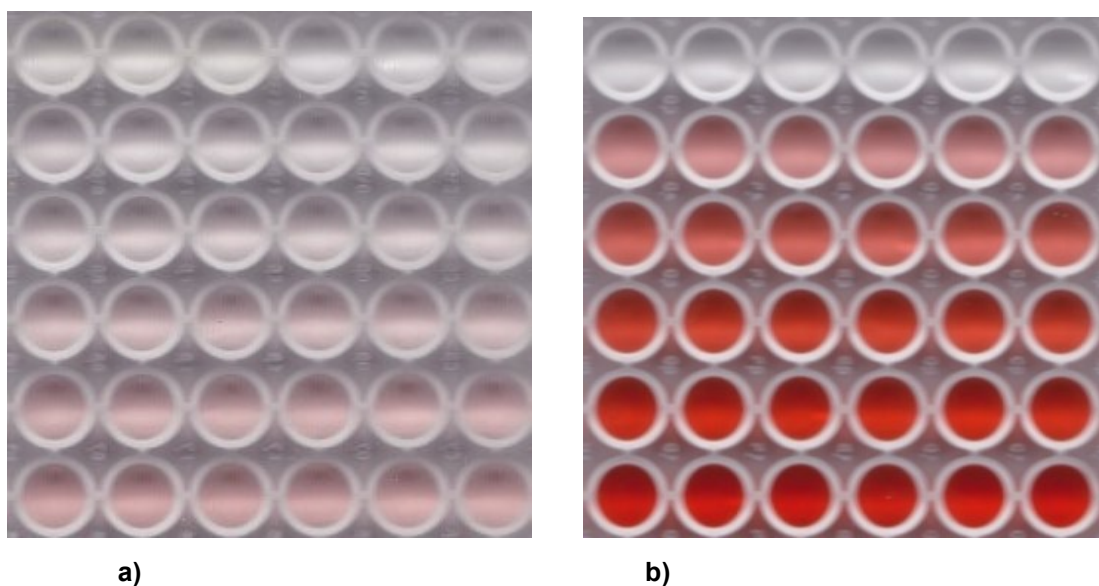
Figura 8. Curvas analíticas de ferro com o reagente colorimétrico orto-fenantrolina na faixa de concentração de a) 0,2 - 1,0 mg L⁻¹ e b) 2,0 – 10,00 mg L⁻¹



Fonte: Autoria própria (2022)

Na Figura 9 é apresentada uma fotografia das microplacas de 96 poços contendo as soluções de ferro de 0,2 - 1,0 mg L⁻¹ (Figura 9a) e 2,0 - 10,0 mg L⁻¹ (Figura 9b). As concentrações estão ordenadas de forma crescente onde cada linha é uma concentração diferente da solução de ferro.

Figura 9. Imagem da curva analítica obtida com o reagente colorimétrico orto-fenantrolina na faixa de concentração de a) 0,2 – 1,0 mg L⁻¹ e b) 2,0 – 10,0 mg L⁻¹



Fonte: Autoria própria (2022)

A partir destas figuras é possível verificar que a curva de 0,2 - 1,0 mg L⁻¹ (Figura 9a) apresenta uma coloração muito clara. Os dois primeiros pontos da curva apresentam uma coloração muito similar ao branco da curva. Diante desses resultados optou-se por trabalhar na faixa de concentração de 2,0 - 10,0 mg L⁻¹.

Para confirmar a linearidade do método, os dados obtidos foram submetidos a uma ANOVA. A partir dos resultados, verificou-se que a regressão é significativa, pois o $f_{\text{calculado}}$ é superior ao f_{tabelado} ($f_{\text{calculado}} = 1427,95$ e $f_{\text{tabelado}} = 4,66$). O modelo também não apresentou falta de ajuste, pois f_{tabelado} foi maior que $f_{\text{calculado}}$ ($f_{\text{calculado}} = 3,71$ e $f_{\text{tabelado}} = 1,15$). Estes resultados podem ser visualizados de forma resumida na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados da análise ANOVA com relação a regressão do método por imagem digital utilizando o reagente colorimétrico orto-fenatrolina

Fonte	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Fcalc
Modelo	1	$SQ_m = 3,38.10^{-1}$	$MQ_m = 3,38.10^{-1}$	$F = 1427,95$
Resíduos	13	$SQ_r = 3,08.10^{-3}$	$MQ_r = 2,37.10^{-4}$	
Falta de Ajuste	3	$SQ_{fa} = 7,94.10^{-4}$	$MQ_{fa} = 2,65.10^{-4}$	$F = 1,15$
Erro Puro	10	$SQ_{ep} = 2,28.10^{-3}$	$MQ_{ep} = 2,28.10^{-4}$	
Total	14	$SQ_T = 3,41.10^{-1}$		

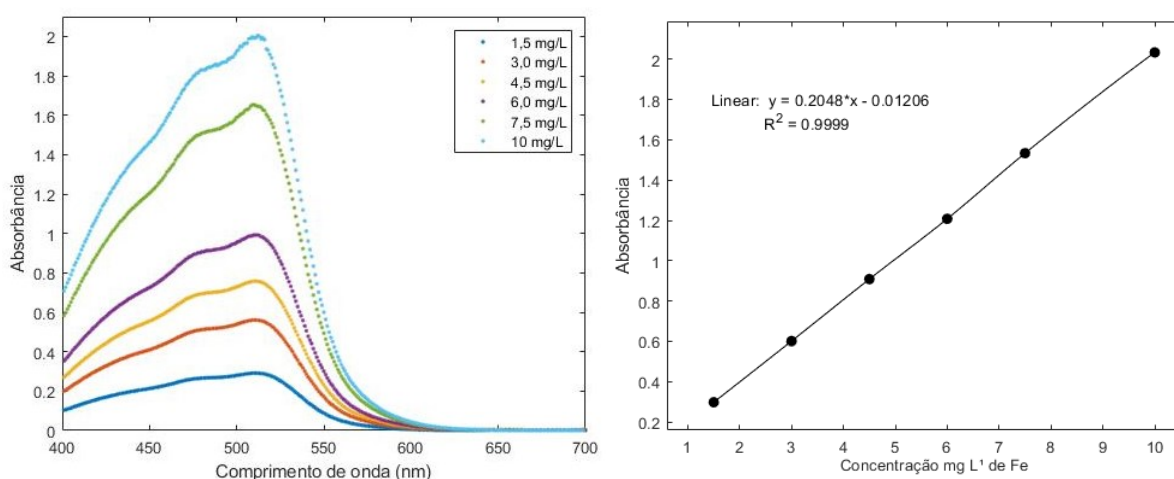
Fonte: Autoria própria (2022)

Além disso, os resultados foram submetidos a testes de verificação de *outliers*, homoscedasticidade, independência e normalidade dos dados e resíduos. Ao submeter os valores experimentais ao teste Jackknife os resultados foram inferiores ao valor de t_{tabelado} ($t_{\text{tabelado}} = 2,17$) não sendo detectado nenhum *outliers*. A independência dos resíduos foi confirmada, já que o valor obtido pelo teste Durbin-Watson (1,87) é maior ao limite superior (du) e inferior ($4-du$). A homoscedasticidade foi provada por meio dos testes de Brown-Forsythe, sendo que o valor calculado (1,11) inferior ao tabelado (3,47). Assim como a normalidade, onde o valor calculado com a estatística de Shapiro-Wilk (0,92) é superior ao tabelado (0,881).

Nestas condições, o método apresentou LOD e LOQ igual a 0,33 e 1,11 mg L⁻¹, o qual foi determinado utilizando as equações 5 e 6.

Confirmada a linearidade do procedimento analítico, comparou-se os resultados obtidos com imagem digital com o método espectrofotométrico na região do ultravioleta e visível (UV-vis). Os espectros obtidos, bem como a curva analítica podem ser visualizados na Figura 10. A curva analítica apresentou uma resposta linear na faixa de 1,5 a 10 mg L⁻¹, com uma sensibilidade (coeficiente angular) de 0,2048 e $r^2 = 0,9999$.

Figura 10. Espectros UV-Vis e curva analítica obtidos com as soluções de ferro de 1,5 - 10 mg L⁻¹ com o reagente colorimétrico orto-fenantrolina



Fonte: Autoria própria (2022)

Ao comparar com os resultados por UV-Vis (Figura 10) com os obtidos por imagem digital (Figura 8), pode-se verificar que o método UV-Vis apresenta uma maior

sensibilidade. Este resultado já era esperado, no entanto, não inviabilidade a aplicação do procedimento desenvolvido para análise de Fe em sedimentos.

Assim, o procedimento foi aplicado para quantificação de ferro em doze amostras de sedimento. Os resultados obtidos foram comparados com os obtidos por ICP OES e podem ser visualizados na Tabela 5.

Tabela 5. Comparação dos resultados obtidos para quantificação de ferro em amostras de sedimento por imagem digital (orto-fenantrolina) e ICP OES

Amostra	Orto-fenantrolina (g Kg⁻¹)	ICP OES (g Kg⁻¹)	Erro relativo (%)
Amostra 1	186,0 ± 4,5	178,5	4,0
Amostra 2	161,9 ± 5,6	166,2	-2,7
Amostra 3	147,1 ± 3,5	147,0	0,0
Amostra 4	116,1 ± 1,8	116,5	-0,3
Amostra 5	129,1 ± 1,6	141,5	-9,6
Amostra 6	139,9 ± 1,6	127,5	8,9
Amostra 7	73,5 ± 2,5	72,0	2,1
Amostra 8	164,41 ± 3,9	164,8	-0,2
Amostra 9	167,8 ± 7,3	168,5	-0,4
Amostra 10	104,6 ± 5,1	114,2	-9,3
Amostra 11	126,1 ± 2,3	124,1	1,6
Amostra 12	117,0 ± 1,8	116,9	0,1

Fonte: Autoria própria (2022)

A partir destes resultados, observa-se uma boa concordância entre as concentrações de Fe obtidas com os dois métodos. Para todas as análises, o erro relativo foi inferior a 10%. Além disso, os resultados foram submetidos ao teste t com 95% de confiança para verificar a existência de diferença significativa entre os valores obtidos. De acordo com dados, verificou-se que não existe diferença significativa ($t_{\text{tabelado}} = 2,20$ e $t_{\text{calculado}} = 0,17$). A exatidão do método foi confirmada determinando-se a concentração de Fe em uma amostra de MRC (Sedimento - NIST 8704). De acordo com um teste t, com 95% de confiança, não foram observadas diferenças significativas entre o valor de referência (3,97) e o determinado pelo procedimento proposto ($4,16 \pm 0,008$) em que o $t_{\text{calculado}} = 3,18$ é inferior ao $t_{\text{tabelado}} = 4,30$. A precisão do método foi calculada em termos de repetibilidade através da equação 7, obtendo-se um valor de DPR = 0,62 %.

Apesar da orto-fenantrolina ser um reagente bastante seletivo, cianetos, nitritos e fosfatos interferem no presente método. Cromo e zinco também interferem quando em concentrações superiores a dez vezes ao do ferro. Já cobalto e cobre interferem em concentrações acima de 5 mg/L e níquel acima de 2 mg/L. Bismuto, cádmio, mercúrio, molibdênio e prata precipitam a orto-fenantrolina. Além disso, os agentes oxidantes fortes interferem e são eliminados por adição de excesso de hidroxilamina (ABNT, 1991).

Para avaliar possíveis interferentes do procedimento analítico, testes foram realizados com um padrão multielementar que tinha na sua composição Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, Sr e Zn. Neste teste, a concentração de Fe e dos demais elementos foi mantido em 6 mg L⁻¹ e o resultado obtido foi igual a 6,22 mg L⁻¹, o que equivale a um erro relativo inferior a 4%. Assim, pode-se concluir que estes metais presentes no padrão, e também presentes nas amostras de sedimento, não interferem na quantificação Fe.

Na literatura podem ser encontrados diversos trabalhos envolvendo o uso desta reação colorimétrica para quantificação de ferro por imagens digitais (Barros et al., 2017; Masawat et al., 2017; Mohamed e Shalaby, 2019; Peng et al., 2017; Santos Neto et al., 2019). Um breve resumo dos limites de detecção e quantificação obtido nestes métodos analíticos pode ser visualizado na Tabela 6.

Tabela 6. Comparação dos métodos analíticos para quantificação de ferro por imagem digital utilizando a reação colorimétrica orto-fenantrolina

Referência	Amostra	LOD (mg L⁻¹)	LOQ (mg L⁻¹)
Este trabalho	Sedimento de fundo	0,33	1,11
Barros et al., 2017	Água	0,02	-
Masawat et al., 2017	Água	-	0,1
Mohamed e Shalaby, 2019	Água, solos e plantas	0,04	0,1
Peng et al., 2017	Água e amostras alimentícias	14,1 x 10 ⁻³	46,5 x 10 ⁻³
Santos Neto et al., 2019	Vinho branco	42,0	141,0

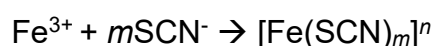
Fonte: Autoria própria (2022)

Apesar do método proposto apresentar maiores LOD e LOQ que alguns métodos propostos da literatura (Barros et al., 2017; Masawat et al., 2017; Mohamed

e Shalaby, 2019; Peng et al., 2017), estes valores são inferiores as concentrações de ferro encontrada nas amostras analisadas (Tabela 5).

5.2 MÉTODO TIOCIANATO

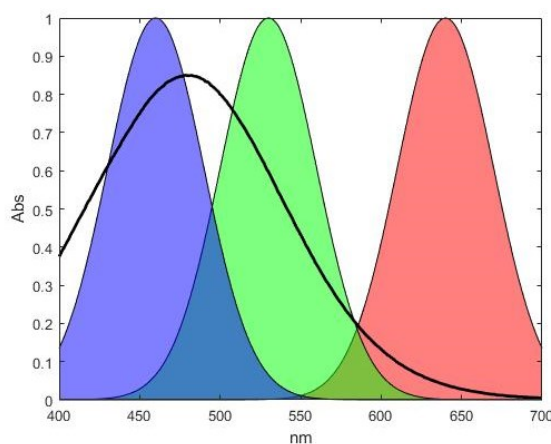
Uma outra reação colorimétrica bastante utilizada na quantificação de ferro é a reação entre Fe(III) com tiocianato de potássio (KSCN). Uma equação de reação genérica do sistema Fe(III) com tiocianato pode ser visualizada nas reações abaixo.



A formação dos complexos do sistema Fe(III) com tiocianato em soluções aquosas e a evolução da cor vermelha está relacionada aos complexos: $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, $[\text{Fe}(\text{SCN})_2]^+$, $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$, $[\text{Fe}(\text{SCN})_4]^-$, $[\text{Fe}(\text{SCN})_5]^{2-}$, $[\text{Fe}(\text{SCN})_6]^{3-}$ (JOÃO, 2021). Os complexos apresentam absorção máxima entre 460 a 480 nm do espectro eletromagnético e o meio deve ser ácido para evitar a hidrólise do Fe(III).

Na Figura 11, de forma análoga apresentada para o método colorimétrico orto-fenantrolina, tem-se a comparação do espectro de absorção do Fe(III)-SCN com os espectros das cores R, G e B. A partir destes resultados, observa-se uma sobreposição do espectro do composto Fe(III)-SCN com os espectros das cores B e G. Assim, espera-se que os melhores resultados sejam obtidos com estes canais de cores.

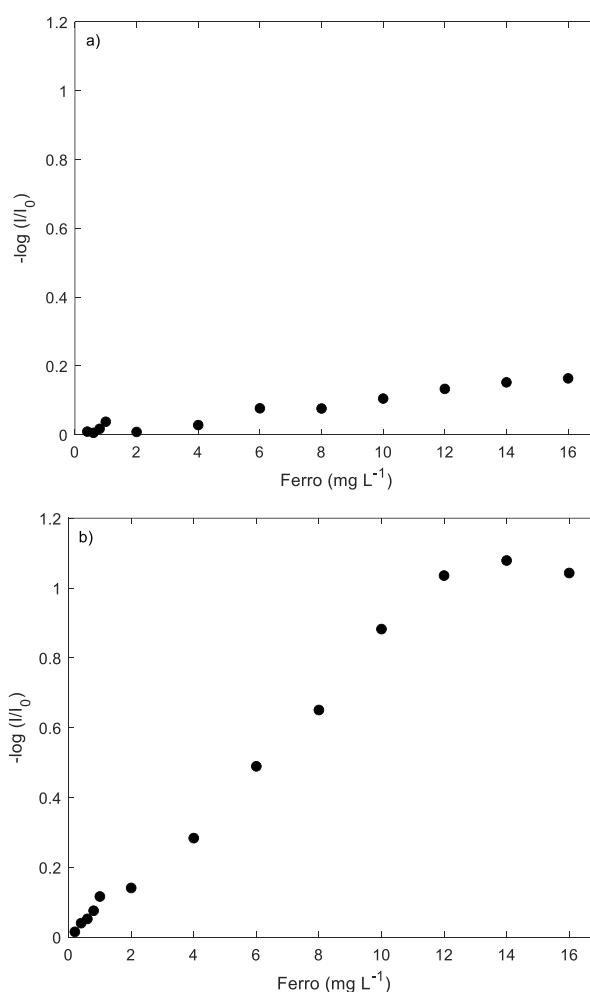
Figura 11. Espectro UV-Vis complexo Fe(III)-SCN e as curvas dos canais de cores R, G e B

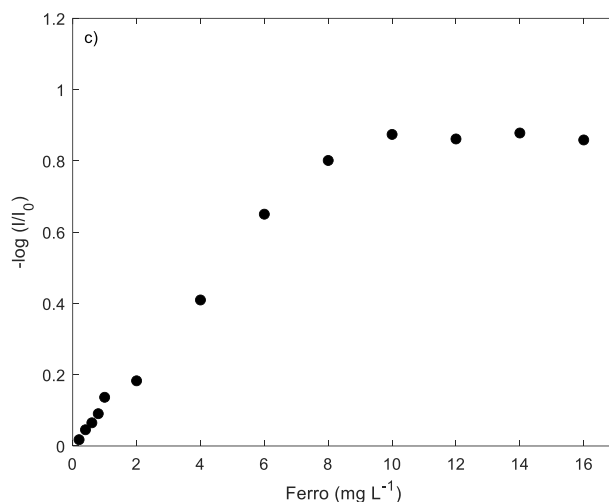


Fonte: Autoria própria (2022)

Para confirmação de qual canal seria o mais adequado para as análises quantitativas, curvas analíticas foram obtidas para os três canais de cores (R, G e B) na faixa de concentração de 0,0 a 16,0 mg L⁻¹. A partir dos resultados obtidos (Figura 12) é possível observar que o canal G apresentou uma relação linear até aproximadamente a concentração 12,0 mg L⁻¹, enquanto que o canal B apresenta uma tendência linear até 8,0 mg L⁻¹. O canal R não apresentou nenhuma relação linear em relação a concentração de ferro.

Figura 12. Curvas analíticas de ferro com reagente colorimétrico tiocianato na faixa de concentração de 0,0 a 16 mg L⁻¹ para os canais de cores a) R, b) G e c) B

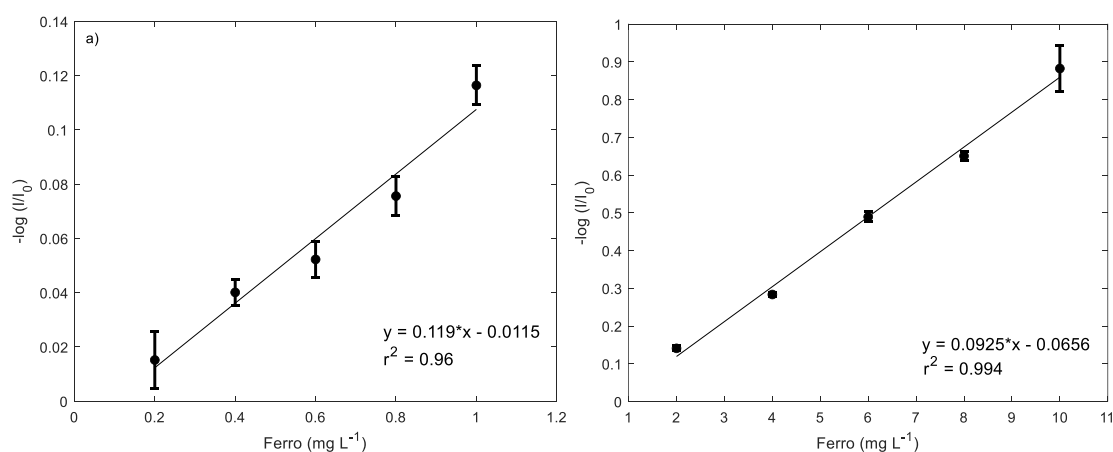




Fonte: Autoria própria (2022)

Em seguida, novos testes foram realizados com o canal de cor G para definir a faixa de trabalho. Na Figura 13 tem-se as curvas analíticas obtidas na faixa de concentração de 0,2 a 1,0 mg L⁻¹ (Figura 13a) e 2,0 a 10,0 mg L⁻¹ (Figura 13b). Os resultados obtidos confirmam que a sensibilidade de ambas as curvas de análise é semelhante (0,119 e 0,0925), no entanto a curva analítica de 0,2 a 1,0 mg. L⁻¹ apresenta um menor r^2 . Além disso, os pontos desta curva apresentam maiores desvios.

Figura 13. Curvas analíticas de ferro com o tiocianato na faixa de concentração de a) 0,2 - 1,0 mg L⁻¹ e b) 2,0 - 10,00 mg L⁻¹

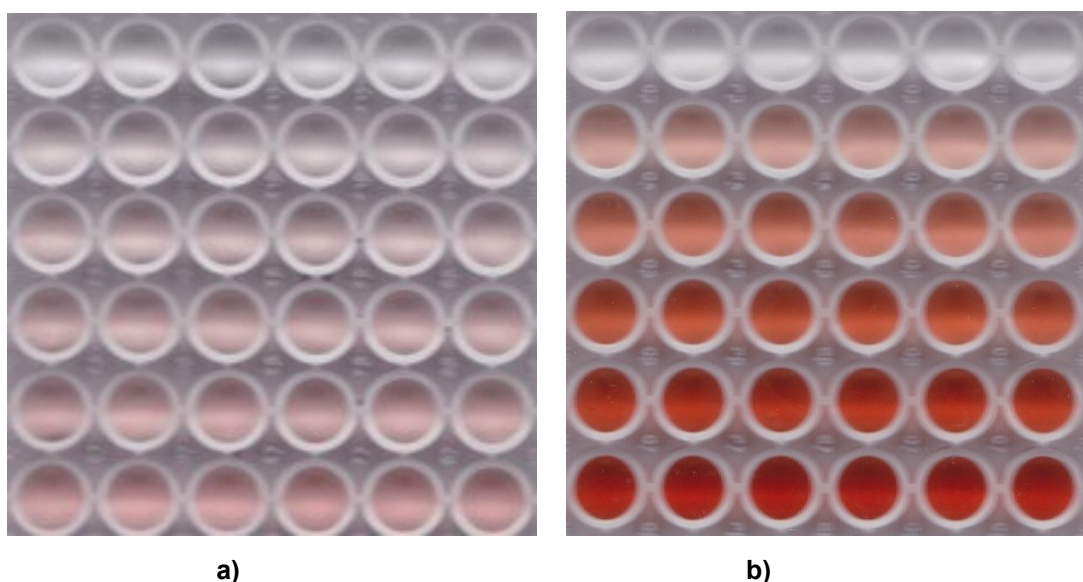


Fonte: Autoria própria (2022)

Na Figura 14 é apresentada uma fotografia das microplacas de 96 poços contendo as soluções de ferro de 0,2 a 1,0 mg L⁻¹ (Figura 14a) e 2,0 a 10,0 mg L⁻¹ (Figura 14b). As concentrações estão ordenadas de forma crescente onde cada linha

é uma concentração diferente da solução de ferro. Estes resultados são muito similares aos obtidos com o método orto-fenantrolina (Figura 9). Diante desses resultados optou-se por trabalhar na faixa de concentração de 2,0 a 10,0 mg L⁻¹.

Figura 14. Imagem das curvas analíticas de ferro a) 0,2 - 1,0 mg L⁻¹ e b) 2,0 - 10,0 mg L⁻¹ obtidos com o método tiocianato



Fonte: Autoria própria (2022)

Para confirmar a linearidade da faixa de trabalho, os resultados obtidos foram analisados a partir da ANOVA (Tabela 7). Os resultados confirmaram que a regressão é significativa ($f_{\text{calculado}} = 3.130,23$ e $f_{\text{tabelado}} = 4,66$), assim como o modelo não apresenta falta de ajuste ($f_{\text{tabelado}} = 3,70$ e $f_{\text{calculado}} = 1,54$).

Tabela 7. Resultados da análise ANOVA com relação a regressão do método por imagem digital utilizando o reagente colorimétrico tiocianato

Fonte	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Fcalc
Modelo	1	$SQ_m = 1,96 \cdot 10^{-1}$	$MQ_m = 1,96 \cdot 10^{-1}$	$F = 3.130,23$
Resíduos	13	$SQ_r = 8,15 \cdot 10^{-4}$	$MQ_r = 6,27 \cdot 10^{-5}$	
Falta de Ajuste	3	$SQ_{fa} = 2,57 \cdot 10^{-4}$	$MQ_{fa} = 8,59 \cdot 10^{-5}$	$F = 1,54$
Erro Puro	10	$SQ_{ep} = 5,57 \cdot 10^{-4}$	$MQ_{ep} = 5,57 \cdot 10^{-5}$	
Total	14	$SQ_T = 1,97 \cdot 10^{-1}$		

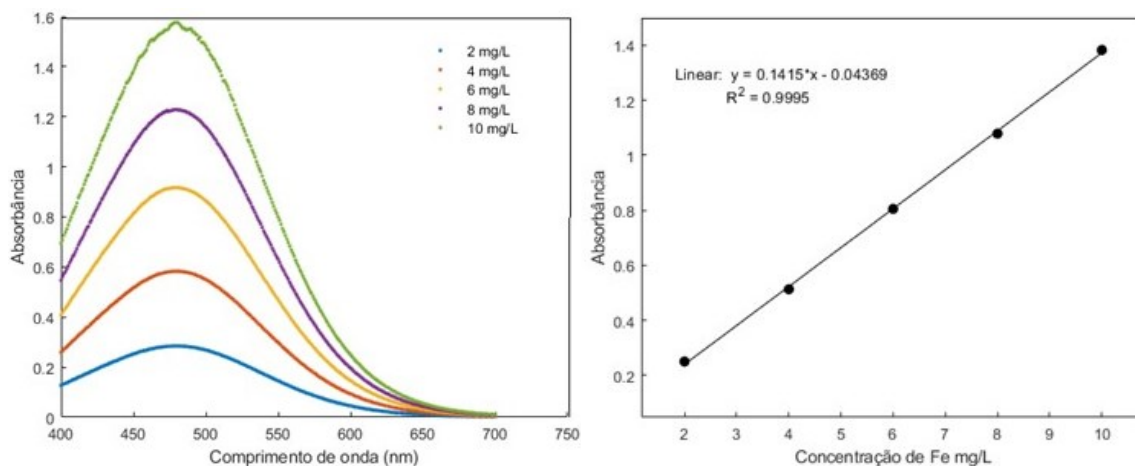
Fonte: Autoria própria (2022)

Além disso, o teste de Shapiro-Wilk indicou que os dados são similares a uma distribuição normal. Também não foi detectado nenhum ponto que foge da normalidade no teste Jackknife, já que o maior valor encontrado (1,43) é menor que o valor de t_{tabelado} (2,17). Nenhuma tendência foi detectada com o teste de Durbin-Watson ($du < 1,98 < 4-du$). A homoscedasticidade, foi confirmado pelo teste de Brown-Forsythe e a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk.

Para estas condições experimentais, o método apresentou um LOD e LOQ, calculados utilizando o mesmo procedimento aplicado para o método orto-fenantrolina (equações 5 e 6), igual a 0,29 e 0,96 mg L⁻¹, respectivamente.

Com o objetivo de comparar os resultados obtidos por imagem digital, as mesmas análises foram realizadas por UV-vis. Os resultados obtidos, espectros e curva analítica, podem ser visualizados na Figura 15. A partir destes resultados, é possível verificar uma resposta linear na faixa de concentração de 2,0 a 10,0 mg L⁻¹, com valores de coeficiente angular = 0,1415 e $r^2 = 0,9995$. Assim como observado para o método com orto-fenantrolina, a espectroscopia de UV-Vis apresenta uma maior sensibilidade quando comparada com a análise por imagem digital.

Figura 15. Espectros UV-Vis e curva analítica obtida com as soluções de Fe de 2,0 a 10,0 mg L⁻¹ para o reagente colorimétrico tiocianato



Fonte: Autoria própria (2022)

Após definido o canal de cor e a faixa de trabalho, o método analítico foi aplicado para quantificação de ferro em doze amostras de sedimentos. Na Tabela 8, são apresentados os resultados obtidos por imagem digitais e ICP OES. A partir dos resultados, verifica-se que a concentração de Fe obtidos com os dois procedimentos analíticos são próximas, com um erro relativo inferior a 10%. Além disso, a aplicação

de um teste t, com 95% de confiança, confirmou que não existe diferença significativa entre os resultados ($t_{\text{tabelado}} = 2,20$ e $t_{\text{calculado}} = 0,30$).

Tabela 8. Comparação dos resultados obtidos para quantificação de ferro em amostras de sedimento por imagem digital (método tiocianato) e ICP OES

Amostra	Tiocianato (g Kg⁻¹)	ICP OES (g Kg⁻¹)	Erro relativo (%)
Amostra 1	181,4 ± 3,6	178,5	1,6
Amostra 2	154,2 ± 5,5	166,2	- 7,8
Amostra 3	154,7 ± 2,0	147,0	5,0
Amostra 4	118,2 ± 2,4	116,5	1,4
Amostra 5	142,3 ± 2,8	141,5	0,5
Amostra 6	123,2 ± 1,4	127,5	- 3,5
Amostra 7	77,2 ± 0,7	72,0	6,8
Amostra 8	172,3 ± 5,4	167,7	4,4
Amostra 9	162,0 ± 0,8	168,5	- 4,0
Amostra 10	117,3 ± 2,2	114,2	2,5
Amostra 11	123,0 ± 1,3	124,1	- 0,9
Amostra 12	118,6 ± 2,6	116,9	1,4

Fonte: Autoria própria (2022)

A exatidão do método foi confirmada através da determinação de Fe em uma amostra de MRC (Sedimento – NIST 8704). A partir de um teste t, com 95% de confiança, verificou-se que a concentração obtida pelo procedimento proposto ($3,88 \pm 0,005$) não é estatisticamente diferente do valor de referência (3,97) pois o $t_{\text{calculado}}$ (3,18) e inferior ao t_{tabelado} (4,30).

Por fim, a método pode ser considerado preciso, com um valor de DPR foi a 0,58%.

Na literatura existem alguns trabalhos que utilizaram a reação colorimétrica de tiocianato na determinação de Fe (III) por imagem digital (Firdaus et al., 2014; João et al., 2019). Um breve resumo dos limites de detecção e quantificação obtido nestes métodos analíticos pode ser visualizado na Tabela 9.

Tabela 9. Comparação dos métodos analíticos para quantificação de ferro por imagem digital utilizando a reação colorimétrica com tiocianato

Referência	Amostra	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)
Este trabalho	Sedimento de fundo	0,29	0,96
João et al., 2019	Bioetanol	0,1	-

Fonte: Autoria própria (2022)

Apesar do método proposto apresentar um LOD maior do que o método propostos na literatura (João et al., 2019), o valor obtido neste trabalho é inferior as concentrações de ferro encontrado nas amostras analisadas (Tabela 8).

5.3 COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE FERRO EM SEDIMENTOS

Os métodos propostos baseados nas reações colorimétricas de orto-fenantrolina e tiocianato para quantificação de Fe em amostras de sedimento apresentam algumas vantagens em comparação aos métodos existentes, como simplicidade, rapidez e baixo custo. Comparando-se os dois métodos, a reação colorimétrica com tiocianato é mais simples e de menor custo. E, a partir de um teste t, com 95% de confiança, verificou-se que não existe diferenças estatísticas significativas entre os resultados obtidos ($t_{\text{calculado}} = 0,34$ e $t_{\text{tabelado}} = 2,20$) (Tabela 10).

Tabela 10. Comparação dos resultados obtidos para quantificação de ferro em amostras de sedimento por imagem digital com o método orto-fenantrolina e tiocianato

Amostra	Método orto-fenantrolina (g Kg ⁻¹)	Método tiocianato (g Kg ⁻¹)
Amostra 1	186,0 ± 4,5	181,4 ± 3,6
Amostra 2	161,9 ± 5,6	154,2 ± 5,5
Amostra 3	147,1 ± 3,5	154,7 ± 2,0
Amostra 4	116,1 ± 1,8	118,2 ± 2,4
Amostra 5	129,1 ± 1,6	142,3 ± 2,8
Amostra 6	139,9 ± 1,6	123,2 ± 1,4
Amostra 7	73,5 ± 2,5	77,2 ± 0,7
Amostra 8	164,41 ± 3,9	172,3 ± 5,4
Amostra 9	167,8 ± 7,3	162,0 ± 0,8

Amostra 10	104,6 ± 5,1	117,3 ± 2,2
Amostra 11	126,1 ± 2,3	123,0 ± 1,3
Amostra 12	117,0 ± 1,8	118,6 ± 2,6

Fonte: Autoria própria (2022)

Diferentes técnicas analíticas têm sido aplicadas na análise de metais em sedimentos. O procedimento que utiliza LIBS não requer preparo de amostra, mas utilizada um equipamento caro e requer um profissional especializado para realizar as análises (HARMON et al. 2013). Estas mesmas desvantagens são apresentadas pelas técnicas de absorção e emissão atômica, que vem sendo utilizadas a anos para determinação de metais em amostras de sedimentos e em outras amostras de interesse ambiental (LARIOS et al. 2012; PROCH, NIEDZIELSKI, 2021).

Desta forma, embora os procedimentos propostos tenham limites de detecção e quantificação elevados, quando comparado com estas técnicas instrumentais, é de grande vantagem pois é uma alternativa rápida e de custo muito baixo.

Ao comparar os parâmetros de detecção e quantificação obtidos utilizando a imagem digital como ferramenta analítica em diversos tipos de amostras (Tabela 9) utilizando os dois reagentes colorimétricos (tiocianato e orto-fenantrolina) é possível observar que os métodos propostos nesse trabalho apresentam valores superiores, porém não inviabiliza a sua aplicação neste tipo de amostras.

6. CONCLUSÃO

Conforme os resultados apresentados, os métodos analíticos desenvolvidos para quantificação de Fe baseados nas reações colorimétricas com orto-fenantrolina e tiocianato, utilizando a análise por imagem digital, se demonstraram exatos e precisos. Ambos os métodos analíticos apresentaram LOD e LOQ similares e, apesar de outros procedimentos analíticos serem mais sensíveis, os valores encontrados são compatíveis com a aplicação proposta. Além disso, os procedimentos propostos apresentam como principais vantagens simplicidade, rapidez, baixo custo e baixo impacto ambiental por utilizar pequenos volume de reagentes e, conseqüentemente, gerar menos resíduos.

REFERÊNCIAS

ALTALHI, T. A.; IBRAHIM, M. M.; MERSAL, G. A. M.; ALSAWAT, M.; MAHMOUD, M. H H; KUMERIA, T.; SHAHAT, A.; EL-BINDARY, M. A. **Mesopores silica nanotubes-based sensors for the highly selective and rapid detection of Fe²⁺ ions in wastewater, boiler system units and biological samples**. *Analytica Chimica Acta*, 1180, 338860, 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 13934: Água – determinação de ferro – Método colorimétrico da ortofenantrolina**. Rio de Janeiro. 1997.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**. 4 ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

BARROS, J. A. V. A.; OLIVEIRA, F. M.; SANTOS, G. O.; WISNIEWSKI, C.; LUCCAS, P. O. **Digital image analysis for the colorimetric determination of aluminum, total iron, nitrite and soluble phosphorus in waters**. *Analytical Letters*, 50, 414-430, 2017.

BILO, F.; BOGESE, L.; CAZZAGO, D.; ZACCO, A.; BONTEMPI, E.; GUARNERI, R.; BERNARDELLO, M.; ATTUATI, S.; LAZO, P.; DEPERO, L. E. **TXRF analysis of soils and sediments to assess environmental contamination**. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 13208-13214, 2014.

BRASIL, Resolução RE. nº 899, de 29 de maio de 2003. A diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Guia para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, 2003. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RE_899_2003_COMP.pdf/ff6fdc6b-3ad1-4d0f-9af2-3625422e6f4b. Acesso em: 01 de fevereiro 2022.

BREITKREITZ, M. C.; SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. **Experimento didático de quimiometria para planejamento de experimentos: avaliação das condições experimentais na determinação espectrofotométrica de ferro II com ortofenantrolina. Um tutorial, parte III**. *Química Nova*, 37, 564 – 573, 2014.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTA (CETESB). Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. Relatório técnico. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em 01 de março de 2022.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução nº 454 de 01 de novembro de 2012. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=693>. Acessado: 01 de março de 2022.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução nº 420 de 28 de dezembro de 2009. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=693>. Acessado: 01 de março de 2022.

FERNANDES, G. M.; SILVA, W. R.; BARRETO, D. N.; LAMARCA, R. S.; GOMES, P. C. F. L.; PETRUCI, J. F.; BATISTA, A. D. **Novel approaches for colorimetric measurements in analytical chemistry - A review**. *Analytica Chimica Acta*, 1135, 187-203, 2020.

FIRDAUS, L. M.; ALWI, W.; TRINOVELDI, F.; RAHAYU, I.; RAHMIDAR, L.; WARSITO, K. **Determination of chromium and iron using digital image-based colorimetry**. *Procedia Environmental Science*, 20, 298-304, 2014.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Processamento de imagens digitais**. Tradução: Roberto Marcondes Cesar Junior, Luciano da Fontoura Costa. São Paulo: Editora Blucher, 2000.

HARMON, R. S.; RUSSO, R. E.; HARK, R. R. **Applications of laser-induced breakdown spectroscopy for geochemical and environmental analysis: A comprehensive review**. *Spectrochimica Acta Part B*, 87, 11–26, 2013.

JOÃO, A. F. **Sensores eletroquímicos e dispositivo analítico combinado a smartphone fabricados por impressão 3D para o controle de qualidade de combustíveis**. 2021. 157 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, 2021.

JOÃO, A. F.; SQUISSATO, A. L.; FERNANDES, G. M.; CARDOSO, R. M. **Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-based device**. *Microchemical Journal*, 146, 1134-1139, 2019.

KHOSHMARAM, L.; MAHAMMADI, M. **Combination of a smart phone based low-cost portable colorimeter with air-assisted liquid-liquid microextraction for speciation and determination of chromium (III) and (VI)**. *Microchemical Journal*, 164, 105991, 2021.

KILIÇ, V.; ALANKUS, G.; HORZUM, N.; MUTLU, A. Y.; BAYRAM, A.; SOLMAZ, M. E. **Single-image-referenced colorimetric water quality detection using a smartphone**. *ACS Omega*, 3, 5531–5536, 2018.

LARIOS, R.; FERNANDEZ-MARTINEZ, R.; SILVA, V.; RUCANTINO, I. **Chemical availability of arsenic and heavy metals in sediments from abandoned cinnabar mine tailings**. *Environmental Earth Sciences*, 68, 535-546, 2013.

LEVIN, S.; KRISHNAN, S.; RAJKUMAR, S.; HALERY, N.; BALKUNDE, P. **Monitoring of fluoride in water samples using a smartphone**. *Science of The Total Environment*, 551–552, 101-107, 2016.

LOPEZ-MOLINERO, A.; CUBERO, V. T.; IRIGOYEN, R. D.; PIAZUELO, D. S. **Feasibility of digital image colorimetry - Application for water calcium hardness determination**. *Talanta*, 103, 236–244, 2013.

MANAHAN, S. E. **Environmental chemistry**. 8. ed. Florida: Boca Raton, 2005.

MARQUES FILHO, O.; VIERA NETO, H. **Processamento Digital de Imagens**. Rio de Janeiro: Brasport, 1999.

MASAWAT, P.; HARFIELD, A.; SRIHIRUN, N.; NOMWONG, A. **Green determination of total iron in water by digital image colorimetry**. *Analytical Letters*, 50, 173-185, 2017.

MOHAMED, A.; SHALABY, A. A. **Digital imaging devices as sensors for iron determination**. *Food Chemistry*, 274, 360-367, 2019.

NUNES, L. S.; KORN, M. G. A.; LEMOS, V. A. **A novel direct-immersion single-drop microextraction combined with digital colorimetry applied to the determination of vanadium in water**. *Talanta*, 224, 121893, 2021.

PASSARETTI FILHO, J.; PETRUCI, J. F. S.; CARDOSO, A. A. **Development of a simple method for determination of NO₂ in air using digital scanner images**. *Talanta*, 140, 73-80, 2015.

PENG, B.; CHEN, G.; LI, K.; ZHOU, M.; ZHANG, J.; ZHAO, S. **Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with digital image colorimetric analysis for detection of total iron in water and food samples**. *Food Chemistry*, 230, 667-672, 2017.

PHUANGSAIJAI, N.; JAKMUNEE, J.; KITTIWACHANA, S. **Investigation into the predictive performance of colorimetric sensor strips using RGB, CMYK, HSV, and CIELAB coupled with various data preprocessing methods: a case study on an analysis of water quality parameters**. *Journal of Analytical Science and Technology*, 19, 2021.

PROCH, J.; NIEDZIELSKI, P. **Iron species determination by high performance liquid chromatography with plasma based optical emission detectors: HPLC-MIP OES and HPLC-ICP OES**. *Talanta*, 231, 122403, 2021.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à Química Ambiental**. 2 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

SAADATI, M. **A simple spot test method with digital imaging for chromium speciation in water samples**. *Journal of Analytical Chemistry*, 77, 704-710, 2022.

SAFAROVA, V. I.; SHAIDULLINA, G. F.; MIKHEEVA, T. N.; KUDASHEVA, F. K.; NIZAMUTDINOVA, N. R. **Methods of sample preparation of soil, bottom sediments, and solid wastes for atomic absorption determination of heavy metals**. *Inorganic Materials*, 47, 1512-1517, 2011.

SANTOS NETO, J. H.; PORTO, I. S. A.; SCHNEIDER, M. P.; SANTOS, Ana M. P.; GOMES, A. A.; FERREIRA, S. L. C. **Speciation analysis based on digital image colorimetry: Iron (II/III) in white wine**. *Talanta*, 194, 86-89, 2019.

SANTOS, L. B.; BARRETO, J. A.; ASSIS, R. S.; SOUZA, C. T.; FERREIRA, S. L. C.; NOVAES, C. G.; LEMOS, Va. A. **Solid-Phase Extraction and Detection by Digital**

Image Directly in the Sorbent: Determination of Nickel in Environmental Samples. *Water Air Soil Pollution*, 231, 476, 2020.

SANTOS, P. M. **Aplicação de imagens digitais e técnicas espectroanalíticas combinadas com quimiometria para detecção e quantificação de adulteração em leite bovino.** 2013. 98 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, 2013.

SERRANO, R.; ANTICO, E.; GRINDLAY, G.; GRAS, L.; FONTAS, C. **Determination of elemental bioavailability in soils and sediments by microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP-OES): Matrix effects and calibration strategies.** *Talanta*, 240, 123166, 2022.