



**UnB**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

Enny Priscilla Gomes da Silva

**Desenvolvimento e avaliação de um sistema flow-batch com bombas  
piezoelétricas e detecção com imagens digitais**

BRASÍLIA, DF  
2022

Enny Priscilla Gomes da Silva

**Desenvolvimento e avaliação de um sistema flow-batch com bombas piezoelétricas e detecção com imagens digitais**

Projeto de trabalho de conclusão do curso de Bacharelado em Química apresentado ao Instituto de Química da Universidade de Brasília como requisito de obtenção do título de bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Fonseca

BRASÍLIA, DF  
2022

## AGRADECIMENTO

Cursar química era um dos meus maiores anseios, e sou imensamente grata sobretudo a Deus que me concedeu essa graça especial, foi minha fortaleza e meu abrigo todo o tempo, e a Nossa Senhora que intercede por seus filhos e não os deixa desamparados.

Aos meus pais, familiares e avós que me proporcionaram a melhor educação que podiam oferecer, me incentivam com palavras afirmativas, principalmente nos momentos mais conturbados, e por todo o apoio que me foi necessário para permanecer na universidade.

Ao meu professor orientador Dr. Alexandre Fonseca, o qual tenho grande admiração, por sua incomparável capacidade de ser solícito, compreensivo e por sua dedicação e empenho em me auxiliar durante este trabalho.

Igualmente agradeço todos os professores do Instituto de Química que foram exímios educadores e contribuíram para meu aprendizado e paixão pela química. Certamente conquistei boas memórias nesse período que convivi com cada um deles.

Sou grata à Universidade de Brasília por me receber, por proporcionar experiências e convívios inesquecíveis e por sua tamanha estrutura que acolhe tão bem seus estudantes.

Aos meus queridos amigos e colegas de curso que sentiram junto comigo uma variedade de sentimentos, pelo poder de incentivar e motivar uns aos outros, e por serem responsáveis por momentos de descontração que tornaram a vida acadêmica de certa forma mais leve.

E por fim, mas não menos importante, agradeço todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para essa realização.

## RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido e avaliado um sistema flow-batch empregando bombas piezoelétricas como sistema de propulsão para controle de adição dos volumes dos reagentes, e imagens digitais para a detecção colorimétrica baseada no sistema RGB. O instrumento proposto foi avaliado na determinação de ferro em medicamentos a partir do método espectrofotométrico com o-fenantrolina com calibração por adição de padrão, sendo todo o procedimento realizado de maneira automática por meio de um computador interfaceado com um microcontrolador Arduino nano. Usando o monitoramento em tempo real, foi possível controlar as adições de 1,0 mL das soluções dos reagentes (hidroxilamina e o-fenantrolina), bem como de alíquotas de uma solução padrão de  $\text{Fe}^{2+}$  ( $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ ). Foi possível a construção de uma curva analítica linear ( $R^2=0,9985$ ) para a faixa de concentração de  $0,34$  a  $0,90 \text{ mg L}^{-1}$  em  $\text{Fe}^{2+}$ , sendo estimado um limite de detecção (LOD) de  $0,035 \text{ mg L}^{-1}$  e um limite de quantificação (LOQ) de  $0,107 \text{ mg L}^{-1}$ . A repetibilidade do sinal analítico (componente B de RGB), medida em cada ponto de concentração, variou entre  $0,6$  e  $6,0 \%$  ( $n=3$ ), mostrando uma precisão adequada para o procedimento automatizado. Adicionalmente, as concentrações de três amostras de medicamentos foram determinadas pelo método proposto e por um método de referência (espectrometria UV-Vis), não sendo observadas diferenças significativas entre os resultados, ao nível de  $95 \%$  de confiança, para duas das amostras, em que foram observados erros relativos abaixo de  $4,0 \%$ . Dessa forma, demonstrou-se que a combinação de bombas piezoelétricas, flow-batch e imagens digitais pode ser uma alternativa atrativa para a realização de análises que envolvam a calibração por adição de padrão e colorimetria.

Palavras-chave: flow-batch; bombas piezoelétricas; imagens digitais; determinação de ferro; RGB.

## ABSTRACT

In this work, a flow-batch system was developed and evaluated, employing piezoelectric pumps as the propulsion system to control the addition of reagent volumes, and digital images for colorimetric detection based on the RGB system. The proposed instrument was evaluated in the determination of iron in pharmaceuticals using the spectrophotometric method with o-phenantroline with calibration by standard addition, being all the procedure performed automatically by a computer interfaced with an Arduino nano microcontroller. Using real-time monitoring, it was possible to control the additions of 1.0 mL of the reagent solutions (hydroxylamine and o-phenantroline), as well as aliquots of a standard  $\text{Fe}^{2+}$  solution (2,0 mg L<sup>-1</sup>). It was possible to construct a linear analytical curve ( $R^2=0.9985$ ) for the concentration range of 0.34 to 0.90 mg L<sup>-1</sup> in  $\text{Fe}^{2+}$ , with a limit of detection (LOD) of 0.035 mg L<sup>-1</sup> and a limit of quantification (LOQ) of 0.107 mg L<sup>-1</sup>. The repeatability of the analytical signal (B component of RGB), measured at each concentration point, ranged between 0.6 and 6.0 % (n=3), showing adequate precision for the automated procedure. Additionally, the concentrations of three pharmaceutical samples were determined by the proposed method and a reference method (UV-Vis spectrometry), and no significant differences between the results were observed at the 95 % confidence level for two of the samples, where relative errors below 4.0 % were observed. Thus, it was demonstrated that the combination of piezoelectric pumps, flow-batch and digital imaging may be an attractive alternative for performing analyses involving calibration by standard addition and colorimetry.

Keywords: flow-batch; piezoelectric pumps; digital imaging; iron determination; RGB.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema geral de um sistema FB. Compartimentos das soluções (C1-C4), bomba peristáltica (BP), válvulas solenoides (V1-V4 e V5), barra magnética (BM), câmara de reação (CR), agitador magnético (AM), sistema de detecção (SD). Adaptado da referência (DINIZ et al., 2012).....	10
Figura 2 - Microbomba piezoelétrica (Bartels). Fonte: <a href="https://www.bartels-mikrotechnik.de/en/micropumps/">https://www.bartels-mikrotechnik.de/en/micropumps/</a> .....	11
Figura 3 - Ciclo de bombeamento de uma microbomba piezoelétrica mp6. Fonte: <a href="https://www.bartels-mikrotechnik.de/en/micropumps/">https://www.bartels-mikrotechnik.de/en/micropumps/</a> .....	12
Figura 4 - Características típicas das bombas mp6 da Bartels adaptada da referência (BARTELS, 2021). A microbomba mp6-pi tem o mesmo comportamento de desempenho que a microbomba mp6-liq .....	13
Figura 5 - Fotografia do circuito desenvolvido para o controle das bombas e do agitador magnético. Arduino nano (AN), driver das bombas (DV), relê (RL), controlador de velocidade de agitação (PWM) e conectores para as bombas (CB) .....	20
Figura 6 - Disco fabricado em PLA contendo dois ímãs de neodímio e fixado ao eixo do motor .....	20
Figura 7 - Conexão do motor elétrico ao controlador PWM .....	21
Figura 8 - Compartimento de PLA fabricado para acondicionamento do circuito eletrônico.....	21
Figura 9 - Suporte para as bombas piezoelétricas .....	22
Figura 10 - Suporte para os recipientes de solução .....	22
Figura 11 - Tubete fabricado em PET e adaptação do tubete para atuar como frasco de reação .....	23
Figura 12 - Base do reator fabricada em PLA com canal para drenagem do conteúdo do reator.....	23
Figura 13 - (a) desenho do modelo final do frasco de reação e suas dimensões, (b) modelo real colado à base fabricada em PLA .....	24
Figura 14 - Fotografia do sistema flow-batch proposto. Bombas piezoelétricas (B1-B4). Soluções dos reagentes indicados nos recipientes.....	25
Figura 15 - Iluminador do tipo ring light posicionado lateralmente ao sistema para realização das medidas.....	26

Figura 16 - Interface do programa desenvolvido. Imagem em tempo real do frasco reacional (IM), gráfico do sinal analítico (SA), gráfico da curva analítica (CA), parâmetros de análise (PA).....	27
Figura 17 - Imagem em tempo real ampliada para ver com detalhes os seis amostradores de volume (AV), amostrador do branco (AB), amostradores de referência (AR) e amostrador de sinal (AS) .....	28
Figura 18 - Diferença de volume de um amostrador para o outro, volume contido do fundo do frasco até o segundo amostrador e volumes correspondentes aos demais amostradores. O sombreado laranja acompanhado do tracejado indica que há solução na base do reator .....	29
Figura 19 - Valores de sinal RGB e respectivos valores de concentração dos padrões nas leituras .....	34
Figura 20 - Curva de adição padrão para amostra C plotada juntamente com valores de desvio .....	35
Figura 21 - Curva analítica obtida a partir de medidas realizadas em espectrofotômetro UV-Vis .....	37

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

FB	Flow-batch
CR	Câmara de reação
FIA	Análise por injeção em fluxo (Flow injection analysis)
SIA	Análise por injeção sequencial (Sequential injection analysis)
CFA	Análise em fluxo contínuo (Continuous flow analysis)
MP	Minibomba piezoelétrica



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	9
1.1	FLOW-BATCH.....	9
1.2	MINIBOMBAS PIEZOELÉTRICAS .....	11
1.3	USO DE IMAGENS DIGITAIS EM QUÍMICA ANALÍTICA .....	13
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>3</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	17
3.1	REAGENTES E SOLUÇÕES .....	17
<b>3.1.1</b>	<b>Soluções de trabalho</b> .....	17
<b>3.1.2</b>	<b>Preparo da amostra</b> .....	18
3.2	APARATOS .....	19
3.3	CONSTRUÇÃO DO SISTEMA FLOW-BATCH.....	19
<b>3.3.1</b>	<b>Programação e procedimento automatizado para a determinação de ferro em medicamentos</b> .....	26
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	40
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	41

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 FLOW-BATCH

Um sistema de análise flow-batch (FB) combina os atributos úteis e favoráveis de um sistema de análise em fluxo com o clássico método de batelada. Criado como um método alternativo de titulação em fluxo, o analisador flow-batch foi desenvolvido em 1999 por Honorato e colaboradores (HONORATO et al., 1999) e posteriormente foi incluído por Trojanowicz (TROJANOWICZ, 2008) na classificação de sistemas analíticos baseados em fluxo, nos quais outros seis sistemas estão presentes, dentre eles sistema de análise por injeção de fluxo (FIA), análise de fluxo contínuo (CFA) e análise por injeção sequencial (SIA). A versatilidade desses sistemas tem despertado o interesse de desenvolvê-los, é aplicado principalmente em titulações (PASQUINI et al., 2007; SILVA, 2010), e é notável a existência de numerosas publicações com trabalhos baseados em FB (SWEILEH, 1988; GARCIA, 2006).

Um exemplo do sistema FB aplicado em titulação é o trabalho de Oliveira e colaboradores (OLIVEIRA et al., 2006) que utilizaram um sistema FB para determinação de ácido ascórbico em suco de laranja, a partir de uma célula coulométrica de fluxo para geração do titulante triiodeto até se obter um excesso significativo, foi introduzido na câmara de reação quantidades fixas de amostra e iodeto. Utilizaram espectrofotometria UV-Vis para detecção, e o tratamento estatístico de uma regressão linear permitiu a identificação precisa do ponto de equivalência. Outras aplicações incluem método de adição padrão, pré-tratamento de amostra, quimiluminescência, adição de padrão interno, análise simultânea multicomponente, entre outros (HONORATO et al., 2000; CARNEIRO et al., 2002; ALMEIDA et al., 2003; LIMA et al., 2004; SILVA et al., 2006; VISANI et al., 2009; MONTE-FILHO et al., 2011; GRÜNHUT et al., 2011).

O esquema geral de um sistema FB é ilustrado na Figura 1. Os componentes básicos (DINIZ et al., 2012) de um FB são: sistema de propulsão, faz o papel de impulsionar todos os fluidos (soluções dos reagentes, padrões e amostras) para análise; sistema de transporte, tubos delgados que conduzem os fluidos para todas as unidades; sistema de multicomutação (válvulas), válvulas solenoides de três vias que direcionam os fluidos para a câmara de reação; câmara de reação (CR),

compartimento onde as alíquotas são adicionadas para depois serem processadas, possui um agitador magnético acoplado e pode também associar uma chapa de aquecimento; sistema de detecção (SD), monitora alguma propriedade físico-química e traduz em sinal analítico interpretável.

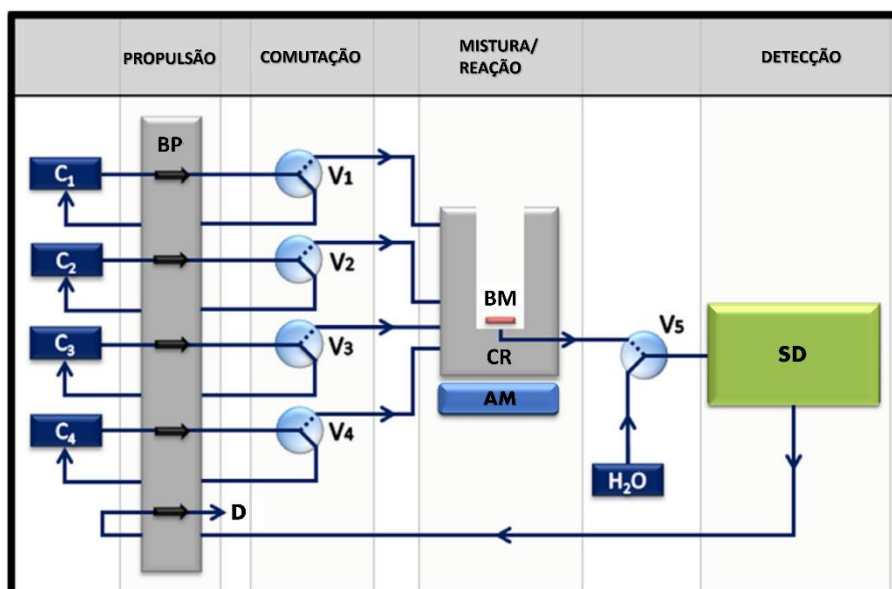


Figura 1 - Esquema geral de um sistema FB. Compartimentos das soluções (C1-C4), bomba peristáltica (BP), válvulas solenoides (V1-V4 e V5), barra magnética (BM), câmara de reação (CR), agitador magnético (AM), sistema de detecção (SD). Adaptado da referência (DINIZ et al., 2012)

A maioria dos sistemas flow-batch descritos na literatura utilizam bombas peristálticas como sistema de propulsão. Com esse arranjo, o controle dos volumes adicionados ao reator costuma ser baseado no tempo de operação da bomba e na vazão por ela proporcionada. Contudo, variações significativas na vazão podem ser observadas devido ao desgaste dos tubos que ficam em contato contínuo com os roletes da bomba, prejudicando a aferição dos volumes.

Para contornar esse problema, sensores podem ser colocados no reator para que o bombeamento seja interrompido quando for atingido o volume adequado, mas isso pode encarecer o sistema devido à necessidade de vários sensores para os diferentes volumes. Uma alternativa é utilizar bombas de pistão que apresentam um maior controle dos volumes transferidos. No entanto, assim como as bombas peristálticas, esse tipo de bomba apresenta um custo elevado, consomem muita energia e apresentam um tamanho relativamente grande, dificultando a sua aplicação

de forma portátil. Dessa forma, uma abordagem que viabiliza a substituição desses tipos de bomba é bastante conveniente para o sistema FB.

## 1.2 MINIBOMBAS PIEZOELÉTRICAS

Com o advento de técnicas em microescala, tomando a microfluídica como um exemplo, as bombas como componentes principais para fluxo dos fluidos nesses sistemas precisaram ser miniaturizadas. Até o momento foram projetadas e fabricadas microbombas com diferentes características e modos operacionais, e cada campo de aplicação possui uma necessidade de característica e desempenho diferente dessas minibombas, como tamanho e pressão produzida (ZHOU et al., 2016).

Para composição do sistema flow-batch desenvolvido nesse trabalho, foram utilizadas especificamente as minibombas piezoelétricas do modelo mp6-pi da Bartels (Figura 2) que será detalhada em seguida. As microbombas da série mp6 da Bartels são bombas de duplo diafragma e combina dois atuadores piezoelétricos dentro de uma única carcaça. É uma bomba extremamente pequena e leve, fabricada em poliimida (PI) e polifenilsulfona (PPSU), o que possibilita o seu uso com uma ampla variedade de líquidos (BARTELS, 2021).



Figura 2 - Microbomba piezoelétrica (Bartels). Fonte: <https://www.bartels-mikrotechnik.de/en/micropumps/>

O princípio de funcionalidade dessas bombas é baseado em diafragma piezoelétrico combinado com válvula de verificação passiva. Uma cerâmica piezoelétrica montada em uma membrana revestida de latão é deformada quando uma tensão elétrica é aplicada. Pelo deslocamento para baixo resultante, o líquido é deslocado para fora da câmara da bomba (BARTELS, 2021). As válvulas de

verificação em ambos os lados da câmara da bomba definem a direção de fluxo. Quando a tensão diminui, a deformação piezo correspondente provoca o deslocamento da membrana para cima. O líquido é sugado e a câmara é preenchida novamente. Em cada segundo, a bomba pode fazer várias centenas desses ciclos de bombeamento, ilustrado pela Figura 3.

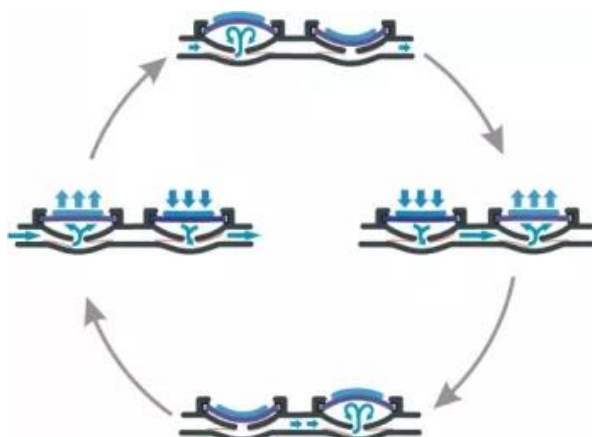


Figura 3 - Ciclo de bombeamento de uma microbomba piezoelétrica mp6.  
Fonte: <https://www.bartels-mikrotechnik.de/en/micropumps/>

O desempenho do bombeamento pode ser influenciado pelo ajuste dos parâmetros de magnitude da tensão aplicada (250 V) e da frequência com que se aplica essa tensão (0-200 Hz). Algumas características típicas dessas bombas são expressas na Figura 4, sendo a relação de pressão e fluxo linear (BARTELS, 2021). À pressão mínima de 0 mbar corresponde a taxa de fluxo máxima de 6 mL/min, e para a pressão máxima de 500 mbar a taxa de fluxo é reduzida para 0 mL/min.

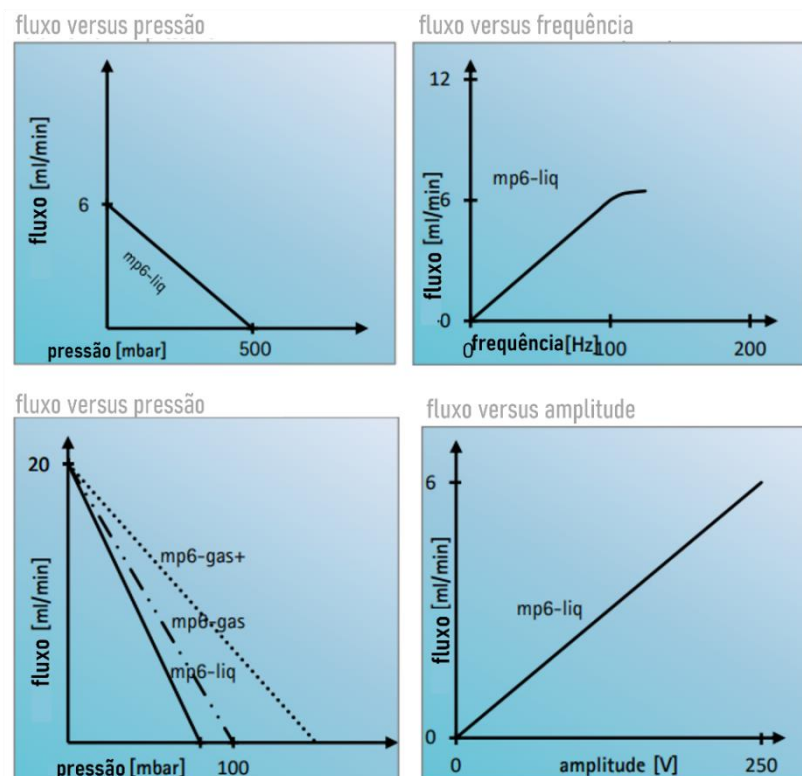


Figura 4 - Características típicas das bombas mp6 da Bartels adaptada da referência (BARTELS, 2021). A microbomba mp6-pi tem o mesmo comportamento de desempenho que a microbomba mp6-liq

### 1.3 USO DE IMAGENS DIGITAIS EM QUÍMICA ANALÍTICA

Uma tendência notável no desenvolvimento de metodologias e tecnologias analíticas fora de laboratório visa reunir informações in situ e em tempo real usando dispositivos compactos e de baixo custo que medem com precisão diferentes magnitudes químicas. Nas últimas décadas, o objetivo tem sido reduzir o tempo de resposta, simplificando o procedimento analítico sem comprometer os resultados (VALLVEY et al., 2015).

O desenvolvimento de hardwares e softwares mais rápidos e amigáveis possibilitou o uso de técnicas analíticas baseadas no processamento de imagens digitais em uma variedade de aplicações (FILHO, 2015).

RGB é o espaço de cores mais comum em dispositivos de captura de imagem digital, uma vez que o sistema visual humano funciona de forma semelhante. De fato, a maioria dos detectores de cores e imagens foram concebidos e projetados para fornecer informações em coordenadas RGB. O sistema tem sua origem na televisão colorida onde os Tubos de Raios Catódicos (TRC) foram usados. As letras em RGB

são para as cores R-vermelho, G-verde e B-azul. O modelo usa mistura de cores aditivas para informar que tipo de luz precisa ser emitida para produzir uma determinada cor. O valor de uma determinada cor é expresso como um vetor de três elementos — intensidades das cores vermelho, verde, e azul. Suponha que os valores para cada uma dessas três cores sejam quantizados a  $m = 2^n$  valores, com  $n$  sendo o número de bits de digitalização para cada canal no dispositivo; o maior valor de intensidade é  $k = m - 1$ ; então  $(0, 0, 0)$  é preto,  $(k, k, k)$  é branco,  $(k, 0, 0)$  é vermelho 'puro', e assim por diante. O valor  $k = 255 = 2^8 - 1$  é comum, ou seja, 8 bits por canal colorido. Existem  $256^3 = 2^{24} = 16,777,216$  cores possíveis em um espaço tão discretizado (SONKA, 2015).

O espaço de cores RGB é amplamente utilizado e pode ser aplicado para estabelecer uma relação entre cor e concentração do analito (PACIORNIK et al., 2006; SANTOS, 2013), usando processamento digital de imagens e softwares específicos que possibilitam extrair informações colorimétricas selecionando as áreas de interesses em uma imagem. Em vez de usar as três coordenadas separadamente, é comum na literatura usar uma combinação das coordenadas RGB ou definir uma magnitude chamada intensidade para definir a contribuição colorimétrica da luz incidente sobre os elementos de sensoriamento do detector (VALLVEY et al., 2015).

Para uma determinada amostra colorida o sistema RGB apresenta uma combinação das componentes R, G e B, à medida que a intensidade dessa cor aumenta, as componentes alteram seus valores. Por exemplo, quando soluções de cor laranja apresentam um aumento de cor (para laranja mais intenso), o valor da componente B diminui.

O uso de câmeras digitais, webcams e smartphones possibilitou o desenvolvimento de métodos para análises, por exemplo, Lyra e colaboradores (LYRA et al., 2009) propuseram um método de espectrometria de emissão de chama baseada em imagens digitais e aplicou na determinação de lítio, sódio e cálcio em antidepressivos, soro fisiológico e água, respectivamente. Foi utilizada uma webcam de baixo custo baseada no sistema de cor RGB como detector analítico.

Os equipamentos de gravação de imagens agora podem ser usados por qualquer pessoa, e os baixos custos desses dispositivos contribuíram para sua popularidade e disponibilidade universal. Métodos analíticos baseados no uso desse tipo de equipamento podem ajudar no controle da poluição em regiões remotas que

não têm acesso a laboratórios, bem como em países em desenvolvimento, onde os custos de aquisição e manutenção da instrumentação comercial dificultam a implementação do monitoramento ambiental (FILHO, 2015).

A literatura mostra que estratégias com imagens digitais têm sido bastante aplicadas para detecção analítica de interesse qualitativo e/ou quantitativo, sendo o seu uso para o controle e automação de sistemas de análise ainda pouco explorado, o que constitui um dos desafios do presente trabalho.



## 2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo principal o desenvolvimento e a avaliação de um sistema flow-batch baseado em bombas piezoelétricas com controle de volume e detecção por imagens digitais.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Utilizar minibombas piezoelétricas como alternativa para o bombeamento de soluções em um sistema flow-batch.
- ✓ Construção de circuitos eletrônicos para sistema de agitação magnético e arranjo flow-batch.
- ✓ Desenvolvimento de um sistema de detecção com imagens digitais para controle de volume e para detecção colorimétrica/fotométrica do analito.
- ✓ Programação do acionamento de bombas, controle do volume e detecção.
- ✓ Avaliação na determinação espectrofotométrica de Fe em medicamentos.

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todas as soluções foram preparadas em água desmineralizada por osmose reversa e com reagentes de grau analítico com pureza igual ou superior a 99,0 %.

##### 3.1.1 Soluções de trabalho

Inicialmente foi preparado 500 mL de uma solução tampão de acetato/ácido acético 0,2 mol L<sup>-1</sup> diluindo em água uma alíquota de 5,75 mL de ácido acético glacial 17,5 mol L<sup>-1</sup>. O pH foi ajustado em 5,03 a partir de adições sucessivas de solução saturada de NaOH monitorada por um pHmetro.

Uma solução de hidroxilamina 10% (m/v) foi preparada pela dissolução de 10 g do reagente cloridrato de hidroxilamina (*Aldrich 99%*) em 100 mL de água.

Uma solução de o-fenantrolina 6 mmol L<sup>-1</sup> foi preparada pela dissolução de 108 mg de o-fenantrolina (*Aldrich 99%*) em 100 mL de tampão de acetato/ácido acético 0,2 mol L<sup>-1</sup>.

Preparou-se 100 mL de uma solução estoque de Fe<sup>2+</sup> de 1000 mg L<sup>-1</sup> partindo da dissolução de 0,7067 g de sulfato ferroso amoniacal hexahidratado (*Aldrich 99%*) em água e 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>. Um padrão de Fe<sup>2+</sup> a 2 mg L<sup>-1</sup> foi preparado a partir da diluição de uma alíquota de 0,2 mL da solução estoque de Fe<sup>2+</sup> para preparar 100 mL do padrão.

Algumas soluções foram preparadas mais de uma vez de acordo com a demanda para as análises. A Tabela 1 indica as soluções de trabalho preparadas, solventes e respectivas concentrações.

Para análise no espectrofotômetro UV-vis, preparou-se padrões e amostras partindo de uma solução de Fe<sup>2+</sup> de concentração 100 mg L<sup>-1</sup> em balões volumétricos de 25 mL. Os padrões foram preparados de acordo com a Tabela 2. Os reagentes foram transferidos para os balões e completou-se o volume com água destilada.

Tabela 1 - Soluções de trabalho, solventes em que foram preparadas e suas respectivas concentrações

Soluções de trabalho	Solvente	Concentração
Tampão acetato/ác.acético	Água	0,2 mol L <sup>-1</sup>
Hidroxilamina	Água	10 % (m/v)
o-fenantrolina	Tampão acetato 0,2 mol L <sup>-1</sup>	6 mmol L <sup>-1</sup>
Fe <sup>2+</sup>	Água	2 mg L <sup>-1</sup>

Tabela 2 - Volume de cada reagente para a preparação dos padrões em balões de 25 mL

Balão	Solução Fe <sup>2+</sup> (100 mg L <sup>-1</sup> )	Hidroxilamina (10% m/v)	o-fenantrolina (6 mmol L <sup>-1</sup> )	Tampão acetato (pH 5,03)	[Fe <sup>2+</sup> ] (mg L <sup>-1</sup> )
1	0,00 mL	0,50 mL	2,50 mL	4,00 mL	0,00
2	0,125 mL	0,50 mL	2,50 mL	4,00 mL	0,50
3	0,250 mL	0,50 mL	2,50 mL	4,00 mL	1,00
4	0,375 mL	0,50 mL	2,50 mL	4,00 mL	1,50
5	0,500 mL	0,50 mL	2,50 mL	4,00 mL	2,00
6	0,625 mL	0,50 mL	2,50 mL	4,00 mL	2,50

### 3.1.2 Preparo da amostra

Foram analisadas três amostras de medicamento (A, B e C) contendo sulfato ferroso como componente. Todas as amostras são comercializadas na forma de solução e foram preparadas transferindo-se alíquotas de 400 µL do medicamento e 1,0 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,0 mol L<sup>-1</sup> para acidificação do meio) em um balão volumétrico de 100 mL, o qual foi completado com água destilada, a fim de obter uma solução de Fe<sup>2+</sup> com concentração final de 100 mg L<sup>-1</sup>.

Para a análise no sistema proposto, as soluções diluídas das amostras foram submetidas a diluições adicionais, finalizando em uma concentração de aproximadamente 0,50 mg L<sup>-1</sup> em Fe<sup>2+</sup>.

Para a determinação com o sistema espectrofotométrico comercial utilizado como referência, as amostras foram diluídas para a concentração aproximada de 1,5 mg L<sup>-1</sup>, intermediária a concentração dos padrões utilizadas para a calibração do instrumento.

### 3.2 APARATOS

Para a construção do sistema flow-batch foram empregados quatro minibombas piezoelétricas modelo mp6-pi (Bartels), um driver I2C OEM Quad-key (Bartels) para controle de até 4 bombas; um microcontrolador arduino nano; uma impressora 3D CL1 Black edition (Cliever) e uma gravadora a laser modelo NX-01 (Laserline).

Para a detecção por imagem digital foi empregada uma webcam de alta definição (Logitech C920).

Medidas espectrofotométricas de referência foram realizadas com um espectrofotômetro Agilent Cary 8454 UV-Vis com cubeta de plástico com 1,0 cm de caminho óptico.

Peças necessárias à construção do sistema Flow-batch foram impressas com filamento de ácido polilático (PLA) em uma impressora 3D modelo CL1 Black edition (Cliever).

### 3.3 CONSTRUÇÃO DO SISTEMA FLOW-BATCH

Foram utilizados como componentes eletrônicos para a construção do sistema flow-batch: um microcontrolador arduino nano, um driver I2C OEM Quad-key (Bartels) para controle de até 4 bombas, um motor DC genérico (6 a 41 V), um módulo de controle de velocidade para motor DC baseado em PWM (*pulse with modulation*), um módulo relé 5 V (monocanal) e uma fonte de alimentação DC 12 V (1,0 A).

A Figura 5 traz uma fotografia do circuito para controle das bombas e do agitador magnético com indicação dos componentes principais. O microcontrolador Arduino foi devidamente programado para permitir o acionamento individual das bombas em uma vazão fixa da ordem de 1,0 mL/min e para acionar o agitador em momentos específicos do procedimento automatizado.

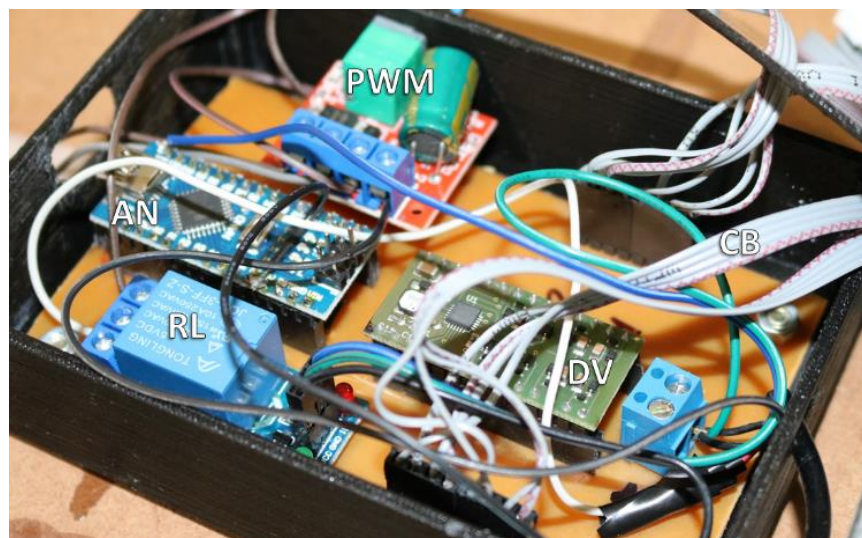


Figura 5 - Fotografia do circuito desenvolvido para o controle das bombas e do agitador magnético. Arduino nano (AN), driver das bombas (DV), relê (RL), controlador de velocidade de agitação (PWM) e conectores para as bombas (CB)

Um agitador magnético (AM) foi construído a partir de um motor elétrico de 9.0 V acionado por um relê e com velocidade de rotação controlada por um circuito de pulso com modulação (PWM). Ao eixo do motor foi fixado um pequeno disco (fabricado por impressão 3D) contendo dois ímãs de neodímio com 5,0 mm de diâmetro para movimentar a barra magnética do reator (Figura 6). A Figura 7 indica como foi realizada a conexão do motor elétrico ao controlador PWM.



Figura 6 - Disco fabricado em PLA contendo dois ímãs de neodímio e fixado ao eixo do motor

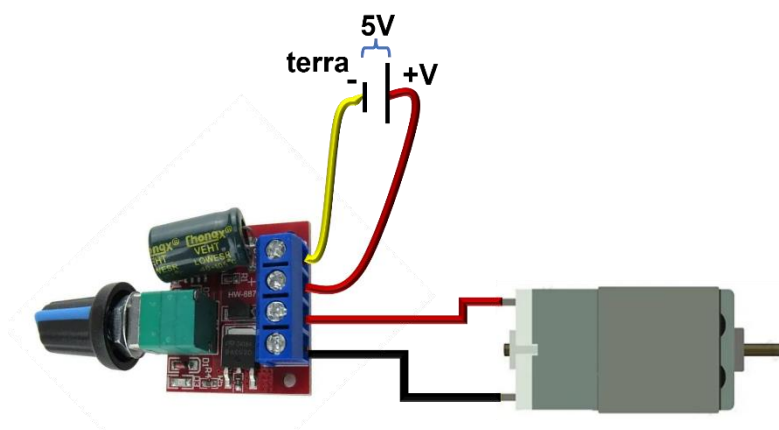


Figura 7 - Conexão do motor elétrico ao controlador PWM

O circuito eletrônico foi acondicionado em um compartimento fabricado em PLA por impressão 3D, como mostra a Figura 8, e posicionado atrás do sistema Flow-Batch.



Figura 8 - Compartimento de PLA fabricado para acondicionamento do circuito eletrônico

Por impressão 3D, foram fabricadas algumas peças em PLA para dar suporte aos componentes do sistema e fixá-los em uma base vertical, descrita mais adiante. A Figura 9 mostra os detalhes do suporte construído para as minibombas e a Figura 10 mostra um dos suportes utilizados para a acomodação dos frascos para armazenamento das soluções reagentes.

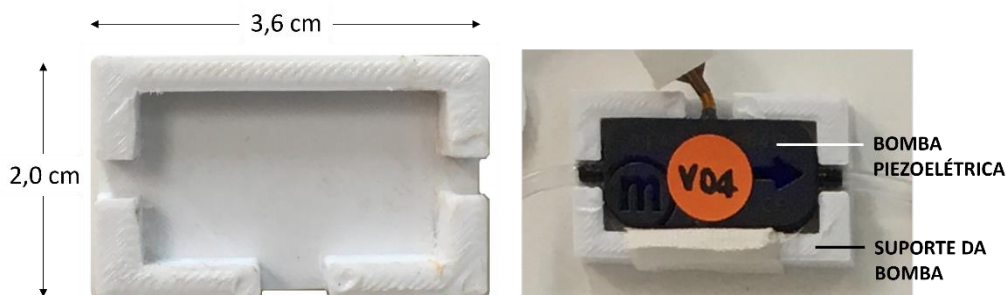


Figura 9 - Suporte para as bombas piezoelétricas

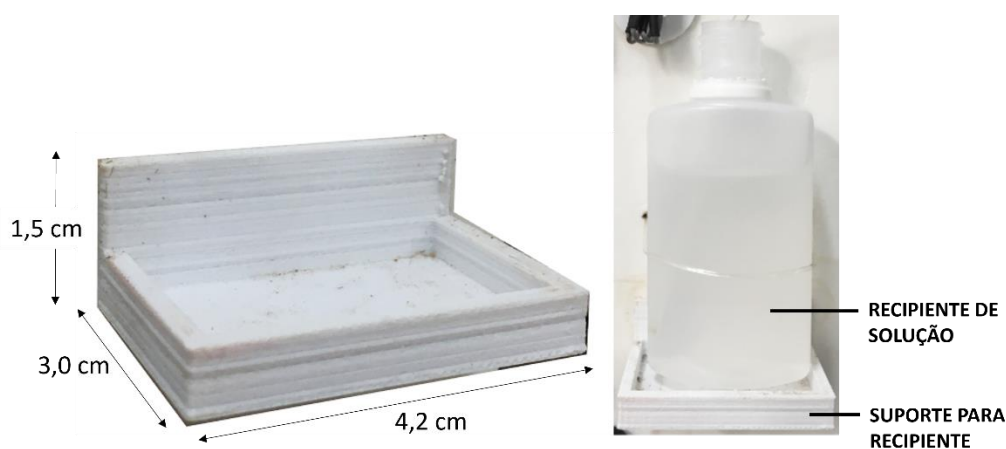


Figura 10 - Suporte para os recipientes de solução

Um reator com volume total aproximado de 15 mL foi desenvolvido partindo de uma preforma cristal (tubete) em polietileno tereftalato (PET), o qual foi adaptado ao máximo para se assimilar a um béquer. A Figura 11 ilustra um tubete genérico bem próximo do utilizado nesse trabalho e mostra como esse objeto foi adaptado para a finalidade desejada, após serrar e lixar as duas extremidades nas regiões tracejadas indicadas na Figura 11. Vale destacar que a extremidade com rosca do tubete foi eliminada para facilitar a colagem à uma outra peça do reator fabricada em PLA por impressão 3D mostrada na Figura 12.

O modelo final tem 2,1 cm de diâmetro interno e 3,9 cm de altura, contando a partir do limite da tampa do tubete, em detalhes na Figura 13, o volume da parte superior correspondente a essas dimensões é de 13,51 cm<sup>3</sup>.

Para completar o reator e permitir o seu esvaziamento de forma automatizada, foi impressa a base em PLA mostrada na Figura 12, a qual possui uma depressão

circular central com 24,0 mm de diâmetro, que permitiu o encaixe e colagem do tubete, além de um canal (furo central e lateral) que é ligado à uma minibomba para a aspiração de seu conteúdo ao final dos procedimentos.

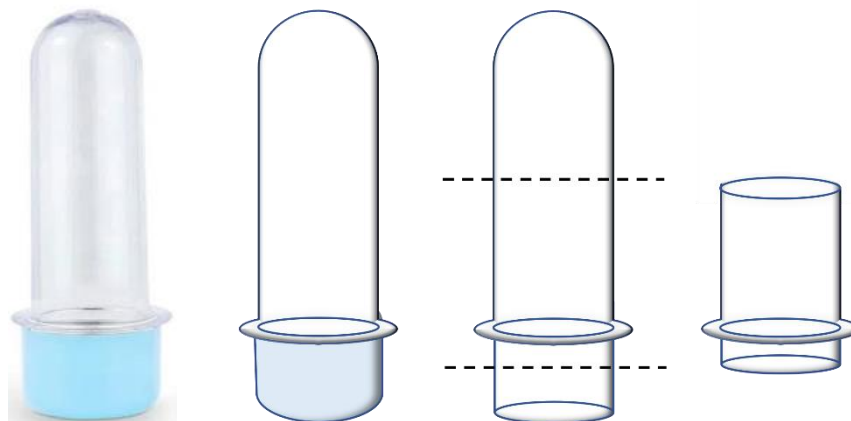


Figura 11 - Tubete fabricado em PET e adaptação do tubete para atuar como frasco de reação

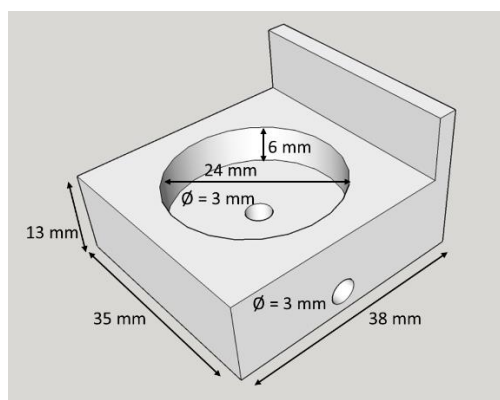


Figura 122 - Base do reator fabricada em PLA com canal para drenagem do conteúdo do reator



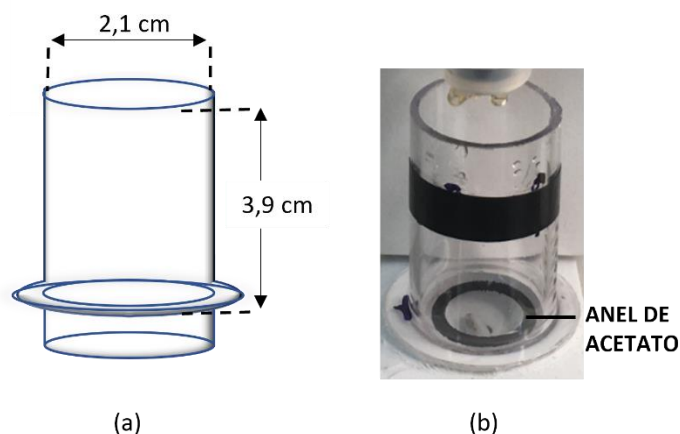


Figura 13 - (a) desenho do modelo final do frasco de reação e suas dimensões, (b) modelo real colado à base fabricada em PLA

A fim de facilitar o controle por imagem digital dos volumes adicionados ao reator, foi cortado a laser um anel com 0,4 mm de espessura em uma lâmina de acetato de celulose preta, o qual pode ser visualizado na Figura 13 (b) e possui 1,6 cm de diâmetro externo e 1,1 cm de diâmetro interno. Este anel é menos denso que as soluções aquosas utilizadas e é, então, deslocado para cima conforme o nível de líquido dentro do frasco de reação sofre variações. Vale destacar que o uso desta estratégia foi necessário para dar maior contraste ao menisco, minimizando erros de detecção dos volumes por imagem.

A Figura 14 mostra uma fotografia do sistema flow-batch final montado. Uma placa de MDF com 30 cm x 21 cm, forrada com manta de EVA branca, foi utilizada para acomodar os dispositivos. Os tubos que conduzem as soluções dos frascos até o reator por meio das bombas foram unidos com uma braçadeira e alinhados ao centro do reator de forma que cada solução pudesse ser adicionada de forma independente.

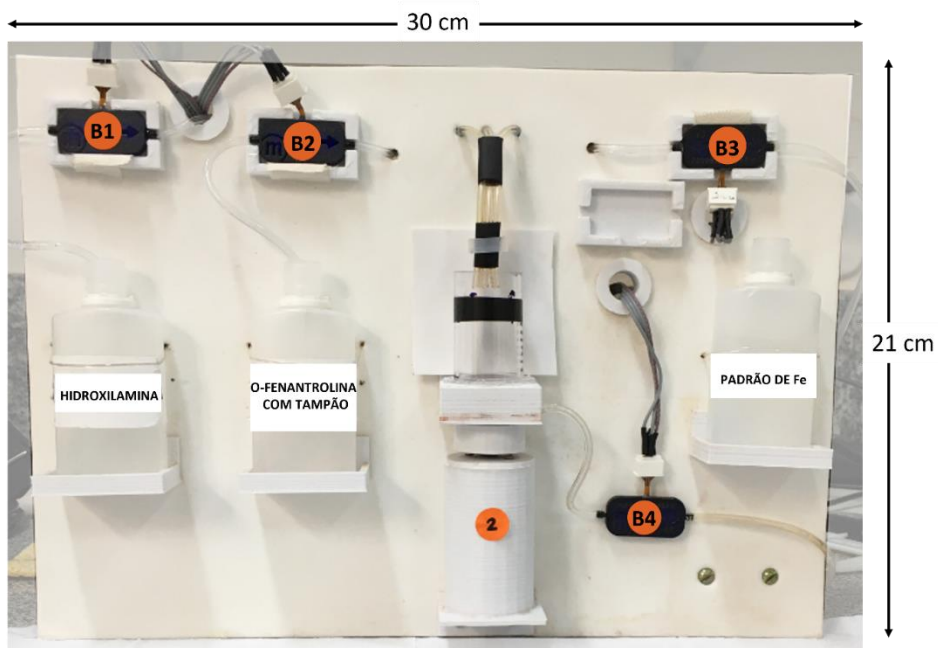


Figura 14 - Fotografia do sistema flow-batch proposto. Bombas piezoelétricas (B1-B4). Soluções dos reagentes indicados nos recipientes

Conforme mostra a Figura 15, para a realização das medidas, um iluminador do tipo *ring light* foi posicionado lateralmente ao sistema de forma a proporcionar uma imagem nítida do reator, com o mínimo de sombras e reflexos. Além disso, a *webcam* foi fixada à um suporte universal e posicionada a cerca de 10 cm do reator.



Figura 15 - Iluminador do tipo ring light posicionado lateralmente ao sistema para realização das medidas

### 3.3.1 Programação e procedimento automatizado para a determinação de ferro em medicamentos

Uma aplicação para computador foi escrita em VisualStudio 2019 para possibilitar o acionamento sequencial das bombas, para realizar o controle dos volumes e a detecção colorimétrica por imagem digital a partir de uma webcam. A interface deste aplicativo é mostrada na Figura 16, a qual permite visualizar o frasco reacional em tempo real, adquirir a resposta RGB para os pixels de regiões específicas do reator e observar, em gráficos, as respostas das cores com o aumento da concentração além de permitir a construção das curvas analíticas por adição de padrão, executar a regressão linear e determinar a concentração do analito na alíquota de amostra analisada.

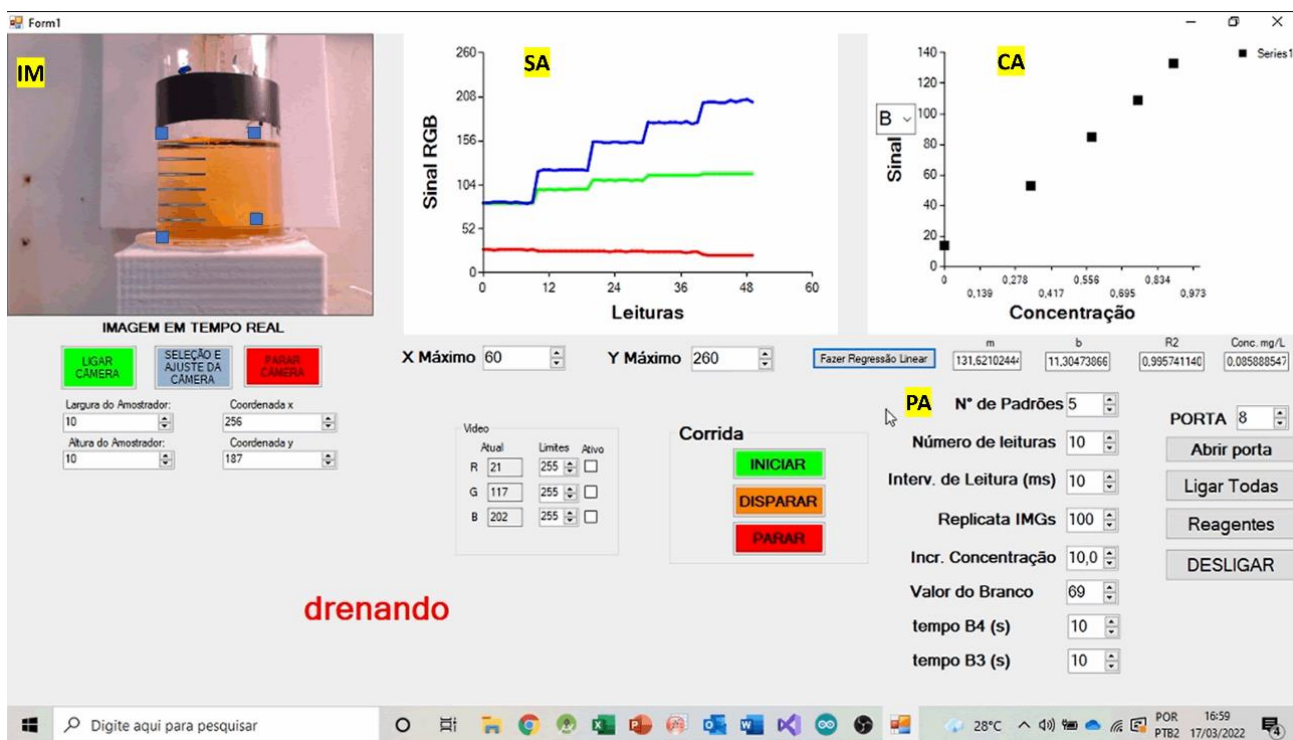


Figura 16 - Interface do programa desenvolvido. Imagem em tempo real do frasco reacional (IM), gráfico do sinal analítico (SA), gráfico da curva analítica (CA), parâmetros de análise (PA)

O monitoramento de volume e detecção por imagem digital se dá com o uso de amostradores virtuais, que fazem a leitura de RGB dos pixels de determinadas regiões do reator. Todos os amostradores utilizados são detalhados na Figura 17. Nessa imagem é possível ver um total de dez amostradores em regiões e tamanhos diferentes. Os dois amostradores de referência (AR), como o nome diz, servem de referência para o posicionamento da webcam, de maneira que eles coincidam com a base e o topo do frasco reacional. Esse ajuste se faz necessário para que o volume inserido seja o mais exato possível e garanta que a câmera esteja sempre na mesma posição em relação ao reator antes de se iniciar as medidas. O amostrador do branco (AB) faz a leitura do “branco”, que na verdade é apenas uma região do frasco que não é preenchida com solução, e esse valor é descontado a cada leitura do amostrador de sinal. O amostrador de sinal (AS) é o que captura a variação do sinal RGB conforme o incremento de amostra/padrão. É a partir dos valores dessas leituras que os gráficos de sinal bruto e da curva analítica são construídos. E finalmente, os seis amostradores de volume (AV) foram colocados em regiões específicas para fazer o controle de volume, isto é, quando o sinal RGB atinge um valor determinado nesses

amostradores, a respectiva bomba relacionada com o amostrador interrompe seu funcionamento e a próxima bomba é acionada ou a próxima etapa é executada.

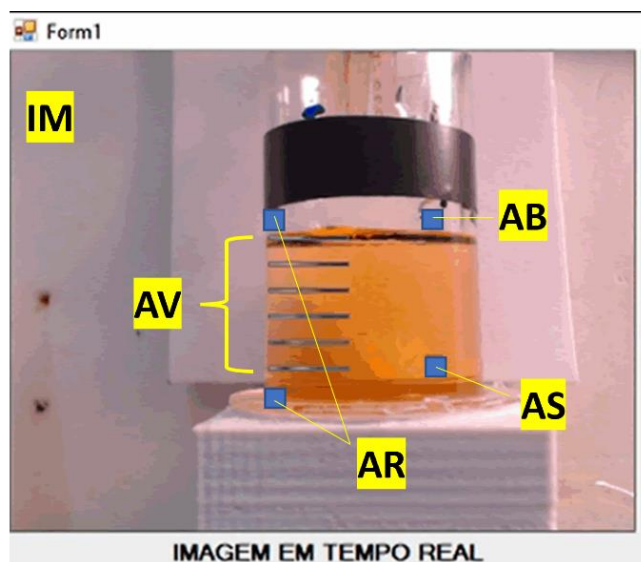


Figura 17 - Imagem em tempo real ampliada para ver com detalhes os seis amostradores de volume (AV), amostrador do branco (AB), amostradores de referência (AR) e amostrador de sinal (AS)

Os amostradores de volume foram posicionados de forma que a diferença de volume de um amostrador para o outro fosse de 1,00 mL. A posição de altura de cada amostrador (eixo y na imagem), que define um volume desejado foi determinada com base na altura total do reator em pixels (203 pixels) e no volume real do reator (13,51 cm<sup>3</sup>) de sua base até a extremidade inferior da região delimitada com fita adesiva preta na Figura 17. Dessa forma a relação entre o volume deslocado por pixel na vertical da imagem pode ser determinado como mostrado abaixo.

$$\text{Volume por pixel} = \frac{\text{Volume do frasco}}{\text{Altura do frasco em pixel}}$$

$$\text{Volume por pixel} = \frac{13,51 \text{ cm}^3}{203 \text{ pixels}} = 0,0665 \text{ cm}^3/\text{pixel}$$

$$\mathbf{66,5 \mu L/pixel}$$

Baseando-se nisso, foi encontrado o número de pixels equivalente a um deslocamento vertical na imagem de aproximadamente 1,00 mL.

$$\text{Pixels equivalentes a } 1,00 \text{ mL} = 1000 \mu\text{L} \times \frac{1 \text{ pixel}}{66,5 \mu\text{L}} \rightarrow x = 15,04 \text{ pixels}$$

No ajuste das coordenadas dos amostradores só é possível variar números inteiros de pixels, então para o número inteiro mais próximo, foi obtido o seguinte volume aproximado.

$$\text{Volume contido em } 15 \text{ pixels} = 15 \text{ pixels} \times \frac{1000 \mu\text{L}}{15,04 \text{ pixels}} \rightarrow x = 997,34 \mu\text{L} = 0,99734 \text{ mL}$$

A partir desses dados é que foram ajustadas as coordenadas de cada amostrador de volume. Essa diferença de volume é válida a contar do primeiro amostrador de volume em diante.

Para eventuais cálculos de diluição, o volume exato contido da base do reator até o segundo amostrador de volume foi medido manualmente pipetando água e anotando os incrementos de volume, totalizando 4,94 mL. A Figura 18 expõe com mais clareza o que acabou de ser descrito.

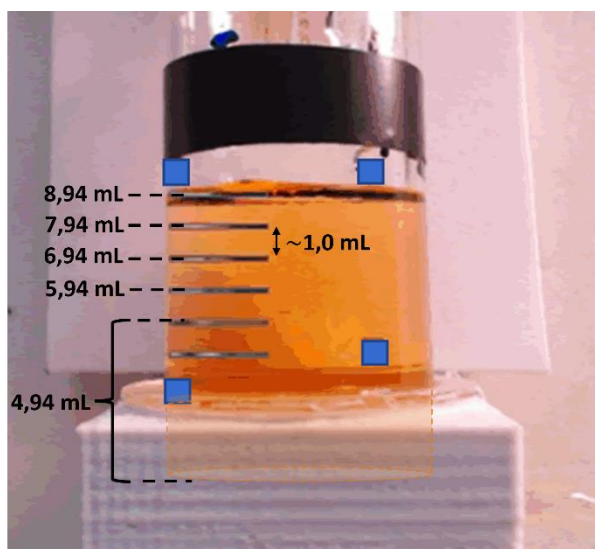


Figura 18 - Diferença de volume de um amostrador para o outro, volume contido do fundo do frasco até o segundo amostrador e volumes correspondentes aos demais amostradores. O sombreado laranja acompanhado do tracejado indica que há solução na base do reator

Para dar início à análise, é transferido 2,50 mL de amostra diluída ao frasco reacional de forma manual. O funcionamento do programa pode ser descrito de forma resumida nas seguintes etapas:

1. Inicia-se selecionando a “porta de comunicação”, isto é, a entrada USB do computador em que o circuito está conectado.
2. É selecionada a opção “abrir porta”.
3. A opção “ligar câmera” é acionada.
4. Seleciona-se “seleção e ajuste de câmera” e ajusta-se os parâmetros abaixo, otimizados para melhor desempenho da detecção por imagem, na aba que se abre.

Zoom → 150

Foco → 45

Exposição → - 6

Saturação → 201

\*Observação: Todas as opções “automático” e compensação de pouca luz devem ser desabilitadas.

5. Coordenada x do amostrador de sinal é definida em 256 (permitindo o seu posicionamento correto para a detecção por cores da solução reacional).
6. Seleciona-se o botão “iniciar”. Automaticamente é aberta uma aba para nomear o arquivo e salvá-lo.
7. O botão “disparar” é acionando, é emitido um aviso sonoro e se inicia o procedimento automatizado na seguinte ordem:
  - a) A bomba B1 adiciona a solução de hidroxilamina ao reator até que amostrador de volume 1 detecte a adição 1,0 mL deste reagente.
  - b) A bomba B2 adiciona a solução de o-fenantrolina com tampão ao reator até que amostrador de volume 2 detecte a adição 1,0 mL deste reagente.
  - c) O agitador magnético é acionado por 5 s e posteriormente desligado.
  - d) Após 2 s, é realizada a leitura de RGB do amostrador para medidas colorimétricas. São realizadas 10 leituras e os sinais analíticos são plotados em SA na Figura 16. Vale destacar que esses sinais se referem a subtração da resposta em R, G ou B do valor de 255 para que haja um aumento do sinal em função do aumento da concentração de ferro, principalmente para a componente B. Além disso, o sinal do branco virtual é determinado de

maneira semelhante e descontado do sinal para a solução, antes que esse último seja plotado.

e) A média do sinal analítico para as 10 medidas na solução é calculada e plotada como um ponto na curva analítica (CA na Figura 16).

f) A bomba B3 adiciona a solução padrão de  $\text{Fe}^{2+}$  ao reator até que amostrador de volume 3 detecte a adição 1,0 mL deste reagente.

g) Os passos “c” a “f” são repetidos até se obter cinco pontos na curva analítica.

8. A bomba B4 é acionada para aspirar a solução do reator.
9. Ao fim da análise, quando a mensagem “drenando” surgir na tela do programa, a opção “fazer regressão linear” pode ser seleccionada pelo usuário. Nesse caso, o intercepto, a inclinação, o  $R^2$  e a concentração de Fe na amostra diluída são calculados e mostrados nas respectivas caixas de texto na tela do programa.
10. O sistema é lavado com pequena quantidade de água para eliminar qualquer resíduo e está pronto para nova análise.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para verificar se a estratégia de monitoramento por imagens digitais dos volumes adicionados se mostrava adequada, foi realizado um teste simples em que alíquotas de 1,0 mL de água foram transferidas ao reator com o auxílio de uma micropipeta, enquanto a imagem em tempo real era obtida. Observou-se uma boa coincidência entre os amostradores RGB e o menisco de líquido (demarcado pelo anel de acetato de celulose) em todos os volumes, indicando que o monitoramento de regiões previamente determinadas pelo mapeamento de pixels específicos pode fornecer uma alternativa para aferição dos volumes, sem a necessidade de um arranjo de sensores ao longo do reator.

Durante os estudos para a automação do procedimento de adição dos reagentes ao reator foi necessário se estabelecer o tamanho dos amostradores de RGB e o valor limite de cor que caracterizasse a obtenção do volume desejado. Empiricamente, foi observado que amostradores com 3 pixels de altura e 50 pixels de largura eram capazes de proporcionar uma variação adequada dos valores de RGB para as medidas realizadas na ausência do menisco (imagem mais clara no amostrador) e na sua presença (imagem mais escura no amostrador). Além disso, os valores para as componentes R, G e B variaram de forma similar para a transição da imagem sem e com o menisco, de forma que a componente R foi utilizada como parâmetro de controle durante o monitoramento. De fato, o valor de R variou de 200 a 90 unidades para ausência e presença do menisco, respectivamente, de forma que o valor de 150 unidades foi escolhido como limite (*threshold*) para caracterizar a obtenção do volume desejado e desencadear o desligamento da minibomba que realiza a adição de um dos reagentes. Em outras palavras, quando se inicia a transferência de uma solução reagente para o reator, o valor de R no respectivo amostrador se aproxima de 200 unidades e decai quando o menisco começa a se enquadrar à região do amostrador. Quando um valor de R abaixo de 150 unidades é obtido o programa interrompe a adição de reagente ou padrão, finalizando a transferência do volume desejado.

É importante relatar que o incremento de volume utilizado nos estudos (1,0 mL) pode ser considerado grande, uma vez que instrumentos como uma bureta são capazes de transferir volumes menores que esse. Entretanto, essa limitação pode ser compensada se utilizado um reator mais estreito (com menor diâmetro interno) e

câmeras que proporcionem imagens com mais pixels de menor dimensão, o que tornaria o monitoramento mais fino. Apesar disso, o presente trabalho é pioneiro neste tipo de estratégia e os resultados aqui demonstrados servirão de base para uma maior exploração do conceito.

Optou-se pela determinação de ferro baseada no método espectrofotométrico com o-fenantrolina, por utilizar uma reação amplamente conhecida, rápida e sensível e com parâmetros bem estabelecidos, adequando-se aqui como uma boa prova de conceito. A partir da determinação descrita na seção 3.3, foi possível verificar o funcionamento adequado das minibombas piezoelétricas, do agitador magnético integrado, assim como do sistema de controle de volume e detecção por imagem digital. Como pode ser visto no gráfico de sinal analítico (SA) na Figura 16, obteve-se respostas para as três componentes (R, G e B), sendo a resposta para a componente B de maior sensibilidade, afinal a cor azul é complementar à cor laranja (cor do complexo de ferro-ortofenantrolina). De fato, o valor da componente B diminui com o aumento da concentração de ferro, enquanto a componente R aumenta. Entretanto, para se obter uma resposta proporcional à absorção de radiação pelas soluções, realiza-se a subtração do valor de saturação da componente (255) do valor lido para a componente, de modo que, com a diminuição da componente B causada pela absorção de radiação azul pela solução, haja um aumento do sinal como mostrado no gráfico da curva analítica da Figura 16. É importante relatar que os valores de sinal apresentados nos gráficos da Figura 16 são automaticamente subtraídos do valor do branco de imagem obtido com o amostrador AB e que os valores de concentração dos padrões (0,34 a 0,90 mg L<sup>-1</sup>) indicados na Figura 19 foram estimados com base na adição de padrão à solução da amostra, considerando as diferentes diluições no reator.

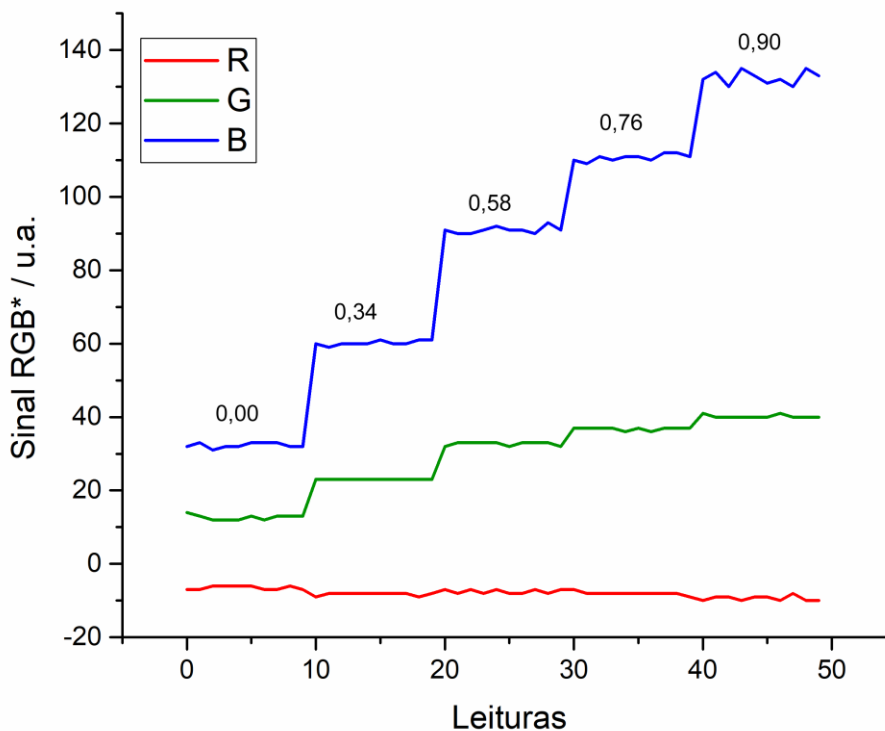


Figura 19 - Valores de sinal RGB e respectivos valores de concentração dos padrões nas leituras

Na Figura 20 observa-se a curva de adição de padrão obtida com o sistema proposto para uma das amostras analisadas (amostra C) realizando-se o procedimento automatizado em triplicata. Ou seja, cada uma de três alíquotas de 2,50 mL da mesma amostra foram analisadas no mesmo dia com o instrumento proposto, sendo os valores de sinal apresentados como a média acompanhada de seu desvio padrão (barra de erro). É possível notar que houve uma pequena variação do sinal para cada ponto de concentração, de modo que, em alguns deles, nem mesmo é possível visualizar a barra de erro. De fato, como mostra a Tabela 3, os coeficientes de variação (CV) para as medidas ficaram abaixo de 2 % para a maioria das concentrações, exceto para o ponto referente ao padrão de 0,34 mg L<sup>-1</sup>, cujo CV foi de 6%, indicando uma precisão adequada para as medidas e que, por sua vez, indicam uma precisão satisfatória na determinação dos volumes adicionados dos padrões.

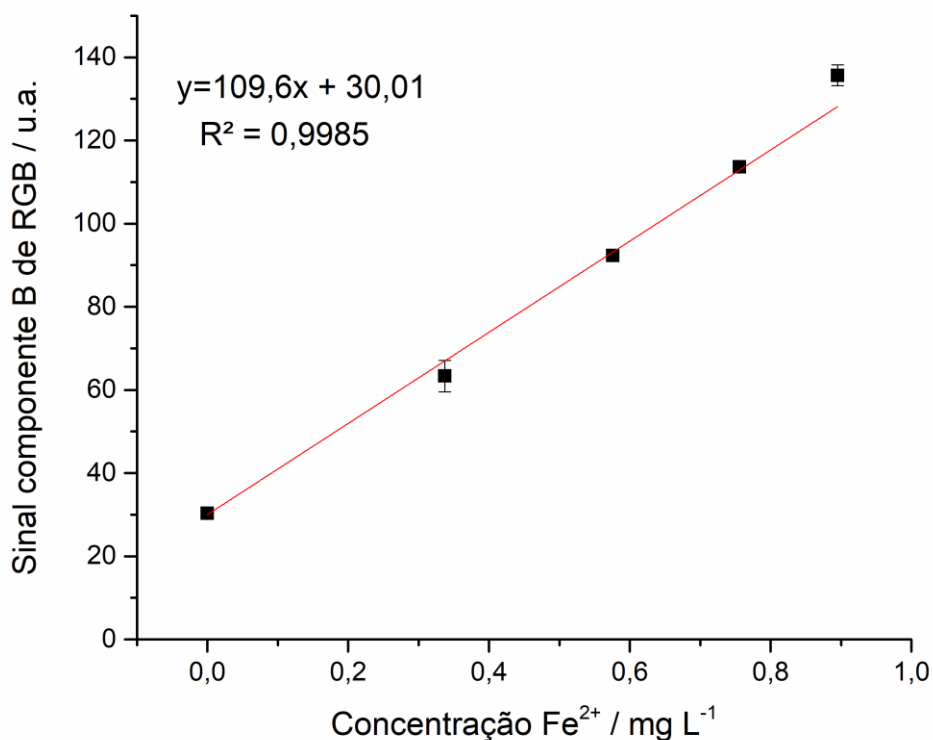


Figura 20 - Curva de adição padrão para amostra C plotada juntamente com valores de desvio

Tabela 3 - Concentração dos padrões e coeficientes de variação das medidas

Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Sinal médio	Desvio padrão	CV (%)
0,00	30,3	0,6	1,9
0,34	63,3	3,8	6,0
0,58	92,3	0,6	0,6
0,76	113,7	1,2	1,0
0,90	135,7	2,5	1,9

A curva analítica obtida com o sistema proposto apresentou uma elevada linearidade com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9985 para a faixa de concentração estudada, sendo possível detectar incrementos de concentração de até  $0,14 \text{ mg L}^{-1}$  (diferença entre as concentrações dos padrões de  $0,90$  e  $0,76 \text{ mg L}^{-1}$ ) com

variações no sinal maiores que 20 unidades (diferença entre os sinais médios de 135,7 e 113,7 para os padrões de 0,90 e 0,76 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente). A curva analítica apresentou limite de detecção (LD) igual a 0,0352 mg L<sup>-1</sup> e limite de quantificação (LQ) com valor igual a 0,107 mg L<sup>-1</sup>, calculados da seguinte maneira:

$$LD = \frac{3,3S_b}{m}$$

$$LQ = \frac{10S_b}{m} \quad (\text{HAGE, 2012})$$

$S_b$  = desvio padrão do intercepto

$m$  = inclinação da curva

Para as medidas realizadas com o instrumento de referência (espectrofotômetro UV-Vis) trabalhou-se com a calibração externa na faixa de concentração de 0,5 a 2,5 mg L<sup>-1</sup> em Fe<sup>2+</sup>. Os dados de absorvância adquiridos em 510 nm (máximo de absorção do complexo) são listados na Tabela 4 e a curva analítica obtida a partir destes dados é mostrada na Figura 21.

Tabela 4 - Valores de concentração e absorvância de branco e padrões medidos em espectrofotômetro UV-Vis

<b>Padrão</b>	<b>Concentração Fe<sup>2+</sup> (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Absorvância</b>
Branco	0,0	-
1	0,5	0,098
2	1,0	0,207
3	1,5	0,304
4	2,0	0,415
5	2,5	0,509

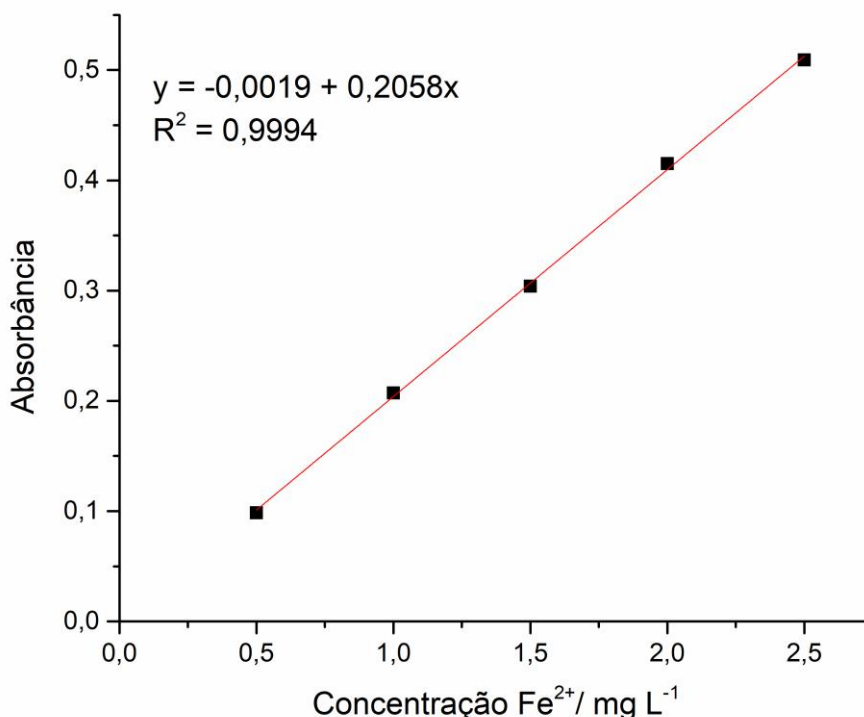


Figura 21 - Curva analítica obtida a partir de medidas realizadas em espectrofotômetro UV-Vis

A exatidão do método proposto pode ser discutida com auxílio da Tabela 5, que relaciona as médias das concentrações das amostras e desvios padrão obtidos pelo sistema proposto e com o instrumento de referência, apresentando o erro relativo para cada uma das amostras. O módulo do valor de erro relativo de 5% foi estabelecido para avaliar a exatidão das medidas, valores inferiores a 5% foram considerados bons resultados para exatidão, e o oposto para os valores de erro relativo superiores a 5%. Dessa maneira, as amostras B e C retornaram resultados satisfatórios a respeito da exatidão, por outro lado, a amostra A teve comportamento diferente ao ser analisada pelo sistema proposto e de referência, obtendo um erro relativo cerca de 4 vezes maior que o estabelecido de 5%. Deve-se pontuar, entretanto, que a diferença com relação ao valor indicado no rótulo dessa amostra de medicamento (25 mg mL<sup>-1</sup>) foi menor (- 8,5 %) o que pode indicar uma estimativa elevada do valor determinado pelo método de referência, o que precisa ser melhor investigado.

Tabela 5 - Concentração média e desvio das amostras de ferro (mg · mL<sup>-1</sup>) obtidas pelo sistema proposto e de referência, e erro relativo calculado para sistema proposto

Amostra	Proposto	Referência	Erro %
<b>A</b>	22,88 ± 0,568	29,12 ± 0,302	- 21,42
<b>B</b>	23,45 ± 2,618	24,37 ± 0,138	- 3,78
<b>C</b>	24,57 ± 2,304	24,15 ± 0,201	+ 1,74

Testes-t ao nível de 95% de confiança foram realizados para a comparação das médias obtidas em todas as amostras, sendo o exemplo a seguir utilizado para a amostra que apresentou o menor erro relativo (Amostra C). Os desvios padrão foram submetidos ao teste F para determinar se são semelhantes ou diferentes. O valor crítico de F em um nível de confiança de 95% para dois graus de liberdade é de 19,00. Se  $F < F_{\text{crít}}$  os desvios são semelhantes, caso contrário, os desvios são diferentes, o teste F retornou o seguinte resultado:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

$$F = \frac{2,304^2}{0,201^2} = 131,4$$

O valor de F encontrado é superior ao F crítico, então os desvios padrão são diferentes, e o t é calculado como segue:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}}$$

$$t = \frac{24,57 - 24,15}{\sqrt{\frac{2,304^2}{3} + \frac{0,201^2}{3}}} = 0,314$$

$\bar{x}_1$  e  $\bar{x}_2$ : médias encontradas para método 1 e 2

$N_1$  e  $N_2$ : número de réplicas analisadas pelos métodos 1 e 2

O número de graus de liberdade para valor de t crítico é calculado a seguir:

$$G.L = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\left(\frac{s_1^4}{n_1^2(n_1 - 1)} + \frac{s_2^4}{n_2^2(n_2 + 1)}\right)} = \frac{\left(\frac{2,304^2}{3} + \frac{0,201^2}{3}\right)^2}{\left(\frac{2,304^4}{3^2(3 - 1)} + \frac{0,201^4}{3^2(3 - 1)}\right)} = 2,03$$

Para dois graus de liberdade e nível de confiança 95%, o valor de t crítico é 4,30. O módulo de t calculado é inferior ao t crítico, portanto, não há diferença significativa para as médias.

Com base neste teste estatístico é possível afirmar que os valores de concentração obtidos para as amostras B e C por ambos os métodos são semelhantes, indicando uma exatidão adequada para o método proposto e a possibilidade de sua aplicação para determinações analíticas quantitativas.

É importante destacar que, a partir da transferência da solução de amostra para o reator, o procedimento completo de calibração e obtenção do resultado para uma alíquota é realizado em apenas 2,62 minutos, de modo que 22 amostras já diluídas poderiam ser analisadas por hora com o instrumento proposto, o que é bastante atrativo para determinações de rotina que exijam a calibração por adição de padrão.

Outro ponto positivo é que apenas 1,0 mL de solução de o-fenantrolina e 1,0 mL de solução de hidroxilamina são utilizados por determinação, o que caracteriza um consumo baixo destes reagentes e a diminuição de custos e geração de resíduos em relação aos procedimentos em batelada, aproximando essa estratégia dos conceitos preconizados pela Química Verde (BEACH, 2009).



## 5 CONCLUSÃO

O desenvolvimento de um sistema flow-batch empregando bombas piezoelétricas alcançou êxito, e com aperfeiçoamento pode se tornar uma alternativa a fim de contornar problemas relacionados com sistema de propulsão convencionais, assim como proporcionar a miniaturização desses sistemas. A abordagem pioneira do uso de imagens digitais para controle de volume e detecção em sistemas flow-batch serviu de estímulo para o desenvolvimento e ampliação de sua aplicação. O sistema proposto comportou-se satisfatoriamente para a determinação de ferro em medicamento e há a possibilidade do seu implemento para outras determinações, assim como redução dos volumes empregados utilizando célula de menor volume.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L. F. *et al.* Implementation of an automatic standard addition method in a flow-batch system: application to copper determination in an alcoholic beverage by atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 486, p. 143-148, 2003.
- BARTELS MIKROTECHNIK. Bartels Micropumps. Disponível em: <[https://www.bartels-mikrotechnik.de/wp-content/uploads/simple-file-list/EN/Manuals-and-Data-Sheets/EN\\_Data-Sheet.pdf](https://www.bartels-mikrotechnik.de/wp-content/uploads/simple-file-list/EN/Manuals-and-Data-Sheets/EN_Data-Sheet.pdf)> Acesso em: 03 Out. 2021.
- BARTELS MIKROTECHNIK. Mp6 micropumps for liquids and gases. Disponível em: <<https://www.bartels-mikrotechnik.de/en/micropumps/>> Acesso em: 03 Out. 2021.
- BEACH, E. S., CUI, Z., ANASTAS, P. T. Green Chemistry: A design framework for sustainability. **Energy & Environmental Science**, v. 2, p. 1038-1049, 2009.
- CARNEIRO, J. M. T. *et al.* Spectrophotometric catalytic determination of Fe(III) in estuarine waters using a flow-batch system. **Analytica Chimica Acta**, v. 455, p. 327-333, 2002.
- DINIZ, P. H. G. D. *et al.* Flow-batch analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 39– 49, 2012.
- FILHO, J. P.; PETRUCI J. F. S.; CARDOSO A. Development of a simple method for determination of NO<sub>2</sub> in air using digital scanner images. **Talanta**, v. 140, p. 73-80, 2015.
- GARCIA, J. C.; REIS, B. F. Instrumentation and Automated Photometric Titration Procedure for Total Acidity Determination in Red Wine Employing a Multicommutated Flow System. **Journal of Automated Methods and Management in Chemistry**, v. 2006, p. 1-8, 2006.
- GRÜNHUT, M. *et al.* Flow-batch analyzer for the chemiluminescence determination of catecholamines in pharmaceutical preparations. **Analytical Letters**, v. 44, p. 87-81, 2011.
- HAGE, D. S.; JAMES D. **Química analítica e análise quantitativa**. 1. ed. São Paulo : Pearson Prentice Hall, 2012.
- HONORATO, R. S. *et al.* A flow-batch titrator exploiting a one-dimensional optimisation algorithm for end point search. **Analytica Chimica Acta**, v. 396, p. 91-97, 1999.
- HONORATO, R. S. *et al.* Prior assay as an approach to flow titrations. Spectrophotometric determination of iron in alloys and ores. **Analytica Chimica Acta**, v. 416, p. 231-237, 2000.
- LIMA, R. A. C. *et al.* Hardness screening of water using a flow-batch photometric system. **Analytica Chimica Acta**, v. 518, p. 25-30, 2004.

- LYRA, W. S. *et al.* Digital image-based flame emission spectrometry. **Talanta**, v. 77, p. 1584–1589, 2009.
- MONTE-FILHO, S. S. *et al.* Flow-batch miniaturization. **Talanta**, v. 86, p. 208-213, 2011.
- OLIVEIRA, S. C. B. *et al.* A coulometric flow cell for in-line generation of reagent, titrant or standard solutions. **Microchemical Journal**, v. 82, p. 220-225, 2006.
- PACIORNIK, S. *et al.* Scanner image analysis in the quantification of mercury using spot-tests, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17 (1), p. 156-161, 2006.
- PASQUINI, C. *et al.* Robust flow-batch coulometric/biamperometric titration system: Determination of bromine index and bromine number of petrochemicals. **Analytica Chimica Acta**, v. 600, p. 84-89, 2007.
- SANTOS, P.M.; PEREIRA-FILHO, E.R. Digital image analysis – an alternative tool for monitoring milk authenticity, **Analytical Methods** v. 5, p. 3669-3674, 2013.
- SILVA, M. B.; CRISPINO, C. C.; REIS, B. F. Automatic photometric titration procedure based on multicommutation and flow-batch approaches employing a photometer based on twin LEDs. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21 (10), p. 1854-1860, 2010.
- SILVA, J. E. *et al.* A flow-batch internal standard procedure for iron determination in hydrated ethanol fuel by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 70, p. 522-526, 2006.
- SONKA, M.; HLAVAC, V.; BOYLE, R. **Image Processing, Analysis, and Machine Vision**. 4. ed. New York : PWD Publishing, 2015.
- SWEILEH, J. A.; DASGUPTA, P. K. Applications of in situ detection with an automated micro batch analyzer. **Analytica Chimica Acta**, v. 214, p. 107-120, 1988.
- TROJANOWICZ, M. **Advances in Flow Analysis**. Weinheim : Wiley-VCH, 2008.
- VALLVEY, L. F. C. *et al.* Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: a tutorial review. **Analytica Chimica Acta**, v. 899, p. 23-56, 2015.
- VISANI, V. *et al.* Flow-batch analyser for preparation of calibration standard mixtures in simultaneous multicomponente spectrometric analysis. **Eclética Química**, v. 34(2), p. 37-47, 2009.
- VOGEL, A. **Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis**. 5. ed. New York : Longman Scientific & Technical, 1989. p. 691.
- ZHOU, C. *et al.* Chemistry pumps: a review of chemically powered micropumps. **Lab Chip**, v. 16, p. 1797-1811, 2016.