



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

## **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Titulador Automático Baseado em Filmes Digitais  
para Determinação de Dureza e Alcalinidade Total  
em Águas Minerais**

**Lucas Alfredo Siqueira**



**João Pessoa – PB – Brasil**

**Fevereiro/2016**



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

## **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

### **Titulador Automático Baseado em Filmes Digitais para Determinação de Dureza e Alcalinidade Total em Águas Minerais**

**Lucas Alfredo Siqueira\***

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

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Alexandre Cavalcanti de Lima**

**2º Orientador: Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida**

\* Bolsista: CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

**João Pessoa – PB – Brasil**

**Fevereiro/2016**

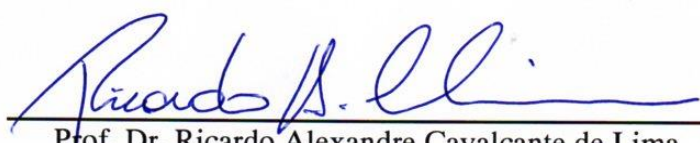
S618t Siqueira, Lucas Alfredo.  
Titulador automático baseado em filmes digitais para  
determinação de dureza e alcalinidade total em águas  
minerais/ Lucas Alfredo Siqueira.- João Pessoa, 2016.  
92f. : il.  
Orientadores: Ricardo Alexandre Cavalcanti de Lima,  
Luciano Farias de Almeida  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN  
1. Química analítica. 2. Detecção de ponto final.  
3. Coeficiente de correlação de Pearson. 4. Sistema de cores  
RGB. 5. Fluxo-batelada.

UFPB/BC

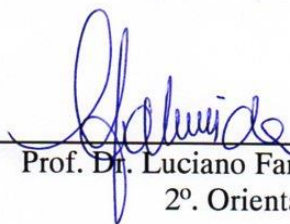
CDU: 543(043)

# **Titulador Automático baseado em filmes digitais para determinação de dureza e alcalinidade total em águas minerais.**

Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Lucas Alfredo Siqueira e aprovada pela banca examinadora em 29 de fevereiro de 2016.



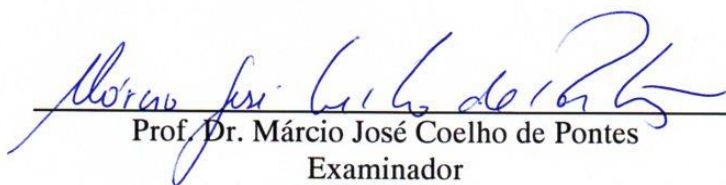
Prof. Dr. Ricardo Alexandre Cavalcante de Lima  
Orientador/Presidente



Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida  
2º. Orientador



Prof. Dr. Sérgio Ricardo Bezerra dos Santos  
Examinador



Prof. Dr. Márcio José Coelho de Pontes  
Examinador

***Dizendo: Amém!***

***O louvor, e a glória, e a sabedoria e as ações de graças, e a honra, e o poder, e a força sejam ao nosso Deus pelos séculos do séculos.***

***Amém!***

**Apocalipse 7. 12**

***A minha família e a Deus  
dedico***

## AGRADECIMENTOS

---

- A Deus pela saúde, pelo dom de vida, pela a sabedoria concedida e pelo o seu infinito amor;
- A minha mãe Irene Siqueira e minha irmã Luana Siqueira, por o carinho dedicado e incentivo;
- Ao Prof. Dr. Ricardo Alexandre de Lima e Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida, por todos os conhecimentos e ensinamentos transmitidos, por todas as suas palavras sábias, e do toda a paciência e dedicação demonstrados ao longo destes anos de trabalho;
- A professora Rafaela, pelo o apoio, incentivo, colaboração e amizade;
- Ao professor Mário César Ugulino de Araújo por ceder cordialmente às instalações do LAQA;
- Quero agradecer também a todos os amigos e colegas de trabalho do Laboratório de Automação e Instrumentação em Química Analítica e Quimiometria (**LAQA**);
- Quero agradecer ao grupo de instrumentação, em especial a Pedro Lemos e Renato Andrade;
- Ao Dr. Wellington da Silva Lyra, por suas contribuições na elaboração deste trabalho;
- Ao Prof. Sérgio Paiva, pelas ajuda no desenvolvimento do software;
- Aos professores da banca de qualificação;
- A CAPES, Pela bolsa concedida.

## SUMÁRIO

---

LISTA DE FIGURAS .....	X
LISTA DE TABELAS .....	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIV
RESUMO.....	XVI
ABSTRACT .....	XVII
<b>1. Introdução.....</b>	<b>2</b>
1.2. Objetivos .....	3
1.2.1. Objetivo Geral .....	3
1.2.2. Objetivos Específicos.....	3
1.3. Fundamentação Teórica .....	4
1.3.1. Sistemas Automáticos de Análise .....	4
1.3.1.1. Analisador em Fluxo Segmentado .....	5
1.3.1.2. Analisador por Injeção em fluxo.....	6
1.3.1.3. Analisador em Fluxo monosegmentado .....	6
1.3.1.4. Analisador por Injeção Sequencial .....	6
1.3.1.5. Analisador em Fluxo com Multicomutação .....	6
1.3.1.6. Analisador em Fluxo-Batelada.....	7
1.3.2. Imagem Digital .....	8
1.3.2.1. O sistema visual humano.....	8
1.3.2.2. Sistemas de Cores .....	11
1.3.2.3. Modelo RGB .....	12
1.3.2.4. Métodos analíticos baseados em imagem digitais.....	16
1.3.2.5. Filmes digitais .....	17
1.3.3. Coeficiente de Correlação de Pearson .....	18
1.3.3.1. Filmes digitais e Coeficiente de Correlação de Pearson .....	19
1.3.4. Parâmetros Físico-Químicos para o Controle da Qualidade de águas .....	20
1.3.4.1. Dureza Total de águas .....	20
1.3.4.1.1. Importância de Determinar Dureza Total.....	22



1.3.4.1.2. Métodos de Determinação Dureza Total .....	22
1.3.4.1.2.1. Métodos Titulométricos .....	22
1.3.4.1.2.2. Métodos Automáticos.....	24
1.3.4.2. Alcalinidade de Águas .....	24
1.3.4.2.1. Importância de Determinar Alcalinidade.....	26
1.3.4.2.2. Métodos de Determinação da Alcalinidade Total .....	27
1.3.4.2.2.1. Métodos Titulométricos .....	27
1.3.4.2.2.2. Métodos Automáticos.....	28
<b>2. Experimental.....</b>	<b>31</b>
2.1. Soluções, Reagentes e Amostras .....	31
2.1.1. Amostras.....	31
2.1.2. Determinação de Dureza Total em Águas Minerais.....	31
2.1.3. Determinação de Alcalinidade Total em Águas Minerais .....	32
2.2. Materiais e Equipamentos.....	32
2.2.1. Notebook.....	33
2.2.2. Câmara de Mistura.....	34
2.2.3. Hardware de Controle do Acionamento das Válvulas .....	34
2.2.4. Agitador Magnético .....	35
2.2.5. Bomba Peristáltica .....	36
2.2.6. Acionador de Válvulas .....	36
2.2.7. Válvulas Solenoides.....	37
2.2.8. Sistema de Detecção .....	37
2.3. Procedimento Analítico .....	39
2.3.1. Método de Referência para Determinação de Dureza total .....	39
2.3.2. Método de Referência para Determinação de Alcalinidade Total ..	39
2.4. Análises da Dureza Total e Alcalinidade Total em Águas Minerais.....	40
2.4.1. Determinação da razão entre as Vazões dos Canais da Amostra e Titulante (RV) .....	42
2.4.2. Preenchimento dos Canais .....	42
2.4.3. Escolha da região para obtenção dos valores de RGB.....	43

2.4.4. Determinação Analítica .....	44
2.4.4.1. Cálculo da Dureza Total .....	44
2.4.4.2. Cálculo da Alcalinidade Total.....	45
2.4.5. Limpeza da Câmara FBT .....	45
2.5. Cálculo do tempo do titulante com base na correlação Pearson .....	46
2.6. Desenvolvimento do Software para Controle das Válvulas .....	47
2.7. Avaliação do sistema Proposto .....	48
<b>3. Resultados e Discussão .....</b>	<b>50</b>
3.1. Estudo da vazão das Válvulas Solenoides Utilizadas .....	50
3.2. Avaliação e Otimização dos parâmetros físicos do sistema.....	51
3.2.1. Localização e Tamanho da Janela.....	51
3.2.2. Rotação da Bomba Peristáltica.....	53
3.2.3. Tempo de Acionamento da Válvula da Amostra .....	55
3.3. Monitoramento da Filmagem e Escolha da Componente de Cor .....	55
3.4. Curvas das Titulações de Dureza Total e Alcalinidade Total .....	57
3.5. Avaliação do desempenho Analítico .....	61
<b>4. Considerações finais .....</b>	<b>64</b>
4.1. Perspectivas.....	65
<b>5. Referências .....</b>	<b>67</b>

## LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 1.1.</b> A focalização da luz pela córnea e o cristalino.....	9
<b>Figura 1.2.</b> Bastonetes e cones .....	10
<b>Figura 1.3.</b> Absorção dos comprimentos de onda do espectro visível pelas células fotorreceptoras .....	10
<b>Figura 1.4.</b> As cores primárias aditivas e as suas intercepções, resultando nas cores secundárias subtrativas e na cor branca. ....	13
<b>Figura 1.5.</b> O cubo de cores do modelo de cor RGB.....	13
<b>Figura 2.1.</b> Fotografia da disposição física dos componentes do sistema automático de análise em fluxo-batelada proposto. (a) notebook; (b) bomba peristáltica; (c) válvulas solenoides; (d) acionador de válvulas; (e) webcam; (f) câmara de mistura; (g) agitador magnético; (h) arduíno .....	32
<b>Figura 2.2.</b> Diagrama esquemático do sistema automático de análise em fluxo-batelada proposto. (PC) notebook; (CBP) canal da bomba peristáltica; (V1-V5) válvulas solenoides; (AV) Acionador de válvulas; (AM) agitador magnético; (CM) câmara de mistura; (WC) webcam .....	33
<b>Figura 2.3.</b> Câmara de mistura. (a) entrada de fluidos. (b) saída de fluidos. (c) diâmetro interno da FBT com 15 mm.....	34
<b>Figura 2.4.</b> Placa do arduino Mega 2560 utilizado no Titulador FBT-DM .....	35
<b>Figura 2.5.</b> Agitador magnético utilizado no sistema FBT-DM.....	35
<b>Figura 2.6.</b> Modelo de acionador utilizado no sistema e seu diagrama do acionador de válvulas. P0 – P6 representam os pinos de saída para a interface de controle e GND é o aterramento do circuito. ....	36
<b>Figura 2.7.</b> Válvula solenoide de três vias da utilizadas no sistema FBT-DM. ....	37
<b>Figura 2.8.</b> Modelo da <i>webcam</i> usada na captura de imagens digitais. ....	38
<b>Figura 2.9.</b> Representação esquemática de uma <i>webcam</i> .....	38
<b>Figura: 2.10.</b> Diagrama Simplificado do Titulador FBT-DM (Notebook, AM = Agitador Magnético, CM = Câmara de Mistura, BM = Barra Magnética, D = Detector (Webcam), V <sub>1</sub> = Válvula do titulante, V <sub>2</sub> = Válvula da Amostra, V <sub>3</sub> =	

Válvula do Indicador, $V_4$ = Válvula da água de Limpeza, $V_5$ = Válvula do Descarte, DP = Bomba Peristáltica).....	40
<b>Figura 2.11.</b> Imagem obtidas pela <i>webcam</i> do sistema reacional de alcalinidade total. (a) Após a adição da amostra, (b) Escolha da região onde serão monitorados os pixels e (c) comparação com o filme decomposto. ....	43
<b>Figura 2.12.</b> Imagem obtidas pela <i>webcam</i> do sistema reacional de dureza total. (a) Após a adição da amostra, (b) Escolha da região onde serão monitorados os pixels e (c) comparação com o filme decomposto. ....	43
<b>Figura 2.13.</b> Fluxograma simplificado para o cálculo do (r) .....	46
<b>Figura 2.14.</b> A janela principal do programa desenvolvido. ....	47
<b>Figura 2.15.</b> Matriz de frames por segundos. (a) dureza total e (b) alcalinidade total respectivamente .....	47
<b>Figura 3.1.</b> Curvas de calibração referentes à Precisão das válvulas solenoide (a) Curva da válvula do titulante, vazão de $0.046 \text{ ml.s}^{-1}$ , (b) Curva da válvula da amostra, vazão de $0.049 \text{ ml.s}^{-1}$ , (c) Curva da válvula do Indicador/Tampão, vazão de $0.045 \text{ ml.s}^{-1}$ e (d) Curva da válvula da água de limpeza, vazão de $0.046 \text{ ml.s}^{-1}$ .....	50
<b>Figura 3.2.</b> Localizações das janelas que serão usadas para captura das imagens. (a) Janela Acima com orientação espacial (X,Y) de $257 \times 106$ . (b) Janela Esquerda com orientação espacial (X,Y) de $252 \times 111$ . (c) Janela Central com orientação espacial (X,Y) de $253 \times 107$ . (d) Janela Abaixo com orientação espacial (X,Y) de $257 \times 114$ . (e) Janela Direita com orientação espacial (X,Y) de $253 \times 114$ . ....	51
<b>Figura 3.3.</b> Análise teste para a escolha da localização das janelas. (a) curva de titulação para a janela na posição acima com coordenadas de $16 \times 42$ pixels. (b) curva de titulação para janela na posição esquerda com coordenadas de $43 \times 13$ pixels. (c) curva de titulação para janela na posição central com coordenadas $48 \times 50$ pixels. (d) curva da titulação para janela na posição abaixo com coordenadas de $16 \times 42$ pixel. (e) curva da titulação para janela na posição na direita com coordenadas de $43 \times 13$ pixels. ....	52
<b>Figura 3.4.</b> Curva de titulação observada pelo o canal R para a análise de dureza total.....	56
<b>Figura 3.5.</b> Curva de titulação observada pelo o canal G para a análise de dureza total.....	56

<b>Figura 3.6.</b> Curva de titulação observada pelo o canal B para a análise de dureza total.....	56
<b>Figura 3.7.</b> Curvas sigmoides para os dados brutos da análise. <b>(a)</b> dureza total <b>(b)</b> alcalinidade total.....	58
<b>Figuras 3.8.</b> Curva para análise de dureza para os dados brutos. <b>(a)</b> primeira derivada e <b>(b)</b> segunda derivada.....	58
<b>Figuras 3.9.</b> Curva para análise de alcalinidade total para os dados brutos. <b>(a)</b> primeira derivada e <b>(b)</b> segunda derivada.....	59
<b>Figuras 3.10.</b> Curvas sigmoides para os dados suavizados. <b>(a)</b> dureza total <b>(b)</b> alcalinidade total.....	59
<b>Figuras 3.11.</b> Curvas da análise de dureza total para os dados suavizados. <b>(a)</b> primeira derivada e <b>(b)</b> segunda derivada.....	60
<b>Figura 3.12.</b> Curvas da análise de alcalinidade total para os dados suavizados. <b>(a)</b> primeira derivada e <b>(b)</b> segunda derivada .....	60

## LISTA DE TABELAS

---

<b>Tabela 1.1.</b> Classificação das águas em termos do grau de dureza total. ....	21
<b>Tabela 3.1.</b> Valores do desvio padrão e do desvio padrão relativo (DPR) obtidos para válvula 1 nas três diferentes rotações da bomba peristáltica. ... .....	53
<b>Tabela 3.2.</b> Valores do desvio padrão e do desvio padrão relativo (DPR) obtidos para válvula 2 nas três diferentes rotações da bomba peristáltica. ... .....	53
<b>Tabela 3.3.</b> Valores do desvio padrão e do desvio padrão relativo (DPR) obtidos para válvula 3 nas três diferentes rotações da bomba peristáltica. ... .....	54
<b>Tabela 3.4.</b> Valores do desvio padrão e do desvio padrão relativo (DPR) obtidos para válvula 4 nas três diferentes rotações da bomba peristáltica. ... .....	54
<b>Tabela 3.5.</b> Valores obtido para análise de dureza total ( $\text{mg de CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) para amostras de água de torneira comparado com os tempos de acionamento. .....	55
<b>Tabela 3.6.</b> Resultados obtidos para determinação da dureza total em amostras de águas minerais ( $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) usando o FBT-DM ( $n = 10$ ) e pelo método de referência. ....	61
<b>Tabela 3.7.</b> Resultados obtidos para determinação da alcalinidade total em amostras de águas minerais ( $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) usando o FBT-DM ( $n = 10$ ) e pelo método de referência. ....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

**SFA:** Segmented Flow Analyser

**FIA:** Flow Injection Analyser

**MSFA:** Monosegmented Flow Analyser

**SIA:** Sequential Injection Analyser

**MFA:** Multicommutation in Flow Analyser

**FBT:** Flow-batch Titrador

**IUPAC:** International Union of Pure and Applied Chemistry

**S:** Short Wavelengths

**M:** Measuring wavelength

**L:** Long wavelengths

**CIE:** *Commission Internationale de l'Eclairage*

**RGB:** *Red, Green, Blue*

**CMY:** *Cyan, Magenta, Yellow*

**CMYK:** *Cyan, Magenta, Yellow, Black*

**HSI:** *Hue, Saturation, Intensity*

**HSV:** *Hue, Saturation, Value*

**HLS:** *Hue, Lightness, Saturation*

**CCD:** Charge Coupled Device

**FBM:** Fluxo-Batelada Multitarefa

**FBT-DM:** Batch Flow Titrador for Digital Movie

**CETESB:** Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

**IQA:** Instituto da Qualidade Águas

**RI:** Região de Interesse

**RV:** Razão das Vazões dos Canais

**Bitmap:** Matriz de Bits

**T<sub>f</sub>:** Tempo Final



## RESUMO

---

A dureza total e a alcalinidade total são importantes parâmetros físico-químicos para avaliação da qualidade de águas e são determinados por métodos volumétricos de análise. Estes métodos apresentam difícil detecção do ponto final da titulação devido à dificuldade de visualização das transições de cores inerentes a cada um deles. Para contornar este problema, foi proposta neste trabalho uma nova metodologia automática para a detecção do ponto final nas determinações de dureza total e alcalinidade total em águas. O titulador em fluxo-batelada proposto é composto de uma bomba peristáltica, cinco válvulas solenoides de três vias, um agitador magnético, um acionador de válvulas, uma placa Arduíno MEGA 2560<sup>TM</sup>, uma câmara de mistura e uma *webcam*. O programa de gerenciamento e controle do titulador foi escrito em linguagem *ActionScript 3.0*. A *webcam* grava o filme digital durante a adição do titulante na câmara de mistura, registrando as variações de cor decorrentes das reações químicas entre titulante e amostra no interior de câmara. Enquanto o filme é gravado, este é decomposto em quadros ordenados sequencialmente a uma taxa constante de 30 quadros por segundo (FPS). O primeiro quadro é utilizado como referência para definir uma região de interesse (RI) com 48 x 50 pixels, na qual seus valores R, G e B são utilizados para calcular os valores de coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ). O valor de  $r$  é calculado entre os valores de R do quadro inicial e de cada quadro subsequente. As curvas de titulação são obtidas em tempo real usando os valores de  $r$  (ordenadas) e o tempo total de abertura da válvula de titulante (abscissas). O ponto final é estimado pelo método de segunda derivada. O método foi aplicado na análise de águas minerais e os resultados foram comparados com a titulação clássica, não apresentando diferenças estatisticamente significativas com aplicação do teste  $t$  pareado a 95% de confiança. O método proposto foi capaz de processar até 71 amostras por hora e a sua precisão foi confirmada pelos valores de desvio padrão relativos (DPR) globais, sempre inferiores as 2,4% para dureza total e 1,4% para alcalinidade total.

Palavras chave: detecção de ponto final, coeficiente de correlação de Pearson, sistema de cores RGB, fluxo-batelada.

## ABSTRACT

---

Total hardness and Total alkalinity are important physico-chemical parameters for the evaluation of water quality and are determined by volumetric analytical methods. These methods have difficult to detect the endpoint of the titration due to the difficult of viewing the color transition inherent to each of them. To circumvent this problem, here is proposed a new automatic method for the detection of the titration end point for the determination of total hardness and total alkalinity in mineral water samples. The proposed flow-batch titrator consists of a peristaltic pump, five three-way solenoid valves, a magnetic stirrer, an electronic actuator, an Arduino MEGA 2560<sup>TM</sup> board, a mixing chamber and a webcam. The webcam records the digital movie (DM) during the addition of the titrant towards mixing chamber, also recording the color variations resulting from chemical reactions between titrant and sample within chamber. While the DM is recorded, it is decompiled into frames ordered sequentially at a constant rate of 30 frames per second (FPS). The first frame is used as a reference to define the region of interest (RI) of 48 × 50 pixels and the R channel values, which are used to calculate the Pearson's correlation coefficient ( $r$ ) values.  $r$  is calculated between the R values of the initial frame and each subsequent frame. The titration curves are plotted in real time using the values of  $r$  (ordinate axis) and the total opening time of the valve titrant (abscissa axis). The end point is estimated by the second derivative method. A software written in ActionScript 3.0 language manages all analytical steps and data treatment in real time. The feasibility of the method was attested by its application for the analysis of natural water samples. Results were compared with classical titration and did not present statistically significant differences when the paired t-test at the 95% confidence level was applied. The proposed method is able to process about 71 samples per hour, and its precision was confirmed by overall relative standard deviation (RSD) values, always lower than the 2,4% for total hardness and 1,4% for total alkalinity.

Keywords: End point detection; Pearson correlation coefficient; RGB color system; Flow–batch analyzer

# Capítulo 1

## Introdução

---



## 1. Introdução

---

A água possui grande valor para todas as formas de vida existentes no planeta, por estar presente em diversos processos físicos, químicos e biológicos. Porém, a sociedade humana tem explorado este recurso natural de forma não sustentável, ocasionando graves dificuldades relacionadas à baixa qualidade dos recursos hídricos e também sua escassez <sup>[1,2]</sup>.

À medida que a degradação ambiental se intensifica traz como consequências a diminuição da disponibilidade da água e o comprometimento da qualidade dos corpos hídricos. Dessa forma, o monitoramento de sistemas aquáticos fornece informações que contribuem para diagnosticar a qualidade das águas, possibilitando identificar os principais impactos responsáveis dos recursos hídricos. <sup>[3,4]</sup>

A água mineral natural deve apresentar qualidade que garanta ausência de risco à saúde do consumidor, devendo ser captada, processada e envasada obedecendo às condições higiênicas e sanitárias. Por isso, a realização de análises voltadas para avaliar a qualidade da água é de grande importância <sup>[5-7]</sup>.

Atualmente, tem-se observado um aumento do interesse em análises químicas de águas naturais e minerais. Nestas análises, o conhecimento de parâmetros físico-químicos das águas, tais como dureza total e alcalinidade total entre outros são de fundamental importância na avaliação da sua qualidade <sup>[8,9]</sup>.

Em estudos ambientais referentes aos aspectos hidrológicos, principalmente aqueles associados ao gerenciamento dos recursos hídricos e o monitoramento ambiental em ecologia aquática, tem sido crescente a demanda por análise química de águas naturais <sup>[10]</sup>. Em resposta a esta demanda, inúmeros analisadores automatizados têm sido desenvolvidos e comercializados e a sua utilização tem crescido de maneira exponencial <sup>[11,12]</sup>.

Em anos recentes, tem-se verificado a utilização cada vez mais expressiva de tituladores automáticos discretos e auto-analisadores em fluxo contínuo, cujo desempenho não satisfaz completamente os requisitos das análises em larga escala, nomeadamente a robustez, versatilidade, possibilidade de automação total, viabilidade para utilização *in-situ* e *on-line* e baixo custo <sup>[13-15]</sup>.

Os métodos de titulação são considerados como métodos de análise primária <sup>[16]</sup>, e ainda hoje são usados para a validação de métodos secundários <sup>[13]</sup>. Técnicas

instrumentais são utilizadas, por exemplo, quando existem dificuldades na detecção visual do ponto final. A pesquisa sobre métodos de detecção inovadores, mais acessíveis e independentes do sistema de análise levou ao surgimento de uma técnica alternativa baseada na análise de imagem digital <sup>[17]</sup>. Esta nova abordagem para a detecção provou ser precisa e exata. No entanto, as imagens digitais são ainda obtidas manualmente, consumindo elevado tempo <sup>[18]</sup>.

Uma alternativa eficiente para superar os inconvenientes que são comuns às análises por imagem digital, é a implementação da filmagem digital, devido sua capacidade de registrar as imagens em movimento, consequentemente aumentando a frequência analítica, a precisão e a exatidão no que se refere à detecção do ponto final da titulação <sup>[19]</sup>.

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo Geral**

Desenvolver uma nova metodologia analítica, baseada no processo de filmagem digital, obtido através de uma *webcam* incorporada a um Titulador em fluxo-batelada (FBT-DM), para a determinação de dureza e alcalinidade total em águas minerais.

### **1.2.2. Objetivos Específicos**

- I. Desenvolver o Titulador em fluxo-batelada com detecção a base de filme digital e correlação de Pearson;
- II. Estudar qual a melhor componente de cor do RGB, para a resposta analítica;
- III. Desenvolver um software para o controle das válvulas, leitura do sinal analítico e procedimentos analíticos;
- IV. Avaliar os parâmetros ótimos de fluxo do Titulador como: Localização e tamanho da janela, rotação da bomba peristáltica e tempo de acionamento da amostra;
- V. Testar o nível de confiabilidade da metodologia de detecção proposta com base nas figuras de mérito usuais na química analítica.

### 1.3. Fundamentação Teórica

#### 1.3.1. Sistemas Automáticos de Análise

Os sistemas automáticos de análise têm potencial para serem empregados em laboratórios de análise de rotina, principalmente nos laboratórios de análises clínicas, por apresentarem uma demanda diária de diagnósticos que exigem resultados rápidos e precisos. Esses sistemas podem ser divididos em três grandes grupos: os analisadores automáticos discretos, robotizados e em fluxo [20-22].

Os procedimentos convencionais de análises químicas são comumente aplicados em diversas determinações analíticas, mas podem apresentar alguns inconvenientes, como: elevado consumo de reagentes e amostras, transferência manual de soluções, o que implica em um aumento na susceptibilidade a erros, baixa frequência analítica, exposição do analista a reagentes tóxicos e/ou radioativos elevando o risco de contaminação [23].

Vários inconvenientes proporcionados pelos procedimentos convencionais podem ser contornados ou amenizados com a utilização de sistemas automáticos de análises. Geralmente esses sistemas possibilitam a realização de procedimentos experimentais de forma mais rápida, com mínima quantidade de reagentes e amostra, menor geração de resíduos, boa precisão e aumento na frequência analítica, além de possibilitar manipulação de soluções instáveis, tóxicas, explosivas e/ou radioativas com a mínima intervenção do analista [24,25].

Os analisadores automáticos discretos têm como principal característica, a utilização de dispositivos mecânicos para o transporte da amostra até o sistema de detecção. A amostra é armazenada em recipientes individuais e os equilíbrios físicos e químicos são controlados permitindo explorar a máxima sensibilidade dos métodos. Isso é importante principalmente quando as determinações envolvem reações de cinética lenta, sendo necessário um tempo maior de reação para que os equilíbrios físico e químico sejam alcançados [23, 24]. Todavia, esses analisadores possuem uma baixa frequência analítica, além de um alto custo de aquisição e manutenção, tornando-os pouco atraentes [24].

Analisadores automáticos robotizados apresentam complexidade mecânica, custo de aquisição e manutenção maiores que os analisadores discretos [25]. Sua principal característica é realizar manipulações analíticas utilizando braços

mecânicos robotizados, isso os torna importantes durante a realização de procedimentos analíticos que exigem o emprego de substâncias tóxicas, radioativas e/ou explosivas, evitando a exposição do analista nessas situações [22,23].

Os analisadores automáticos em fluxo vêm sendo utilizados em laboratórios de análises de rotina, substituindo os analisadores automáticos discretos e robotizados por apresentarem uma instrumentação simples, menor intervenção do analista, reduzido consumo de reagentes e amostra, obtendo uma maior frequência analítica, sem comprometer a precisão, e às vezes, até a sensibilidade dos métodos [22, 23]. Nesses analisadores, a introdução e processamento da amostra, bem como o processo de detecção, ocorrem em fluxo [25].

A IUPAC (do inglês: International Union of Pure and Applied Chemistry) e algumas referências encontradas na literatura [22-25] classificam os analisadores em fluxo de acordo com algumas características, tais como: o modo de inserção da amostra ou reagente e a forma de acondicionamento da amostra até o sistema de detecção.

Dessa forma, os analisadores em fluxo podem ser classificados como:

- Analisador em Fluxo Segmentado (do inglês: *Segmented Flow Analyser – SFA*);
- Analisador por Injeção em Fluxo (do inglês: *Flow Injection Analyser – FIA*);
- Analisador em Fluxo Monosegmentado (do inglês: *Monosegmented Flow Analyser – MSFA*);
- Analisador por Injeção Sequencial (do inglês: *Sequential Injection Analyser – SIA*);
- Analisador em Fluxo com Multicomutação (do inglês: *Multicommutation in Flow Analyser – MFA*);
- Analisador em Fluxo-Batelada (do inglês: *Flow-batch Analyser – FBA*).

#### **1.3.1.1. Analisador em Fluxo Segmentado**

O sistema automático em fluxo segmentado (SFA) foi proposto por Skeggs [27] e consiste no bombeamento contínuo da amostra segmentada por várias bolhas de ar em direção ao detector.

A presença de bolhas, além de minimizar a dispersão e a inter-contaminação das amostras, permite atingir o equilíbrio físico e químico durante a análise. O SFA adequa-se principalmente para reações de cinética lenta <sup>[27]</sup>.

#### **1.3.1.2. Analisador por Injeção em Fluxo**

O analisador por injeção em fluxo (FIA) foi proposto inicialmente por Ruzicka e Hansen <sup>[28]</sup>. Este sistema é caracterizado pela introdução de um volume reprodutível da amostra e do reagente, sendo transportado por um fluido carregador inerte ao detector sem o uso de segmentos de bolhas.

#### **1.3.1.3. Analisador Fluxo Monosegmentado**

Analisador fluxo monosegmentado (MSFA) foi proposto por Pasquini e Oliveira <sup>[29]</sup>, e possui como característica uma reprodutível introdução de amostra e reagentes interpostos entre duas bolhas de ar que limitam a dispersão e evitam a inter-contaminação da amostra com o fluido carregador. Com isso, o MSFA combina as características favoráveis dos analisadores FIA e SFA.

#### **1.3.1.4. Analisador por Injeção Sequencial**

A análise por injeção sequencial (SIA) foi proposto por Ruzicka e colaboradores <sup>[30]</sup>. Este analisador caracteriza-se pela aspiração sequencial de alíquotas de amostras e reagentes para uma bobina de mistura e, depois, o fluxo é invertido e o produto, a amostra e o reagente são transportados por um fluido carregador para o detector.

#### **1.3.1.5. Analisador em Fluxo por Multicomutação**

Reis e colaboradores <sup>[31]</sup> desenvolveram o analisador em fluxo com multicomutação (MFA), que possui como principal característica a inserção de pequenas alíquotas da amostra e do reagente como forma de amostragem binária, possibilitando a formação de zonas reacionais que são transportadas por fluxo carregador.



### 1.3.1.6. Analisadores Fluxo-Batelada

Esses analisadores foram propostos por Honorato e colaboradores <sup>[32]</sup>, e se caracterizam por explorar estratégias inerentes a sistemas em fluxo e em batelada. Como nos analisadores automáticos em fluxo apresentados acima, a aspiração, bombeamento, transporte dos reagentes e das amostras e o monitoramento do sinal analítico, ocorrem em fluxo. Todavia, como nos analisadores em bateladas, a amostra é processada em uma câmara aberta antes de ser aspirada em direção ao detector <sup>[32-33]</sup>. Por combinar as características favoráveis dos analisadores em fluxo e em batelada. Com isso, o analisador fluxo-batelada apresenta concomitantemente boa precisão e exatidão, alta velocidade analítica, baixo custo por análise, baixos consumo, manipulação e contaminação de reagentes e amostras e geração de pouco resíduo para o meio ambiente <sup>[33]</sup>.

Suas características permitem a adaptação de uma *webcam* para a aquisição de imagens ou vídeos digitais na própria câmara de mistura e reação.

De maneira geral, os analisadores fluxo-batelada apresentam as seguintes características:

1. Usam válvulas solenoides de três vias para direcionar os fluidos e uma câmara aberta para mistura, reação, preparação de soluções de calibração, adições de padrão, exploração de gradientes de concentração, tornando esses sistemas robustos, simples e de baixo custo de manutenção;
2. Funciona apenas sobre rigoroso controle do microcomputador, garantindo precisão no tempo de acionamento das válvulas e, conseqüentemente, nos volumes dos fluidos adicionados na câmara;
3. A adição da amostra, reagentes, soluções-padrão, tampão, diluentes, indicadores, etc. Na câmara aberta são feitas em fluxo usando um processo de multicomutação simultânea e/ou intermitente dos fluidos de acordo com o método analítico desenvolvido;
4. A amostra é processada em batelada, assim, as medidas podem ser realizadas com a máxima sensibilidade, pois os equilíbrios físico e químico do processo analítico podem ser obtidos e a dispersão ou diluição da amostra pode ou não ocorrer;

5. A medida do sinal analítico é geralmente feita em fluxo, mas pode ser realizada diretamente na câmara aberta;
6. Métodos clássicos bem estabelecidos são mais fáceis de serem automatizados usando estes sistemas que com outros sistemas de análise em fluxo;
7. São analisadores que oferecem muita flexibilidade às metodologias, que podem ser modificadas para se adaptar a um tipo de amostra. Por exemplo, pode-se trabalhar em uma ampla ou estreita faixa de concentrações das amostras, mudando apenas os parâmetros operacionais em seus softwares de controle;
8. São analisadores muito versáteis (caráter multitarefa) porque, sem alterar as configurações físicas do sistema, permitem, mudando apenas o software de controle, a implementação de diferentes processos analíticos (titulação, adições de analito, preparação de soluções de calibração, análise *screening*, etc.);
9. Permitem explorar gradiente de concentração linear ou não linear das amostras e/ou dos reagentes.

A combinação dessas características dos analisadores em fluxo e em batelada fornece ao analisador fluxo-batelada alta precisão e velocidade analítica, baixo custo por análise, baixo consumo, manipulação e contaminação de reagentes e amostras e geração de pouco resíduo para o meio ambiente <sup>[33,34]</sup>.

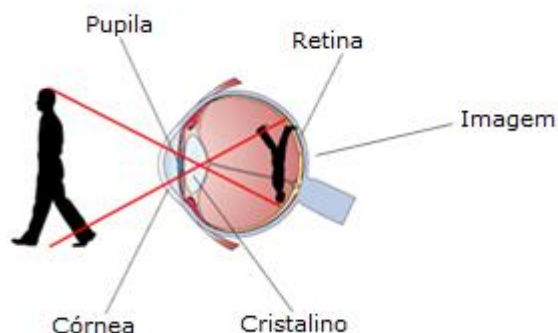
### **1.3.2. Imagem Digital**

#### **1.3.2.1. O sistema visual humano**

O sistema visual humano é composto pelo olho, que captura a luz e a transforma em sinais elétricos, e o cérebro, que processa esses sinais e os interpreta como visão <sup>[36]</sup>.

A luz refletida pelo objeto ao atingir o globo ocular é capturada pela córnea, e então atinge a íris, que controla a quantidade de luz que penetra no olho através da pupila. Após atingir a córnea e ter sido selecionada pela íris, a radiação eletromagnética chega ao cristalino, que, passando pelo vítreo, focaliza-a

nitidamente sobre a retina, formando a imagem invertida do objeto <sup>[37]</sup>, como ilustra a **Figura 1.1**.

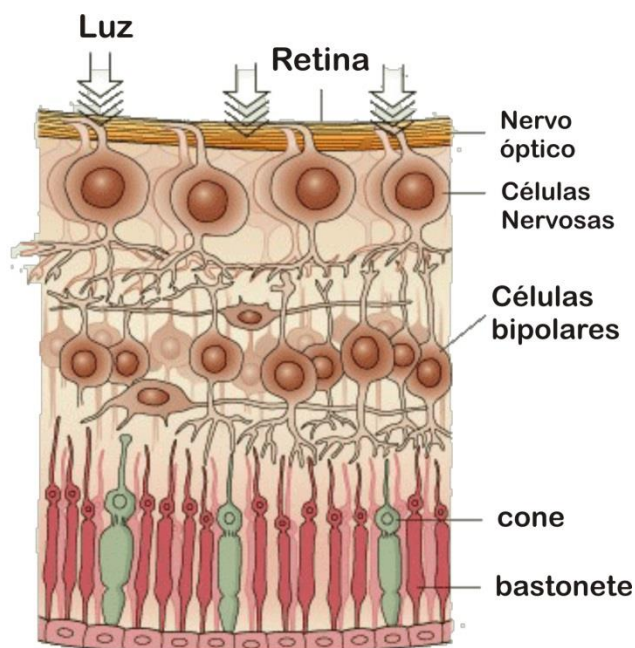


**Figura 1.1.** A focalização da luz pela córnea e o cristalino. Adaptada da fonte: <http://www.drvisao.com.br/imagens/olho.jpg>. Acessado: 20 de Janeiro de 2016

Na retina, onde a luz finalmente é percebida pelo olho, a imagem invertida do objeto é convertida em sinais elétricos, que serão transmitidos pelo nervo óptico ao cérebro, que interpretará a imagem do objeto.

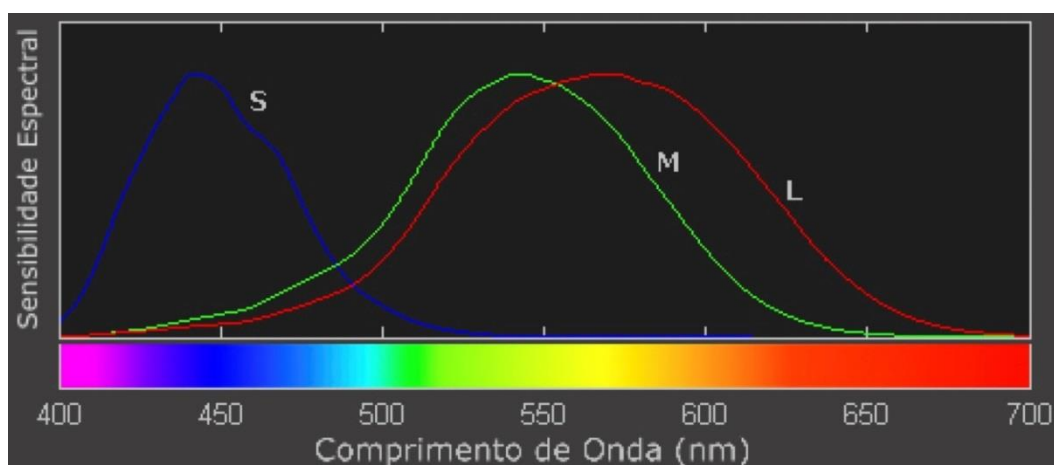
É importante destacar que a luz é refratada quando passa de um meio (córnea, cristalino e vítreo) para outro, conforme a diferença entre os índices de refração e a curvatura da interface de transição que convergem à luz na retina <sup>[33]</sup>.

A retina <sup>[38]</sup> é formada por aproximadamente 140 milhões de células fotorreceptoras, chamadas de cones e bastonetes. Os bastonetes, componentes majoritários, na faixa dos 130 milhões, situam-se ao longo de toda a superfície da retina, e atuam em condições de baixa luminosidade, sendo sensíveis a todos os comprimentos de onda, são incapazes de distinguir cor, apenas detectam a intensidade da luz, possibilitando uma remota visualização dos objetos sob essas condições. Já os cones, componentes minoritários, na faixa de seis milhões, situam-se na parte central da retina, e atuam em condições de alta luminosidade, codificando as diferenças de cores e detalhes do objeto. A **Figura 1.2** ilustra os cones e os bastonetes da retina do olho humano.



**Figura 1.2.** Bastonetes e cones. Fonte: <http://www.sobiologia.com.br> Acessada em: 27 de Janeiro de 2016.

Existem três tipos de cones <sup>[36]</sup>, que diferem entre si pela sensibilidade a faixas de comprimentos de onda curtos (S), médios (M) e longos (L), do espectro visível, denominados de cone azul, verde e vermelho, respectivamente, pois correspondem às faixas de comprimentos de onda das cores azul, verde e vermelho. Todas as cores do espectro visível percebidas pelo olho humano derivam da combinação dessas três cores primárias aditivas. A **Figura 1.3** apresenta a sensibilidade relativa de cada um dos tipos de células cone para todo o espectro de luz visível.



**Figura 1.3.** Absorção dos comprimentos de onda do espectro visível pelas células fotorreceptoras. Adaptada da referência <sup>[36]</sup>.

Como mostra a **Figura 1.3**, os cones azuis absorvem comprimentos de onda mais curtos, na faixa da luz azul, com pico de absorção em 435,8nm, já os cones verdes absorvem comprimentos de onda médios, com pico em aproximadamente, 546,1nm. E os cones vermelhos absorvem em faixas de comprimentos de onda mais longos com maior absorção em 560nm <sup>[36]</sup>.

Entretanto, a distribuição de cones azuis, verdes e vermelhos na retina não é proporcional, pois mais de 90% das células fotorreceptoras são cones vermelhos e verdes, e a pequena porcentagem restante corresponde aos cones azuis. Essa característica do sistema visual humano é chamada de Tricromaticidade<sup>[38]</sup>.

Assim, a cor <sup>[36]</sup> é o resultado da percepção da luz, pelas células fotorreceptoras do olho humano, que transmitem a informação para o cérebro, que a interpreta.

### 1.3.2.2. Sistemas de Cores

A cor é uma das principais características de uma imagem digital, e por esta razão, é uma propriedade de suma importância no processamento e na análise de imagens digitais <sup>[37]</sup>.

Nesse sentido, baseando-se no mecanismo tricromático da percepção de cor pelo sistema visual humano, a CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage* - Comissão Internacional de Iluminação) desenvolveu, para efeitos de padronização e especificação da cor, diversos modelos de cores de acordo com os fins de aplicação, como captura (câmeras digitais e scanners), visualização (monitores e projetores) ou impressão (impressoras) de imagens digitais <sup>[37,41]</sup>.

Os modelos de cor consistem na especificação da cor em formato padrão, através da sua conversão em modelos matemáticos que a descrevem de maneira exata e consistente nas mais variadas aplicações <sup>[36]</sup>. Desta forma, a padronização da cor promoveu uma melhor reprodutibilidade das cores dos objetos, cenas ou fenômenos representados nas imagens digitais, bem como a redução da intervenção humana no processamento e análise das imagens digitais, contribuindo para a diminuição da margem de erro <sup>[37,38]</sup>.

O modelo de cor RGB <sup>[36]</sup> pode ser representado pelo subespaço de um sistema de coordenadas cartesianas tridimensional, onde cada eixo de coordenada

representa a cor vermelha, verde ou azul, e cada ponto do sistema de coordenadas tridimensional corresponde a uma determinada cor do espectro visível.

Existem diversos modelos de cores <sup>[42]</sup> para as mais diversas aplicações, dentre eles os mais conhecidos são o RGB (*Red, Green, Blue*), CMY (*Cyan, Magenta, Yellow*) e sua variação CMYK (*Cyan, Magenta, Yellow, black*), HSI (*Hue, Saturation, Intensity*) ou HSV (*Hue, Saturation, Value*), HLS (*Hue, Lightness, Saturation*) e o Lab.

### 1.3.2.3 Modelo RGB

O modelo de cor RGB <sup>[44,45]</sup> (*Red* – vermelho, *Green* - verde, *Blue* - azul) baseia-se na tricromaticidade do sistema visual humano, em que todas as cores do espectro visível percebidas pelo olho humano decorrem da combinação, em diferentes proporções, dos comprimentos de onda em torno do vermelho, verde e azul.

As cores vermelho, verde e azul são denominadas cores primárias aditivas, pois a partir da combinação aditiva destas em diferentes proporções obtêm-se as demais cores do espectro visível, inclusive a cor branca, a partir da adição das três cores primárias em intensidade máxima<sup>[42]</sup>.

As somas das cores primárias aditivas duas a duas e de igual intensidade <sup>[43]</sup> resultam nas cores secundárias, amarelo, ciano e magenta, assim:

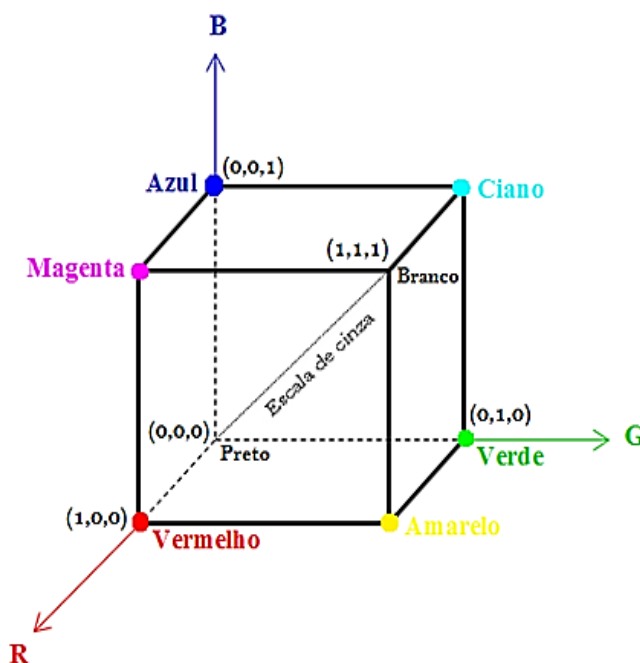
- Amarelo = vermelho + verde
- Ciano = verde + azul
- Magenta = vermelho + azul

A **Figura 1.4** apresenta as cores primárias aditivas e suas interseções formando as cores secundárias, de modo que a interseção das três cores primárias aditivas forma a cor branca, que é composta por todos os comprimentos de onda da luz visível.



**Figura 1.4.** As cores primárias aditivas e as suas intercepções, resultando nas cores secundárias subtrativas e na cor branca. Fonte: <http://joanamarcia1997.blogspot.com.br/> Acessado em 01.02.2016.

O modelo de cor RGB é representado por um subespaço cúbico do sistema de coordenadas cartesianas tridimensional, denominado cubo de cores <sup>[38]</sup>, ilustrado na **Figura 1.5**.



**Figura 1.5.** O cubo de cores do modelo de cor RGB. Fonte: <http://imgarcade.com/1/rgb-color-cube/>. Acessado: 19.01.2016.

Como ilustrado na **Figura 1.5**, as cores primárias aditivas correspondem às arestas do cubo coincidentes com os eixos, e as cores secundárias correspondem às arestas localizadas entre os eixos do sistema de coordenadas cartesianas tridimensionais. Os vértices do cubo correspondem às intensidades máximas das cores primárias e secundárias, sendo que o vértice localizado na origem (0, 0, 0) corresponde ao preto e o vértice localizado no ponto com as coordenadas de maior valor (1, 1, 1) corresponde à cor branca, como era de se esperar, já que o preto corresponde à ausência de cor e o branco à máxima contribuição de todas as cores. O segmento de reta formado pelos pontos que une a origem (0, 0, 0) ao ponto máximo (1, 1, 1) corresponde à escala de cinza, que em termos de cor, varia de intensidades do preto ao branco. Nesse sentido, as demais cores do modelo RGB correspondem aos pontos (R, G, B) contidos na região interior do cubo, formados pelas diferentes combinações das cores primárias aditivas<sup>[41]</sup>.

De acordo com a **Figura 1.5**, o cubo de cores possui valores normalizados, e as cores são definidas por vetores partindo da origem (0, 0, 0) com valores variando de 0 a 1. Entretanto, por conveniência, considera-se que cada cor é um ponto do cubo de cores, com valores de coordenadas cartesianas variando de 0 a 255<sup>[39]</sup>.

Em uma imagem digital, cada pixel carrega uma informação de cor chamada de profundidade de cor, como visto anteriormente. Comumente, em um modelo de cor RGB, a profundidade de cor de um pixel é de 24 bits, sendo 8 bits para cada componente R, G e B, que corresponde a 256 diferentes tonalidades para o vermelho (R), verde (G) e azul (B), gerando aproximadamente 16,7 milhões de possibilidades de tons diferentes de cor. Por exemplo, no modelo de cores RGB, o branco é formado pela combinação das componentes R, G e B em máxima intensidade, (255, 255, 255), já o preto é a ausência de cor, portanto (0, 0, 0)<sup>[40-42]</sup>. Assim, têm-se:

- Preto = (0,0,0)
- Branco = (255,255,255)
- Vermelho = (255,0,0)
- Verde = (0,255,0)
- Azul = (0,0,255)
- Ciano = (0,255,255)
- Magenta = (255,0,255)



➤ Amarelo = (255,255,0)

Matematicamente, no modelo RGB, as cores são dadas pela seguinte **Equação 1.1** <sup>[36]</sup>:

$$C = r.R + g.G + b.B \quad (1.1)$$

Onde R, G e B é a intensidade de tom das cores vermelho, verde e azul, que compõem a cor C, e r, g e b são os coeficientes tricromáticos<sup>[36,42]</sup>, que fornecem a proporção percentual das cores vermelho, verde e azul, e são dados pelas **Equação 1.2**, **Equação 1.3** e **Equação 1.4**, respectivamente.

$$r = \frac{R}{R + G + B} \quad (1.2)$$

$$g = \frac{G}{R + G + B} \quad (1.3)$$

$$b = \frac{B}{R + G + B} \quad (1.4)$$

Os coeficientes r, g e b são normalizados, portanto, a soma dos três coeficientes é dada por a **Equação 1.5**:

$$r + g + b = 1 \quad (1.5)$$

Segundo BENEDETTI <sup>[39]</sup> “a maioria dos métodos analíticos baseados no uso de imagens digitais emprega o modelo de cores RGB”.

“O uso do padrão RGB como resposta analítica está fundamentado no fato de que os valores de RGB variam proporcionalmente com a cor em uma reação colorimétrica. Este efeito pode, muitas vezes, estar associado à variação da concentração de uma substância de interesse e, é baseado neste princípio que as análises baseadas em imagens digitais são empregadas em química quantitativa.” <sup>[39]</sup>

Na literatura são descritos vários modelos matemáticos que utilizam dados do sistema de cor RGB das imagens digitais para a obtenção de respostas analíticas em diversas determinações <sup>[42-45]</sup>, onde a variação da componente RGB está ligada diretamente à variação da concentração do analito.

#### 1.3.2.4. Métodos analíticos baseados em imagem digitais

Imagens digitais têm sido empregadas em inúmeros trabalhos, devido as suas características, tais como: baixo custo, versatilidade e robustez <sup>[17-19]</sup>. Na literatura constam diversos trabalhos baseados em imagem digitais, tais como os de Gaião e colaboradores <sup>[17]</sup>, que propuseram a utilização de imagens digitais obtidas a partir de uma câmara CCD, como uma nova técnica instrumental de detecção para titulações automáticas. A estratégia proposta foi aplicada na análise da alcalinidade total da água da torneira e água mineral.

Andrade <sup>[14]</sup>, propôs um analisador fluxo-batelada baseado em imagem digital (DIB-FBA) para determinação de Al(III) e Cr(IV) em águas, onde utiliza uma *webcam* com sensor CCD para a aquisição das imagens geradas de acordo com o sistema de cor RGB.

Moliner e colaboradores <sup>[44]</sup> desenvolveram um método simples, baseado em imagem digital utilizando quimiometria para a determinação de titânio em amostras de plásticos. No método foi utilizada uma câmera digital para a captura das imagens, e os valores das componentes RGB das imagens foram correlacionados linearmente com a concentração do analito. Essa metodologia permitiu a obtenção de uma satisfatória precisão e exatidão analítica, tornando o método proposto adequado para o controle de qualidade de plásticos em análises de rotina.

Lyra <sup>[18]</sup> propôs o emprego de uma *webcam* como uma nova técnica de detecção em espectrometria de emissão em chama baseada em imagens digitais (DIB-FES).

Almeida <sup>[34]</sup>, propôs um método quimiluminescente baseado em imagens digitais utilizando um analisador em fluxo-batelada para determinação de Cr(IV) em águas. O sistema foi desenvolvido utilizando um *webcam* para a captura das imagens digitais.

Tôrres <sup>[13]</sup> propôs o uso de imagens digitais capturadas com uma *webcam*, para determinação de acidez total de vinhos tintos por meio de titulação ácido-base

sem a utilização de indicador externo, onde as imagens obtidas apresentavam a cor da radiação emergente que é complementar à da radiação absorvida por moléculas de antocianinas presentes.

Batista e colaboradores <sup>[45]</sup> desenvolveu um método quimiluminescente em fluxo-batelada para determinação de ferro total em matrizes viscosas (óleo comestível, óleo lubrificante e biodiesel) empregando pontos quânticos de telureto de cádmio com detecção por imagens digitais via *webcam*.

O estudo realizado por Teixeira <sup>[46]</sup> avaliou o potencial da análise de imagens digitais, obtidas por *scanner*, para a determinação do vigor de sementes, associada ao teste de crescimento de plântula. Os resultados mostraram que a técnica possibilita a associação dos dados obtidos no processamento a eventuais diferenças de vigor existentes em lotes de sementes de milho.

Wongwilai e colaboradores <sup>[47]</sup> desenvolveram um sistema semi-automático em um simples reator *lab-on-chip* que utiliza uma *webcam* como detector. Esse sistema foi projetado para monitoramento, em tempo real de uma titulação ácido-base por meio da mudança de cor do indicador fenolftaleína utilizado. Registraram-se as imagens associadas ao desaparecimento da cor rosa, característica do indicador, quando a solução ácida se difundia na solução básica. Essa mudança de cor promove uma variação nos valores das componentes R, G e B, a qual está relacionada com a concentração do ácido no processo de titulação.

### 1.3.2.5. Filmes Digitais

Vídeos digitais obtidos a partir de dispositivos CCD são compostos por uma série de imagens digitais que são formadas por bitmaps ortogonais (frames) exibidos em uma rápida sucessão a uma taxa constante, dando ao espectador uma sensação de movimento <sup>[48,49]</sup>. Neste sentido, é originada a partir de uma característica da visão chamada "persistência retiniana", que faz com que nossos olhos continuem a ver uma imagem estática por uma fração de segundos (1/12 segundos, aproximadamente). Depois disso, ela desaparece. A frequência dos quadros (ou frame), expressa em quadros por segundo (FPS), é a frequência com que um dispositivo de imagem apresenta imagens consecutivas <sup>[42]</sup>.

A taxa de quadros de dispositivos de câmera é uma função da frequência da rede elétrica, que varia entre 50 e 60 Hz (dependendo do país) <sup>[36]</sup>. Arquivo de vídeo

digital pode ser facilmente compilado através da extração de seus quadros a partir de vários formatos de vídeo de arquivo (MPEG, AVI, ASF, etc.) e os quadros resultantes são convertidos para outros arquivos de imagem com facilidade [33].

Desta forma, um filme digital pode ser usado para fins de análise pelo processamento das imagens digitais, como é realizada a análise DIB (digital image-based) [19]. Uma vez decomposto o filme, informações químicas com base na mudança das propriedades da imagem a partir de imagens digitais podem ser obtidas com a comparação entre os quadros sucessivos.

### 1.3.3. Coeficiente de correlação de Pearson

A origem do coeficiente remonta ao trabalho conjunto de *Karl Pearson* e *Francis Galton* [50], onde esse coeficiente é uma medida de associação bivariada (força) do grau de relacionamento entre duas variáveis, ou seja, é uma medida de associação linear entre variáveis.

O coeficiente de correlação de Pearson,  $r$ , é amplamente utilizado nos processamentos de imagens [50-52], e na análise estatísticas de reconhecimento de padrões. O coeficiente de correlação de Pearson pode ser definido [19], conforme a equação 1.6, abaixo:

$$r = \frac{\sum_{i,j}(x_{i,j} - \bar{x})(y_{i,j} - \bar{y})}{(\sqrt{\sum_{i,j}(x_{i,j} - \bar{x})})(\sqrt{\sum_{i,j}(y_{i,j} - \bar{y})})} \quad (1.6)$$

Onde:  $\bar{x}$  = média de valores de  $x$ ,  $x_{i,j}$  = valores da matriz de  $x$ ,  $\bar{y}$  = média de valores de  $y$ ,  $y_{i,j}$  = valores da matriz de  $y$ .

A correlação de Pearson é a medida da variância compartilhada entre duas variáveis, onde seus valores podem variar de 1 a -1, esse valor indica a direção positiva ou negativa do relacionamento e grau de força de correlação. Uma correlação perfeita (1 ou -1) indica que o escore de uma variável pode ser determinado exatamente o escore da outra.

Para análise química,  $r$  só apresenta valores compreendidos no intervalo  $0 \leq r \leq 1$ , ou seja, valores entre 1 a 0,8 indicam correlação máxima positiva entre os

escores, valores entre 0,7 a 0,5 indicam correlação média entre os escores, valores entre 0,4 a 0,1 indicam baixa correlação entre os escores [19,50]. Alguns trabalhos que utilizaram o coeficiente de correlação de Pearson estão descritos a seguir.

Gravier e colaboradores [51] estudaram a relação entre os parâmetros de cortes e das características das superfícies das microestruturas, devido principalmente o comportamento corrosivo das peças. Neste trabalho utilizou-se a correlação de Pearson, para uma melhor performance dos parâmetros estudados.

Leonenko e colaboradores [52] desenvolveram uma fórmula para a explicação da função de covariância de difusão de Pearson, na qual foram aplicadas as funções Mittag-Leffler, com o intuito de aprimorar a faixa de trabalho da correlação linear, foi obtida uma derivação da equação de Pearson, que possui um maior alcance e baixos limites de correlação.

A pesquisa realizada por Saad e colaboradores [53] na aplicação do registro da ressonância magnética, foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson, para determinar os teores estruturais T1 e T2 que são hipo-intenso e hiper-intenso, com o objetivo de minimizar o custo funcional da análise e automatizá-la.

Em trabalho recente, Lima e colaboradores [19] desenvolveram um titulador automático que utiliza o coeficiente de correlação de Pearson para determinar o ponto final de titulações de amostras de óleos comestíveis por meio dos valores obtidos para a componente de cor matiz (H). Os resultados obtidos pelo titulador proposto apresentaram valores concordantes com os de referência, com velocidade analítica de 117-128 amostras por hora.

### 1.3.3.1. Filmes Digitais e Coeficiente de correlação de Pearson

Coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) é amplamente utilizado no processamento de imagem, reconhecimento de padrões e análise estatística [29,30]. Este coeficiente é definido para imagens monocromáticas digitais e apresenta três valores notáveis. Se  $r = 1$  as duas imagens são absolutamente idênticas, se  $r = 0$  são completamente não correlacionadas, e se  $r = -1$  são completamente anti-correlacionadas (uma imagem é o negativo do outro). Na análise de imagens digitais, tipicamente,  $r$  é usada para comparar duas imagens do mesmo objeto, tomadas em momentos diferentes [51-53].

O valor de  $r$  indica se o objeto foi alterado ou movido. Em teoria, um valor de  $r = 1$  é obtido somente se o objeto está intacto, ou seja, alterações e / ou movimento não ocorreram. Na prática, algumas distorções podem ocorrer no sistema monitorado, como: ruídos, pequenas variações no posicionamento do sistema, as variações da luminosidade entre outros.

Valores típicos de  $r$  para duas imagens digitais da mesma cena, gravado imediatamente após o outro usando o mesmo sistema de imagem, posicionamento e iluminação, varia entre 0,99 e 0,95. <sup>[54]</sup> possuem o mesmo intervalo para digitalização de imagens em microscopia eletrônica.

Os valores de  $r$  empíricos que indiquem mudanças significativas em uma sequência de imagens obtidas a partir de uma operação da *webcam* no modo filme. Para diversas aplicações relatadas na literatura <sup>[52,54]</sup>, o limiar escolhido para os valores de  $r$  dependem da aplicação e do dispositivo óptico. Na prática, um procedimento automatizado deve ser proposto para realizar uma titulação baseado em filme digital como técnica de detecção, devido à sincronia necessária entre o início da adição de titulante e a gravação do vídeo pela *webcam*.

### 1.3.4. Parâmetros Físico-Químicos para o Controle da Qualidade de Águas

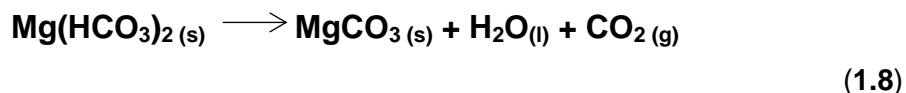
#### 1.3.4.1. Dureza Total de Águas

A dureza é causada pelos sais solúveis de cálcio e magnésio, por exemplo, os bicarbonatos, os sulfatos e os cloretos. A determinação da dureza total é um parâmetro importante na qualidade de águas naturais e minerais, pois entre outros fatores, sua quantidade influencia no sabor, podendo causar problemas cardiovasculares e apresentar problemas de toxicidade e incrustações <sup>[55,56]</sup>.

Há dois tipos de dureza: a temporária e a permanente. A dureza temporária é aquela devida às presenças dos bicarbonatos de cálcio,  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ , e de magnésio,  $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$  <sup>[57]</sup>. Quando a água que contém esses sais é fervida ocorre à precipitação de sais neutros (os carbonatos) e a dureza é parcialmente removida, de acordo com as **Equações 1.7 e 1.8**:



(1.7)



A dureza permanente da água é ocasionada pela presença de outros sais de cálcio e magnésio, usualmente os sulfatos. A dureza permanente não pode ser removida por fervura. A soma das durezas temporária e permanente é conhecida como dureza total da água e geralmente é expressa em mg/L de  $\text{CaCO}_3$ .

Há outros termos associados à dureza de águas <sup>[55]</sup>, tais como:

- I. **Dureza de cálcio:** é a medida direta da concentração de cálcio; Dureza de carbonatos que é a dureza derivada da solubilização do carbonato de cálcio e de magnésio por conversão do carbonato em carbonato ácido;
- II. **Dureza de magnésio:** é a dureza derivada da presença de magnésio e se calcula pela subtração da dureza total pela dureza de cálcio;
- III. **Dureza de não carbonatos:** é a dureza atribuída a todos os cátions associados com todos os ânions, exceto os carbonatos.

Entretanto, a dureza total é o parâmetro mais utilizado no controle de qualidade de águas.

A classificação das águas em termos do grau de dureza total é arbitrária e algumas classificações têm sido encontradas na literatura <sup>[55,58]</sup>. Neste trabalho foi utilizada a classificação de dureza da água apresentada por Richter e Netto <sup>[58]</sup> e mostrada na **Tabela 1.1**.

**Tabela 1.1:** Classificação das águas em termos do grau de dureza total. (Adaptada de Richter e Netto <sup>[58]</sup>).

Concentração (mg de $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ )	Grau de Dureza
0-50	Mole
50-150	Moderada
150-300	Dura
Acima de 300	Muito dura

### 1.3.4.1.1. Importância de Determinar Dureza Total

Ao longo das duas últimas décadas, a prevalência de doenças cardiovasculares tem diminuído em muitos países de alta renda, em contrapartida, aumentaram em um ritmo espantosamente rápido nos países de baixa renda. Pesquisas indicam como uma das causas o fato de que nos países de baixa renda, a população apresenta um alto consumo de água com dureza elevada <sup>[59-61]</sup>.

Um estudo realizado em 60 cidades do Canadá mostrou que águas com uma baixa dureza, também provocam déficit na ingestão de minerais, como  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  estão ocasionando uma elevada taxa de mortalidade nestas cidades <sup>[62]</sup>.

O estudo investigado por Sadmourmohamali e Gorczyca <sup>[63]</sup>, vinculou o efeito do ozônio como um agente coagulante em reações químicas que utiliza água natural com diferentes concentrações de dureza total ( $100\sim 270 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ).

Estudos realizados na Espanha para avaliar diversas misturas de argilas em águas e sua textura instrumental que foram caracterizados em termos de sua composição mineralógica (difração de raios-X), onde a partir das soluções mediram o grau de dureza da água e a sua adesividade <sup>[64]</sup>.

Pesquisas realizadas em Taiwan alertam para uma possível associação entre o risco de mortalidade por câncer de pâncreas e baixos níveis de dureza de águas de abastecimento <sup>[65]</sup>.

Estudos apontam a associação entre o baixo nível de dureza da água, com o risco de câncer renal. Investigaram mais de 900 casos de câncer vinculados a dureza da água nas cidades do norte de Taiwan <sup>[66]</sup>.

### 1.3.4.1.2. Métodos de Determinação de Dureza Total

#### 1.3.4.1.2.1. Métodos Titulométricos

A dureza total em águas é determinada geralmente por procedimentos titulométricos <sup>[55]</sup>, utilizando-se uma solução do sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_{18}\text{N}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), conhecido comumente como EDTA, e negro de eriocromo T ( $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{NaO}_7\text{S}$ ) ou calmagita ( $\text{HOC}_{10}\text{H}_5\text{N}_2\text{C}_6\text{H}_3\text{OHCH}_3\text{SO}_3\text{H}$ ) como indicador. O EDTA quando adicionado à



amostra, combina-se com os íons divalentes, principalmente com cálcio e magnésio formando complexos estáveis de forma **[M-EDTA]**, conforme a **Equação 1.9**:



Onde: **M<sup>2+</sup>** representa os íons divalentes de cálcio e magnésio.

O negro de eriocromo T, de cor azul, quando adicionado à amostra, combina-se ao tampão amoniacal o mais adequado, para determinação dos íons cálcio e magnésio (se presente) formando um complexo vermelho-vinho, pouco estável em comparação com o complexo formado pelo **[M – EDTA ]**. A reação pode ser representada pela **Equação 1.10**:



onde: **Ind** representa o indicador negro de eriocromo T e **M<sup>2+</sup>** o metal bivalente

No decorrer da titulação da amostra contendo o indicador, os íons livres causadores da dureza reagem com o EDTA, até que não existam mais íons livres, quando então o complexo instável **[M – Ind]** rompe-se e o EDTA combina-se com os íons, até então ligados. Desta forma, a cor azul do indicador livre aparece, indicando o ponto final da titulação.

Pequenas modificações dos métodos titulométricos têm sido propostas. Pode-se citar, por exemplo o trabalho de Fritz e colaboradores<sup>[67]</sup> que utilizam Arsenato 1 como indicador para a determinação de dureza total em água e outros íons de terras raras, empregando também o EDTA como titulante. Com este procedimento é possível determinar a dureza total da água, mesmo na presença de pequenas quantidades de ferro, cobre ou alumínio.

Métodos titulométricos automatizados empregando o EDTA como titulante também têm sido propostos. Um deles foi proposto por Bellomo e colaboradores<sup>[68]</sup> que propuseram um aparato semi-automático que mede a variação na absorvância durante uma titulação, usando EDTA e negro de eriocromo T como titulante e indicador, respectivamente. A dureza total foi determinada com desvios padrão da ordem de 0,8 %.

#### 1.3.4.1.2.2. Métodos Automáticos

Imato e colaboradores<sup>[69]</sup> desenvolveram um sistema para a determinação potenciométrica de dureza total de água por análise por injeção em fluxo o qual utiliza um eletrodo íon-seletivo de  $\text{Cu}^{2+}$  como detector e um tampão de íons  $\text{Cu}^{2+}$  contendo complexos de  $\text{Cu}^{2+}$ -EDTA e EDTA livre. A interferência de cloreto na determinação foi totalmente eliminada adicionando-se trietilenotetramina ao tampão. A dureza total da água do mar pode ser determinada numa frequência analítica de 30 amostras por hora e com desvios padrão de 0,7%. Os resultados obtidos com o método proposto se encontraram concordantes com os obtidos pelo procedimento convencional de titulação complexométrica.

Hernández e colaboradores<sup>[70]</sup> desenvolveram um analisador automático para determinação espectrofotométrica simultânea de cálcio e magnésio em águas e líquidos de diálise, utilizando uma análise em fluxo, o reagente cromogênico PAR (4-(2-piridilazo) resorcinol) e calibração multivariada. Os resultados obtidos foram concordantes com os valores determinados pela titulação clássica com EDTA e a frequência analítica foi bem maior (30 amostras por hora).

No trabalho de Pereira<sup>[71]</sup> foram desenvolvidas metodologias para determinação de metais em águas empregando ICP-OES (Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma Indutivamente Acoplado) e em sedimentos e peixes empregando GF-AAS (Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite), em amostras de águas tratadas e águas de mananciais<sup>[4]</sup>.

Franco<sup>[10]</sup> elaborou uma nova metodologia para a determinação de dureza total que consistiu no tratamento com coagulante natural e por radiação ultravioleta.

Lima e colaboradores<sup>[72]</sup> desenvolveram um analisador em fluxo-batelada multitarefa (FBM), para análise *screening* para a determinação de dureza total em águas de rios e açudes do estado da Paraíba, onde a partir dos resultados obtidos na análise *screening* foi possível classificar as águas de rios e açudes com fidelidade e simplicidade nas faixas de dureza total.

#### 1.3.4.2. Alcalinidade de Águas

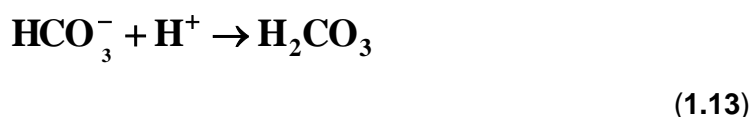
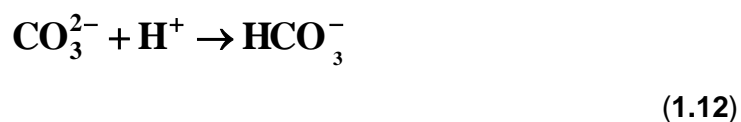
Em águas naturais, a alcalinidade é devida principalmente a carbonatos e bicarbonatos presentes na amostra<sup>[55]</sup>. Os íons hidróxidos, e, em menor grau, os

íons silicatos, boratos, fosfatos e amônio, também contribuem para a alcalinidade da água. Em águas contaminadas e em estado anaeróbio, pode haver produção de sais de ácido acético, propiônico e hidrosulfúrico, que tendem a aumentar a alcalinidade [73].

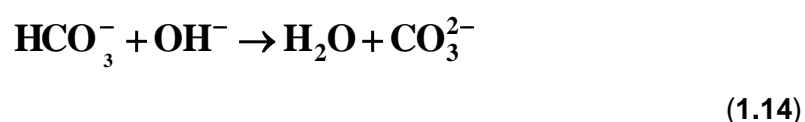
A alcalinidade total é a quantidade de matéria de  $H^+$  requeridos para titular um litro de uma amostra de água, até pH igual a 4,5 [55]. Para uma solução contendo íons hidróxidos, carbonato e bicarbonato, representado pela a **Equação 1.11**:

$$\text{Alcalinidade total} = 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{HCO}_3^-] + [\text{OH}^-] \quad (1.11)$$

O fator 2 aparece diante do íon carbonato porque em presença do íon hidrogênio, ele é primeiramente convertido em íon bicarbonato conforme **Equação 1.12**, sendo em seguida este último convertido, por um segundo íon hidrogênio, em ácido carbônico mostrado na **Equação 1.13**.



Não é possível a coexistência das três formas de alcalinidade em uma mesma amostra devido à reação química do íon bicarbonato com o íon hidróxido [55]. O íon bicarbonato age como se fosse um ácido fraco na presença de uma base forte conforme a **Equação 1.14**:



Outro parâmetro encontrado na análise de águas naturais é a alcalinidade à fenolftaleína ( $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$ ), que é a medida da concentração do íon carbonato e de outros ânions básicos similares. O indicador fenolftaleína é usado com o objetivo de

titular apenas o íon carbonato sem considerar o íon bicarbonato como pode ser observado na **Equação 1.15**.

$$\text{Alcalinidade à fenolftaleína} \approx [\text{CO}_3^{2-}] + [\text{OH}^-] \quad (1.15)$$

#### 1.3.4.2.1. Importância de Determinar Alcalinidade

A alcalinidade das águas não representa risco potencial à saúde pública. Provoca alteração no paladar e a rejeição da água em concentrações inferiores àquelas que eventualmente pudessem trazer prejuízos mais sérios <sup>[74]</sup>.

A alcalinidade não se constitui em padrão de potabilidade, ficando este efeito limitado pelo valor do pH <sup>[75]</sup>. Também não é padrão de classificação de águas naturais nem de emissão de esgotos, sendo que a importância deste parâmetro se concentra no controle de determinados processos unitários utilizados em estações de tratamento de águas para abastecimento e residuais.

Mak e colaboradores <sup>[76]</sup> investigou a influência do uso de águas com elevada alcalinidade, usadas como catalisadores junto com o arsênio(V) na remoção de ácidos húmicos e ferro.

A alcalinidade das águas associa-se à dureza, como será visto adiante, sendo responsável pela precipitação de carbonatos principalmente em sistemas de águas quentes, provocando a formação de incrustações <sup>[77]</sup>.

Medidas de alcalinidade são usadas na interpretação e controle de água e no processo de tratamento de águas residuais. Através da determinação da alcalinidade total, pode-se ter um indicativo da quantidade de carbonatos, bicarbonatos e hidróxido em amostras de água, uma vez que a alcalinidade total é definida em função destes constituintes <sup>[75,78]</sup>.

A influência do pH sobre os ecossistemas aquáticos naturais dá-se diretamente devido a seus efeitos sobre a fisiologia das diversas espécies. O efeito indireto é muito importante, podendo determinadas condições de pH contribuir para a precipitação de elementos químicos tóxicos como metais pesados; outras condições podem exercer efeitos sobre as solubilidades de nutrientes <sup>[74,78]</sup>.

Desta forma, as restrições de faixas de pH são estabelecidas para as diversas classes de águas naturais, tanto de acordo com a legislação federal de junho de 1986, como pela legislação do Estado de São Paulo (Decreto nº 8468) [55,79]. O valor de pH é também um resultado importante para a composição dos chamados “índices de qualidade de águas”. No cálculo do IQA utilizado pela CETESB, o pH é um dos nove parâmetros contemplados. Os critérios de proteção à vida aquática fixam o pH entre 6 e 8.

#### **1.3.4.2.2. Métodos de Determinação da Alcalinidade Total**

##### **1.3.4.2.2.1. Método Titulométrico**

A alcalinidade das águas é determinada através de titulação de neutralização ácido/base, empregando ácido sulfúrico como solução padrão. A titulação também, neste caso, pode ser acompanhada potenciométricamente ou com o emprego de indicadores ácido-base [78,55].

Os limites de pH ou as soluções indicadoras são os mesmos utilizados para a determinação da acidez da água. Entretanto, trata-se do processo inverso, ou seja, a água apresenta alcalinidade até o valor inferior de pH igual a 4,5, que corresponde ao limite da conversão de bicarbonatos em gás carbônico [75,78].

Desta forma, a água pode possuir acidez e alcalinidade simultaneamente na faixa de pH entre 4,5 e 8,3 devido ao equilíbrio gás carbônico/bicarbonato/carbonato, podendo neutralizar uma ação externa através do deslocamento deste equilíbrio de dois estágios, sem que o pH varie demasiadamente (efeito tampão) [75,78].

O método proposto pelo Standard Methods [55] recomenda o indicador verde de bromocresol (pH = 4,5) e o indicador fenolftaleína (pH = 8,3), para determinação de alcalinidade total e alcalinidade à fenolftaleína, Devido ao fato desses indicadores possuírem faixas de mudança de cor equivalentes aos registrados no pHmetro, com isso o procedimento é realizado com maior eficácia.

Para os métodos empíricos, são formuladas três hipóteses:

1. Alcalinidades de hidróxido e de bicarbonato não podem coexistir em uma amostra, pois a alcalinidade devida a hidróxido é típica de meio com pH superior a 10, situação em que prevalece a forma de carbonato e não

bicarbonato. Desta primeira hipótese, decorrem cinco situações possíveis. As amostras poderão conter:

- a) Só alcalinidade de hidróxido. É o caso de amostras com pH elevado (superior a 10). A titulação é essencialmente completada em pH 8,3 e a alcalinidade total é igual a alcalinidade à fenolftaleína.
  - b) Só alcalinidade de carbonato. Neste caso, a amostra deverá apresentar pH superior a 8,3 e a titulação ao ponto da fenolftaleína é exatamente igual à metade da titulação total.
  - c) Alcalinidade de hidróxido e carbonato. Este caso também corresponde à amostras com pH elevado, bem superior a 10. A titulação entre os pontos 8,3 e 4,5 representa metade da alcalinidade de carbonato.
  - d) Alcalinidade de carbonato e bicarbonato. Neste caso o pH da amostra deverá estar compreendido entre 8,3 e 11,0 e a titulação ao pH 8,3 representa metade da alcalinidade de carbonato.
  - e) Só alcalinidade de bicarbonato. Ocorre em amostras com pH inferior a 8,3. Neste caso a alcalinidade de bicarbonato coincide com a alcalinidade total.
2. Alcalinidade de hidróxido ocorre até pH 8,3. Na verdade, com base na curva de titulação de bases fortes, observa-se que o pH igual a 10 seria suficiente. Esta hipótese está a favor da segurança e a coincidência com o limite da conversão de carbonato em bicarbonato (pH 8,3) facilita a obtenção dos resultados.
  3. Os carbonatos são 50% neutralizados até pH igual a 8,3. Isto porque até o pH 8,3 ocorre apenas a transformação em bicarbonatos, necessitando-se de igual quantidade do titulante para a conversão final dos bicarbonatos em gás carbônico.

#### 1.3.4.2.2.2. Métodos Automáticos

Hawkes e colaboradores<sup>[80]</sup> desenvolveram um analisador em fluxo contínuo para a determinação *on-line* de alcalinidade total para o controle químico de digestores anaeróbios. O método se baseia em uma medida contínua do aumento

de gás carbônico dentro de um fluxo de amostra, depois da saturação com dióxido de carbono e acidificação subsequente com ácido em excesso. O analisador foi calibrado com solução de bicarbonato de sódio. Com este analisador foi obtida uma precisão de 5%, o que é aceitável em processos industriais.

Almeida e colaboradores <sup>[33]</sup> propuseram um analisador automático em fluxo com multicomutação com detecção potenciométrica para determinação on-line de alcalinidade total em águas residuais. O procedimento de análise é baseado na adição de volumes crescentes do reagente e de volumes decrescentes de amostra, dentro de uma câmara de mistura. A concentração da amostra é determinada sem a necessidade de uma calibração prévia. Com este analisador foram obtidos resultados bastante concordantes com o método titulométrico clássico e o desvio padrão relativo obtido foi de aproximadamente 2,5%.

# Capítulo 2

# Experimental

---





## 2. Experimental

---

### 2.1. Soluções, Reagentes e Amostras

Todas as soluções foram preparadas e padronizadas conforme metodologia descrita no Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater <sup>[55]</sup>.

A água utilizada para a preparação de todas as soluções usadas neste trabalho foi sempre recém-destilada e deionizada e todos os reagentes empregados foram de grau analítico.

#### 2.1.1. Amostras

Foram usadas amostras de água mineral de fontes diferentes: Asa Branca/PE, São Bento/AL, São José/CE, Santa Maria/AL, Villa/PE, Santa Rita/PB e São Judas Tadeu/RN todas adquiridas no comércio de João Pessoa-PB e estocadas no período máximo de sete dias e mantidas sob refrigeração.

#### 2.1.2. Determinação da Dureza Total em Águas Minerais

Para determinação da dureza total, foram utilizadas as seguintes soluções:

- Solução titulante: EDTA 0,0009330 mol L<sup>-1</sup>;
- Solução tampão amoniacal pH = 10: Concentração de NH<sub>4</sub>Cl: 1,260 mol. L<sup>-1</sup> e NH<sub>4</sub>OH: 7,440 mol.L<sup>-1</sup>. A solução foi armazenada em frasco de polietileno e mantida sob refrigeração;
- Solução Indicador Negro de Eriocromo T: 500 mg.L<sup>-1</sup>;
- Solução de carbonato de cálcio: 0,01000 mol.L<sup>-1</sup>.

Nas determinações realizadas no titulador FBT-DM foi sempre usada uma solução tampão-indicador que foi preparada a partir de suas respectivas soluções estoques em uma razão volumétrica de 2:1.

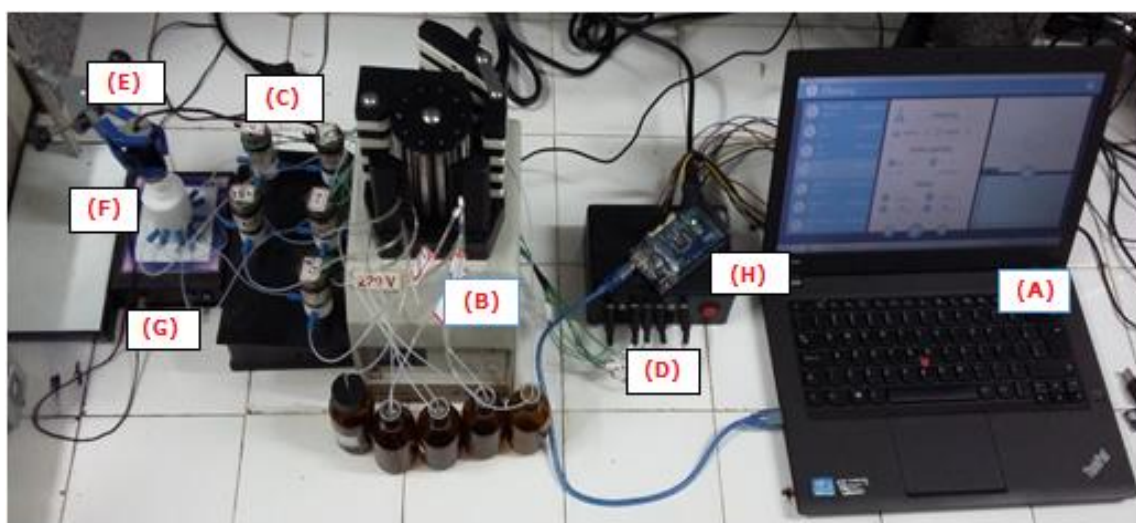
### 2.1.3. Determinação da Alcalinidade Total em Águas Minerais

Nesta determinação foram usadas as seguintes soluções:

- Solução titulante:  $0,02360 \text{ mol L}^{-1}$  de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ );
- Solução estoque de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ):  $0,05000 \text{ mol.L}^{-1}$
- Solução indicadora: Verde bromocresol  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ;
- Solução indicadora: Fenolftaleína  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  em meio alcoólico.

### 2.2. Materiais e Equipamentos

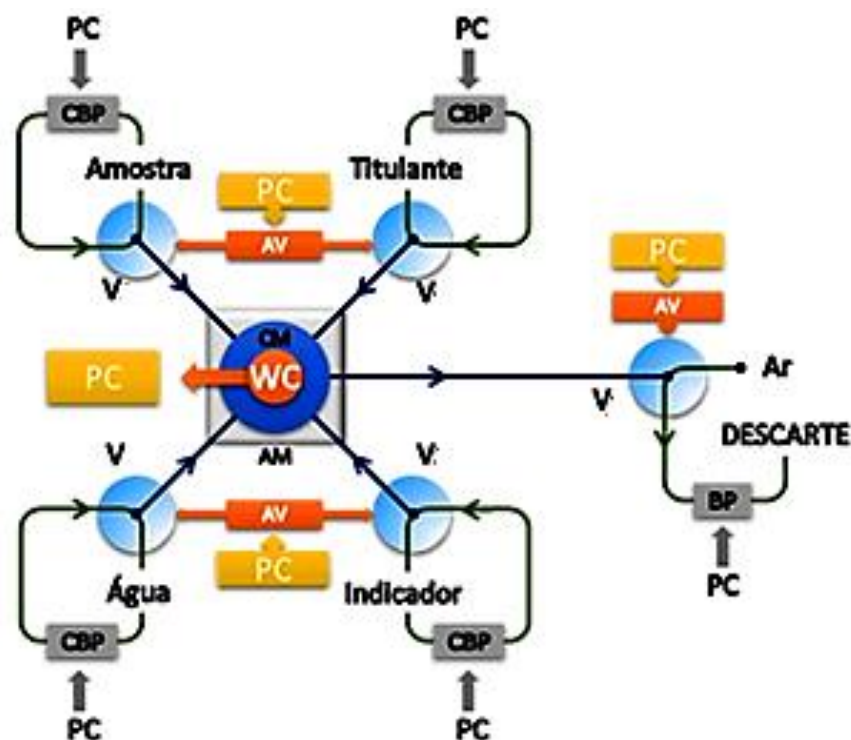
O FBT-DM foi construído utilizando: um notebook, uma bomba peristáltica, cinco válvulas solenoides, um acionador de válvula, uma *webcam*, uma câmara de mistura e reação (Câmara FBT), um agitador magnético e uma placa arduino mega 2560. Sua organização física está ilustrada na **Figura 2.1**.



**Figura 2.1.** Fotografia da disposição física dos componentes do sistema automático de análise em fluxo-batelada proposto. (a) notebook; (b) bomba peristáltica; (c) válvulas solenoides; (d) acionador de válvulas; (e) *webcam*; (f) câmara de mistura; (g) agitador magnético; (h) arduino.

Um diagrama esquemático para melhor compreensão dos principais componentes do sistema proposto é mostrado na **Figura 2.2**. Cada um dos

componentes descritos e suas funções serão discutidos com mais detalhes nas subseções a seguir.



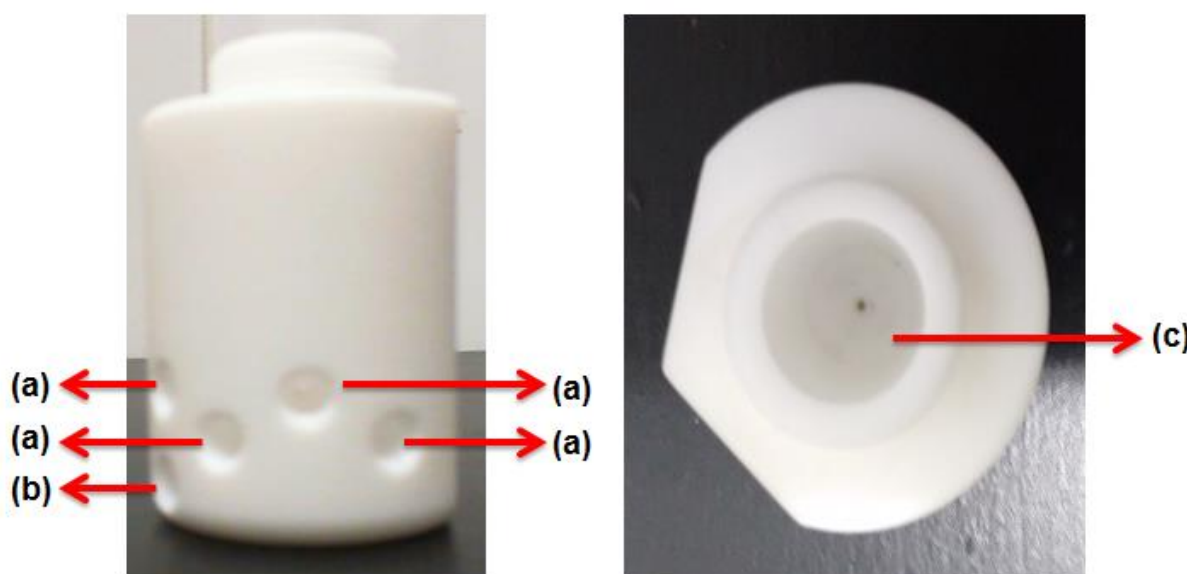
**Figura 2.2.** Diagrama esquemático do sistema automático de análise em fluxo-batelada proposto. (PC) notebook; (CBP) canal da bomba peristáltica; (V1-V5) válvulas solenoides; (AV) Acionador de válvulas; (AM) agitador magnético; (CM) câmara de mistura; (WC) webcam.

### 2.2.1. Notebook

Os dispositivos que constituem o FBT-DM proposto foram acoplados a um notebook com processador Intel® Core2Duo de 2.2 GHz e memória RAM de 2 Gb através de uma interface de controle. Nesse interfaceamento foi utilizado um Arduino Mega 2560 que permite controlar os comandos enviados ao acionador de válvulas. Para gerenciar o sistema foi desenvolvido um programa que será discutido na Seção 2.6.

### 2.2.2. Câmara de Mistura

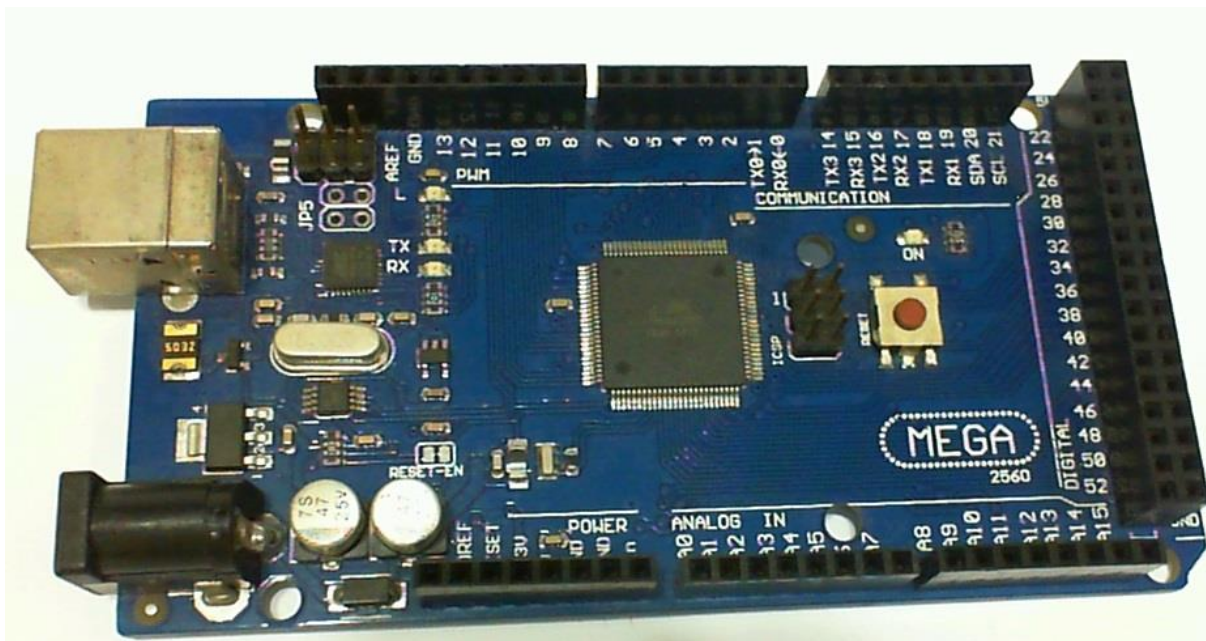
Para promover uma melhor homogeneização entre a amostra e os reagentes o FBT-DM utilizou uma câmara de mistura, chamada de câmara FBT, ilustrada **Figura 2.3**. Esta câmara é constituída por um cilindro de PTFE (Teflon<sup>®</sup>) contendo cinco canais de entrada e um canal de saída, com um volume interno de 8 mL.



**Figura 2.3.** Câmara de mistura. (a) entrada de fluidos. (b) saída de fluidos. (c) diâmetro interno da FBT com 15 mm.

### 2.2.3. Hardware de Controle do Acionamento das Válvulas

O arduino mega 2560 é uma placa de microcontrolador baseado no ATmega2560. Ele tem 54 pinos digitais de entrada/saída (dos quais 15 podem ser usados como saídas PWM), 16 entradas analógicas, 4 UARTs (portas seriais de hardware), um cristal oscilador de 16 MHz, uma conexão USB, uma entrada de alimentação 12v, um ICSP e um botão de reset. Os códigos de programação são desenvolvidos na IDE (Integrated Development Environment) fornecida pelo site oficial do arduino (<http://www.arduino.cc/>), conforme a **Figura 2.4**. No trabalho foi utilizada 8 portas de saídas digitais, essas portas foram acopladas ao acionador de válvulas por meio de uma saída serial.



**Figura 2.4.** Placa do Arduino Mega 2560 utilizado no titulador FBT-DM.

#### 2.2.4. Agitador Magnético

A homogeneização da mistura é alcançada pelo movimento rotatório de uma barra magnética revestida de Teflon<sup>®</sup> dentro da câmara de mistura. O movimento da barra magnética é estimulado pelo campo magnético de um agitador desenvolvido no próprio laboratório ilustrado na **Figura 2.5**.



**Figura 2.5.** Agitador magnético utilizado no sistema FBT-DM.

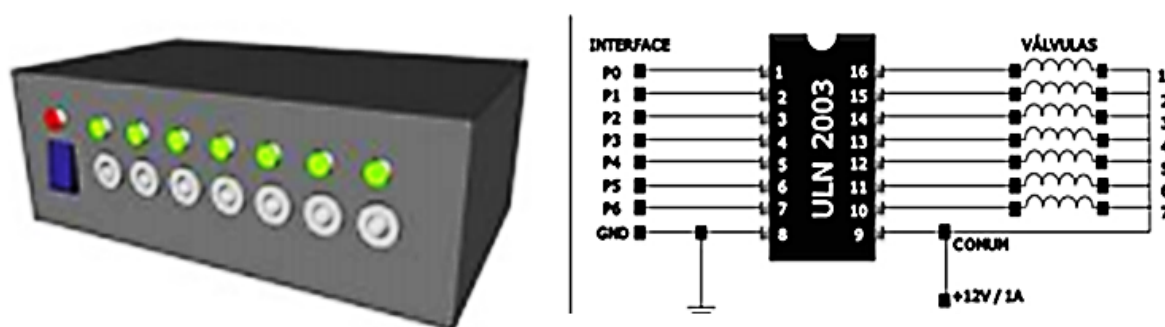
### 2.2.5. Bomba Peristáltica

As soluções foram bombeadas empregando uma bomba peristáltica da Gilson, modelo miniplus 3, com capacidade de bombeamento de até oito canais. Foram utilizados tubos de tygon com diâmetro interno de 1,14 mm e 0,76 mm, o primeiro para a válvula do descarte e o segundo utilizado nas válvulas dos reagentes, amostras e água destilada.

### 2.2.6. Acionador de Válvulas

Um acionador de válvulas, cujo circuito eletrônico é mostrado na **Figura 2.6**, foi desenvolvido para controlar a abertura das válvulas solenoides. Este dispositivo é baseado em um circuito integrado ULN 2003, que é um arranjo de transistores do tipo *Darlington* capaz de controlar até sete canais simultaneamente e de forma independente, com capacidade total de corrente de 500 mA.

Os circuitos de acionamento das válvulas são programados para, quando receberem uma tensão maior que 3,8 V em suas entradas, enviarem um pulso elétrico de 12V. Uma corrente de 150 mA é gerada durante o pulso, fornecendo, assim, uma potência suficiente para acionar as válvulas solenoides. A comunicação entre o acionador de válvulas e o microcomputador é realizada através da interface de controle Arduino Mega 2560 via porta USB do microcomputador.



**Figura 2.6.** Modelo de acionador utilizado no sistema e seu diagrama do acionador de válvulas. P0 – P6 representam os pinos de saída para a interface de controle e GND é o aterramento do circuito.



### 2.2.7. Válvulas solenoides

No FBT-DM foram utilizadas cinco válvulas solenoides de três vias da Cole Parmer<sup>®</sup>, modelo RZ 01540-11, **Figura 2.7**, com a finalidade de comutar os fluidos no percurso analítico. Através deste dispositivo é possível direcionar os volumes das amostras, reagentes e demais soluções a serem introduzidos na câmara FBT. As válvulas solenoides são controladas por um notebook, utilizando um acionador de válvulas combinado a uma interface de controle.



**Figura 2.7.** Válvula solenoide de três vias utilizada no sistema FBT-DM.

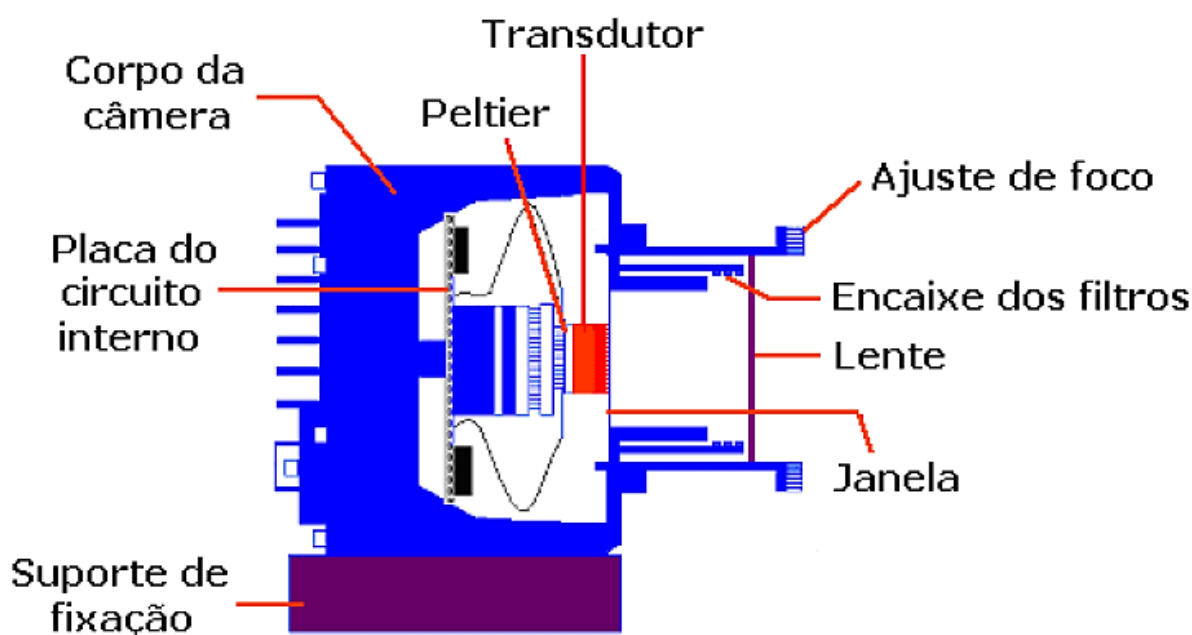
### 2.2.8. Sistema de Detecção

O sistema de detecção usado foi uma *Webcam* da Microsoft LifeCam, nela são capturadas as imagens, e de modo quase instantâneo transferidas para o armazenamento no computador. A *webcam* utilizada está representada na **Figura 2.8**, com conexão ao notebook do tipo USB 2.0. A *webcam* ficou posicionada a uma distância de 17,1 mm da câmara FBT, para a captura dos filmes foi utilizado uma resolução de 1280x720.



**Figura 2.8.** Modelo da *webcam* usada na captura das imagens digitais

Um esquema simplificado de uma *webcam* convencional com sensor CCD é representado na **Figura 2.9**.



**Figura 2.9.** Representação esquemática de uma *webcam*. Adaptado de Lyra <sup>[18]</sup>.

- Lentes: da mesma forma que nos instrumentos usados em espectroscopia, possuem a função de concentrar os feixes de radiação tornando-os paralelos (lentes colimadoras).



- Ajustador de foco: proporciona uma maior nitidez e realça algum detalhe durante a captura da imagem.
- Filtros: destinados à seleção da região espectral de interesse. Caso se queira selecionar a região visível do espectro eletromagnético deve-se usar um filtro de corte para as regiões ultravioleta e infravermelha.
- Janela: elemento que delimita a abertura máxima do obturador.
- Peltier: dissipa o calor gerado pelo sensor de imagem, pois quando uma diferença de potencial é gerada no sensor forma-se um gradiente de temperatura no mesmo.
- Placa de circuito: concentra os diferentes componentes eletrônicos usados no processamento e armazenamento dos dados coletados pelo sensor de imagem.
- Transdutor de Imagem: dispositivo que monitora a radiação incidente de forma contínua e reversível para aquisição de imagens.

## **2.3. Procedimento Analítico**

### **2.3.1. Método de Referência para Determinação de Dureza Total**

O procedimento de análise das amostras pelo método de referência para determinação da dureza total em águas foi realizado de acordo com Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater <sup>[55]</sup>, método titulométrico com o EDTA, presente na seção 2340E, p. 2-39, e descrito na seção 1.3.4.1.2.1 desta dissertação.

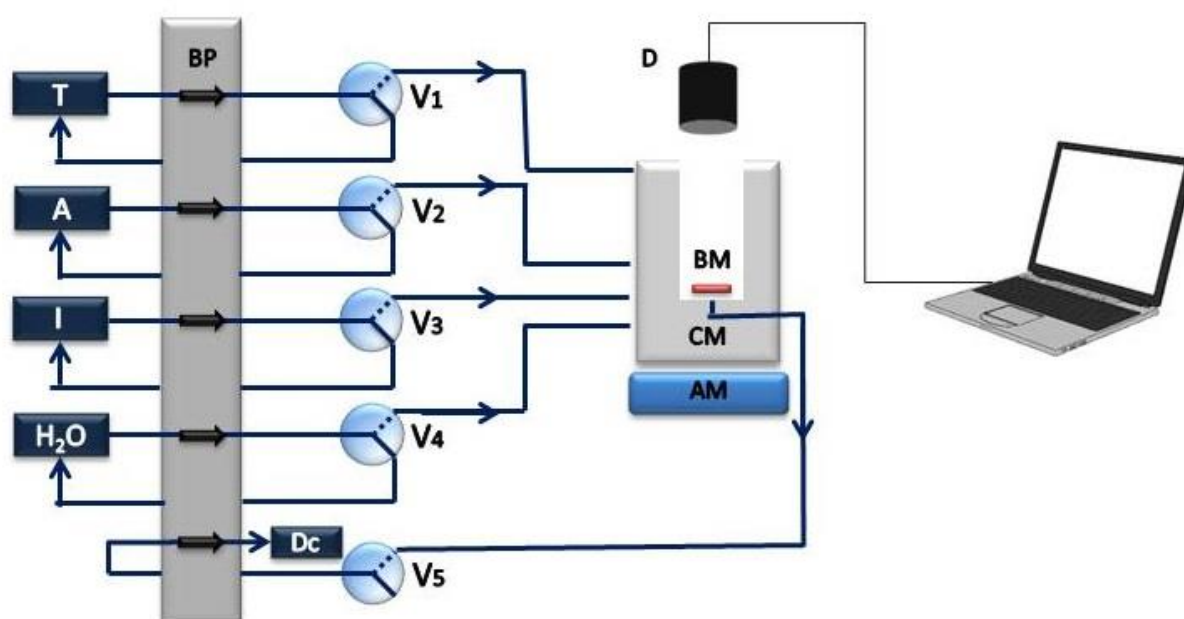
### **2.3.2. Método de Referência para determinação de Alcalinidade Total**

O procedimento de análise das amostras pelo método de referência para determinação da alcalinidade total em águas foi realizado de acordo com Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater <sup>[55]</sup>, método titulométrico com ácido sulfúrico, presente na seção 2310B, p. 2-27, e descrito na seção 1.3.4.2.2.1 desta dissertação.

## 2.4. Análises da Dureza Total e Alcalinidade Total em Águas Minerais

A dureza total e a alcalinidade total são parâmetros de grande importância no controle de qualidade de águas naturais, como discutido nas Seções 1.3.4.1 e 1.3.4.2. Neste trabalho, o FBT-DM foi usado na determinação tanto do teor de dureza total como da alcalinidade total em amostras de águas minerais.

Para facilitar o entendimento destas análises, um diagrama simplificado deste titulador é mostrado na **Figura 2.10**.



**Figura: 2.10.** Diagrama Simplificado do Titulador FBT-DM (Notebook, AM = Agitador Magnético, CM = Câmara de Mistura, BM = Barra Magnética, D = Detector (*Webcam*),  $V_1$  = Válvula do titulante,  $V_2$  = Válvula da Amostra,  $V_3$  = Válvula do Indicador,  $V_4$  = Válvula da água de Limpeza,  $V_5$  = Válvula do Descarte, DP = Bomba Peristáltica).

As associações das válvulas solenoides do titulador FBT-DM com as soluções usadas na análise de dureza total e alcalinidade total de águas são:

### Dureza total

- $V_1$  - válvula solenoide para a solução titulante;
- $V_2$  - válvula solenoide para a amostra;
- $V_3$  - válvula solenoide para a mistura tampão-indicador;

- $V_4$  - válvula solenoide para a água;
- $V_5$  - válvula solenoide para direcionar o conteúdo da câmara FBT-DM para o descarte.

### **Alcalinidade total**

- $V_1$  - válvula solenoide para a solução titulante;
- $V_2$  - válvula solenoide para a amostra;
- $V_3$  - válvula solenoide para a solução do indicador;
- $V_4$  - válvula solenoide para a água;
- $V_5$  - válvula solenoide para direcionar o conteúdo da câmara FBT-DM para o descarte.

Como o procedimento analítico foram idênticos para as análises de dureza total e alcalinidade total, vamos fazer referências às soluções apenas pela numeração das válvulas solenoides.

As análises de dureza total e alcalinidade total compreendem as seguintes etapas:

- Determinação da razão entre as vazões dos canais da amostra e titulante;
- Preenchimento dos canais;
- Escolha da região para obtenção dos valores de RGB;
- Determinação Analítica;
- Limpeza da câmara FBT.

Antes de iniciar cada uma destas etapas, todas as soluções são bombeadas, para o enchimento dos canais e enquanto as válvulas estão fechadas as soluções ficam circulando entre seus recipientes e as válvulas. Após o término de cada uma das etapas é sempre realizada uma limpeza da câmara FBT-DM, usando o procedimento que será descrito na Seção 2.4.5.

Como o volume adicionado na câmara FBT é proporcional ao tempo de abertura das válvulas solenoides e varia de acordo com a vazão utilizada em cada canal, em todos os procedimentos descritos a seguir, usa-se sempre o termo tempo

em vez de volume de amostra, titulante, água, indicador ou da mistura tampão-indicador.

#### **2.4.1. Determinação da Razão entre as Vazões dos Canais da Amostra e Titulante (RV)**

Os tempos de acionamento das válvulas solenoides são proporcionais ao volume adicionado na câmara de mistura. Assim, um estudo preliminar de calibração de cada canal foi necessário para obter com precisão a medida dos volumes adicionados à câmara de mistura. A vazão em cada linha de fluxo foi determinada pelos volumes de água coletados e medidos em massa numa balança analítica (Scientech modelo SA210) segundo os tempos de abertura das válvulas de 1 a 10 segundos. O programa de gerenciamento do FBT-DM desenvolvido apresenta uma interface que possibilita que este procedimento seja realizado com maior facilidade. Na interface do programa é possível configurar o tempo de abertura e o acionamento de cada válvula isoladamente.

Nos cálculos das concentrações das amostras em termos da dureza total e alcalinidade total, o ajuste da equação foi realizado utilizando a razão entre as vazões (RV) dos canais do titulante ( $V_1$ ) e da amostra ( $V_2$ ), a fim de corrigir as diferenças de volumes adicionados pelo acionamento das válvulas  $V_1$  e  $V_2$ .

Este procedimento deve ser sempre refeito quando houver a troca dos tubos de bombeamento ou troca de alguma válvula solenoide.

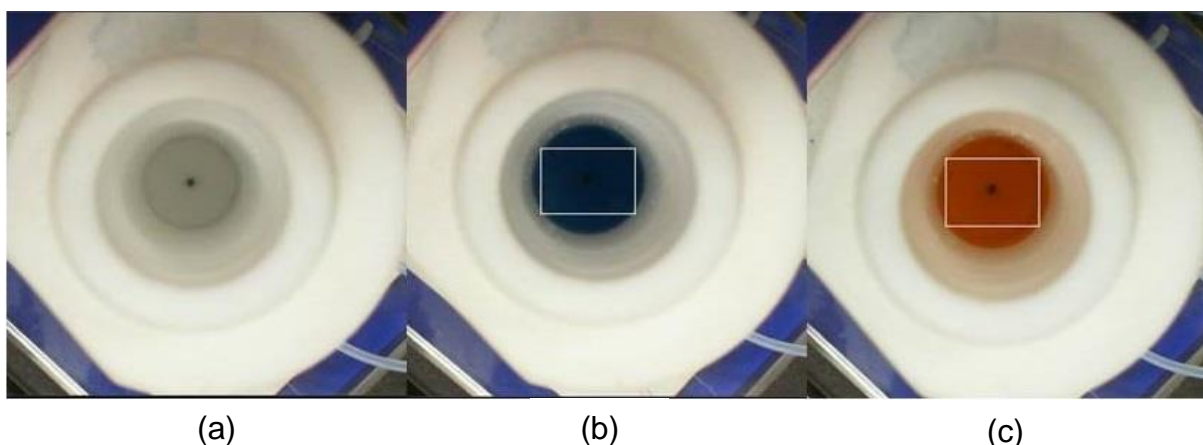
#### **2.4.2. Preenchimento dos Canais**

Antes de iniciar uma análise sempre é necessário preencher os canais entre as válvulas ( $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$ ) e a câmara FBT, com as soluções utilizadas na análise, conforme o seguinte procedimento: São acionadas simultaneamente as válvulas  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$  e suas soluções são bombeadas em direção à câmara FBT durante um intervalo de tempo de 5 segundos. Em seguida, é feita a etapa de limpeza da câmara FBT.

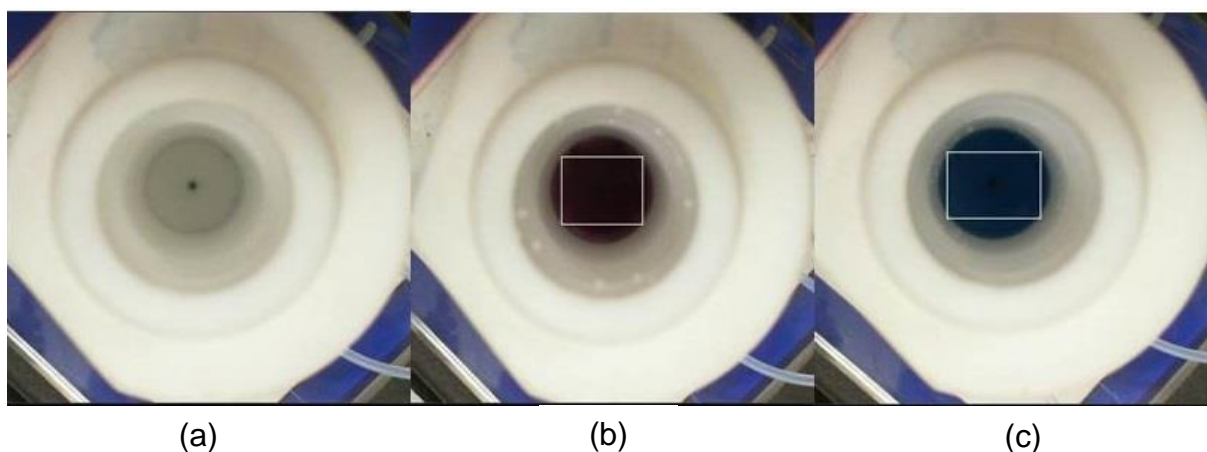
Deve-se repetir o preenchimento dos canais sempre que uma nova amostra for analisada ou quando o titulante, indicador ou a mistura tampão-indicador ou a água forem trocados.

### 2.4.3. Escolha da região para obtenção dos valores de RGB

A fim de selecionar a área para obtenção e tratamento dos dados (**figura 2.11a e 2.12a**), o usuário seleciona uma região de interesse (RI), usando o mouse através do software de controle (**Figura 2.11b e 2.12b**). Depois disso, o software automaticamente usa as mesmas coordenadas da região delimitada para todos os frames do filme digital decomposto (**Figura 2.11c e 2.12c**).



**Figura 2.11.** Imagem obtidas pela *webcam* do sistema reacional de alcalinidade total. (a) Após a adição da amostra, (b) Escolha da região onde serão monitorados os pixels e (c) comparação com o filme decomposto.



**Figura 2.12.** Imagem obtidas pela *webcam* do sistema reacional de dureza total. (a) Após a adição da amostra, (b) Escolha da região onde serão monitorados os pixels e (c) comparação com o filme decomposto.

A escolha da RI para obtenção dos valores de RGB é realizada conforme o seguinte procedimento: volumes das soluções são adicionados à câmara FBT

acionando as válvulas solenoides  $V_2$  (Amostra) e  $V_3$  (Indicador) durante 10s, 0,5s, respectivamente. Após homogeneização e reação, o software permite delimitar uma região de área quadrada ou retangular, onde serão calculados e armazenados os valores de R, G e B.

#### 2.4.4. Determinação Analítica

Após a escolha da RI, a válvula do titulante,  $V_1$ , é acionada por 5s, permitindo o bombeamento da solução titulante para a câmara FBT, concomitantemente, a captura de vídeo é iniciada. O agitador magnético fica ligado para garantir uma homogeneização rápida e constante. No ponto final, a mudança abrupta da cor da solução monitorada e os valores de RGB obtidos na análise são armazenados no computador.

##### 2.4.4.1. Cálculo da Dureza Total

Para a determinação da dureza total usando o FBT-DM, foi aplicada a **Equação 2.2**, onde se utiliza o tempo de abertura da válvula solenoide da amostra, tempo de abertura da válvula solenoide do titulante, encontrado através do cálculo da correlação de Pearson e descrito na seção 2.5 e a razão das vazões dos canais (RV), segundo procedimento descrito por Lima e colaboradores <sup>[11]</sup>.

$$Dureza\ total(mg\ CaCO_3\ L^{-1}) = \frac{10^3(mg\ g^{-1}) \cdot MM_{CaCO_3}(g\ mol^{-1}) \cdot M_{EDTA}(mol\ L^{-1}) \cdot t_{EDTA}(s) \cdot RV}{t_{amostra}(s)} \quad (2.2)$$

Os fatores dessa equação são:

- $10^3 (mg.g^{-1})$  = valor de correção de unidade;
- $MM_{CaCO_3} (g\ mol^{-1})$  = Massa molar do carbonato de cálcio;
- $M_{EDTA} (mol\ L^{-1})$  = Concentração do Titulante (EDTA);
- $t_{EDTA}$  = tempo de abertura da válvula solenoide do Titulante (EDTA), encontrado através do cálculo da correlação de Pearson;
- $t_{amostra}$  = tempo de abertura da válvula solenoide da amostra;
- RV = Razão entre as vazões dos canais titulante e amostra.

#### 2.4.4.2. Cálculo da Alcalinidade Total

Para a determinação da alcalinidade total usando o FBT-DM, foi aplicada a **Equação 2.3**, onde se utiliza o tempo de abertura da válvula solenoide da amostra, tempo de abertura da válvula solenoide do titulante e a razão das vazões dos canais (RV), segundo procedimento descrito por Lima e colaboradores <sup>[11]</sup>.

$$\text{Alcalinidade Total (mg CaCO}_3\text{ L}^{-1}) = \frac{M_{\text{H}_2\text{SO}_4}(\text{mol L}^{-1}) \cdot t_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot 50000 \cdot RV}{t_{\text{amostra}}} \quad (2.3)$$

Os fatores desta equação são:

- $t_{\text{H}_2\text{SO}_4}$  = tempo de abertura da válvula solenoide do Titulante (EDTA);
- $t_{\text{amostra}}$  = tempo de abertura da válvula solenoide da amostra;
- $M_{\text{H}_2\text{SO}_4}$  (mol L<sup>-1</sup>) = Concentração do Titulante (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>);
- 50000 = Fator de correção;
- RV = Razão entre as vazões dos canais titulante e amostra.

#### 2.4.5. Limpeza da Câmara FBT

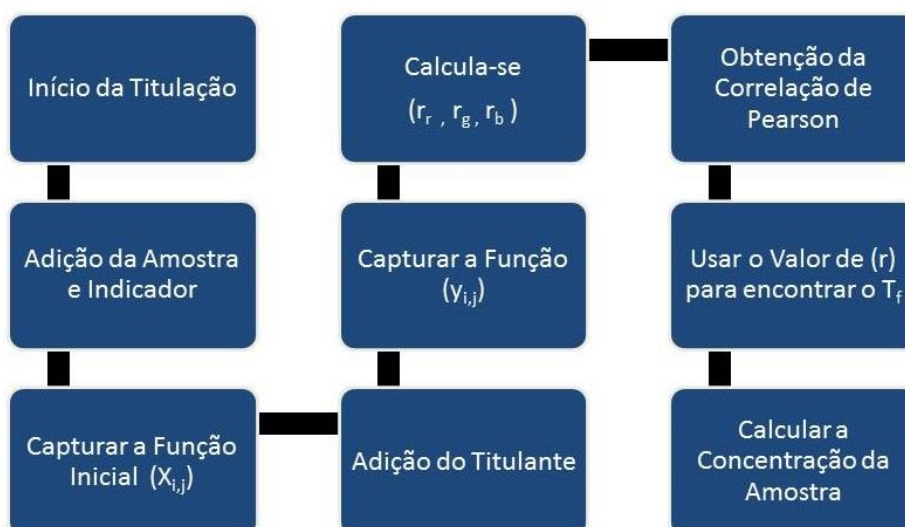
Sempre que a câmara FBT foi utilizada nos procedimento analítico, efetuou a limpeza do seu conteúdo. Para isso, foi realizado o seguinte procedimento: A válvula V<sub>5</sub> é acionada durante 12s, tempo necessário para aspirar todo volume presente na FBT para descarte. Em seguida, a válvula V<sub>4</sub> é acionada e a água destilada é bombeada para dentro da câmara FBT durante 10s, para limpeza das paredes da câmara. Logo em seguida, V<sub>5</sub> é acionada novamente e o conteúdo da câmara FBT é drenado para o descarte durante 12s.

Verificou-se neste trabalho que uma única etapa de limpeza é suficiente, pois não foi observada mudança significativa nos resultados utilizando mais etapas de limpeza, indicando que não houve inter-contaminação após a análise de várias amostras. Entretanto, caso este problema ocorra, recomenda-se que a etapa de limpeza seja realizada em triplicata.

## 2.5. Cálculo do tempo do titulante com base na Correlação de Pearson

O método proposto aplica a correlação de Pearson para determinar o ponto final da titulação, segundo a equação 1.6 presente na seção 1.3.3. Como mencionado, o cálculo do valor do coeficiente de correlação de Pearson mede o grau de correlação entre dois conjuntos de variáveis, nesse caso os parâmetros de cor oriundos de imagens obtidas na câmara FBT.

Os valores do coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) estão relacionados com a variação entre os parâmetros de cor da imagem obtida apenas na presença da amostra e do indicador, com os valores oriundos das imagens obtidas ao longo dos incrementos do titulante um fluxograma para obtenção do ( $r$ ) pode ser observado na **Figura 2.13**. Os valores iniciais do coeficiente de correlação de Pearson, obtidos quando praticamente não há mudança perceptível nos parâmetros de cor (antes do ponto final de titulação), apresentam valores próximos a 1, indicando assim correlação máxima. Com o decorrer da titulação e próximo ao ponto final, começa a ocorrer a mudança na cor da solução, fazendo com que os parâmetros de cor das imagens se diferenciam dos obtidos no início da análise. Sendo assim, os valores do coeficiente de correlação de Pearson decaem a valores em torno de 0, Após obter todos os valores de  $r$  da titulação, um gráfico de  $r$  versus tempo de adição do titulante é construído, e o tempo gasto na abertura da válvula do titulante no ponto final de titulação (proporcional ao volume de titulante no ponto final) é encontrado através do método matemático da segunda derivada, que será discutido na seção 3.4.



**Figura 2.13.** Fluxograma simplificado para o cálculo do ( $r$ ).



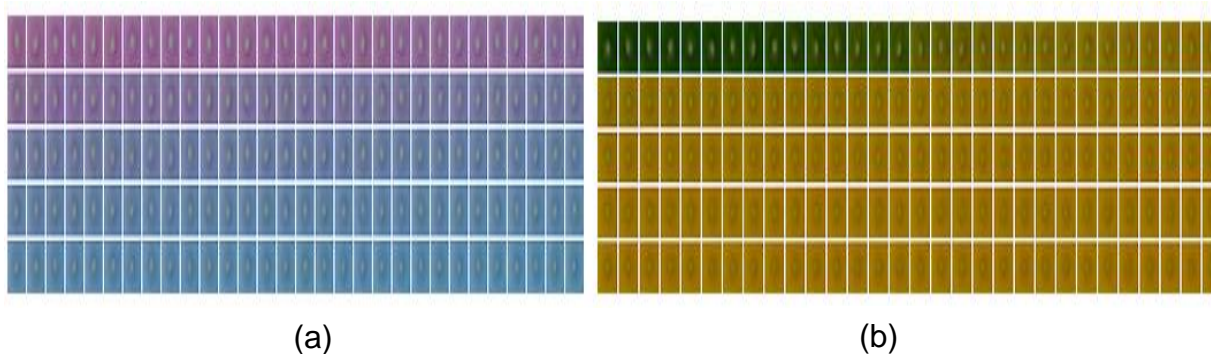
## 2.6. Desenvolvimento do Software para controle das Válvulas

O programa utilizado para o gerenciamento do sistema automático de análise em fluxo-batelada FBT-DM foi escrito na plataforma Adobe AIR for Desktop, programado em ActionScript 3.0, ilustrado na **Figura 2.14**.



**Figura 2.14.** A janela principal do programa de controle desenvolvido.

Com o programa desenvolvido é possível obter, a partir da *webcam* os dados analíticos através de uma série de imagens digitais, 30 frames/segundo, a matriz obtida pode ser observada na **Figura 2.15**, O que constitui um vídeo digital.



**Figura 2.15.** Matriz de frames por segundos. (a) dureza total e (b) alcalinidade total respectivamente.

O programa para gerenciamento de controle proposto apresenta as seguintes funções:

- **Controle do tempo de acionamento das válvulas solenoides** – Os tempos definidos para cada etapa foram estabelecidos na escala de milissegundos. Esses valores de tempo possibilitam a entrada precisa dos volumes das amostras, reagentes e indicadores na câmara de mistura.
- **Leitura do sinal analítico** – O programa permite o monitoramento do sinal proveniente do sistema de detecção, com uma *webcam*, o qual relaciona os valores de cor RGB como a correlação de Pearson.
- **Procedimentos analíticos** – O programa permite executar as operações necessárias para o procedimento analítico, onde é possível selecionar o número de replicadas, limpeza e o tempo de agitação.

## 2.7. Avaliação do Sistema

O sistema foi avaliado em termos de precisão e exatidão, onde a precisão é a concordância entre os valores experimentais obtidos para repetidas análises de uma mesma amostra, a exatidão reflete a proximidade entre o valor medido e um valor de referência considerando verdadeiro, e relaciona-se com o erro relativo de uma medida. Também foi aplicado o teste t pareado, para verificar se não existe diferença sistemática estatisticamente entre o método proposto e método de referência.

# Capítulo 3

## Resultados e Discussão

---

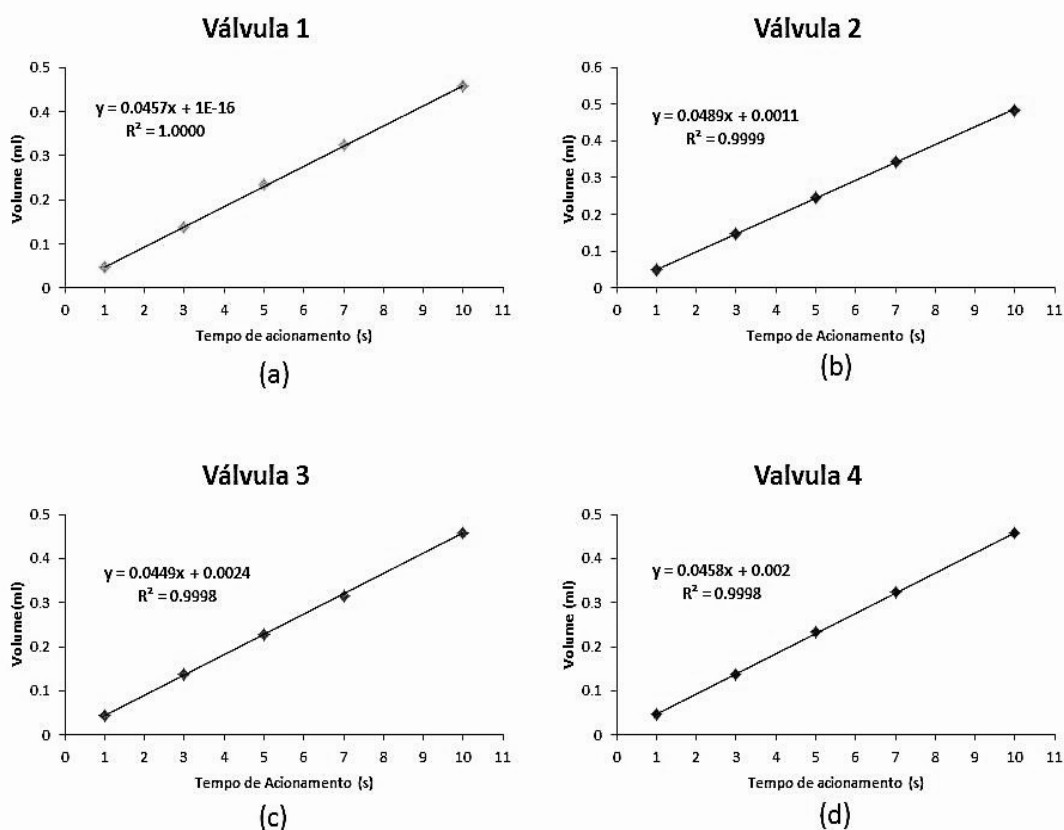


### 3. Resultados e discussão

#### 3.1. Estudo da vazão das Válvulas Solenoides

O estudo da precisão das válvulas solenoides consistiu na medição das massas de água obtidas pela abertura de cada válvula individualmente, nos tempos de 1, 3, 5, 7 e 10 segundos. Para cada tempo de abertura foram efetuadas 10 medidas de massa de água (aproximadamente 25°C) numa balança analítica (Scientech modelo SA210) em uma rotação de 30 rpm da bomba peristáltica.

A estimativa dos volumes foi feita pela relação entre o tempo de abertura da válvula e o volume desejado para cada válvula solenoide, tomando como base a densidade da água a 25 °C. A **Figura 3.1** mostram as curvas de calibração das válvulas solenoides nos tempos de 1, 3, 5, 7 e 10 segundos.



**Figura 3.1.** Curvas de calibração referentes à Precisão das válvulas solenoide (a) Curva da válvula do titulante, vazão de 0,046 ml.s<sup>-1</sup>, (b) Curva da válvula da amostra, vazão de 0,049 ml.s<sup>-1</sup>, (c) Curva da válvula do Indicador/Tampão, vazão de 0,045 ml.s<sup>-1</sup> e (d) Curva da válvula da água de limpeza, vazão de 0,046 ml.s<sup>-1</sup>.

A partir do descrito, todos os volumes mencionados nos procedimentos de análise foram estabelecidos mediante estudo das vazões e tempos de acionamento das válvulas solenoides.

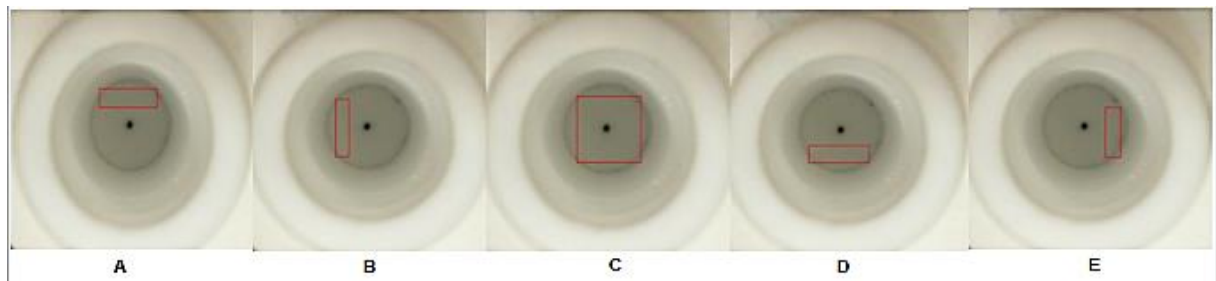
### 3.2. Avaliação e Otimização dos parâmetros físicos do sistema

Para uma melhor aquisição dos resultados, foram estudados alguns dos parâmetros do sistema, tais com:

1. Tamanho e localização da janela de medida da região de interesse - RI;
2. Rotação da bomba peristáltica;
3. Tempo de acionamento da válvula solenoide da amostra.

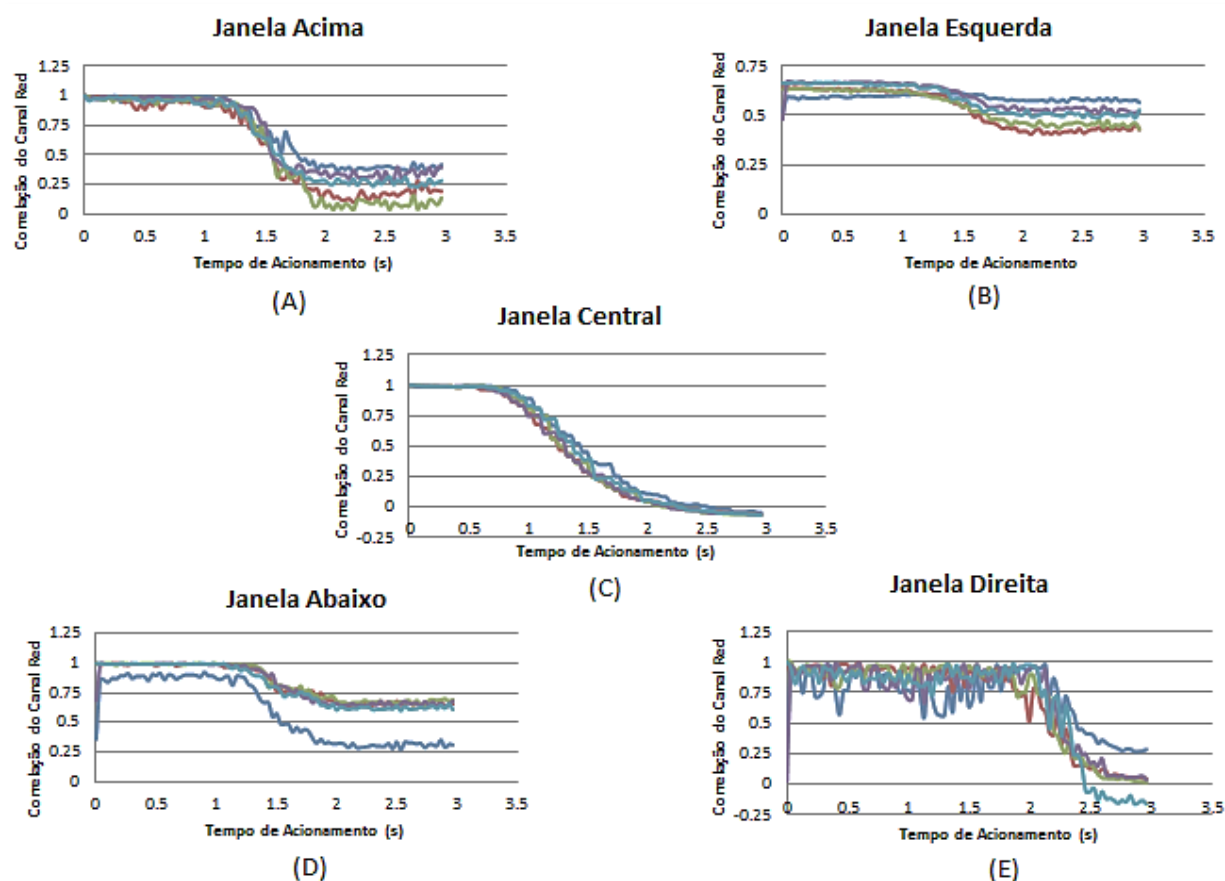
#### 3.2.1. Localização e Tamanho da Janela

Foram estudadas cinco localizações das janelas para captura da imagem digital, conforme a **Figura 3.2**.



**Figura 3.2.** Localizações das janelas que foram usadas para captura das imagens. (a) Janela Acima com orientação espacial (X,Y) de 257x106. (b) Janela Esquerda com orientação espacial (X,Y) de 252x111. (c) Janela Central com orientação espacial (X,Y) de 253x107. (d) Janela Abaixo com orientação espacial (X,Y) de 257x114. (e) Janela Direita com orientação espacial (X,Y) de 253x114.

Para este procedimento, foram feitas 5 medidas em para cada janela, mantendo constante os outros fatores físicos do sistema como o tempo de acionamento, canal RGB e rotação da bomba de 30 rpm. Os dados presentes na **Figura 3.3** são da análise de dureza total em águas da torneira que são correspondentes as localizações e tamanhos.



**Figura 3.3.** Análise teste para a escolha do tamanho das janelas correspondente a localização. (a) curva de titulação para a janela na posição acima com coordenadas de 16x42 pixels. (b) curva de titulação para janela na posição esquerda com coordenadas de 43x13 pixels. (c) curva de titulação para janela na posição central com coordenadas 48x50 pixels. (d) curva da titulação para janela na posição abaixo com coordenadas de 16x42 pixel. (e) curva da titulação para janela na posição na direita com coordenadas de 43x13 pixels.

Para a escolha da janela de trabalho, foi levado em consideração:

- A reprodutibilidade da medida;
- Menor ruído associado à curva sigmoide.

Mediante a análise dos gráficos, foi escolhida a janela central que obteve melhor desempenho. Essa área (tamanho de 48 x 50 pixels e orientação 253x107) será usada para os demais procedimentos. É importante relatar que para as outras

janelas, foi percebido ruído causado principalmente pela influência da barra magnética, bem como pelo o efeito do vórtice na mudança de cor.

### 3.2.2. Rotação da Bomba Peristáltica

Foram investigadas três rotações para a bomba peristáltica, 30, 35 e 40 rotações por minuto (rpm) com os tempos da abertura das válvulas de 1, 3, 5, 7 e 10 segundos, para cada uma das válvulas solenoides, onde foram avaliados a reprodutibilidade da massa de água inserida numa balança analítica (Scientech modelo SA210). Com os valores obtidos, foram calculados a média e o desvio-padrão referente a cada rotação da bomba peristáltica e com isso foi possível estimar a precisão dos volumes inseridos.

**Tabela 3.1.** Valores do desvio padrão e do desvio padrão relativo obtidos para válvula 1 nas três diferentes rotações da bomba peristáltica.

Válvula 1		1s	3s	5s	7s	10s	R <sup>2</sup>
30 rpm	Des. Pad.	0,00120	0,00257	0,00741	0,00603	0,00727	1,0000
	DPR%	0,048	1,144	1,140	1,834	1,550	
35 rpm	Des. Pad.	0,00908	0,01734	0,00926	0,03901	0,04938	0,9993
	DPR%	2,237	3,249	1,841	4,071	6,283	
40 rpm	Des. Pad.	0,01307	0,00938	0,08464	0,05065	0,04018	0,9991
	DPR%	3,010	2,837	7,457	6,675	4,560	

**Tabela 3.2.** Valores do desvio padrão e do desvio padrão relativo obtidos para válvula 2 nas três diferentes rotações da bomba peristáltica.

Válvula 2		1s	3s	5s	7s	10s	R <sup>2</sup>
30 rpm	Des. Pad.	0,00180	0,00143	0,00157	0,00141	0,00109	0,9999
	DPR%	1,387	0,303	1,158	1,113	1,140	
35 rpm	Des. Pad.	0,00297	0,00420	0,00214	0,00278	0,00244	0,9998
	DPR%	2,840	1,977	2,051	1,228	1,171	
40 rpm	Des. Pad.	0,00321	0,00586	0,00688	0,00852	0,00140	0,9998
	DPR%	2,083	1,841	1,318	1,146	1,312	

**Tabela 3.3.** Valores do desvio padrão e do desvio padrão relativo obtidos para válvula 3 nas três diferentes rotações da bomba peristáltica.

<b>Válvula 3</b>		<b>1s</b>	<b>3s</b>	<b>5s</b>	<b>7s</b>	<b>10s</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>30 rpm</b>	Des. Pad.	0,00108	0,00131	0,00167	0,00205	0,00206	0,9998
	DPR%	1,350	2,172	1,612	0,649	1,642	
<b>35 rpm</b>	Des. Pad.	0,00924	0,00183	0,00989	0,00429	0,00934	0,9993
	DPR%	2,192	3,784	6,511	2,411	5,530	
<b>40 rpm</b>	Des. Pad.	0,01088	0,00787	0,00963	0,00449	0,00529	0,9995
	DPR%	4,650	2,823	3,620	2,539	2,262	

**Tabela 3.4.** Valores do desvio padrão e do desvio padrão relativo obtidos para válvula 4 nas três diferentes rotações da bomba peristáltica.

<b>Válvula 4</b>		<b>1s</b>	<b>3s</b>	<b>5s</b>	<b>7s</b>	<b>10s</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>30 rpm</b>	Des. Pad.	0,00233	0,00115	0,00925	0,00163	0,00301	0,9998
	DPR%	1,043	1,159	1,962	1,043	1,586	
<b>35 rpm</b>	Des. Pad.	0,00846	0,00824	0,00199	0,03229	0,05734	0,9992
	DPR%	1,098	2,193	2,211	6,411	7,530	
<b>40 rpm</b>	Des. Pad.	0,00279	0,00603	0,00527	0,00676	0,00997	0,9996
	DPR%	1,868	2,112	2,672	3,608	2,182	

A partir dos resultados obtidos pelo estudo para a rotação da bomba peristáltica foi constatado que a velocidade de 30 rpm apresentou os menores desvios padrão relativo. Com isso, foi adotada esta rotação para inserção dos volumes de amostra e reagentes na câmara FBT.

Como resultado do estudo foi possível obter um consumo mínimo de reagentes e amostras, como também uma velocidade analítica adequada e precisão dos volumes introduzidos na câmara FBT.



### 3.2.3. Tempo de acionamento da válvula da amostra

O estudo do tempo de acionamento da válvula da amostra foi realizado tanto para obtenção de uma melhor leitura do sinal analítico, quanto para o mínimo consumo da amostra.

O procedimento para a avaliação desse parâmetro foi realizado de forma univariada, ou seja, fazendo-se variar apenas os valores de abertura de tempo de acionamento da válvula da amostra, mantendo os valores das outras válvulas constantes.

Para obtenção dos dados apresentados na **Tabela 3.5**, foi comparado o valor obtido da análise referência para dureza total em água da torneira em relação aos da análise do FBA-DM com diferentes tempos de acionamento 5, 10 e 15 segundos, o estudo foi realizado em triplicata para cada tempo de acionamento.

**Tabela 3.5.** Valores obtido para análise de dureza total (mg de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) para amostras de água de torneira comparado com os tempos de acionamento.

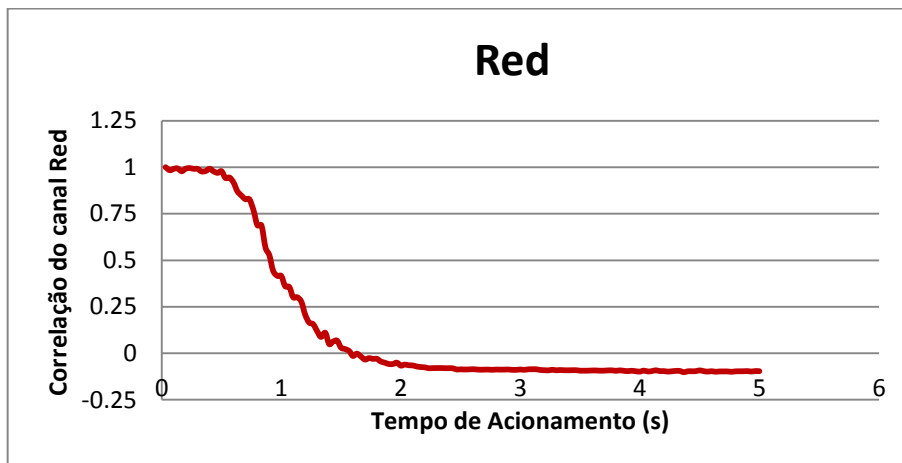
Análises	Teste 5s	Teste 10s	Teste 15s
Teste 1	169,04	161,18	167,07
Teste 2	168,06	164,12	158,22
Teste 3	171	159,21	162,21
Média	169,04	161,18	162,21
Referencia	160,14	160,14	160,14
Erro relativo	5,558	0,649	1,293
Desvio padrão	1,497	2,471	4,432

A partir dos resultados expostos notou-se que o valor obtido para o teste no tempo de 10 segundos apresentou um menor valor do erro relativo. Diante disso, todas as medidas foram realizadas usando o tempo de 10 segundos para o acionamento da válvula da amostra.

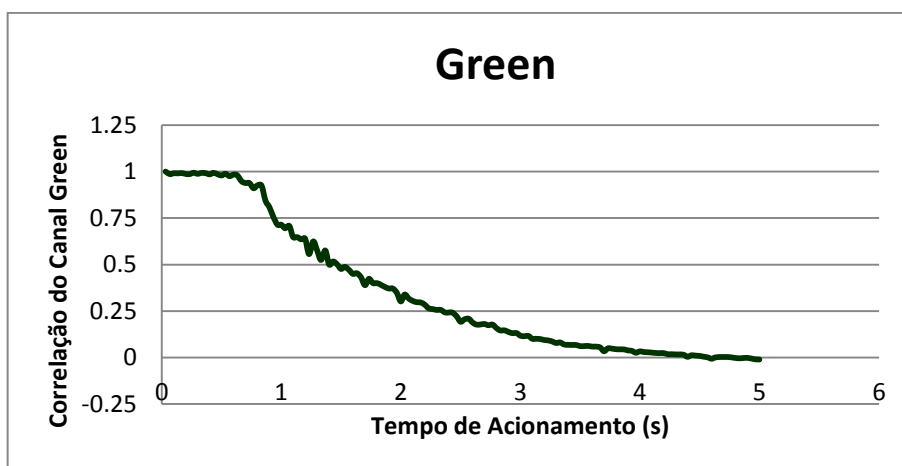
### 3.3. Monitoramento da Filmagem e Escolha da componente de cor

Após a obtenção do filme digital, ele é decomposto em histogramas, onde são analisados todos os pixels individualmente da imagem, e o software de controle calcula para a RI os valores de R, G e B, a partir da equação 1.6 presente na seção

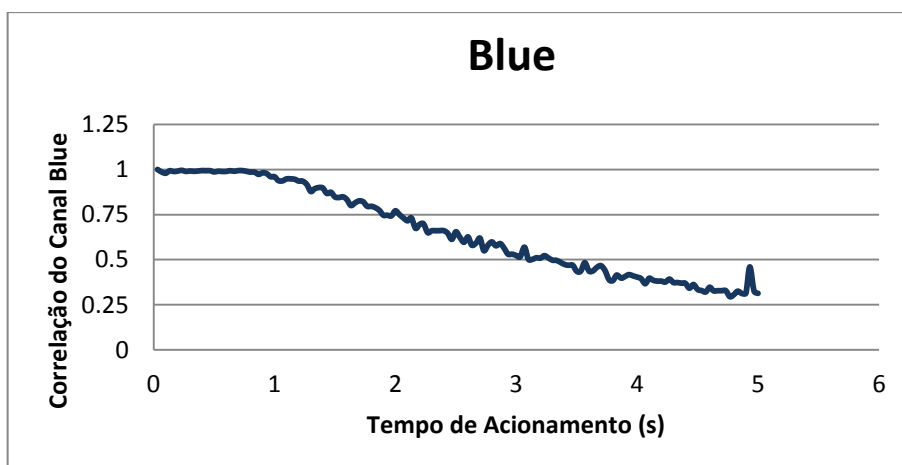
1.3.3. Para exemplificar, abaixo é mostrado o gráfico obtido para: O canal R (**Figura 3.4**), para o canal G (**Figura 3.5**) e para o canal B (**Figura 3.6**).



**Figura 3.4.** Curva de titulação observada pelo o canal R para a análise de dureza total



**Figura 3.5.** Curva de titulação observada pelo o canal G para a análise de dureza total



**Figura 3.6.** Curva de titulação observada pelo o canal B para a análise de dureza total

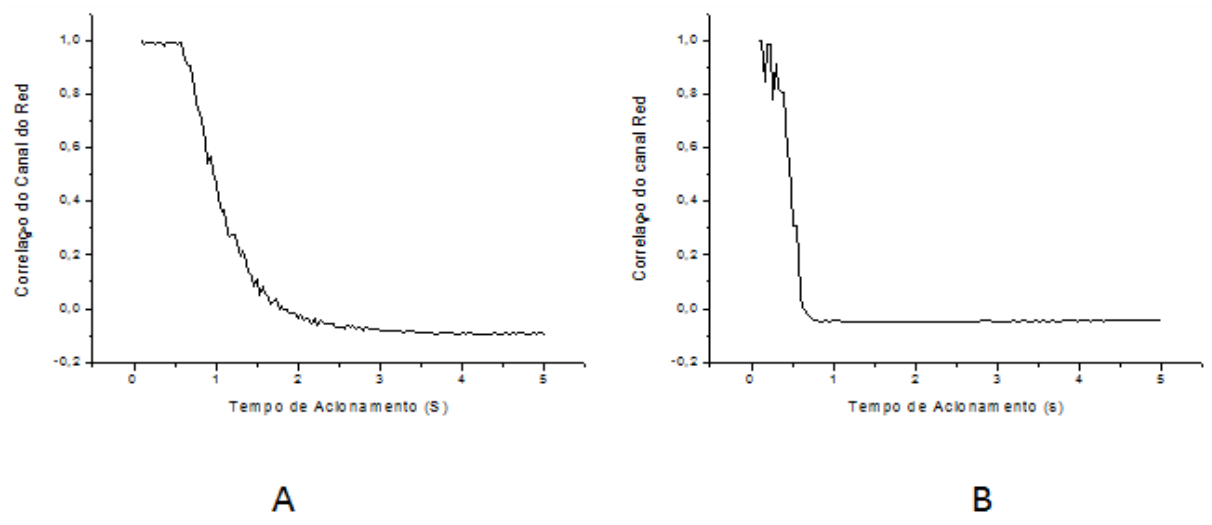
Conforme observado nas figuras acima para os canais R, G e B, mostraram diferentes correlações, ou seja, suas contribuições para análise são diferentes. Com isso, foi estudado o melhor canal para a captura da filmagem, comparou os gráficos obtidos de cada componente de cor, onde foram analisadas as seguintes questões:

- **Queda acentuada do sinal**, a relação aos pontos inicial e final da titulação, deve ter valores bem diferentes, que com isso determine com maior clareza o ponto final da titulação.
- **Menor Ruído**, a relação sinal ruído, deve ser maior possível, pois a presença dos mesmos pode implicar na determinação errônea do ponto de equivalência, pois, apontam para um pseudo ponto final da titulação.

A partir dos resultados expostos, o componente **R** foi escolhido, pois apresentou as características mais semelhantes a uma curva de titulação. Esse canal também foi o utilizado na análise de alcalinidade total.

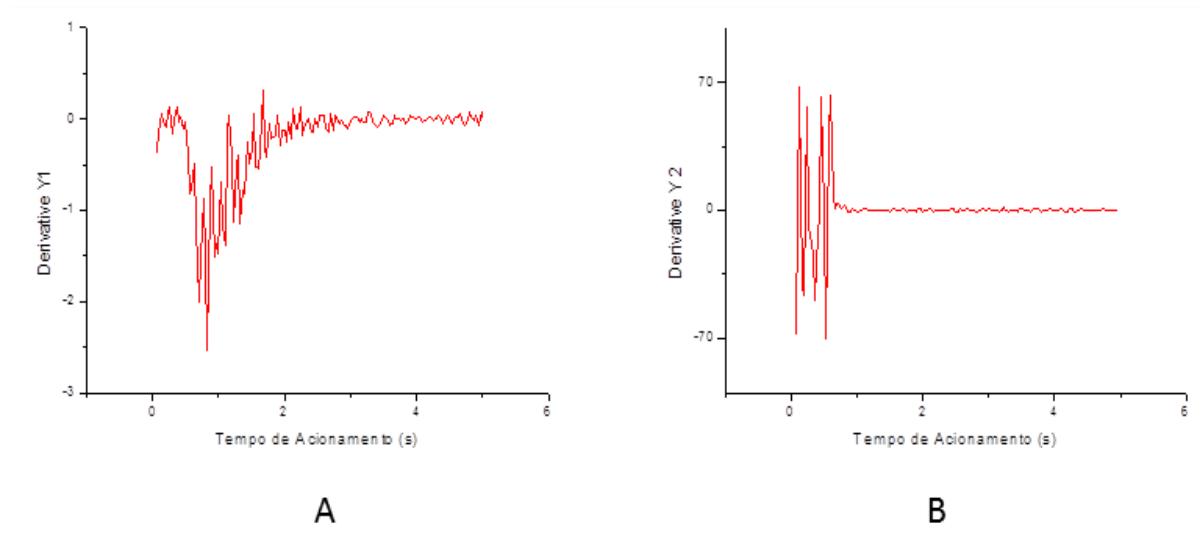
### 3.4. Curvas das Titulações de Dureza Total e Alcalinidade Total

Foram realizadas 10 medidas para cada fonte de água mineral analisada. Deve-se ressaltar que para alcalinidade foi analisado tanto alcalinidade à fenolftaleína como alcalinidade total, porém as amostras não apresentaram alcalinidade à fenolftaleína. Os resultados obtidos para dados brutos de dureza total e alcalinidade total estão representados nas **Figuras 3.7**.

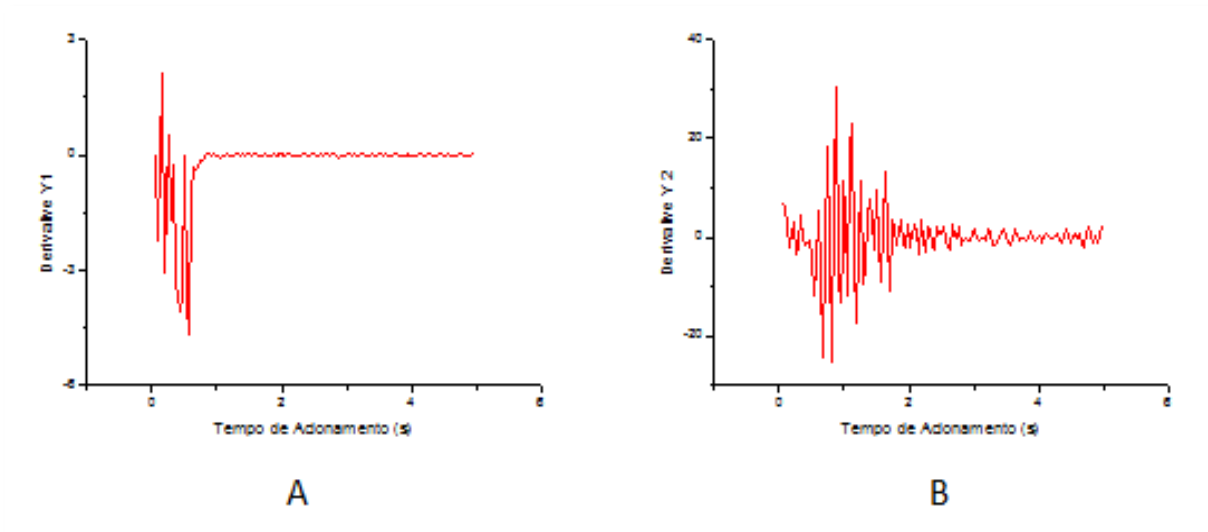


**Figura 3.7.** Curvas sigmóides para os dados brutos da análise. **(a)** dureza total **(b)** alcalinidade total.

Torrês <sup>[13]</sup> recomenda o uso dos modelos matemáticos de primeira derivada e segunda derivada para determinação do ponto final. Abaixo estão representados a primeira e segunda derivadas para titulação dos dados brutos da análise de dureza total na **Figura 3.8** e na **Figura 3.9** o da alcalinidade total.



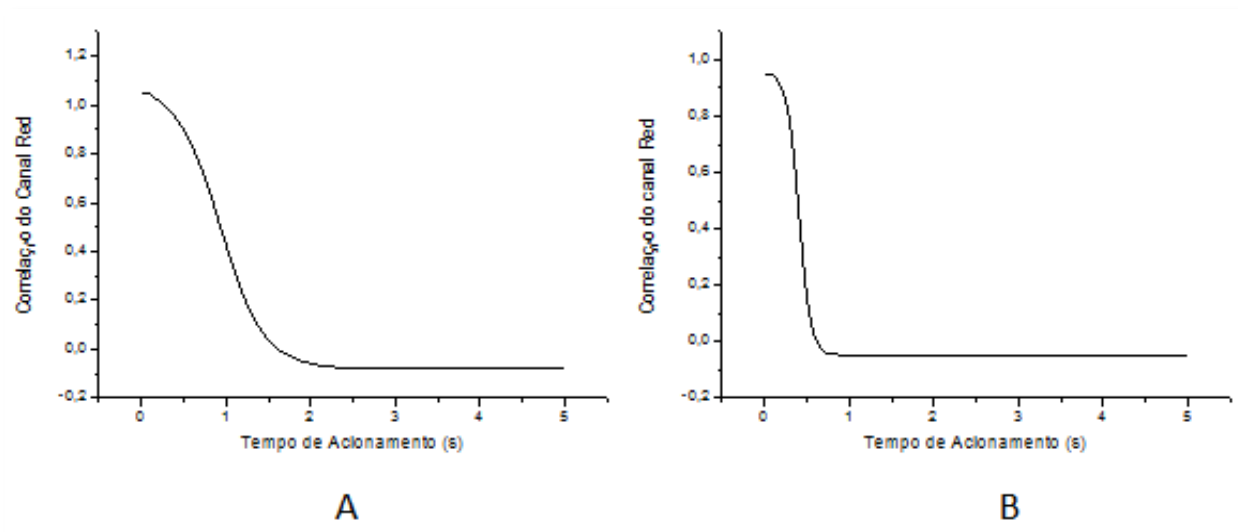
**Figuras 3.8.** Curva para análise de dureza para os dados brutos. **(a)** primeira derivada e **(b)** segunda derivada



**Figuras 3.9.** Curva para análise de alcalinidade total para os dados brutos. **(a)** primeira derivada e **(b)** segunda derivada

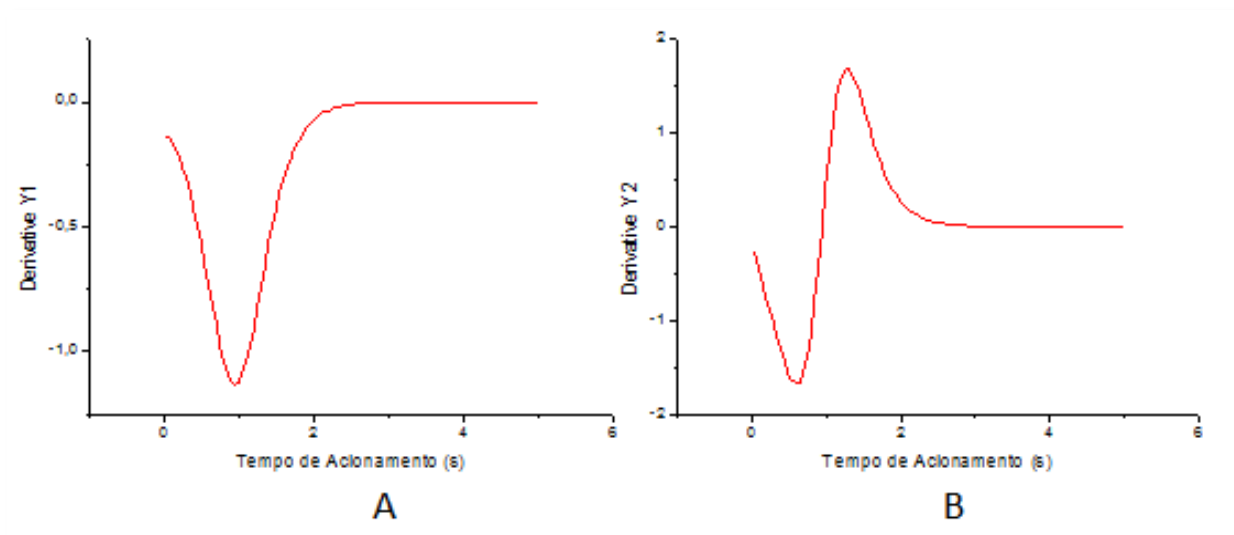
Como pode ser observado na **Figura 3.8** e **Figura 3.9**, o alto grau de ruído presente nos modelos matemáticos, dificultando a determinação do ponto final da titulação. Dessa forma, foi proposta a utilização de uma suavização para a curva sigmoide. Essa tem como função principal o ajuste dos pontos da curva sigmoide sem comprometer o resultado da análise.

Foram produzidos novos gráficos, que estão representados nas **Figuras 3.10**, para as análises de dureza total e alcalinidade total.

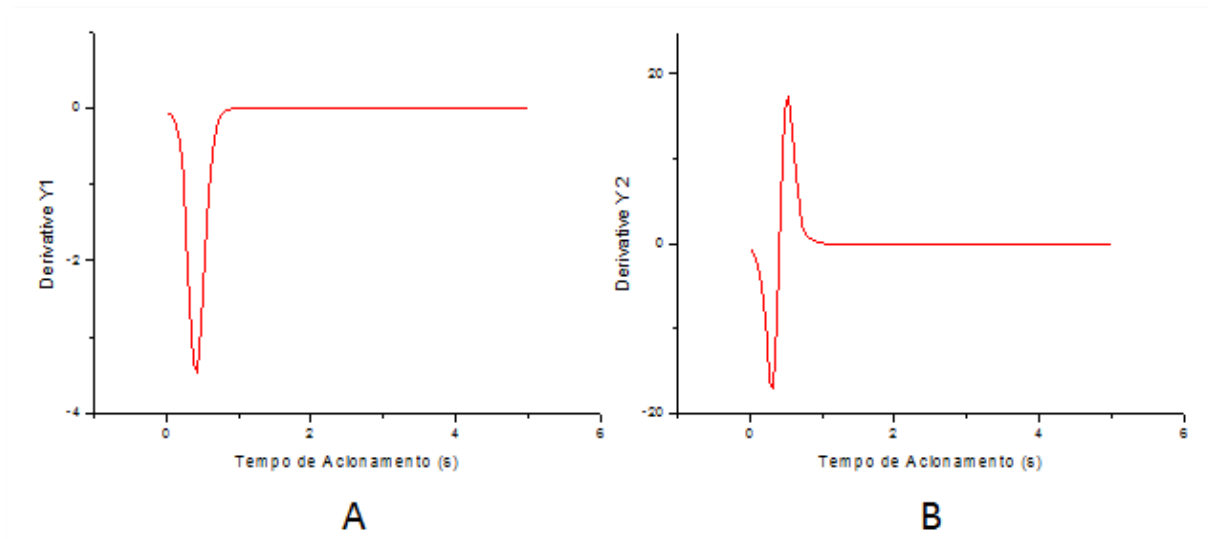


**Figuras 3.10.** Curvas sigmoides para os dados suavizados. **(a)** dureza total **(b)** alcalinidade total

Os mesmos procedimentos de primeira e segunda derivada, para determinação do ponto final da titulação das titulações foram empregados nos dados suavizados, conforme ilustrado na **Figura 3.11** e na **Figura 3.12**.



**Figuras 3.11.** Curvas da análise de dureza total para os dados suavizados. **(a)** primeira derivada e **(b)** segunda derivada.



**Figura 3.12.** Curvas da análise de alcalinidade total para os dados suavizados. **(a)** primeira derivada e **(b)** segunda derivada.

Os resultados obtidos com a suavização proporcionou uma melhor detecção do ponto final da titulação, pelo exame das curvas de primeira derivada e segunda derivada.

### 3.5. Avaliação do Desempenho Analítico

Com base no exposto nas seções anteriores a metodologia proposta é adequada para a análise das amostras de águas minerais. Os resultados obtidos para a dureza total e para a alcalinidade total encontram-se na Tabela 3.6 e 3.7, expressos em mg de  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , os quais são comparados ao método de referência.

Para obtenção dos resultados apresentados nas tabelas 3.6 e 3.7, foram realizadas 10 replicatas, para cada fonte de água mineral e foram utilizadas as médias dos valores obtidos para comparação com o método de referência.

**Tabela 3.6.** Resultados obtidos para determinação da dureza total em amostras de águas minerais ( $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) usando o FBT-DM ( $n = 10$ ) e pelo método de referência.

Fontes	Referência ( $\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ )	FBT - DM ( $\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ )	Erro Relativo (%)	Desvio Padrão Relativo (%)
Asa Branca	95,8	94,2	-1,63	0,87
Santa Maria	89,6	91,1	1,65	1,93
Santa Rita	97,8	98,2	0,44	2,26
São Bento	88,1	86,5	-1,82	1,93
São Jose	105,6	104,8	-0,74	1,32
São Judas	93,9	96,2	2,41	2,03
Villa	82,1	80,2	-2,28	2,37

**Tabela 3.7.** Resultados obtidos para determinação da alcalinidade total em amostras de águas minerais ( $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) usando o FBT-DM ( $n = 10$ ) e pelo método de referência.

Fontes	Referência ( $\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ )	FBT - DM ( $\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ )	Erro Relativo (%)	Desvio Padrão Relativo (%)
Asa Branca	46,26	46,72	1,00	1,32
Santa Maria	60,89	60,93	0,06	1,07
Santa Rita	47,67	48,23	1,16	0,18
São Bento	45,31	45,69	0,83	0,09
São Jose	70,81	71,13	0,47	0,01
São Judas	60,42	59,62	-1,32	0,06
Villa	54,75	53,96	-1,45	0,09

Ficou evidenciado pelos dados apresentados nas tabelas 3.6 e 3.7, que os procedimentos realizados no FBT-DM comparados com o método de referência, apresentaram desempenho similar em termos de precisão e exatidão. De fato, os valores do desvio padrão relativo (DPR %) que representa a precisão do sistema, mantiveram-se inferior a 2,4% para dureza total e inferior a 1,4% para alcalinidade total. Quanto à exatidão, que é representada pelo o erro relativo do sistema proposto, os resultados mostraram-se adequados nas análises de todas as fontes, com erros relativos médios inferiores a 2,5% e 1,5% para dureza e alcalinidade total respectivamente. Quando aplicado o teste t pareado as amostras não apresentaram diferenças estatisticamente significativas a um nível de 95% de confiança.

O tempo de análise de cada amostra foi estimado em 50,5s tanto para dureza total quanto para alcalinidade total, o que permitiu realizar em torno de 71 análises por hora. O consumo de amostra e reagente combinados em cada análise ficaram em torno de 0,48 ml e 0,71 ml respectivamente.



# Capítulo 4

## Considerações Finais

---



#### 4. Considerações finais

---

Neste trabalho de pesquisa em análise em fluxo e automação analítica, foi desenvolvido um titulador em fluxo-batelada com detecção a base de filmagem digital e correlação de Pearson para a determinação de dureza total e alcalinidade total em águas minerais.

O ponto principal do trabalho foi o desenvolvimento de uma nova estratégia de baixo custo, flexível e versátil, para a determinação automática e rápida do ponto final de titulação empregando um titulador em fluxo-batelada. Nesta estratégia, a detecção do ponto final de titulação é realizada através da correlação estatística das imagens obtidas a partir de um filme digital do sistema reacional usando uma *webcam* como dispositivo de detecção e um modelo matemático baseado na correlação de Pearson. Todos os valores de correlação de dados e volumes de titulante foram obtidos em tempo real.

O software desenvolvido para o controle, aquisição e tratamento tem como principal característica de ser totalmente interativo com o usuário, dando todas as opções de interatividade da análise, como por exemplo, o controle dos tempos de acionamento das válvulas solenoides, em um único painel frontal. O software permite ao usuário a escolha da região de interesse apropriada para o tratamento dos dados através da decomposição do filme digital em uma série de imagens digitais, 30 frames/segundo.

Foram estudados os gráficos das titulações para os canais de cor R, G e B, calculados da RI, em função do tempo de abertura da válvula solenoide do titulante. Com base nestes gráficos, o canal de cor R foi escolhido por apresentar melhores resultados, com acentuada queda próximo ao ponto final e curvas com menor ruído. Com isso, o canal R foi usado para todas as titulações de dureza total e alcalinidade total.

Na determinação quantitativa da dureza total e da alcalinidade total em amostras de águas minerais, os resultados obtidos estiveram sempre em boa concordância com aqueles encontrados pelo método de referência, pois nenhuma diferença estatística foi observada, em nível de confiança de 95%, quando o teste t-emparelhado foi aplicado. Com o titulador FBT-DM, foi possível realizar 71 análises por hora para as duas análises, onde a análise de dureza total apresentou um desvio padrão relativo inferior a 2,4% e um erro relativo de 2,5%. Para análise de

alcalinidade total foi obtido um desvio padrão relativo de 1,4% e um erro relativo de 1,5%.

Com base nestas características, a metodologia proposta incorporada ao titulador FBT desenvolvido demonstra ser uma ferramenta bastante útil em laboratórios de análise de rotina que determinam os parâmetros de qualidade de águas minerais.

#### **4.1. Perspectivas**

Esta pesquisa tem como perspectivas a aplicação do titulador automático FBT-DM para determinações de análises empregando amostras de alimentos, bebidas e fármacos, com objetivo de facilitar os processos das análises e reduções dos custos operacionais.

Novas configurações aplicadas ao sistema automático em fluxo, com intuito de melhorar o desempenho analítico.

No campo da imagem, pretende-se explorar outros modelos de cores como HLS (*Hue, Lightness, Saturation*), HSI (*Hue, Saturation, Intensity*), entre outros com objetivo de ter um melhor acompanhamento das mudanças de cor do sistema.

# Capítulo 5

## Referencias

---



## 5. Referencias

---

1. ABDALLA, K. et al. Avaliação da dureza e das concentrações de cálcio e magnésio em águas subterrâneas da zona urbana e rural do município de Rosário - MA. In: XVI Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas e XVII Encontro Nacional de Perfuradores de Poços, São Luís - MA, **2009**.
2. BUZELLI, G. et al. Análise e diagnóstico da qualidade da água e estado trófico do reservatório de Barra Bonita-SP, ambi-agua, 1980-993, **2013**.
3. GASPAROTTO, F. Avaliação toxicológica da água de nascentes urbanas no município de Piracicaba - SP. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP, p. 89, **2011**.
4. PEREIRA, S. et al. Condições de Potabilidade da Água Consumida pela População de Abaetetuba-Pará, Revista de estudos ambientais (REA), v.12, 50-62, **2010**.
5. Departamento Nacional de Produção Mineral. (DNPM), Informações da Legislação, Portaria Nº 374, **2009**.
6. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). Resolução CONAMA número 357, Brasília, **2006**.
7. Legislação Citada Anexada pela Coordenação de Estudos Legislativos. (CEDI), Decreto-Lei Nº 7841, Código de Águas Minerais, **1945**.
8. BENNETT, W. et al. A colorimetric DET technique for the high-resolution measurement of two-dimensional alkalinity distributions in sediment porewaters, Chemosphere, v.119, 547-552, **2015**.
9. PEDROSA, A. et al. Pesquisa de fatores de virulência em *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas minerais naturais. Ambiente & Água – An Interdisciplinary Journal of Applied Science. V.9, n.2, 1980-993, **2014**.
10. FRANCO, S. Sistema alternativo de tratamento de água em escala descentralizada. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG, p. 99, **2015**.

11. LIMA, R. Um Analisador Fluxo-Batelada Multitarefa Para a Determinação de Parâmetros Físico-Químicos de Controle de Qualidade de Águas Naturais. 127p, Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, **2006**.
12. CRESTANI, T. Modificação na técnica para determinação de dureza total, cálcio e de magnésio em águas minerais. Trabalho de conclusão de Curso. Universidade La Salle. Canos – RS. p. 32. **2013**.
13. TÔRRES, A. Determinação da acidez total de vinhos tintos empregando titulações baseadas em imagens digitais, Dissertação de Mestrado, UFPB, João Pessoa-PB, **2010**.
14. ANDRADE, S. Um analisador fluxo-batelada baseado em imagem digital para determinação de Al(III) e Cr(VI) em águas, 87p, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, **2012**.
15. LIU, X. et al. An automated procedure for laboratory and shipboard spectrophotometric measurements of seawater alkalinity: Continuously monitored single- step acid additions, *Marine Chemistry*, v. 174, 141-146, **2015**.
16. BETZ, J.; NOLL, C. Total-Hardness Determination by Direct Colorimetric Titration, *Journal American Water Works Association*, v. 42, 49-56, **1950**.
17. GAIÃO, E. et al. Digital image-based titrations, *Anal. Chim. Acta*, v. 570, 283-290, **2006**.
18. LYRA, W. Espectrometria de emissão em chama baseada em imagens. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB 103p, **2009**.
19. LIMA, R. et al. Digital movie-based on automatic titrations. *Talanta*, v. 147, 226-232, **2016**.
20. ROCHA, F.; REIS, B.; ZAGATTO, E.; LIMA, J.; LAPA, R.; SANTOS, J.; Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends, *Analytica Chimica Acta*, v.468, n.1, p.119 - 131, **2002**.
21. GANZAROLLI, E.; LEHMKUHL, A.; QUEIRÓZ, R.; SOUZA, I. Titulador potenciométrico automatizado baseado em sistema de fluxo monossegmentado, *Química Nova*, v.22, p.53-57, **1999**.

22. ZAGATTO, E. et al. Information essential for characterizing a flow-based analytical system, *International Union of Pure and Applied Chemistry*, 74:585, **2002**.
23. HOLLER, F.; SKOOG, D.; CROUCH, S. *Princípios de análise instrumental*, 6ª ed., Porto Alegre, Bookman, **2009**.
24. KOLEV, S.; MCKELVIE, I. *Advances in flow injection analysis and related techniques*, 1ª ed., Hungary, Elsevier, **2008**.
25. ZAGATTO, E. et al. Mixing chambers in flow analysis: A review, *J. Anal. Chem.* 64:524, **2009**.
26. RAIMUNDO, I. *Construção de um espectrofotômetro multicanal e de um analisador automático de fluxo monossegmentado*, Tese de doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, **1995**.
27. SKEGGS, L. An Automatic method for colorimetric analysis, *American Journal of Clinical Pathology*, v. 28, p. 311, **1957**.
28. RUZICKA, J. *Flow Injection Analysis*, New York: John Wiley & Sons, **1988**.
29. PASQUINI, C.; OLIVEIRA, W. Monosegmented system for continuous flow analysis. spectrophotometric determination of chromium (vi), ammonia, and phosphorous, *Analytical Chemistry*, v.57, p.2575-2579, **1985**.
30. RUZICKA, J.; MARSHALL, G. Sequential Injection Analysis - A new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. *Anal. Chim. Acta*, 237:329, **1990**.
31. REIS, B.; GINÉ, M.; ZAGATTO, E.; LIMA, J.; LAPA, R. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron plant digests, *Analytica Chimica Acta*, v.293, p.129 - 138, **1994**.
32. HONORATO, R. et al. A flow-batch titrator exploiting a one-dimensional optimisation algorithm for end point search, *Anal. Chim. Acta*, 396:91, **1999**.

33. ALMEIDA, L. Um Analisador Fluxo-Batelada com Bomba Pistão Aplicado à Preparação de Soluções de Calibração e Microemulsões: Determinação de Metais em Água Mineral e Gasolina por GF AAS. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 154p. **2007**.
  
34. ALMEIDA, J. Um método quimiluminescente baseado em imagens digitais para determinação de Cr(IV) em águas usando um sistema fluxo batelada, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, **2012**.
  
35. ARAUJO, L.; OLIVEIRA, F. Estudo dos descritores de características primitivas. In: Encontro de Computação e Informática do Tocantins, Palmas – TO, Anais... Palmas: CEULP/ULBRA, p. 169-178, **2011**.
  
36. MARQUES F.; VIEIRA N. Processamento Digital de Imagens, Rio de Janeiro: Brasport, **1999**.
  
37. LIU, Y.; ZHOU, X. “A Simple Texture Descriptor for Texture Retrieval”, In: Proceedings of ICTT, p. 1662-1665, **2003**.
  
38. GONZALEZ, R.; WOODS, R. Processamento de imagens digitais. Tradução Roberto Marcondes Cesar Júnior, Luciano da Fontoura Costa. 1ª Ed. São Paulo: Editora Blucher, **2000**.
  
39. BENEDETTI, L. Determinação in situ de analitos de interesse alimentício empregando tratamento de imagens digitais de spot tests. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 78p. **2013**.
  
40. AZEVEDO, E.; CONCI, A. Computação Gráfica: Teoria e Prática. Rio de Janeiro: Elsevier, **2003**.
  
41. BERNS, R. Principles of colour technology. 3rd Ed., New York: Wiley, **2000**.
  
42. ALBUQUERQUE, M. Processamento de Imagens: Métodos e Análises. Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas – CBPF/MCT-RJ, **2002**.
  
43. LEÃO, A. Gerenciamento de cores para imagens digitais. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, 135p. **2005**.



44. MOLINERO, A. et al. Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics. *Microchemical Journal*. V. 96, 380-385, **2010**.
45. BATISTA, L. Determinação quimiluminescente de ferro em óleos baseado em pontos quânticos de CdTe usando um sistema fluxo-batelada com extração em fase única e imagens digitais, Tese de Doutorado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 135p. **2014**.
46. TEIXEIRA, E. Análise de imagens digitais na avaliação de plântulas de milho. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Piracicaba – SP. P. 57, **2004**.
47. WONGWILAI, W. et al. Webcam camera as a detector for a simple lab-on-chip time based approach. *Talanta*. V. 81, 1137-1141. **2010**.
48. PENNAFORT, L. et al. Mechanical characterization of composite PVC/coconut fiber by methods of acoustic emission and digital image correlation. *Ciência & Tecnologia dos Materiais*. V. 26, 25-32, **2014**.
49. KAMOGAVA, M. et al. Estratégia analítica para determinação de nitrito e amônia empregando teste no local e análise de imagem digital. *Revista Eletrônica de Química*. V. 6, **2014**.
50. GRAÑA, M. et al. Computer Aided Diagnosis system for Alzheimer Disease using brain Diffusion Tensor Imaging features selected by Pearson's correlation, *Neuroscience Letters*, v.502, 225-229, **2011**.
51. GRAVIER, J. et al. The use linear regression methods and Pearson's correlation matrix to identify mechanical-physical-chemical parameters controlling the micro-electrochemical behaviour of machined copper, *Corrosion Science*, v. 50, 2885-2894, **2008**.
52. LEONENKO, N.; MEERSHAERT, M.; SIKORSKII, A. Correlation structure of fractional Pearson diffusions, *Computers and Mathematics with Applications*, v.66, 737-745, **2013**.
53. SAAD, Z. et al. A new method for improving functional to structural MRI alignment using local Pearson Correlation. *NeuroImage*. V. 44, 839-848, **2013**.

54. FIGUEIREDO, D.; SILVA, J. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r), Revista Política Hoje, v. 18, n. 1, **2009**.
55. CLESCERI, L.; GREENBERG, A.; EATON, A. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20<sup>a</sup> ed., American Public Health Association, Washington DC, **1998**.
56. MARTÍNEZ, L. et al. Batch and column adsorption of herbicide fluroxypyr on different types of activated carbons from water with varied degrees of hardness and alkalinity, v. 44, 879-885, **2010**.
57. VAN, M. Classification of mineral water types and comparison with drinking water standards, Environmental Geology, v.44, 554-563, **2003**.
58. RICHTER, C.; NETTO, J. Tratamento de Água, Tecnologia Atualizada, 1 Ed. Brasil: Editora Edgard Blücher Ltda. **1995**.
59. XU, T.; SUN, Y.; ZHANG, Y.; XU, T. Magnesium intake and cardiovascular disease mortality: A meta-analysis of prospective cohort studies, **2012**.
60. KLAS, S. et al. A procedure for adjusting Grey mullet (*Mugil cephalus* Lin.) fingerlings to low-salinity, low-hardness waters for economic and environmentally friendly inland culture, Aquacultural Engineering, v. 59, 55-63, **2014**.
61. OLIVEIRA, E. Implications of water hardness in ecotoxicological assessments for water quality regulatory purposes: a case study with the aquatic snail *Biomphalaria glabrata*. Braz. J. Biol. V. 74, p. 175-180, **2014**.
62. CATLING, L. et al. A systematic review of analytical observational studies investigating the association between cardiovascular disease and drinking water hardness, Journal of water and Health, v.6, **2008**.
63. SADMOURMOHAMALI, M; GORCZYCA, B. Effects of ozone as a stand-alone and coagulation-aid treatment on the reduction of trihalomethanes precursors from high doc and hardness water, Water Research, v. 73, 171-180, **2015**.
64. ARMIJO, F. et al. The water effect on instrumental hardness and adhesiveness of clay mixtures for pelotherapy, Applied Clay Science, v.114, 396-401, **2015**.

65. CHIU, H. et al. Pancreatic Cancer Mortality and Total Hardness Levels in Taiwan's Drinking Water, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, v.56, 361-369, **1999**.
66. YANG, C. et al. Rectal Cancer Mortality and Total Hardness Levels in Taiwan's Drinking Water, *Environmental Research*, v.80, 311-316, **1999**.
67. FRITZ, J.; SICKAFOOSE, P.; SCHMITTL, M. Determination of Total Hardness in Water employing Visual and Spectrophotometric Titration Procedure, *analytical Chemistry*, v.41, p.54-58, **1969**.
68. BELLOMO, A. et al. Semi-Automatic End- Point Detection in the Determination of Total Hardness in Water, *Analytica Chimica Acta*, v.149, p.401-403, **1983**.
69. IMATO, T. et al. Flow-injection Determination of the Total Water Hardness by Using a Copper(II) Ion-selective Electrode and a Copper(II) Ion Buffer, *Analytical Sciences*, v.8, p.631-635, **1992**.
70. HERNÁNDEZ, O. et al. Multicomponent flow injection based analysis with diode array detection and partial least squares multivariate calibration evaluation. Rapid determination of Ca(II) and Mg(II) in waters and dialysis liquids, *Analytica Chimica Acta*, v.320, p.177-, **1996**.
71. PEREIRA, L. Desenvolvimento de metodologias espectrométricas para determinação de metais em água, sedimento de peixe empregando suspensões e solubilização alcalina. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte-MG, P. 139, **2010**.
72. LIMA, R. et al. Hardness Screening of Water Using a Flow-batch Photometric System, *Analytica Chimica Acta*, v.518, p.25-30, **2004**.
73. BRIX, K.; WOOD, C.; GROSELL, M. Measuring titratable alkalinity by single versus double end point titration: An evaluation in two cyprinodont species and implications for characterizing net H<sup>+</sup> flux in aquatic organisms, *Comparative Biochemistry and physiology, Part A*, v. 164, 221-228, **2013**.
74. LOU, J. Influence of alkalinity, hard and dissolved solids on drinking water taste: A case study of consumer satisfaction, *Journal of Ennagement*, v.82, p.1-12, **2007**.

75. SARASWAT, R. et al. Effect of salinity induced pH/alkalinity changes on benthic foraminifera: A laboratory culture experiment, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 153, 96-117, **2015**.
76. MAK, L. et al. Effects of hardness and alkalinity on the removal of arsenic(V) from humic acid-deficient and humic acid-rich groundwater by zero-valent iron. *Water Research*. V. 43, 4296-4304, **2009**.
77. LAHAV, O.; SABACH, S.; BIRNHACK, L. Accurate approach for determining fresh-water carbonate ( $H_2CO_3$ ) alkalinity, using a single  $H_3PO_4$  titration point, *Talanta*, v. 100, 12-20, **2012**.
78. HULTH, S. et al. Rapid, high-precision potentiometric titration of alkalinity in ocean and sediment pore waters, *Deep-Sea Research I*, vol. 44, 2031-2044, **1997**.
79. CORRÊA, T. Estudo do tratamento anaeróbio de lixiviados de aterros sanitários utilizando filtros biológicos operados em batelada sequencial. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, p. 160, **2012**.
80. HAWKES, F. et al. A New Instrument for On-Line Measurement of Bicarbonate Alkalinity, *Water Research*, v.27, p.167-170, **1993**.