



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

ALAN CARLOS CORREA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE EM  
FLUXO PARA DETERMINAÇÃO DE SURFACTANTES  
ANIÔNICOS EM EFLUENTES BASEADO EM IMAGENS  
DIGITAIS**

---

Londrina  
2021

ALAN CARLOS CORREA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE EM  
FLUXO PARA DETERMINAÇÃO DE SURFACTANTES  
ANIÔNICOS EM EFLUENTES BASEADO EM IMAGENS  
DIGITAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Química UEL, para obtenção do  
título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Paulinetti  
da Camara

Londrina  
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

C824    Correa, Alan Carlos .  
Desenvolvimento de um sistema de análise em fluxo para determinação de surfactantes aniônicos em efluentes baseado em imagens digitais / Alan Carlos Correa. - Londrina, 2021.  
52 f. : il.

Orientador: Carlos Alberto Paulinetti da Camara.  
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2021.  
Inclui bibliografia.

1. Instrumentação - Tese. 2. Análise por injeção sequencial - Tese. 3. Automação - Tese. 4. Análise por imagem digital - Tese. I. Camara, Carlos Alberto Paulinetti da . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

ALAN CARLOS CORREA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE EM  
FLUXO PARA DETERMINAÇÃO DE SURFACTANTES  
ANIÔNICOS EM EFLUENTES BASEADO EM IMAGENS  
DIGITAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Química UEL, para obtenção do  
título de Mestre em Química.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Carlos A. P. da Camara  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Suzana Lucy Nixdorf  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Emília Kiomi Kuroda  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 30 de Julho de 2021.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por me dar força para vencer todos os desafios e dificuldades encontradas durante minha caminhada no decorrer do curso.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos A. P. da Camara por todo apoio, paciência, companherismo e aprendizado no decorrer de todos estes anos, por me dar força para continuar mesmo na dificuldade.

Aos professores do departamento de química da UEL (em especial Suzana Nixdorf) pelo conhecimento e apoio no curso e pesquisa.

A minha mãe Aparecida por estar em minha vida, por prestar todo apoio necessário para minha formação, por acreditar em mim e estar sempre ao meu lado nos momentos bons e ruins. À minha irmã Fabiana também por todo apoio prestado durante estes anos.

A minha namorada Daniele por estar ao meu lado e por me apoiar no decorrer da minha formação, pelo companherismo, parceria e por estar sempre presente nos momentos bons e ruins.

Agradeço a todas amizades adquiridas no decorrer da minha formação, pelo companherismo, troca de experiências e apoio prestado nas dificuldades (em especial ao Leandro, Lycio e Renan). Aos amigos de longa data por acreditarem, me apoiarem, por estarem sempre juntos nos momentos bons e ruins.

A todas pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para o meu crescimento pessoal.

CORREA, Alan Carlos. **Desenvolvimento de um sistema de análise em fluxo para determinação de surfactantes aniônicos em efluentes baseado em imagens digitais.** 2021. 52 f. Dissertação de mestrado em Química - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

## RESUMO

Os surfactantes aniônicos são amplamente utilizados para limpeza em diversos segmentos. No entanto, seu elevado consumo preocupa, uma vez que a inadequada disposição dos efluentes gerados ocasiona poluição ambiental. Portanto, faz-se necessário um monitoramento contínuo nos corpos hídricos, para assegurar que a concentração não exceda o valor de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , limite estabelecido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente. O método de referência 5540 do Standard Methods se baseia na extração líquido-líquido, em que o par iônico surfactante/azul de metileno é extraído da fase aquosa pelo solvente orgânico clorofórmio. Entretanto, este procedimento é trabalhoso e demorado (3 análises/h), já que envolve várias etapas, e consome elevados volumes de amostra (100 mL) e de clorofórmio (35 mL). A volatilidade do clorofórmio dificulta a repetitividade da medida espectrofotométrica e expõe o analista à vapores tóxicos. Neste sentido, este trabalho objetiva desenvolver um sistema instrumental, que determine os surfactantes aniônicos em efluentes de forma automatizada através da análise em fluxo por injeção sequencial (SIA) com detecção feita por análise de imagens digitais (AID). No Sistema SIA-AID proposto a automação é feita via placa arduino, de acordo com macrocomandos pré-setados no *software* SIAControl desenvolvido. Os três reagentes (308  $\mu\text{L}$  de clorofórmio, 433  $\mu\text{L}$  de azul de metileno com tetraborato e 258  $\mu\text{L}$  do padrão do ácido dodecil benzeno sulfônico (LAS) ou amostra) são aspirados por uma bomba seringa para a câmara de mistura, através das portas 1, 2 e 3 da válvula solenóide de 4 vias. Por inversão do sentido de fluxo a mistura é dispensada na célula de análise, onde ocorre a formação de 2 fases, sendo a imagem digitalizada capturada pela *webcam*. A análise dos dados é feita pelo *software* QuantColour desenvolvido, selecionando-se uma área de 784 *pixels* da imagem digital na parte da fase orgânica, e as intensidades das cores primárias *RGB* fornecidas no histograma permitem efetuar a quantificação por regressões lineares simples ou múltiplas. O método do azul do metileno adaptado para Sistema SIA-AID automatizado foi validado de acordo com a RDC166/17 atendendo as figuras de mérito. Esse mostrou-se preciso (DPR<5%), exato com recuperação entre 69,9 e 79,9 %, linear com  $R^2 = 0,99$  de 0,19 a  $1,94 \text{ mg L}^{-1}$  do surfactante LAS, com limites de detecção e quantificação de 0,059 e 0,198  $\text{mg L}^{-1}$  respectivamente. Esse sistema foi aplicado com sucesso em amostras de lavagem veicular. Ele destaca-se pelo seu potencial uso em rotina para quantificar os surfactantes em águas, levando em conta sua alta frequência analítica de 23 determinações por hora. Esse contribui ainda com a química verde, considerando o baixo consumo de clorofórmio, na extração líquido-líquido realizada em ambiente fechado, o que reduz a intervenção e a contaminação do operador, melhorando a precisão do método.

**Palavras-chave:** instrumentação; automação; extração líquido-líquido; análise por injeção sequencial; análise por imagem digital.

CORREA, Alan Carlos. **Development of a flow analysis system for the determination of anionic surfactants in effluents based on digital images.** 2021. 52 p. Dissertation submitted to obtain the title of Master - State University of Londrina, Londrina, 2021.

## ABSTRACT

Anionic surfactants are widely used for cleaning in various industries. However, its high consumption is a concern, since the inadequate disposal of generated effluents causes environmental pollution. Therefore, continuous monitoring of water bodies is necessary to ensure that the concentration does not exceed the value of 0.5 mg L<sup>-1</sup>, a limit established by the National Environmental Council. The Standard Methods reference method 5540 is based on liquid-liquid extraction, in which the surfactant/methylene blue ion pair is extracted from the aqueous phase by the organic solvent chloroform. However, this procedure is laborious and time-consuming (3 analyzes/h), as it involves several steps, and consumes high volumes of sample (100 mL) and chloroform (35 mL). The volatility of chloroform makes repeatability of the spectrophotometric measurement difficult and exposes the analyst to toxic vapors. In this sense, this work aims to develop an instrumental system, which determines anionic surfactants in effluents in an automated way through analysis in sequential injection flow (SIA) with detection made by digital image analysis (AID). In the proposed SIA-AID System, automation is done via an arduino board, according to pre-set macro commands in the developed SIAControl software. The three reagents (308 µL of chloroform, 433 µL of methylene blue with tetraborate, and 258 µL of dodecyl benzene sulfonic acid (LAS) standard or sample) are aspirated by a syringe pump into the mixing chamber, through the ports 1, 2, and 3 of the 4-way solenoid valve. By inverting the flow direction, the mixture is dispensed into the analysis cell, where the formation of 2 phases occurs, with the digitized image being captured by the webcam. Data analysis is performed using the developed QuantColour software, selecting an area of 784 pixels from the digital image in the organic phase, and the primary RGB color intensities provided in the histogram allow quantification by simple or multiple linear regressions. The methylene blue method adapted for the Automated SIA-AID System was validated in accordance with RDC166/17 taking into account the figures of merit. This proved to be accurate (DPR<5%), accurate with recovery between 69.9 and 79.9%, linear with R<sup>2</sup> = 0.99 from 0.19 to 1.94 mg L<sup>-1</sup> of the LAS surfactant, with limits detection and quantification of 0.059 and 0.198 mg L<sup>-1</sup> respectively. This system has been successfully applied to vehicle wash samples. It stands out for its potential routine use to quantify surfactants in water, taking into account its high analytical frequency of 23 determinations per hour. It also contributes to green chemistry, considering the low consumption of chloroform, in the liquid-liquid extraction carried out in a closed environment, which reduces operator intervention and contamination, improving method accuracy.

**Keywords:** instrumentation; automation; liquid-liquid extraction; sequential injection analysis; digital image analysis.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	– Representação esquemática dos surfactantes .....	12
<b>Figura 2</b>	– Representação esquemática da reação de formação do par iônico entre o surfactante aniônico (AS) e azul de metileno (MB) .....	14
<b>Figura 3</b>	– Procedimento adotado pelo método oficial do standard methods .....	15
<b>Figura 4</b>	– Procedimento adotado por Jurado e colaboradores (2006) para determinação de surfactantes aniônicos .....	15
<b>Figura 5</b>	– Modelo representacional do cubo de cores RGB .....	19
<b>Figura 6</b>	– Esquema típico de um sistema de análise por injeção sequencial (SIA) .....	20
<b>Figura 7</b>	– Esquema do sistema em fluxo automatizado desenvolvido neste trabalho para a determinação de surfactantes aniônicos. ....	23
<b>Figura 8</b>	– Foto da célula de análise desenvolvida vazia (A) e em uso com a fonte luminosa de LED e da amostra com azul de metileno (B) .....	24
<b>Figura 9</b>	– Câmara de mistura do sistema sia desenvolvido .....	24
<b>Figura 10</b>	– Fotos das válvulas solenóides de três vias (A) e quatro vias (B) .....	25
<b>Figura 11</b>	– Esquema da bomba peristáltica e do driver A4988 .....	25
<b>Figura 12</b>	– Bomba de pistão KloehnVersaPump 3 .....	26
<b>Figura 13</b>	– Imagem da placa Arduíno Mega 2560 R3 com os pinos e layout do Arduíno Mega .....	26
<b>Figura 14</b>	– Propriedades da imagem proveniente da Webcam Logitech HD Pro C920 .....	28
<b>Figura 15</b>	– Imagem digitalizada da (A) Webcam Logitech HD Pro C920 e (B) Imagem da célula de análise feita pelo software da webcam Logitech (versão 2.3) .....	29
<b>Figura 16</b>	– (A) Abreviatura dos macrocomandos e suas funções como exemplo de programação para execução automática de uma etapa do experimento. (B) Imagem digitalizada do software SIACONTROL .....	29

<b>Figura 17</b> – Imagem digital utilizada para o processamento dos dados por meio do software QuantColour, em que se seleciona a área de interesse da fase orgânica, contendo o clorofórmio, azul de metileno e o surfactante aniônico a ser quantificado. (B) Histograma de frequência de cores R, G e B utilizado para determinação das intensidades de sinais, proporcionais as concentrações na curva analítica.....	30
<b>Figura 18</b> – Software QuantColour – regressão linear simples e múltipla.....	31
<b>Figura 19</b> – Fluxograma dos módulos de controle utilizados para o funcionamento da Análise por Injeção Sequencial (SIA) para aquisição de dados .....	32
<b>Figura 20</b> – Imagem do sistema instrumental automatizado proposto neste trabalho, englobando a etapa de extração líquido-líquido em sistema fechado e a determinação quantitativa dos surfactantes pela imagem digital em fluxo SIA .....	33
<b>Figura 21</b> – Espectro de absorção do corante azul de metileno .....	39
<b>Figura 22</b> – Curva analítica para a solução de surfactante (LAS) com azul de metileno utilizando o sistema instrumental proposto nas diferentes intensidades de cores primárias ( <i>R, G, B</i> ).....	40
<b>Figura 23</b> – Imagem digital obtida no sistema instrumental automatizado em fluxo SIA com análise por imagem digital proposto. (A) imagem sem correção e (B) negativo da imagem.....	40
<b>Figura 24</b> – Avaliação da linearidade do método para o sistema em fluxo desenvolvido .....	42
<b>Figura 25</b> – Curva analítica para a determinação de surfactante aniônico LAS em efluente de lavagem veicular .....	42

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	– Especificações Técnicas da Wecam Logitech HD Pro C920 .....	27
<b>Tabela 2</b>	– Volumes de reagente utilizados para a construção da curva analítica para análise de surfactantes aniônicos (Jurado et al., 2006) empregando espectrofotômetro UV como referência.....	35
<b>Tabela 3</b>	– Volumes de reagente utilizados na determinação de surfactantes aniônicos em amostras de águas resultantes da lavagem de veículos, empregando espectrofotometria UV-Vis.....	35
<b>Tabela 4</b>	– Volumes de reagentes utilizados no preparo da curva analítica pelo sistema sia desenvolvido.....	36
<b>Tabela 5</b>	– Precisão intradia e interdias para o sistema instrumental desenvolvido .....	43
<b>Tabela 6</b>	– Ensaio de recuperação para avaliar a exatidão do sistema instrumental e método proposto .....	43
<b>Tabela 7</b>	– Concentração das amostras obtidas pelo instrumental e método proposto .....	44
<b>Tabela 8</b>	– Concentração das amostras obtidas pelo sistema instrumental e método proposto .....	44
<b>Tabela 9</b>	– Concentração de surfactantes obtidos pelo método espectrofotométrico (Jurado et al., 2006) e pelo sistema instrumental automatizado e método proposto .....	45
<b>Tabela 10</b>	– Tabela fornecida pela ferramenta de análise ANOVA: fator duplo com repetição para análise de surfactantes .....	45
<b>Tabela 11</b>	– Volumes gastos de reagentes nos métodos de análise de surfactantes.....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	Análise de variância
AID	Análise de imagens digitais
BPCs	Bifenilas policloradas
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DIA	Desenvolvimento de instrumentação e automação
FIA	Análise de injeção em fluxo (flow injection analysis - FIA)
HPAs	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
IAP	Instituto agrônômico do Paraná
LAS	Alquil benzeno linear sulfonato ou ácido dodecil benzeno sulfônico
LLE	Extração líquido-líquido
MB	Azul de metileno (Methylene Blue)
MBAS	Substância reativa ao azul de metileno
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Padrão analítico
PTFE	Politetrafluoretileno
PVC	Policloreto de vinila
PUF	Espuma de poliuretano
RGB	Vermelho, verde e azul (Red, Green e Blue)
SIA	Análise por injeção seqüencial
CCD	Dispositivo de Carga Acoplada ( <i>Charge-Coupled Device</i> )
IDE	Ambiente de Desenvolvimento Integrado ( <i>Integrated Development Environment</i> )
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
1.1	SURFACTANTES .....	12
1.1.1	Surfactantes aniônicos .....	13
1.1.2	Métodos de determinação de surfactantes .....	14
1.1.3	Extração líquido-líquido (LLE) na determinação de surfactantes .....	16
1.2	EMPREGO DA IMAGEM DIGITAL NA ANÁLISE DE ESPÉCIES QUÍMICAS .....	17
1.2.1	Modelos de cores .....	18
1.2.2	Modelo RGB .....	18
1.3	SISTEMAS DE ANÁLISE EM FLUXO .....	19
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	22
2.1	OBJETIVO GERAL .....	22
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO .....	22
<b>3</b>	<b>PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	23
3.1	INSTRUMENTAÇÃO .....	23
3.1.1	Célula de análise .....	23
3.1.2	Câmara de mistura .....	24
3.1.3	Válvulas solenóides .....	24
3.1.4	Bomba peristáltica .....	25
3.1.5	Bomba de pistão Kloehn Versapump 3 .....	26
3.1.6	Microcomputador .....	26
3.1.7	Placa Arduíno .....	26
3.1.8	Webcam Logitech HD Pro C920 .....	27
3.2	SOFTWARES DE CONTROLE E TRATAMENTO DE DADOS .....	29
3.2.1	SIA CONTROL .....	29
3.2.2	QuantColour .....	30
3.3	AUTOMAÇÃO DO SISTEMA .....	31
3.4	COLETA DOS EFLUENTES .....	34
3.5	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	34
3.5.1	Determinação de surfactantes pelo método espectrofotométrico .....	34
3.5.2	Deteminação de surfactantes pelo sistema instrumental SIA proposto .....	36

3.6	PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO PARA O MÉTODO AUTOMATIZADO PROPOSTO .....	37
3.6.1	Linearidade.....	37
3.6.2	Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) .....	38
3.6.3	Precisão.....	38
3.6.4	Exatidão.....	38
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
4.1	TRATAMENTO DE IMAGENS DIGITAIS .....	39
4.2	PERFORMANCE ANALÍTICA.....	41
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>48</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Um quinto dos sistemas aquáticos que mantêm os ecossistemas em funcionamento e alimenta uma população mundial em expansão encontram-se afetados e ameaçados, à medida que rios, lagos e aquíferos estão secando ou sendo poluídos (JACOBI et al., 2016).

Setores como os de lavagem veicular merecem destaque devido ao grande volume de efluentes gerados (PANIZZA & CERISOLA 2010; TEIXEIRA, et al., 2003). Dentre os componentes presentes nestes efluentes, os surfactantes aniônicos chamam a atenção devido à grande quantidade utilizada, assim como sua toxicidade para o meio ambiente.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o elevado consumo de surfactantes em todo o mundo é motivo de preocupação em termos de poluição global. Neste sentido, órgãos ambientais tem se esforçado para monitorar e tomar as medidas cabíveis para diminuir a contaminação por estas substâncias. No Brasil, o limite de  $0,5 \text{ mgL}^{-1}$  foi estabelecido em 2005, pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), como a concentração máxima de surfactantes aniônicos totais que podem estar presentes em águas.

Devido a este cenário, o desenvolvimento de métodos e/ou ferramentas de monitoramento para a determinação de surfactantes aniônicos totais em águas são realmente importantes para a sociedade.

O método padrão empregado para a determinação de surfactantes aniônicos baseia-se na formação de um par iônico entre surfactantes e o corante catiônico azul de metileno (MB). O par iônico é então extraído com clorofórmio e a absorbância da fase orgânica é medida a 662 nm. A absorbância do extrato orgânico é proporcional à concentração de surfactantes aniônicos totais nas amostras (APHA, AWWA, WPCF, 1992).

Embora o método padrão seja o mais utilizado para determinação de surfactantes aniônicos, alguns grupos de pesquisa vêm trabalhando no desenvolvimento de métodos alternativos para este tipo de análise. Métodos potenciométricos usando eletrodos íon seletivos são os mais baratos, apesar de não haver muitos eletrodos comerciais disponíveis (BARÓ-ROMÀ et al., 1993; SÁNCHEZ et al., 2001; CORTINA et al., 2008). A literatura também relata uma série de métodos cromatográficos para a determinação de surfactantes

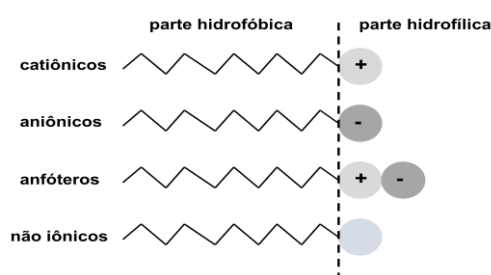
aniônicos (SÁNCHEZ-MARTÍNEZ et al., 2005; ALZAGA et al., 2003; GOMEZ, et al., 2011). A principal vantagem desses métodos é a elevada seletividade, uma vez que permitem a discriminação de diferentes surfactantes nas amostras, e não apenas a determinação das concentrações totais de surfactantes aniônicos, porém, o alto custo da instrumentação os tornam inacessíveis para a maioria dos laboratórios (GOMEZ, et al., 2011).

Diante de uma política ambiental cada vez mais severa, na qual se tem buscado o estabelecimento de padrões de concentração cada vez menores para os poluentes presentes nos efluentes, as indústrias têm sido levadas a ajustar os processos existentes, por meio da adoção de procedimentos que visam a menor geração ou a remoção de elementos tóxicos dos efluentes gerados (JIMENEZ et al., 2004). Neste sentido, o desenvolvimento de sistemas de análise que emprega a menor quantidade de reagentes se torna necessário.

### 1.1 SURFACTANTES

Os surfactantes são amplamente utilizados em diversos segmentos na indústria têxtil, de alimentos, de cosméticos, em processos de lavagem e outros. Estes são constituídos por um grupo de compostos que contém nas moléculas partes hidrofóbicas e hidrofílicas. Esta característica é a responsável por suas propriedades físicas e químicas específicas (solubilidade em líquidos polares e não polares, capacidade de formar micelas, adsorção nos limites das fases e redução da tensão superficial) (OLKOWSKA et al., 2012). Esses compostos são classificados em iônicos (aniônicos e catiônicos), não iônicos ou anfotéricos, de acordo com o grupo presente na parte polar como exemplificado na Figura 1 (OLKOWSKA et al., 2012).

**Figura 1-** Representação esquemática dos surfactantes



Fonte: Felipe & Dias, 2017.

Estes compostos estão entre os principais xenobióticos utilizados que são despejados nos ambientes aquáticos (SIGOILLOT & NGUYEN, 1992; MARGESIN & SCHINNER, 1998; EICHHORN et al., 2002). São nocivos aos seres humanos, mamíferos, peixes e à vegetação, por serem os responsáveis pela formação de espuma nos rios e reduzirem a qualidade da água (ABOULHASSAN et al., 2006).

#### 1.1.1 Surfactantes aniônicos

Surfactantes aniônicos são substâncias cujas moléculas possuem carga elétrica negativa em sua parte hidrofílica (ver Figura 1), sendo a maior classe dos surfactantes utilizados (MATHIS, 1992). Só no Brasil, teve uma expectativa de 51 % da produção total do mercado de surfactantes em 2018 (BNDES, 2014). A base principal dos detergentes comercializados é o alquilbenzeno linear sulfonado (LAS). A escolha pelo LAS se dá devido às rotas de fabricação serem consideradas as mais eficazes e econômicas, além de possuir vantagens técnicas inerentes à sua estrutura química e às suas propriedades físico-químicas. Sabe-se que o LAS tem uma alta toxicidade, porém seu tempo de permanência no meio ambiente é curto em relação a outros surfactantes.

Entre os problemas ambientais decorrentes do acúmulo de LAS nos recursos hídricos destaca-se a formação de espumas nas superfícies dos corpos d'água que impede a penetração de raios solares, prejudicando a vida aquática, além de maximizar a dificuldade do tratamento destas águas (GONÇALVES, 2015). Além disto, outros problemas são evidenciados, como a diminuição da concentração de elementos necessários para a vida aquática (por exemplo oxigênio dissolvido), aumento da concentração de compostos xenobióticos, como BPCs (bifenilaspolicloradas) e HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) presentes no sedimento (HAIGH, 1996).

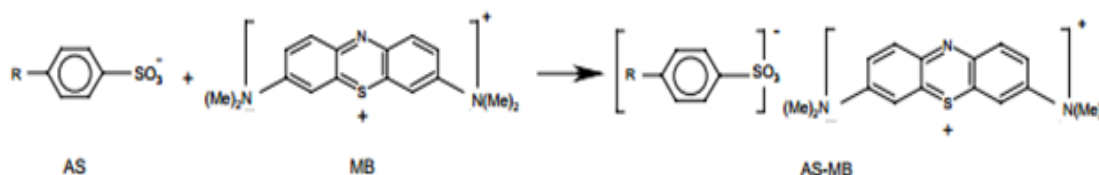
Devido ao baixo custo de fabricação e sua ótima performance de detergência, os surfactantes aniônicos são utilizados em maior volume do que quaisquer outros na indústria de detergentes (SCHEIBEL, 2004; PONS et al., 1997).

### 1.1.2 Métodos de determinação de surfactantes

Uma das maiores dificuldades na determinação de surfactantes aniônicos em amostras ambientais (em especial na matriz água) é a baixa concentração destes analitos, além da diversidade estrutural dos surfactantes utilizados. Além disto, a maioria dos métodos utilizados envolve a pré-concentração de amostras ou extração por fase sólida ou extração líquido-líquido, o que acaba configurando uma etapa adicional (JOZANOVIC, 2019).

Os métodos colorimétricos são os mais utilizados na determinação de surfactantes aniônicos em soluções aquosas. O método oficial de análise para determinação de surfactantes aniônicos é descrito pelo Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater – Método 5540 C (APHA, AWWA, WPCF, 1992). O método baseia-se na formação de um par iônico entre os surfactantes aniônicos (AS) e o azul de metileno (MB), de acordo com a reação descrita na Figura 2.

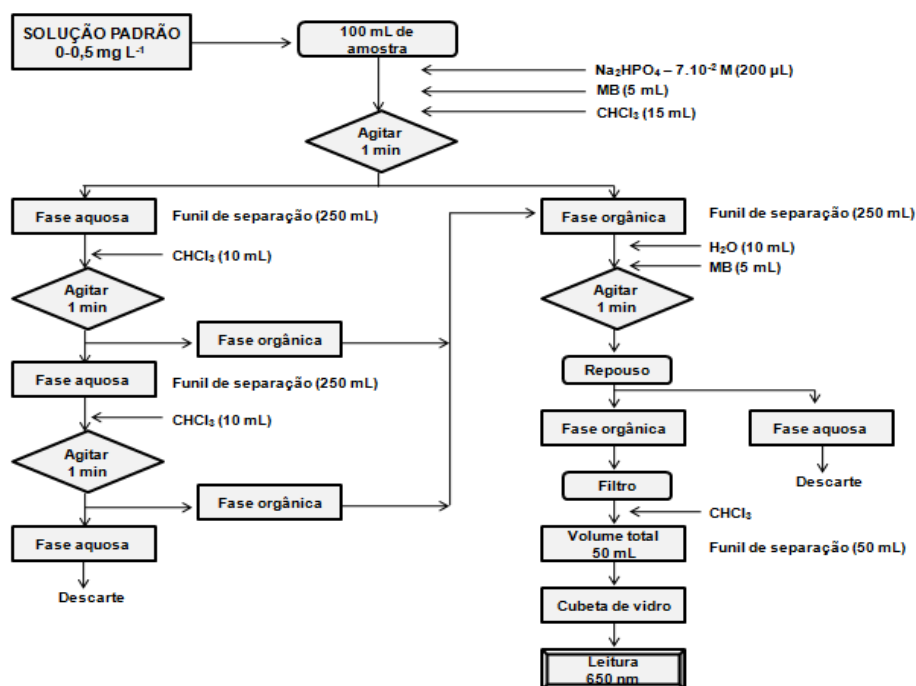
**Figura 2** - Representação esquemática da reação de formação do par iônico entre o surfactante aniônico (AS) e azul de metileno (MB)



Fonte: JURADO et al., 2006.

Para tanto, são executadas três extrações sucessivas em 100 mL de amostra previamente alcalinizada com adições de 15, 10 e 10 mL de clorofórmio respectivamente (Figura 3). O par iônico é determinado por espectrofotometria, medindo-se a absorbância em 650 nm (JURADO et al., 2006). Este método envolve a extração líquido-líquido, onde há um grande consumo de solvente orgânico clorofórmio (35 mL por análise), grande utilização de material laboratorial em vidro (funis de separação), além de um grande tempo de análise (aproximadamente 20 minutos por análise).

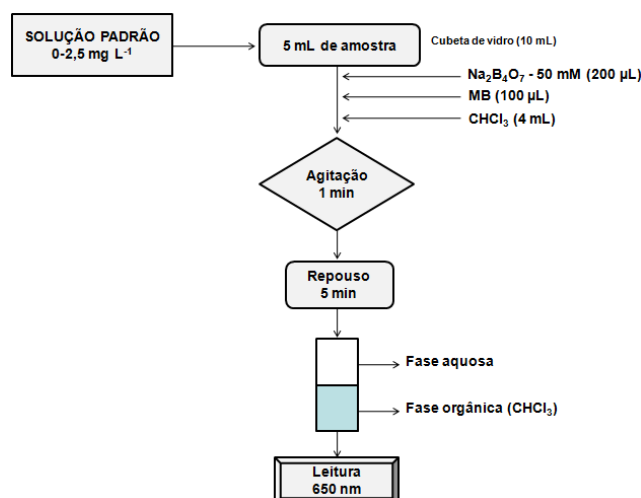
**Figura 3** – Procedimento adotado pelo método oficial do Standard Methods.



Fonte: Adaptado de Jurado et al., 2006.

Com o intuito de diminuir a quantidade de solvente orgânico e o tempo de análise, Jurado e colaboradores (2006) propuseram uma adaptação a este método reduzindo a quantidade de solvente orgânico para 5 mL e o tempo de análise para aproximadamente 10 minutos, obtendo-se resultados satisfatórios comparados ao oficial (Figura 4).

**Figura 4** – Procedimento adotado por Jurado e colaboradores (2006) para determinação de surfactantes aniônicos.



Fonte: Adaptado de Jurado et al., 2006

Apesar da redução no consumo de reagente e tempo de análise em relação ao método oficial, este ainda apresenta desvantagens como, exposição do analista à vapores tóxicos, dificuldades na leitura devido à evaporação de solvente, consumo de reagente e tempo de análise.

Outras técnicas analíticas foram desenvolvidas para a determinação de surfactantes, sendo as potenciométricas e espectrofotométricas as mais aplicadas às medições em batelada e em fluxo em alguns produtos detergentes comerciais, inclusive os resultados concordam bastante bem com os dados obtidos utilizando o método espectrofotométrico padrão de azul de metileno (ALONSO et al., 1995).

Apesar destes métodos serem os mais utilizados, é de grande importância o desenvolvimento de sistemas alternativos que trabalhe com volumes menores de solvente orgânico tóxico e menor tempo de análise.

### 1.1.3 Extração líquido-líquido (LLE) na determinação de surfactantes

A extração líquido-líquido (LLE) é uma técnica simples de separação e purificação de compostos por meio da diferença de solubilidade dos solventes utilizados. É amplamente utilizada para a determinação de surfactantes iônicos e não iônicos em amostras ambientais. Esta baseia-se na distribuição ou separação de compostos entre duas fases líquidas imiscíveis ou parcialmente miscíveis (HIDAYAH & ABIDIN, 2017). Metodologicamente são adicionados solventes orgânicos apropriados às amostras (clorofórmio para extração de surfactantes aniônicos e catiônicos, diclorometano e acetato de etila para surfactantes não iônicos) os quais são responsáveis pela extração dos surfactantes da fase aquosa (KOGA et al., 1999; JURADO et al., 2006; IDOUHAR et al., 2008; WYRWAS et al., 1998; NAGARNAIK et al., 2010).

A LLE tem como principal vantagem a capacidade de ser utilizada durante a determinação da concentração total de surfactantes aniônicos, catiônicos e não iônicos em amostras ambientais, as quais geralmente contém muita matéria sólida. Além disto, a LLE é considerada a técnica mais eficiente para extração de surfactantes catiônicos de amostras líquidas (MARTINEZ-CARBALLO et al., 2007).

Por outro lado, LLE envolve um grande tempo de análise (etapas de limpeza), grande consumo de solvente orgânico e produção de resíduos

tóxicos. Diante destas desvantagens, é de grande importância o desenvolvimento de sistemas de análise que trabalhe com volumes menores, assim como aumente a velocidade analítica nas determinações (MARTINEZ-CARBALLO et al., 2007).

## 1. 2 EMPREGO DA IMAGEM DIGITAL NA ANÁLISE DE ESPÉCIES QUÍMICAS

A análise de imagens digitais (AID) é uma técnica de ampla aplicação, rápida, de baixo custo e não destrutiva, que possui diferentes dispositivos de aquisição como câmera digital, scanner, webcam, câmera de dispositivos móveis (GRASEL et al., 2016). Esta metodologia tem sido empregada com maior frequência na análise de espécies químicas. Além disto, a análise multivariada associada à AID, tem se tornado mais interessante devido a evolução dos dispositivos de captura, que podem ser aplicados em diferentes campos da ciência e tecnologia (FERNÁNDEZ-OLIVERAS et al., 2013).

São encontrados trabalhos sobre aplicação de imagens digitais em diversas áreas como alimentos, engenharia, farmacêuticas, agricultura, ciências forenses e como uma frente de estudo bastante promissora na área de química, devido aos constantes avanços tecnológicos dos hardwares e softwares de aquisição e tratamento de imagens digitais (DALEN, 2004; GODOY et al., 2007; CREMAM et al., 2009).

Lima e colaboradores (2013) propuseram uma metodologia que utiliza a análise de imagens digitais, utilizando o modelo de cor RGB, adquiridas de uma webcam com sensor CCD acoplada a um micro analisador *lab-made*, utilizando resina de uretano-acrilato, de fluxo descontínuo. A metodologia estudada foi comparada à metodologia de referência espectrofotométrica e os resultados concordaram apresentando 95% de confiança (LIMA et al., 2013).

Masawat e colaboradores (2015) desenvolveram um colorímetro de imagem digital por iPhone como uma ferramenta portátil para determinação de tetraciclina em leite bovino. Os autores desenvolveram um aplicativo de nome ColorConc para a plataforma do iPhone utilizando algoritmos da imagem para determinar a concentração. Foram medidos os parâmetros de cor *R*, *G*, *B*, matiz, saturação, brilho e cinza para cada solução padrão. Os resultados obtidos empregando o dispositivo não apresentaram diferença significativa em nível de 5% quando comparados ao método de referência espectrofotométrico.

Feiteira e colaboradores (2015) desenvolveram um método de análise de surfactantes aniônicos baseado na substituição de  $\text{CHCl}_3$  por espuma de poliuretano (PUF) para a extração de um par iônico formado entre azul de metileno ( $\text{MB}^+$ ) e surfactantes aniônicos. Além disso, as espécies coloridas retidas em PUF foram medidas diretamente na superfície da espuma tratando imagens digitais adquiridas por um *scanner* (SANCHÉS-MARTÍNEZ et al., 2005).

Apesar da utilização destas ferramentas no tratamento de diversas matrizes, são poucos os trabalhos voltados para a análise de resíduos contendo surfactantes.

### 1.2.1 Modelos de cores

Modelos de cores são modelos matemáticos que descrevem a maneira como as cores podem ser representadas por números, para serem descritos de forma consistente em várias mídias. O objetivo dos modelos de cores é permitir a especificação de cores em um formato padronizado e aceito por todos. Em linhas gerais, um modelo de cores é uma representação tridimensional na qual cada cor é representada por um ponto no sistema de coordenadas 3-D (FILHO & NETO, 1999).

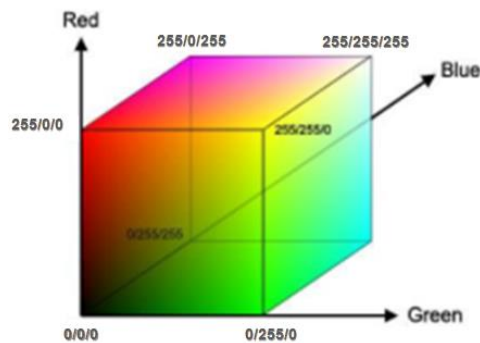
Os modelos mais utilizados para representação de cores são: *RGB* (*red, green, blue*), *CMY* (*cyan, magenta, yellow*), *CMYK* (variante do modelo *CMY*, onde *K* denota *black*), *YCbCr* (padrão normalizado pela recomendação ITU-R BT.601 e utilizado em várias técnicas de compressão de vídeo), *YIQ* (padrão NTSC de TV em cores) e *HSI* (*hue, saturation, intensity*), às vezes também denominado *HSV* (*hue, saturation, value*) (FILHO & NETO, 1999; GONZALES & WOODS, 2008).

### 1.2.2 Modelo RGB

*RGB* é a abreviatura do sistema de cores aditivas formado por vermelho (*Red*), verde (*Green*) e azul (*Blue*). É um modelo de adição de cores, no qual o vermelho, o verde e o azul são somados de várias maneiras para reproduzir uma ampla quantidade de cores (SCURI, 2002; SOUZA et al., 2004). Este modelo é baseado em um sistema de coordenadas cartesianas, que pode

ser visto como um cubo onde três de seus vértices são as cores primárias e os outros três as cores secundárias (FILHO & NETO, 1999). Neste sistema, cada cor é representada por três eixos que são perpendiculares um ao outro, representando o vermelho, verde e azul, originando-se no ponto zero de intensidade de seus eixos correspondentes (CORREA et al., 2014).

**Figura 5** - Modelo representacional do cubo de cores RGB



Fonte: Correa et. al, 2014.

Pode-se notar na Figura 5 que na origem (0,0,0) localiza-se a cor preta e quando todas as bandas alcançam o seu valor máximo (255, 255, 255) tem-se a cor branca. Na diagonal que liga a origem com o ponto máximo situam-se os níveis de cinza. As cores (bandas) primárias vermelha, verde e azul são aditivas, isto é, sua contribuição individual é somada para formar a cor resultante (SOUZA et al., 2004).

O propósito principal do sistema *RGB* é a reprodução de cores em dispositivos eletrônicos como monitores de TV e computador, retroprojetores, scanners e câmeras digitais, assim como na fotografia tradicional.

### 1.3 SISTEMAS DE ANÁLISE EM FLUXO

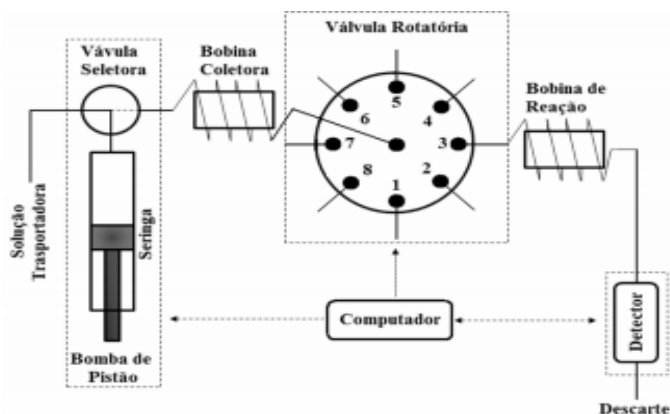
Os sistemas de análise em fluxo derivam do aperfeiçoamento de técnicas analíticas com a finalidade de minimizar o consumo de reagentes, assim como os resíduos gerados, além de diminuir a intervenção do operador. Como consequência, estes sistemas diminuem a contaminação, aumentam a frequência analítica e melhora a exatidão e precisão dos métodos empregados (RUZICKA e HANSEN, 1980). Tem como conceito básico a introdução da amostra em um fluido carregador, cuja função é deslocar a zona de amostra introduzida ao longo de todo o sistema até o detector (MASINI et al., 2010).

São constituídos basicamente por uma bomba peristáltica ou seringa (pistão), injetor comutador, válvula solenóide ou válvula seletora, bobina de reação para a formação da espécie de interesse e um detector responsável pelo sinal analítico transiente (MASINI et al., 2010).

Estes sistemas apresentam grande versatilidade nas análises, podendo ser adaptados as condições necessárias de trabalho (meio ácido, alcalino, diferentes temperaturas) e podem ser acoplados a diversos equipamentos como os de absorção molecular, absorção atômica, voltamétricos, entre outros. Ao longo do percurso analítico podem receber reagente e passar por etapas de processamentos, tais como: extração líquido-líquido, pré-concentração, geração de fase gasosa para separar o analito, diluição em linha e diálise por membrana permeável a gás (KRONKA et al., 1997).

Ruzicka e Marshall (1990), desenvolvem o conceito denominado de análise por injeção sequencial (SIA), do inglês “*Sequential Injection Analysis*”, onde teve como principal objetivo a implementação de sistema mais versátil, robusto e de baixo consumo de reagente. O sistema SIA é formado por uma válvula seletora (é o componente principal do sistema, contendo de seis a dez portas, além de uma porta central, que tem acesso a cada uma das outras com a rotação da válvula), que promove a aspiração sequencial da amostra e reagentes em direção a uma bobina coletora, e um dispositivo de propulsão (geralmente um pistão, na qual é posicionada no canal central da válvula seletora com acesso à amostra, reagentes, reatores e detector) (MASINI & SANTOS, 2010) (Figura 6).

**Figura 6** - Esquema típico de um sistema de análise por injeção sequencial (SIA)



Os sistemas SIA foram concebidos no sentido de simplificar mecanicamente os sistemas FIA, facilitando a implementação dos métodos em fluxo no monitoramento *on-line* de processos industriais, onde robustez, estabilidade por longos períodos, baixa necessidade de manutenção, calibração automática e automação são requisitos essenciais (MELCHERT et al., 2012).

Poucos trabalhos são encontrados na literatura com o emprego dos sistemas SIA para determinação de surfactantes aniônicos em água.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho consiste em desenvolver um sistema de análise em fluxo automatizado com detecção por imagem digital voltado para a determinação de surfactantes aniônicos em efluentes provenientes da lavagem veicular.

### 2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Este trabalho tem como objetivo específico:

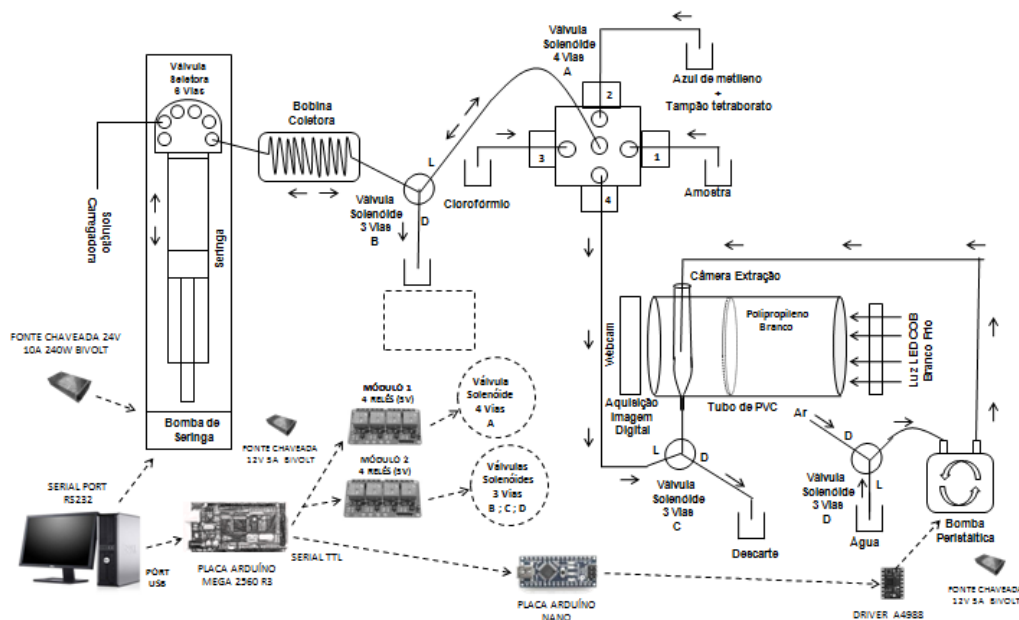
- Desenvolver e montar o sistema instrumental para realizar a análise em fluxo (SIA) e a detecção por imagem digital;
- Automatizar o sistema instrumental proposto para controlar a execução dos experimentos e a aquisição de dados empregando softwares *lab-made*;
- Definir as condições experimentais metodológicas do sistema instrumental proposto para surfactantes aniônicos.
- Validar o método proposto e aplicar o sistema SIA na quantificação de surfactantes aniônicos em efluentes de lava-rápido.

### 3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.1 INSTRUMENTAÇÃO

O sistema instrumental automatizado para análise sequencial em fluxo empregando análise de imagens digitais proposto para a determinação de surfactantes aniônicos foi montado de acordo com o esquema da Figura 7. Esse é composto por uma bomba de pistão (KloehnVersapump 3) com capacidade de 2,5 mL; uma câmara de mistura (tubo de Teflon 2 metros); válvulas solenóides de três e quatro vias (NReserarch, West Caldwell, EUA); uma célula de análise (pipeta de Pasteur com capacidade de 2,5 mL); uma luminária de mesa (com LED branco); um tubo de PVC para suporte da célula de análise, equipado com um anteparo de polietileno (PE) branco; uma bomba peristáltica (GOSO 16 de 1.2 Kgf de torque); uma webcam (Logitech HD Pro C920); uma placa arduíno mega 2560 R3; um módulo de reles e um microcomputador. Todo o sistema foi envolto por uma caixa de vidro.

**Figura 7** - Esquema do sistema em fluxo automatizado desenvolvido neste trabalho para a determinação de surfactantes aniônicos.



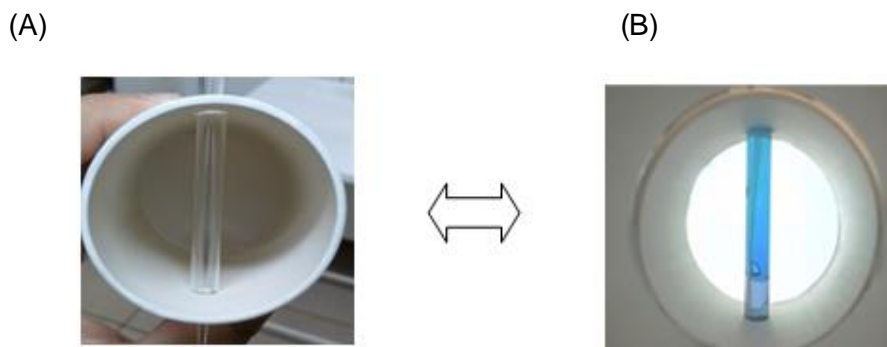
Fonte: próprio autor

##### 3.1.1 Célula de análise

A célula de análise foi desenvolvida empregando um tubo de PVC (4,25 cm de diâmetro e 18,8 cm de comprimento) perfurado para entrada de uma

pipeta de Pasteur (volume interno de 2,5 mL), responsável pela entrada de reagentes e leitura da amostra (Figura 8). Próximo a extremidade de leitura foi inserido um anteparo de polietileno de coloração branca com objetivo de espalhar a luz proveniente da luminária de forma homogênea.

**Figura 8-** Foto da célula de análise desenvolvida vazia (A) e em uso com a fonte luminosa de LED e da amostra com azul de metileno (B)



Fonte: próprio autor

### 3.1.2 Câmara de mistura

A câmara de mistura foi feita utilizando-se um tubo de teflon (2,0 mm de diâmetro x 2,0 metros de comprimento) enrolado em um cano de PVC, cujo objetivo é de misturar sequencialmente os reagentes e encaminhar para a célula de análise (Figura 9).

**Figura 9 -** Câmara de mistura do sistema SIA desenvolvido



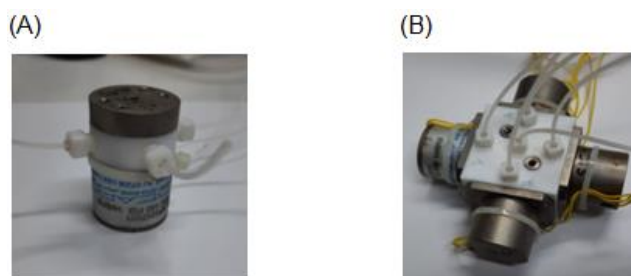
Fonte: próprio autor

### 3.1.3 Válvulas solenóides

Foram utilizadas válvulas solenóides de baixa pressão de três e quatro vias (NResearch, West Caldwell, EUA). As válvulas de três vias (Figura 10 A) foram utilizadas com os objetivos de: contenção (evitar contaminação do sistema em caso de vazamentos), limpeza (limpar a célula de análise após

cada determinação) e controle (controlar a entrada e saída dos reagentes na célula de análise). A válvula de quatro vias (Figura 10 B) foi empregada para aspirar as soluções a serem levadas à câmara de mistura e encaminhar até a célula de leitura.

**Figura 10-** Fotos das válvulas solenóides de três vias (A) e quatro vias (B).



Fonte: próprio autor.

Estas válvulas são compostas basicamente de um pistão de aço inoxidável que se expande (aberta – ligada) ou comprime (fechada – desligada) duas membranas de politetrafluoretileno (PTFE), mudando as vias dos canais das soluções.

### 3.1.4 Bomba peristáltica

Neste trabalho foi utilizada uma bomba peristáltica composta por um motor de passo (GOSO 16 de 1.2 Kgf de torque), adaptado em seu eixo um cabeçote cilíndrico de 6 roletes que esmagam um tubo de silicone de 2 mm de diâmetro, empurrando ou puxando as soluções utilizadas no sistema (Figura 11). O funcionamento desta bomba se dá por meio do drive A4988 acionado via arduíno.

**Figura 11 -** Esquema da Bomba Peristáltica e do driver A4988

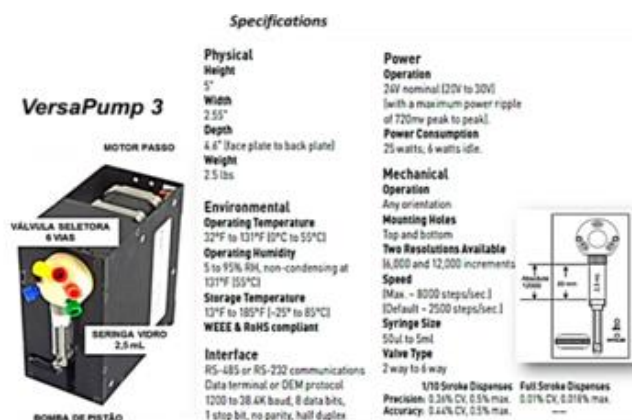


Fonte: Adaptado do site <https://pt.aliexpress.com/item/33029665209> e do site <https://br.pinterest.com/pin/239394536425577822/?lp=true>

### 3.1.5 Bomba de pistão Kloehn Versapump 3

Foi utilizado uma bomba de pistão (KloehnVersapump 3) com seringa de vidro com capacidade de 2,5 mL (Figura 12). O acionamento do pistão e da válvula seletora foi controlado por um microcomputador via porta RS232 através do software lab-made (SIA Control).

**Figura 12** - Bomba de pistão KloehnVersaPump 3



Fonte: Hardware user's Manual for the Versapump 3.

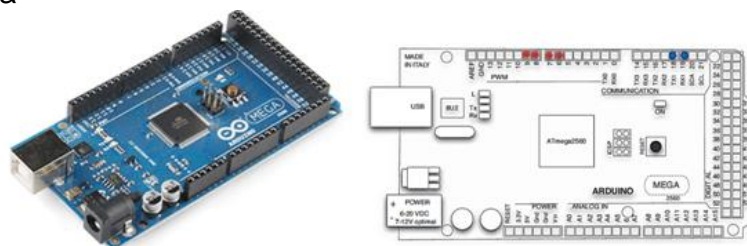
### 3.1.6 Microcomputador

Foi utilizado um microcomputador Intel Core 2 Duo Q8200 de 2.33 GHz, 4 GB de RAM com velocidade de 533 MHz. HD SSD Kingston A400, 120 GB. Placa de vídeo NVIDIA Geforce GT430 – 1 GB DDR3 128-bits. Windows 7, 32 bits. Monitor SyncMaster 710N de 15".

### 3.1.7 Placa Arduíno

Para o acionamento da bomba de pistão e válvulas solenóides foi utilizado uma placa Arduíno Mega 2560 R3 (Figura 13).

**Figura 13** – Imagem da placa Arduíno Mega 2560 R3 com os pinos e layout do Arduíno Mega



Fonte: Hochenbaum et al., 2013.

A programação da placa Arduino Mega 2560 foi realizada utilizando o Arduino IDE (Versão 1.6.5 - Windows) disponível gratuitamente de <http://Arduino.cc/en/Main/Software>.

### 3.1.8 Webcam Logitech HD Pro C920

Foi utilizado uma Webcam Logitech HD Pro C920 cujas especificações estão descritas na Tabela 1 para a captura das imagens digitais provenientes do sistema SIA proposto.

**Tabela 1** - Especificações Técnicas da Webcam Logitech HD Pro C920

TIPO DE CONEXÃO	USB
PROTOCOLO USB	USB 2.0
USB VID_PID	082D
SUORTE A UVC	SIM
MICROFONE	SIM
TIPO DE MICROFONE	ESTÉREO
TIPO DE LENTES E SENSOR	VIDRO
TIPO DE FOCO	AUTOMÁTICO
RESOLUÇÃO ÓPTICA	REAL:3 MP SOFTWARE OTIMIZADO: 15 MP
CAMPO DE VISÃO (CDV) DIAGONAL	78,0°
CAMPO DE VISÃO (CDV) HORIZONTAL	70,42°
CAMPO DE VISÃO (CDV) VERTICAL	43,3
COMPRIMENTO FOCAL	3,67MM
CAPTURA DA IMAGEM (4:3 PADRÃO)	N/D
CAPTURA DA IMAGEM (16:9 W)	2,0 MP, 3 MP*, 6 MP*, 15 MP*
CAPTURA DE VÍDEO (4:3 PADRÃO)	N/D
CAPTURA DE VIDEO (16:9 W)	360 P, 480 P, 720 P (HD), 1080 P (FULL HD)
TAXA DE QUADROS (MÁX.)	1080 P A 30 FPS
RIGHTLIGHT	RIGHTLIGHT 2
FORMATO DE VÍDEO	RGBDE 24 BITS (8 BITS POR CANAL)
REQUISITOS DE SISTEMA	REQUISITOS BÁSICOS MÍNIMO DE CPU = 1,0 GHZ CPU RECOMENDADA = CORE 2 DUO 2,4 GHZ OU SUPERIOR MÍNIMO DE RAM = 256 RAM RECOMENDADA = 2GB  REQUISITOS DE HD MÍNIMO DE CPU = CORE 2 DUO 2,4 GHZ OU SUPERIOR CPU RECOMENDADA = I7 QUAD CORE 2,6 GHZ OU SUPERIOR MÍNIMO DE RAM = 2GB RAM RECOMENDADA = 4 GB  COMPATIBILIDADE WINDOWS® 7 OU SUPERIOR MACOS 10.10 OU SUPERIOR CHROME OS™

**Fonte:** Adaptado do site LOGITEC. Disponível em <<https://support.logi.com/hc/pt-br/articles/360023307294-Especificações-técnicas-do-C920>>

O software utilizado para captura das imagens foi o Logitech® *Webcam Software* (versão 2.3). Os arquivos foram armazenados no formato de JPEG (*Joint Photographic Experts Group*) com compressões de 95% de qualidade (Figura 14). As imagens JPEG (ou JPG como também é chamado) aceitam ao redor de 16,8 milhões de cores e os arquivos podem ter diferentes níveis de compressão. Quanto maior for a compressão, menor será o tamanho do arquivo e a sua qualidade.

As cores possíveis em uma imagem digital de 24 bits são produzidas usando 8 bits para cada cor (vermelho, verde e azul) no espaço de cores *RGB*. Isso fornece 2<sup>8</sup> ou 256 valores para cada uma das três cores, que combinadas permitem 256 x 256 x 256 ou 16.777.216 cores.

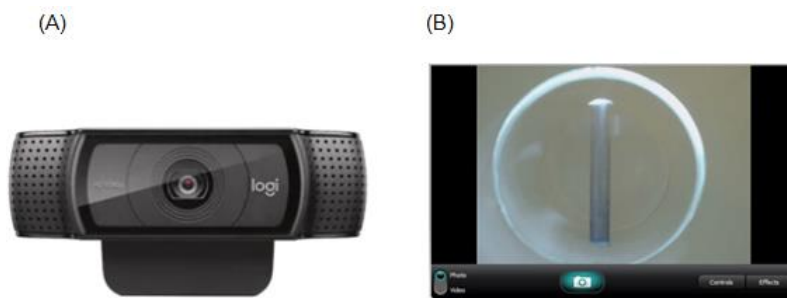
**FIGURA 14** - Propriedades da imagem proveniente da Webcam Logitech HD Pro C920

Nome do arquivo:	C21103.jpg
Pasta:	D:\QuantColour\Curva 11-03-19\
Atalho completo:	D:\QuantColour\Curva 11-03-19\C21103.jpg
Compressão:	JPEG, quality: 95, subsampling ON (2x2)
Resolução:	96 x 96 PPP <input type="button" value="Alterar"/>
Tamanho original:	1920 x 1080 Pixels (2.07 MPixels) (16:9)
Tamanho atual:	1920 x 1080 Pixels (2.07 MPixels) (16:9)
Tam. impressão (em)	50.8 x 28.6 cm; 20.00 x 11.25 inches
Cores originais:	16,7 Milhões (24 BitsPerPixel)
Cores atuais:	16,7 Milhões (24 BitsPerPixel)
Nº de cores primárias:	38855 <input checked="" type="checkbox"/> Contagem Automática
Tamanho no disco:	186.22 KB (190.687 Bytes)
Tamanho memória atual:	5.93 MB (6.220.840 Bytes)
Índice da pasta atual:	5 / 26
Data/hora do arquivo:	05/06/2009 / 02:26:33
Carregado em:	31 milissegundos

Fonte: software IrfanView (versão 4.58 – 64 bits)

A *webcam* foi posicionada em um tubo de PVC para diminuir o efeito da iluminação exterior, focando apenas na iluminação dentro da célula de análise (proveniente da luminária de mesa). As imagens capturadas e armazenadas no software foram salvas no computador para posterior análise das intensidades *RGB*. A Figura 15 traz a imagem da *webcam* utilizada neste trabalho.

**Figura 15** - Imagem da (A) Webcam Logitech HD Pro C920 e (B) Imagem da célula de análise feita pelo software da webcam Logitech (versão 2.3).



Fonte: próprio autor.

## 3.2 SOFTWARES DE CONTROLE E TRATAMENTO DE DADOS

### 3.2.1 SIA CONTROL

O software SIACONTROL (Figura 16) foi desenvolvido pelo professor Dr. Carlos Alberto Paulinetti da Camara do grupo DIA (Desenvolvimento de Instrumentação, Automação e Metodologia Analítica – DQ-UEL) em linguagem de programação *Borland C++ Builder 6.0*, compatível com a plataforma *Windows®* - 32 bits.

**Figura 16** – (A) Abreviatura dos macrocomandos e suas funções como exemplo de programação para execução automática de uma etapa do experimento. (B) Imagem digitalizada do software SIACONTROL.

**A**

**Etapa - aspiração dos reagentes para a câmara de mistura**

Macro	Tempo ou volume	Macro	Tempo ou volume
ts	2	lv1	
sva	1	ts	1
ts	1	svp	0,433
lv2		ts	1
ts	1	dv1	
svp	0,258	ts	1
ts	1	lv4	
dv2		ts	1
ts	1	svp	0,308

**MACROCOMANDOS**

- lvn e dvn – ligar e desligar válvula n (n = 1, 2, 3, 4)
- ts – tempo (segundos)
- lva – ligar válvula de 4 vias
- sva – selecionar porta da válvula solenóide (bomba de pistão)
- svp e svd – aspirar e expirar volume (pistão)
- lbp e dbp – ligar e desligar bomba peristáltica
- vaz – vazão da bomba peristáltica
- lp – ligar válvula solenóide

**B**

SEQUENTIAL INJECTION ANALYSIS - CONTROL

INITIALIZE [ ] FIRMWARE [ ] XXXXXXX [ ] ?

SYRINGE | VALVES | MACROS | SERIAL

RUN [ ] CLS [ ] OPEN [ ] SAVE [ ] COPY PASTE [ ] CLS [ ] COPY PASTE [ ]

1	2	3	4	5	SF	ROW	1	N.A.
ts	2							
SVR	1							
ts	1							
lv2								
ts	1							
SVD	0,258							
ts	1							
dv2								

CLS [ ] SF SERIAL READ [ ]

LOOP 1 LOOP 2 LOOP 3

HOME [ ] STEP [ ] ON [ ] VOLUME [ ] 0 [ ] 1 [ ] 2 [ ] 0 (MAX) [ ] 0 [ ]

CO	LOOP	CO	LOOP	CO	LOOP
CO	LOOP	CO	LOOP	CO	LOOP
CO	LOOP	CO	LOOP	CO	LOOP
CO	LOOP	CO	LOOP	CO	LOOP

Syringe Volume (ml) [ 0 ] SERIAL - 1 [ ] SERIAL - 2 [ ]

VALVES 1 2 3 4 5 6 VERSA

CONFIRMATION 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 VOLUME PER [ ] CAPC

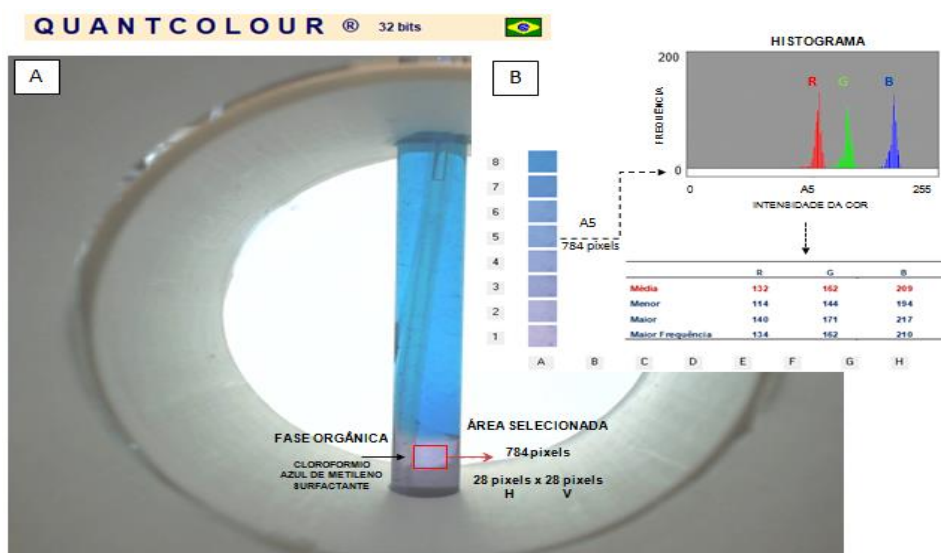
Fonte: Próprio autor

Através deste software é possível controlar o acionamento programado da seringa, das válvulas solenóides, e da bomba peristáltica no processo de análise. Neste caso, os macrocomandos são acionados na janela de programação e lidos sequencialmente durante a execução do experimento. Os macrocomandos permitem realizar diferentes etapas da marcha analítica, programadas e executadas, que se adequam de acordo com condições reacionais pertinentes a cada método.

### 3.2.2 QuantColour®

O software QuantColour responsável pela análise e tratamento dos dados foi desenvolvido pelo professor Dr. Carlos Alberto Paulinetti da Camara e colaboradores do grupo DIA em linguagem *Microsoft Visual Basic 6.0*, compatível com a plataforma *Windows® - 32 bits* (Figura 17).

**Figura 17 -** (A) Imagem digital utilizada para o processamento dos dados por meio do software QuantColour, em que se seleciona a área de interesse da fase orgânica, contendo o clorofórmio, azul de metileno e o surfactante aniônico a ser quantificado. (B) Histograma de frequência de cores R, G e B utilizado para determinação das intensidades de sinais, proporcionais as concentrações na curva analítica.

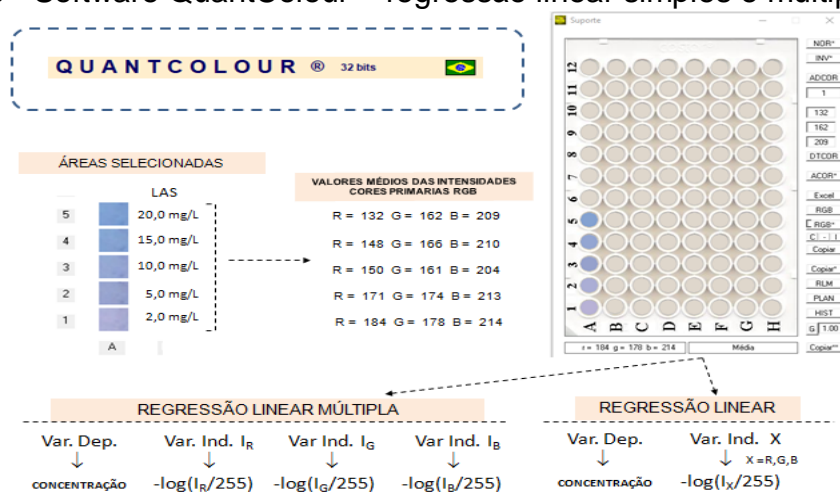


Fonte: Próprio autor

O software insere a imagem digitalizada em uma janela gráfica e em seguida seleciona uma área da imagem de 784 pixels, onde são identificadas em cada pixel a intensidade das cores primárias, *RGB* (Figura 17 A). A partir do histograma da área de interesse selecionada, em que são calculados os

valores médios das intensidades das cores primárias RGB (Figura 17 B). O software possibilita normalizar os dados obtidos (Figura 18) e calcular as regressões lineares simples de cada cor primária R, G ou B ou múltipla, que utiliza a regressão média das três cores para a quantificação baseada nas curvas analíticas.

**Figura 18** - Software QuantColour – regressão linear simples e múltipla



Fonte: Próprio autor

Este *software* QuantColour® possui recursos gráficos que facilitam a visualização de curvas analíticas e seu tratamento (normalização por intercalação ou remoção de pontos; inversão de sinal; subtração do branco, entre outras funções). O mesmo permite também a transferência direta dos dados experimentais para a planilha eletrônica Microsoft Excel® para tratamentos posteriores (Correlação, Análise da Variância, Regressão Linear, Ajuste Não Linear, entre outros).

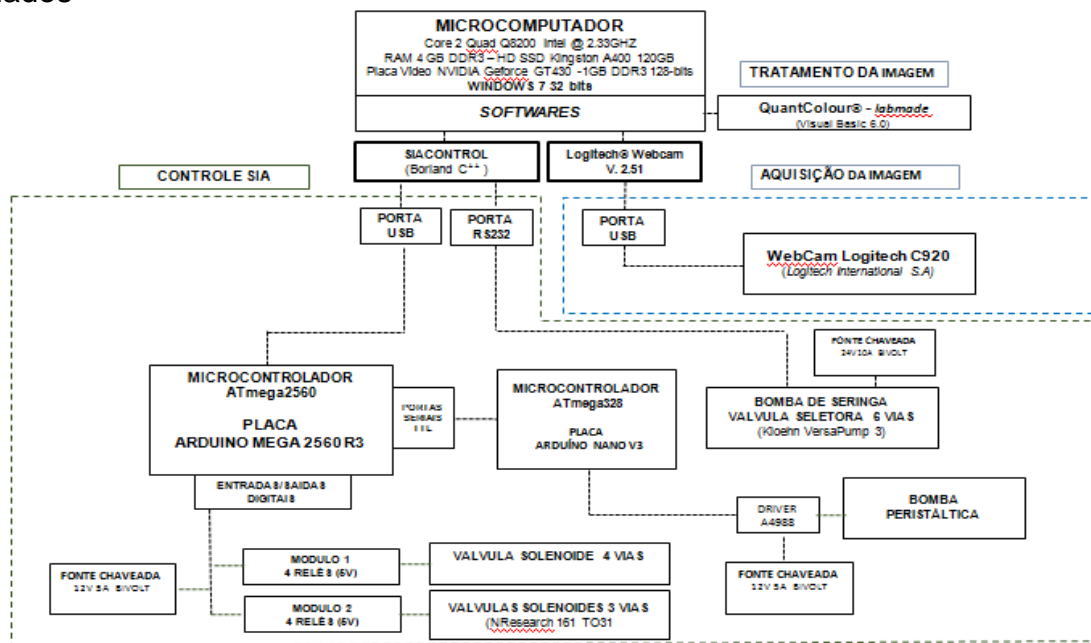
### 3.3 AUTOMAÇÃO DO SISTEMA

A automação do sistema e execução das etapas que caracterizam a análise sequencial é realizada via micro controlador Atmega 256 por meio de placa Arduino Mega 2560, conectada a porta USB do microcomputador (Figura 19).

O software lab-made SIACONTROL permite a conversão dos sinais Analógico em Digital (A/D), assim como digital em analógico (D/A). Os comandos são enviados sequencialmente ao microcontrolador Atmega 2560,

possibilitando o controle de funcionamento – acionando ou desativando as portas digitais e o acionamento da bomba peristáltica feita via porta serial TTL.

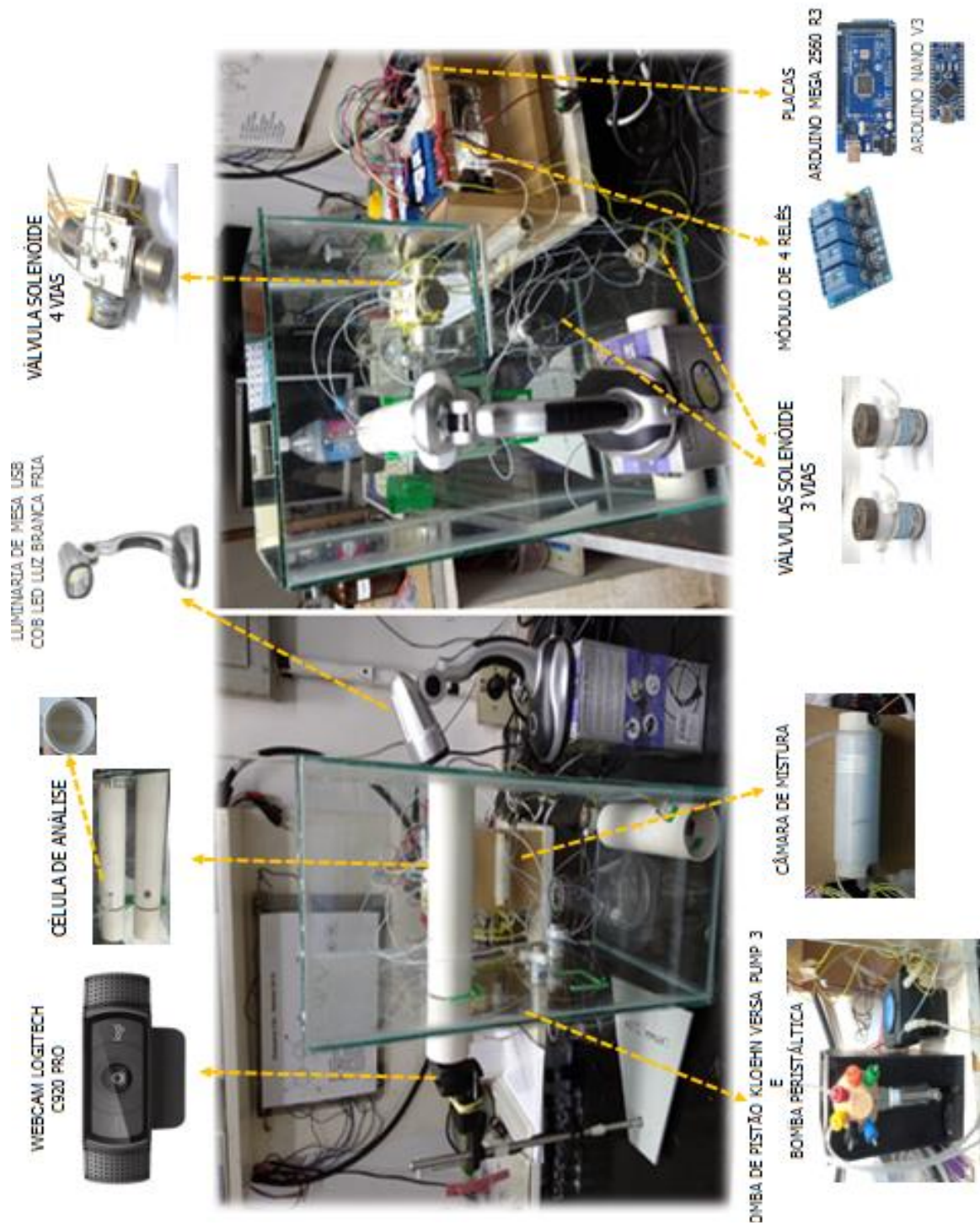
**Figura 19** - Fluxograma dos módulos de controle utilizados para o funcionamento da Análise por Injeção Sequencial (SIA) para aquisição dos dados



Fonte: próprio autor

A Figura 20 apresenta a imagem do sistema em fluxo desenvolvido para determinação de surfactantes aniônicos em efluentes provenientes da lavagem veicular.

**Figura 20** – Imagem do sistema instrumental automatizado proposto neste trabalho, englobando a etapa de extração líquido-líquido em sistema fechado e a determinação quantitativa dos surfactantes pela imagem digital em fluxo SAI



Fonte: próprio autor

### 3.4 COLETA DOS EFLUENTES

Os efluentes foram coletados no setor de lavagem de veículos da prefeitura do campus da Universidade Estadual de Londrina e em um lava rápido na região oeste de Londrina. Nestes dois estabelecimentos são lavados veículos leves e pesados. As amostras foram coletadas em frascos de polietileno (logo após o processo de lavagem de veículos) e armazenadas em câmara fria (8°C) para posteriores análises.

### 3.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

#### 3.5.1 Determinação de surfactantes pelo método espectrofotométrico

Devido ao método oficial de análise do Standard Methods requerer um grande consumo de reagentes (35 mL de clorofórmio), material laboratorial em vidro, além de um grande tempo de análise (aproximadamente 20 minutos por análise), optou-se por fazer as análises de surfactantes no efluente pelo método descrito na literatura por Jurado e colaboradores (2006). Desta forma, o método de Jurado foi tomado como referência, considerando que este produziu resultados equivalentes aos do método oficial recomendado, com maior simplicidade, redução no consumo de reagentes (5 mL de clorofórmio) e redução de tempo (aproximadamente 10 minutos por análise).

Reagentes e soluções:

- Ácido dodecil benzeno sulfônico (LAS) (Sigma- Aldrich, 80%). Preparou-se uma solução estoque de LAS de 1,0 g/L em pH neutro. Preparou-se por meio da diluição da solução estoque uma nova solução na concentração de 0,02 g .L<sup>-1</sup> LAS.
- Solução tampão de tetraborato de sódio (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, p.a. Química moderna) 50,0 mmol.L<sup>-1</sup> em pH 10,5.
- Clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>, p.a.,Biotec).
- Reagente Azul de Metileno. Dissolveu-se 0,10 g de azul de metileno (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>S, p.a.,Merk) em 100,0 mL de tampão tetraborato de sódio 10 mmol L<sup>-1</sup> e o pH ajustado para 5,5. Esta solução foi mantida em um frasco escuro.

Equipamentos:

- Espectrofotômetro UV-Vis comercial (Shimadzu® UV Mini 1240)
- Cubeta de vidro de 10 mm de caminho óptico
- Tubos de ensaio de vidro tubulares com tampa (15,00 mL).

Procedimento analítico:

Para a construção da curva analítica (Tabela 2) utilizou-se as concentrações de 0,00; 0,19; 0,48; 0,97; 1,45 e 1,94 mg L<sup>-1</sup> de LAS respectivamente. Estas concentrações foram preparadas a partir das soluções de 0,02 g L<sup>-1</sup> de LAS.

**Tabela 2** - Volumes de reagente utilizados para a construção da curva analítica para análise de surfactantes aniônicos (Jurado et al., 2006) empregando espectrofotômetro UV como referência

Ensaio	Clorofórmio (mL)	Água (mL)	Azul de metileno (mL)	Tetraborato de sódio (mL)	Padrão LAS (mL)	Água (mL)	Vol.final (mL)
<b>1</b>	4,00	5,00	0,10	0,20	0,00	1,00	10,30
<b>2</b>	4,00	5,00	0,10	0,20	0,10	0,90	10,30
<b>3</b>	4,00	5,00	0,10	0,20	0,15	0,85	10,30
<b>4</b>	4,00	5,00	0,10	0,20	0,25	0,75	10,30
<b>5</b>	4,00	5,00	0,10	0,20	0,50	0,50	10,30
<b>6</b>	4,00	5,00	0,10	0,20	0,75	0,25	10,30
<b>7</b>	4,00	5,00	0,10	0,20	1,00	0,00	10,30

Fonte: próprio autor

Para determinação de surfactantes na amostra foram utilizados os volumes descritos na Tabela 3.

**Tabela 3**- Volumes de reagente utilizados na determinação de surfactantes aniônicos em amostras de águas resultantes da lavagem de veículos, empregando espectrofotometria UV-Vis

Ensaio	Clorofórmio (mL)	Água (mL)	Azul de metileno (mL)	Tetraborato de sódio (mL)	Amostra (mL)	Água (mL)	Vol.final (mL)
<b>AM1</b>	4,00	4,75	0,10	0,20	0,25	1,00	10,30
<b>AM2</b>	4,00	4,75	0,10	0,20	0,25	1,00	10,30

AM1 – água de lavagem de veículos coletada no campus da Universidade Estadual de Londrina.

AM2 – água de lavagem de veículos coletada em um lava rápido na região oeste de Londrina.

Fonte: próprio autor

Tanto para a curva analítica, quanto para a amostra foi feita agitação manual dos tubos de forma vigorosa durante 1 minuto. O tubo foi deixado em repouso por 5 minutos e então a fase orgânica, que se encontra na parte inferior do tubo, foi retirada com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e esta

alíquota foi transferida para a cubeta de vidro, cuja leitura foi feita em espectrofotômetro (650 nm).

### 3.5.2 Determinação de surfactante pelo sistema instrumental SIA proposto

Os mesmos reagente utilizados pelo método espectrofotométrico foram utilizados para o sistema em fluxo desenvolvido.

Equipamentos:

- Sistema SIA desenvolvido e tubos de ensaio de vidro tubulares com tampa (15,0 mL)

Procedimento analítico:

Para a construção da curva analítica utilizou-se as concentrações de 0,00; 0,19; 0,48; 0,97; 1,45 e 1,94 mg L<sup>-1</sup> de LAS (ensaio 1 à 6). Estas concentrações foram preparadas a partir de uma solução padrão 20,0 mg L<sup>-1</sup> de LAS como descrito na Tabela 4

**Tabela 4** - Volumes de reagentes utilizados no preparo da curva analítica pelo sistema SIA desenvolvido

Ensaio	Padrão LAS 20,0 mg L <sup>-1</sup> (mL)	Água (mL)	Vol. Final (mL)
1	0,00	10,30	10,30
2	0,10	10,20	10,30
3	0,25	10,05	10,30
4	0,50	9,80	10,30
5	0,75	9,55	10,30
6	1,00	9,30	10,30

Fonte: próprio autor

Para a determinação da concentração do surfactante, em um tubo de ensaio de vidro tubular com tampa adicionou-se 0,25 mL da amostra e completou-se o volume para 10,30 mL. Esta amostra foi utilizada para a determinação de surfactantes pelo sistema instrumental automatizado desenvolvido.

Em um tubo de ensaio de vidro com tampa, adicionou-se 5,0 mL de azul de metileno e 5,0 mL de tampão tetraborato de sódio 50,0 mmol L<sup>-1</sup>, agitou-se o frasco manualmente por 10 segundos para homogeneização e deixou apto

para as análises. Em outro tubo de vidro adicionou-se 15,0 mL de clorofórmio p. a. e vedou-se a tampa com fita de PTFE para evitar volatilização durante o processo.

Com os reagentes colocados em suas posições de análise, o sistema inicia com a aspiração da solução carregadora (água destilada) pelo pistão e posterior expiração para preenchimento do caminho. Na sequência os três reagentes (clorofórmio, azul de metileno com tetraborato e o padrão ou amostra) são aspirados em direção à câmara de mistura (308, 433 e 258  $\mu\text{L}$  respectivamente), através das portas 1, 2 e 3 da válvula solenóide de 4 vias. Por inversão do sentido de fluxo da bomba de pistão a mistura é dispensada em direção à célula de análise, formando duas fases. A mistura é mantida na célula de análise, enquanto a bomba peristáltica é acionada para introduzir bolhas de ar na mistura por 20 segundos com o objetivo de melhorar a extração. Na sequência, a mistura fica em repouso por mais 10 segundos, onde é obtida a imagem digitalizada por meio da *webcam* e armazenada para posterior análise. A válvula solenóide é então desligada, havendo a expiração da mistura por gravidade. A bomba peristáltica é então acionada novamente, levando água destilada para limpeza da célula de análise. Cada ciclo se encerra com a limpeza da célula de análise e caminho pela solução carregadora.

### 3.6 PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO PARA O MÉTODO AUTOMATIZADO PROPOSTO

Os parâmetros de validação para o método proposto seguiram a normativa da ANVISA RDC 166/17 (BRASIL, 2017). Foi avaliado por meio da linearidade, limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão e exatidão.

#### 3.6.1 Linearidade

A faixa linear para o método foi avaliada por meio da construção da curva analítica considerando as concentrações de 0,19 a 7,28  $\text{mg L}^{-1}$  de LAS a partir da solução estoque 20,0  $\text{mg L}^{-1}$  avaliada pelo coeficiente de determinação  $R^2$  (BRASIL, 2017).

### 3.6.2 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram calculados através da relação entre o desvio padrão do intercepto da curva analítica e sua inclinação, usando o fator multiplicador sugerido pela ANVISA. A estimativa desses valores pode ser feita conforme as Equações 1 e 2:

$$LD = \frac{DP \times 3}{IC} \quad \text{Eq. 1} \quad LQ = \frac{DP \times 10}{IC} \quad \text{Eq. 2}$$

Em que:

*IC* é a inclinação da curva analítica e *DP* é o desvio padrão do intercepto com eixo *Y* das 3 curvas analíticas (BRASIL, 2017).

### 3.6.3 Precisão

A precisão intradia ( $n=10$ ) foi verificada pela repetibilidade contemplando o intervalo linear do método, nas concentrações baixa ( $0,19 \text{ mg L}^{-1}$ ), média ( $0,97 \text{ mg L}^{-1}$ ) e alta ( $1,94 \text{ mg L}^{-1}$ ), com três réplicas cada, determinada pelo mesmo analista, equipamento e dia (BRASIL, 2017). A precisão interdia ( $n=2$ ) foi realizada também contemplando as concentrações baixa, média e alta determinadas no mesmo equipamento, em dias diferentes. Os desvios padrão relativos (DPR%) foram calculados entre as réplicas a fim de determinar a precisão do método (BRASIL, 2017).

### 3.6.4 Exatidão

A exatidão foi avaliada a partir da recuperação de quantidades conhecidas de soluções de LAS padrão, nos níveis de concentração baixo ( $0,19 \text{ mg L}^{-1}$ ), médio ( $0,97 \text{ mg L}^{-1}$ ) e alto ( $1,94 \text{ mg L}^{-1}$ ) adicionados na amostra. As quantidades de LAS recuperadas foram calculadas utilizando-se a curva analítica (BRASIL, 2017).

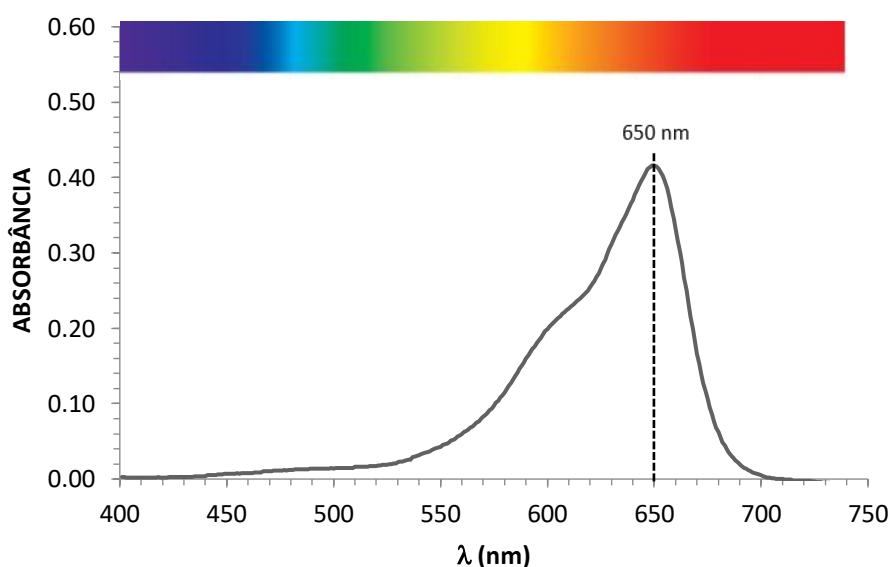
## 4 RESULTADO E DISCUSSÃO

### 4.1 TRATAMENTO DE IMAGENS DIGITAIS

As análises químicas envolvendo o tratamento por imagens digitais se baseiam na radiação refletida das amostras e não na atenuação da radiação eletromagnética, como empregado na espectrofotometria. Assim sendo, quanto maior a concentração da solução, menor será a intensidade refletida (haverá uma maior absorção nesta solução).

Considerando que neste trabalho utiliza-se o corante azul de metileno para formação de um par iônico com o surfactante, a Figura 21 apresenta o espectro de absorção do corante na faixa de 400 à 700 nm.

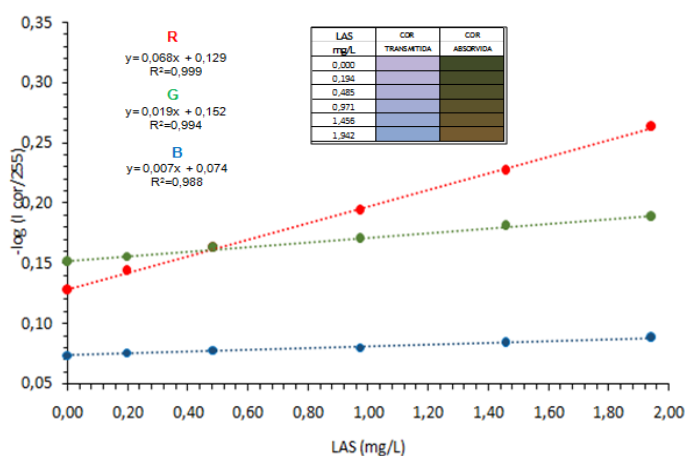
**Figura 21** - Espectro de absorção do corante azul de metileno



Fonte: Próprio autor

Verifica-se que este absorve radiação em quase toda região do visível. Absorve com baixa intensidade na região do azul até o amarelo e com maior intensidade na região do vermelho, apresentando um máximo de absorção em 650 nm.

**Figura 22** - Curva analítica para a solução de surfactante (LAS) com azul de metileno utilizando o sistema instrumental proposto nas diferentes intensidades de cores primárias (R, G, B)

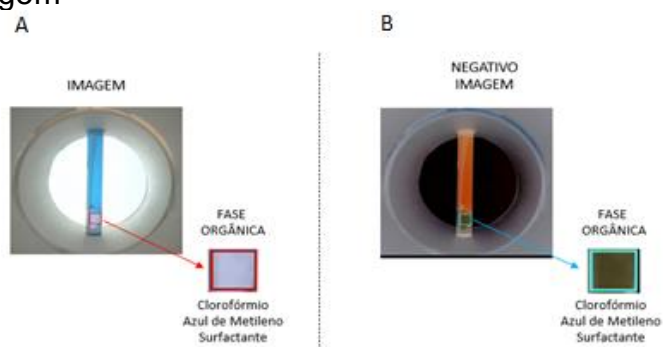


Fonte: Próprio autor

As intensidades médias das cores primárias foram obtidas a partir da área selecionada (784 pixels) de cada imagem. Foi realizada a normalização do eixo da intensidade da cor primária ao se dividir por 255 (valor máximo que cada componente pode assumir), obtendo assim a representação gráfica em menor escala. Além disto, adotou-se a forma logarítmica da intensidade na cor primária normalizada, para linearizar o gráfico de forma a facilitar a análise dos dados.

A escolha da melhor intensidade de cor primária para o sistema foi feita considerando o negativo da imagem digital e a avaliação das inclinações das curvas analíticas (com as concentrações variando de 0,00 a 1,94 mg L<sup>-1</sup> de LAS) para o R, G e B (Figuras 22 e 23).

**Figura 23** - Imagem digital obtida no sistema instrumental automatizado em fluxo SIA com análise por imagem digital proposto. (A) imagem sem correção e (B) negativa da imagem



Fonte: Próprio autor

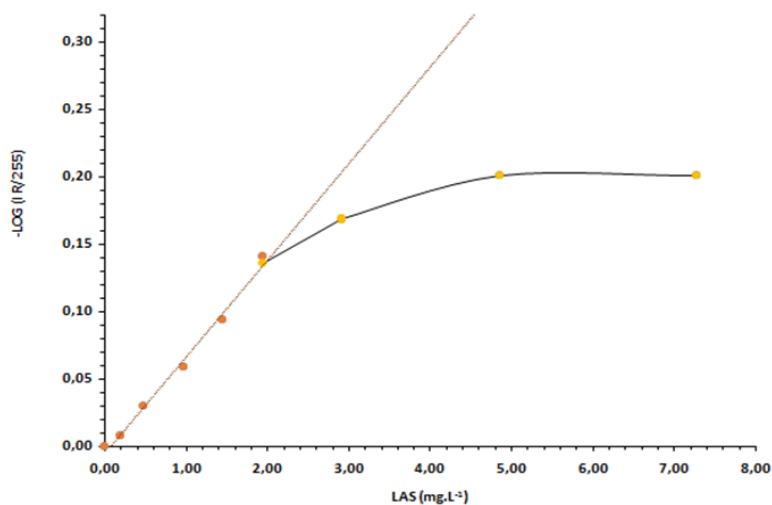
Considerando a análise do negativo da imagem digitalizada (Figura 23) e das inclinações das retas das curvas analíticas da Figura 22, verifica-se maior sensibilidade de calibração, quando se trabalha com a intensidade da cor primária *R* (vermelho). Verifica-se também que a cor primária *G* (verde) varia menos em relação ao vermelho. Já a intensidade da cor primária *B* (azul), por apresentar maior intensidade refletida, varia menos ainda com a concentração da amostra. Para o presente trabalho, optou-se por trabalhar com a intensidade de cor *R*, levando em conta que esta apresenta maior sensibilidade, considerando a maior inclinação da curva analítica (Figura 22).

#### 4.2 PERFORMANCE ANALÍTICA

O sistema desenvolvido para determinação de surfactantes apresenta uma velocidade analítica de 23 determinações por hora. Apesar de considerarmos uma boa velocidade analítica, vale destacar que a mesma é afetada pelos processos de limpeza do sistema, que tende a ficar mais trabalhoso a medida que as análises vão sendo realizadas, uma vez que o corante azul de metileno utilizado vai aderindo à superfície da célula de análise e caminho analítico, tornando a limpeza mais complexa.

A performance analítica foi avaliada pelos parâmetros de validação: faixa de linearidade, limite de detecção e quantificação, precisão (intradia e interdias), exatidão (adição e recuperação) e comparação dos resultados obtidos empregando-se o método adaptado descrito por Jurado e colaboradores (2006) utilizando detecção espectrofotométrica UV-Vis. A faixa linear para o método foi avaliada considerando as concentrações de 0,19 a 7,28 mg L<sup>-1</sup> de LAS (Figura 24).

**Figura 24** - Avaliação da linearidade do método para o sistema em fluxo desenvolvido

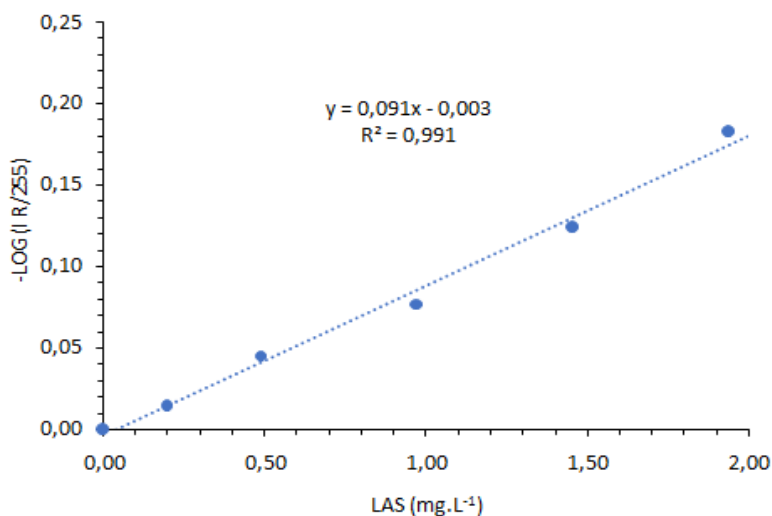


Fonte: Próprio autor

Observa-se que para o sistema desenvolvido a faixa linear obtida foi de 0,19 a 1,94 mg L<sup>-1</sup> de LAS, ocorrendo o desvio acima desta concentração, como pode ser observado no gráfico da Figura 24.

O tratamento dos dados da curva analítica (Figura 25) por regressão linear pelo método de mínimos quadrados, forneceu um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,991, indicando uma boa linearidade no intervalo de concentração de 0,19 à 1,94 mgL<sup>-1</sup>. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram, respectivamente, de 0,059 e 0,198 mgL<sup>-1</sup>

**Figura 25** - Curva analítica para a determinação de surfactante aniônico LAS em efluente de lavagem veicular



Fonte: Próprio autor.

A precisão intradia e interdias foi avaliada considerando três níveis de concentração (baixo, médio e alto) com as respectivas concentrações 0,19 mg L<sup>-1</sup>, 0,97 mg L<sup>-1</sup> e 1,94 mg L<sup>-1</sup>. Os valores da precisão intradia e interdias estão dispostos na Tabela 5. Os resultados apresentaram desvio padrão relativo (DPR%) menores que 5%, demonstrando a baixa variação entre as medidas e boa concordância com a concentração nominal.

**Tabela 5** - Precisão intradia e interdias para o sistema instrumental desenvolvido

Níveis	Concentração LAS (mg L <sup>-1</sup> )	Interdias (DPR %)*	Intradia (DPR %)**
Baixo	0,19	3,59	3,89
Médio	0,97	1,87	2,41
Alto	1,94	0,07	2,72

\* n=2    \*\* n=10  
 Fonte: Próprio autor

A exatidão do sistema em fluxo desenvolvido foi avaliado através de testes de adição e recuperação em amostra de efluente proveniente da lavagem veicular em três níveis de concentração 0,19 mg L<sup>-1</sup>, 0,97 mg L<sup>-1</sup> e 1,94 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 6).

**Tabela 6** - Ensaio de recuperação para avaliar a exatidão do sistema instrumental e método proposto

Níveis	Adicionado (mg L <sup>-1</sup> )	Encontrado (mg L <sup>-1</sup> )	DPR* (%)	Recuperação (%)
Baixo	0,19	0,14	2,46	75,2
Médio	0,97	0,76	6,08	79,9
Alto	1,94	1,36	2,36	69,9

\*desvio padrão relativo n=3

Fonte: Próprio autor

A faixa de recuperação ficou entre 69,9 e 79,9 % nas condições experimentais testadas. Considerando o volume reduzido de reagentes empregados neste sistema de análise (308 µL de clorofórmio) e da volatilidade do clorofórmio, a faixa de recuperação se mostra satisfatória e adequada entre 70 – 120% (BRASIL, 2017).

Com o sistema montado e nas melhores condições de resposta experimental determinou-se as concentrações para duas amostras de efluentes

provenientes da lavagem veicular e uma amostra simulada considerando as respostas obtidas da curva analítica. Os resultados estão apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7** - Concentração das amostras obtidas pelo sistema instrumental e método proposto

Amostra	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	DP**
1	0,87	± 0,069
2	0,56	± 0,039
3*	1,47	± 0,004

\*amostra simulada\*\*desvio padrão (DP) n=3

Fonte: Próprio autor

Devido as amostras terem sido diluídas, as concentrações obtidas para as amostras 1 e 2 foram multiplicadas por um fator de diluição igual a 41,2 e para a amostra 3 (simulada) foi multiplicada por um fator de diluição igual a 13,7 (Tabela 8).

**Tabela 8** - Concentração das amostras obtidas pelo sistema instrumental e método proposto

Amostra	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
1	35,84
2	23,07
3*	20,18

Fonte: próprio autor

Destaca-se que, como os efluentes (amostras) foram coletados logo após a lavagem veicular, as concentrações obtidas foram maiores do que a máxima permitida pelas legislações ambientais (CONAMA, 2005). Para uma comparação adequada, o efluente deveria ter sido coletado no estágio final do seu percurso, porém como o objetivo deste trabalho foi avaliar o sistema em fluxo desenvolvido, os resultados demonstraram-se satisfatórios.

Tomando como referência as concentrações de surfactantes obtidas pelo método espectrofotométrico descrito por Jurado et al (2006), foi calculada a correlação entre os resultados obtidos empregando os dois métodos. A Tabela 9 expõe as concentrações de surfactantes obtidos pelo método descrito por Jurado et al (2006) e pelo sistema instrumental e método proposto neste trabalho.

**Tabela 9-** Concentração de surfactantes obtidos pelo método espectrofotométrico (Jurado et al., 2006) e pelo sistema instrumental automatizado e método proposto

Amostra	Método espectrofotométrico (Jurado et al.,2006)		Método SIA proposto	
	Surfactante (mgL <sup>-1</sup> )	DP**	Surfactante (mgL <sup>-1</sup> )	DP**
1	0,81	± 0,013	0,87	± 0,069
2	0,55	± 0,021	0,56	± 0,039
3*	1,56	± 0,050	1,47	± 0,004

\* amostra simulada \*\* desvio padrão com n=3

Fonte: Próprio autor

Para avaliar a variância visando verificar se há diferença significativa em nível de 5% de significância entre os resultados de quantificação dos surfactantes efetuados empregando os dois métodos, aplicou-se ANOVA fator duplo com repetição.

A partir da Tabela 10 foi possível analisar alguns pontos importantes referentes às interações existentes, bem como, quanto a equivalência entre o método espectrofotométrico e o método em fluxo desenvolvido.

**Tabela 10** - Tabela fornecida pela ferramenta de análise ANOVA: fator duplo com repetição para análise de surfactantes

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
<b>Amostra</b>	2,896764	2	1,448382	902,6447	8,29E-14	3,885294
<b>Colunas</b>	0,000553	1	0,000553	0,344897	0,567902	4,747225
<b>Interações</b>	0,016477	2	0,008238	5,134254	0,024487	3,885294
<b>Dentro</b>	0,019255	12	0,001605			
<b>Total</b>	2,933049	17				

SQ: Soma Quadrática; gl: grau de liberdade; MQ: Média Quadrática; F: MQ<sup>2</sup>/MQ<sup>2</sup>; Valor-P: 0,05

Fonte: próprio autor

Analisando os valores das linhas da Tabela 10, referentes a amostra verifica-se que o valor-P ( $8,29 \times 10^{-14}$ ) é menor do que o nível de significância (0,05), e o valor de F (902,6447) maior que o F crítico (3,885294), o que indica que o efluente contido na amostra influencia na concentração de surfactante. Analisando entre as colunas (análise dos métodos utilizados) verifica-se o valor-p (0,567902) maior que o nível de significância (0,05) e o valor de F

(0,0344897) menor que o F crítico (4,747225) demonstrando não haver diferença significativa em termos estatísticos entre os resultados obtidos pelo método espectrofotométrico (Jurado et al., 2006) e pelo sistema SIA desenvolvido. Neste sentido, o sistema em fluxo desenvolvido mostra-se adequado para análise de rotina de surfactantes provenientes de lavagem veicular.

O sistema desenvolvido apresenta a vantagem de se trabalhar com volumes reduzidos de reagentes se comparado ao método oficial de análise e ao método descrito por Jurado e colaboradores (2006) (Tabela 11).

**Tabela 11** – Volumes gastos de reagentes nos métodos de análise de surfactantes

Reagentes	Método oficial (mL)	Jurado et al., 2006 (mL)	Sistema SIA proposto
<b>Clorofórmio</b>	35,00	4,00	0,31
<b>Amostra</b>	100,00	0,25	0,25

Fonte: próprio autor

Considerando os volumes de reagentes utilizados descritos na Tabela 10, verifica-se uma redução de 92% no consumo de reagente orgânico clorofórmio se comparado com o método adaptado proposto por Jurado et al. (2006).

O software SIACONTROL desenvolvido mostrou-se adequado no controle do processamento do experimento, controlando o acionamento programado da seringa, das válvulas solenóides, e bomba peristáltica com eficiência no processo de análise. O software QuantColour mostrou-se eficiente no tratamento dos dados, possibilitando vantagens como: normalizar as imagens por intercalação ou remoção de pontos, inversão de sinal, subtração do branco, além de selecionar a parte de interesse na imagem (evitando regiões com microbolhas). Com este é possível normalizar os dados obtidos, além da possibilidade de correção das imagens por meio de filtros digitais.

## 5 CONCLUSÃO

O sistema automatizado, assim como os softwares de controle e aquisição de dados desenvolvidos pelo grupo DIA apresentaram versatilidade e fácil manuseio, podendo ser empregados de forma adequada em análises laboratoriais de rotina.

Por ser fechado, o sistema evita a volatilização do solvente orgânico clorofórmio, minimizando os erros associados à análise e a exposição do analista à vapores tóxicos provenientes deste solvente. Além disto, apresenta a vantagem de se trabalhar com volumes reduzidos de reagentes (em especial o clorofórmio) se comparado ao método oficial de análise e ao método descrito por Jurado et al (2006).

O método em fluxo proposto mostrou-se adequado para a determinação de surfactantes aniônicos em efluentes provenientes da lavagem veicular. O mesmo apresenta uma velocidade analítica de 23 determinações por hora e não apresentou diferença significativa ao nível de significância 5% quando comparado com o método de referência descrito por Jurado et al. (2006).

## REFERÊNCIAS

- ABOULHASSAN, M. A., SOUABI, S., YAACOUBI, A.; BAUDU, M., Removal of surfactant from industrial wastewaters by coagulation flocculation process. *Int. Journal Environmental Science Techniques*, Vol. 3 N° 4, p.327-332, 2006
- ALONSO, J.; BARO, J.; BARTROLÍ, J.; SÁNCHEZ, DEL VALLE, M. Flow through tubular ion-selective electrodes responsive to anionic surfactants for flow-injection analysis, *Anal. Chim. Acta*. 308. p 115–121, 1995
- ALZAGA, R., PENA, A., ORTIZ, L., BAYONA J. M. Determination of linear alkylbenzensulfonates in aqueous matrices by ion-pair solid-phase microextraction–in-port derivatization–gas chromatography–mass spectrometry, *J. Chromatogr.* p. 51–60, 2003
- APHA, AWWA, WPCF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. **American Public Health Association**. 18th ed, 1992
- BNDES. Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social. Potencial diversificação da indústria química Brasileira, Relatório 4: Tensoativos. Chamada Pública BNDES/FEP nº3/2011. Rio de Janeiro, RJ, 2014. Disponível em: <<http://www.bndes.gov.br>. Acesso em: 16 jul. 2021
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada nº 166, de 24 de julho de 2017. Estabelece critérios para a validação de métodos analíticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2017.
- BARÓ-ROMÀ, J., SÁNCHEZ, J., DEL VALLE, M., ALONSO, J., BARTROLÍ, J. Construction and development of ion-selective electrodes responsive to anionic surfactants, *Sensors Actuators B* 15 p. 179–183, 1993.
- CONAMA – CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução n. 357. p. 58-63, 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: 18 de outubro de 2020.
- CORRÊA, J. H. G.; VEJA, G. U. S.; CUNHA, N. S.; SILVA, T. G.; JR. P. D. M. Um modelo simples e parametrizável para classificação de cores no sistema RGB. IX Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação, 2014.
- CORTINA, M., ECKER, C., CALVO, D. Automated electronic tongue based on potentiometric sensors for the determination of a ternary anionic surfactant mixture, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 46 p. 213–218, 2008
- CREMON, C.; JÚNIOR, E.J.R.; SERAFIM, M.E.; ONO, F.B. Análise micromorfológica de agregados de um Latossolo Vermelho distroférrico sob diferentes sistemas de manejo. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 31, n. 1, p. 139-146, 2009

- DALEN, G. VAN. Determination of the size distribution and percentage of broken kernels of rice using flatbed scanning and image analysis. **Food Research International**, p. 37-51, 2004
- EICHHORN, P.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. and KNEPPER, T. P. Incomplete degradation of linear alkylbenzene sulfonate surfactants in Brazilian surface waters and pursuit of their polar metabolites in drinking waters. **Sci. Total Environ.**, Vol. 284, p. 123-134, 2002.
- FEITEIRA, F. N.; REIS, L. G. T.; PACHECO, W. F.; CASSELLA, R. J. Solventless determination of total anionic surfactants in waters using polyurethane foam as support and analysis of digital images. **Microchemical Journal** 119 p. 44–50, 2015
- FERNÁNDEZ-OLIVERAS, A., POZO, A. M., RUBIÑO, M. Speckle-based modulation transfer function measurements for comparative evaluation of CCD and CMOS detector arrays, **Optical Review** 20, p. 41-49, 2013
- FILHO, O. M.; NETO, H. V. Processamento digital de imagens, Rio de Janeiro: **Brasport**, 1999.
- GODOY, L. J. G. de; YANAGIWARA, R. S.; BÔAS, R. L. V.; BACKES, C.; LIMA, C. P. de. Análise da imagem digital para estimativa da área foliar em plantas de laranja "pera". **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 420-424, 2007
- GOMEZ, V., FERRERES, L., POCURULL, E., BORRULL, F. Determination of non-ionic and anionic surfactants in environmental water matrices, **Talanta** 84 p. 859–866, 2011
- GONÇALVES, E. Divulgação técnica tensoativos biodegradáveis. **Gestão em Foco**, n. 7, p. 252–262, 2015
- GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. Digital image processing. 3a ed. New Jersey, **Pearson Prentice Hall**, p. 954, 2008.
- GRASEL, F. S.; MARCELO, M. C. A.; FERRÃO, M. F.; A non-destructive, rapid and inexpensive methodology based on digital images for the classification of natural tannin extracts. **The Royal Society of Chemistry** 6, p.32358, 2016
- HAIGH, S. D.; A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil **Sci.Total Environ.** Vol. 185, p. 161-170, 1996
- HIDAYAH, N. N.; ABIDIN, S. Z. The evolution of mineral processing in extraction of rare earth elements using liquid-liquid extraction: A review. **Minerals Engineering**, v. 112, p. 103- 113, 2017.
- JACOBI, P. R.; EMPINOTTI, V. L.; SCHMIDT, L. Escassez hídrica e direitos humanos. **Ambient. Soc.** Vol 19, 2016.

JIMENEZ, R. S.; DAL BOSCO, S. M.; CARVALHO, W. A. Remoção de metais pesados de efluentes aquosos pela zeólita natural escolcita – A influencia da temperatura e do pH na adsorção em sistemas monoelementares. **Quim. Nova**, Vol. 27, p. 734-738, 2004.

JOZANOVIC, M.; et al. Potentiometric sensors for the determination of anionic surfactants – A review, **Critical. Analytical Chemistry**, Vol. 51, p. 115-137, 2019

JURADO, E.; FERNANDEZ-SERRANO, M.; NUÑEZ, O. J.; LUZÓN, G.; LECHUGA, M. Simplified spectrophotometric method using methylene blue for determining anionic surfactants applications to the study of primary biodegradation in aerobic screening tests. **Chemosphere**, Vol. 65, p. 278-285, 2006.

IDOUHAR, M.; TAZEROUTI, J. A. Spectrophotometric determination of cationic surfactants using patent blue V: Application to the wastewater industry in algiers **Surfact. Deterg.** 11 p. 263–267, 2008

KOGA, M., YAMAMICHI, Y.; NOMOTO, M., IRIE, M.; TANIMURA, T.; YOSHINAGA, T. Rapid determination of anionic surfactants by improved spectrophotometric method using methylene blue. **Anal. Sci.** 15 p 563–568, 1999

KRONKA, E. A. M.; BOAVENTURA, F. R.; VIEIRA J. A.; BLANCO, T.; GERVASIO A. P. G. Multicomutação e amostragem binária em análise química em fluxo. Determinação espectrofotométrica de ortofosfato em águas naturais. **Química Nova**. p 20, 1997

LIMA, J. L. F. C.; ABREU, V. L. R. G.; SANTOS, J. L. M. An automated single interface flow system for the spectrophotometric determination of ethanol in beverages based on schlieren effect. **Food Anal. Methods**, v. 5, p. 867–873, 2012

LIMA, M.B.; ANDRADE, S.I. E.; BARRETO, I. S; ALMEIDA, L. F.; ARAÚJO, M.C .U. A digital image-based micro-flow-batch analyzer. **Microchemical Journal**, 106, p 238, 2013

LOGITEC. Especificações técnicas do C920. Disponível em<<https://support.logi.com/hc/pt-br/articles/360023307294-Especificações-técnicas-do-C920>>Acesso em 10 junho 2021.

MARGESIN, R.; SCHINNER, F. Low-temperature bioremediation os a wastewater contaminated with anionic surfactants and fuel oil. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** Vol. 49, p. 482-486, 1998

MARTINEZ-CARBALLO, E.; GONZALEZ-BARREIRO, C.; SITKA, A., KREUZINGER, N., SCHARF, S.; GANS, O. Determination of selected quaternary ammonium compounds by liquid chromatography with mass

spectrometry. Part I. Application to surface, waste and indirect discharge water samples in Australia. **Environ. Pollut.** 145 p. 489–496, 2007

MASAWAT, P.; HARFIELD, A.; NAMWONG, A.; An Iphone-based digital image colorimeter for detecting tetracycline in milk. **FoodChemistry**, 184, p. 23, 2015

MASINI, J. C.; SANTOS, A.C.V. A Análise por Injeção Sequencial (SIA): vinte anos em uma perspectiva. **Quim. Nova**, v. 33, p. 1949-1956, 2010.

MATHIS, A., Les produits tensioactifs. **Bulletin del'Union des Physiciens**. Vol. 86, p. 1487-501, 1992

MELCHERT, W.R.; BOAVENTURA F. R.; ROCHA, F. R. P. Green chemistry and the evolution off low analysis. A Review. **AnalyticaChimica Acta**. 714, p. 8-19, 2012

NAGARNAIK, P. M.; MILLS, M. A., BOULANGER, B. Concentrations and mass loadings of hormones, alkylphenols, and alkylphenol ethoxylates in health care facility wastewaters. **Chemosphere** 78 p. 1056-1062, 2010

OLKOWSKA E, POLKOWSKA, Z. NAMIESNIK, J. Analytical procedures for the determination of surfactants in environmental samples **Talanta** 88 p. 1-13, 2012

PANIZZA, M.; CERISOLA, G. Applicability of electrochemical methods to carwash wastewaters for reuse. Part 1: Anodic oxidation with diamond and lead dioxide anodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, Vol. 638, p. 236–240, 2010

PONS, R., TAYLOR, P., TADROS, T. F. Investigation of the interactions in emulsions stabilized by a polymeric surfactant and its mixtures with na anionic surfactant, **ColloidPolym. Sci.** 275 p. 769–776, 1997

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow Injection Analysis. Principles, applications and trends. **AnalyticaChimica Acta**, v. 114, p. 19-44, 1980.

RUZICKA, J.; MARSHALL, G. D. Sequential injection : a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Anal. Chim.Acta**, v. 237, p. 329- 343, 1990.

SÁNCHEZ, J., DEL VALLE, M. A new potentiometric photocurable membrane selective to anionic surfactants, **Electroanalysis** 13 p. 471–476, 2001

SÁNCHEZ, J., DEL VALLE, M. Determination of anionic surfactants employing potentiometric sensors - A review, **Crit. Rev. Anal. Chem.** 35 p.15–29, 2005

SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, L. M., AGUILAR-CABALLOS, M. P., EREMIN, S. A., GÓMEZ-HENS, A. Determination of linear alkylbenzenesulfonates in water samples immunoaffinity chromatography with fluorescence detection, **Anal. Chim. Acta**. 553 p. 93–98, 2005

SCURI, A. E. Fundamentos da Imagem Digital. **Tecgraf**, Rio de Janeiro, 2002. Disponível:<<http://www.tecgraf.pucRio.br/ortoledo/teaching/cg1/apostila%20imagem%20digital>>. Acesso em: 05/jan 2021.

SCHEIBEL, J. J. The evolution of anionic surfactant technology to meet the requirements of the laundry detergent industry, **J. Surfactants Deterg.** 7 p. 319–328, 2004

SIGOILLOT, J. C. AND NGUYEN, M. H. Complete oxidation of linear alkylbenzene sulfonate by bacterial communities selected from coastal seawater. **Appl. Environ. Microbiol.**, Vol. 58, p.1308-1312, 1992

SOUZA, L. A. C.; SPEHAR, C.R.; SANTOS, R. L. B. Análise de imagem para determinação do teor de saponina em quinoa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 39, n. 4, p. 397-401, 2004.

TEIXEIRA P. C., Emprego da filtração por ar dissolvido no tratamento de efluente de lavagem de veículos visando a reciclagem de água. Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia Civil da Universidade Estadual de Campinas, Campinas –SP., 199 p, 2003.

WYRWAS, B., SZYMANSKI, A., LUKASZEWSKI, Z. Tensammetric determination of non-ionic surfactants combined with the bias separation procedure part 3. Determination in the presence of hydrocarbons. **Talanta** 47, p. 325-333, 1998.