

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS AUTOMÁTICOS  
PARA DETERMINAÇÃO FOTOMÉTRICA DE ALUMÍNIO EM  
ÁGUA POTÁVEL E ETANOL EM VINHOS EMPREGANDO O  
PROCESSO DE MULTICOMUTAÇÃO EM ANÁLISE EM FLUXO**

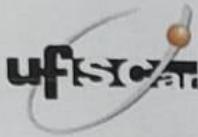
**Eliel Guimarães Brandão\***

Tese apresentada como parte dos requisitos para  
obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS,  
área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

**Orientador:** Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis

**\* Bolsista FAPESP**

**São Carlos - SP  
2024**



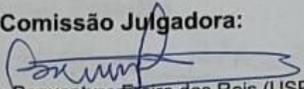
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

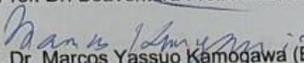
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química

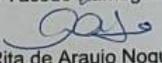
Folha de Aprovação

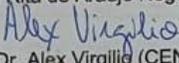
Defesa de Tese de Doutorado do candidato Eliel Guimarães Brandão, realizada em 28/05/2024.

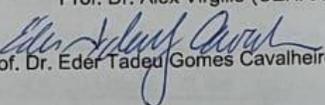
Comissão Julgadora:

  
Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis (USP)

  
Prof. Dr. Marcos Yassuo Kamogawa (ESALQ/USP)

  
Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira (EMBRAPA)

  
Prof. Dr. Alex Virgilio (CENA/USP)

  
Prof. Dr. Eder Tadeu Gomes Cavalheiro (IQSC/USP)

São Carlos, 28 de maio de 2024.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

## DEDICATÓRIA

Dedico esta tese à minha família, por acreditarem em mim e por me incentivarem a almejar novos horizontes. Levarei sempre vocês no coração e nas boas lembranças.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Pai Celeste por ter amenizado minhas ansiedades e por ter proporcionado a tranquilidade e paz para os dias conturbados, pois Ele tem cuidado de nós.

Aos meus pais e irmão, pois foram a plataforma para que sonhos pudessem ser alcançados, expresse minha gratidão pelo encorajamento, insistência e companhia em cada fase dessa e de outras jornadas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis, mentor e guia neste labirinto de conhecimento, agradeço a paciência, inspiração e encorajamento ao desbravar novos territórios acadêmicos, além dos bons conselhos e conversas.

Aos colegas de laboratório, verdadeiros companheiros nesta jornada, agradeço pelas discussões estimulantes, apoio mútuo e por transformarem cada desafio em uma oportunidade de crescimento conjunto.

À minha família, que pacientemente suportou meu comprometimento com esta busca pelo conhecimento e compraram fogos de artifício para celebrar meu retorno, expresse minha eterna gratidão.

Aos antigos e novos amigos que forneceram doses saudáveis de humor, alívio e perspectivas fora da caixa, agradeço por tornarem os momentos de tensão mais suportáveis e as vitórias mais significativas.

À Universidade Federal do Amazonas – INC, agradeço por estimular em seus colaboradores o incentivo à qualificação, do qual tive a honra de ser beneficiado neste doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas, agradeço a bolsa de estudo concedida de nov./2019 a fev./2023, por meio do processo nº 062.00974/2013.

Que este agradecimento seja o tributo merecido a todos que tornaram esta jornada uma experiência verdadeiramente enriquecedora.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores máximos permitidos (VMP) de alumínio.....	4
Tabela 2 - Classificação dos vinhos conforme legislação brasileira.....	7
Tabela 3 - Parâmetros obtidos nas curvas analíticas para o estudo da influência da concentração de H <sup>+</sup> . .....	28
Tabela 4 - Parâmetros obtidos nas curvas (volume do tampão). ....	29
Tabela 5 - Parâmetros analíticos obtidos nas curvas sob diferentes concentrações do reagente CAS. ....	31
Tabela 6 - Parâmetros analíticos obtidos nas curvas sob diferentes volumes do reagente CAS. ....	32
Tabela 7 - Resultados obtidos do estudo do interferente (Ferro III). ....	33
Tabela 8 - Parâmetros operacionais do método proposto para determinação de Alumínio. ....	35
Tabela 9 - Desempenho do método proposto para determinação de Alumínio. ....	35
Tabela 10 - Validação do método proposto para determinação de Alumínio. ....	36
Tabela 11 - Parâmetros obtidos no estudo da concentração de K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> . ....	51
Tabela 12 – Avaliação dos parâmetros analíticos em função do tempo de arraste. ....	52
Tabela 13 – Parâmetros obtidos no estudo da concentração do H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . ....	54
Tabela 14 – Parâmetros obtidos da revisão da concentração do reagente K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> . ....	56
Tabela 15 – Parâmetros obtidos nas curvas analítica da avaliação em Intraday.....	57
Tabela 16 - Parâmetros obtidos nas curvas analítica da avaliação em Interday. ....	58
Tabela 17 – Parâmetros analíticos obtidos no estudo da concentração do Glicerol.....	59
Tabela 18 - Parâmetro Operacional do sistema de determinação de etanol. ....	62
Tabela 19 - Desempenho do Método para determinação de etanol.....	62
Tabela 20 – Resultados para determinação de etanol pelo método proposto (FIA) e de referência (densimetria).....	63

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mobilização do alumínio como consequência da chuva ácida.....	3
Figura 2 - Diagrama da via de fermentação alcoólica por leveduras.....	6
Figura 3 - Diagrama de sistemas básicos de análise por injeção em fluxo.....	9
Figura 4 - Modelos de microcontroladores Arduino.....	12
Figura 5 - Interface do ambiente de programação do Arduino – Arduino IDE. Código para ligar e desligar um LED.....	13
Figura 6 - Espectro de absorção do reagente CAS e do complexo Al(CAS) <sub>2</sub> .....	17
Figura 7 - Possível estrutura para o complexo Alumínio Cromo Azurol S 1:2.....	17
Figura 8 - Diagrama do fotômetro de LED para determinação de alumínio. Det = fotodetector OPT301; S <sub>0</sub> = sinal gerado pelo fotômetro em mV; I <sub>a</sub> = feixe de radiação eletromagnética emitida pelo LED ( $\lambda = 534$ nm), e entrando na cela de fluxo; I <sub>b</sub> = feixe de radiação saindo da cela de fluxo rumo ao fotodetector; g <sub>c</sub> = cilindros de vidro, 20 mm de comprimento e 1,2 mm de diâmetros; f <sub>b</sub> = corpo de cela de fluxo, tubo de vidro, comprimento de 200 mm e diâmetro interno de 1,2 mm; D = diodo Zenear para 3,3 V; Tr = transistor BC547; +V e -V = diferenças de potenciais de 12 V.....	21
Figura 9 - Esquema eletrônico dos dispositivos de controle do módulo de análise para determinação do alumínio. Ch1 e Ch2 = chaves para contato elétrico, normalmente abertas; A0 = entrada analógica do Arduino Due; Det = fotômetro de LED; Cn1, Cn2 ..., Cn8 = soquetes para acoplamento das bombas peristálticas e solenoide.....	22
Figura 10 - Diagrama do módulo de análise para determinação de alumínio. A = Amostra; P <sub>1</sub> e P <sub>4</sub> = minibombas peristáltica, vazão 17,4 mL/min; P <sub>2</sub> e P <sub>3</sub> = bombas solenoide, 40 $\mu$ L por pulso, frequência de acionamento 3 Hz; R1 = solução de cromo azurol S; T <sub>p</sub> = solução tampão acetato; Desc = descarte de fluídos; Mt = motor de corrente contínua, 12 V; Cm = câmara de mistura (vidro), volume 5 mL; Hv = haste de vidro; B <sub>1</sub> e B <sub>2</sub> = bobinas, tubos de polietileno, 25 cm de comprimento e diâmetro interno de 0,8 mm; det = fotômetro de LED; x = conector de três vias, feito de acrílico. T <sub>1</sub> – T <sub>4</sub> = linhas de tempo de acionamento das bombas. As superfícies sombreadas indicam que o dispositivo correspondente está ligado. O estado st <sub>0</sub> , indica que o processo de análise ainda não começou. St <sub>1</sub> = etapa de amostragem, St <sub>2</sub> = Inserção da solução de cromo azurol S, St <sub>3</sub> = adição da solução tampão acetato, St <sub>4</sub> = agitação da solução. As setas indicam a direção de bombeamento.....	24
Figura 11 – Estudo do efeito do potencial hidrogeniônico na resposta analítica.....	28
Figura 12 – Influência do volume da solução de acetato de sódio na resposta analítica.....	29
Figura 13 - Avaliação da influência da concentração do reagente CAS sobre o sinal analítico.....	30
Figura 14 - Avaliação da influência do volume do reagente CAS sobre o sinal analítico.....	32
Figura 15 - Teste com amostra dopada com ferro.....	33
Figura 16 - Curva analítica para determinação de Al <sup>3+</sup> .....	34
Figura 17 - Pico máximo de absorção do Cr <sup>3+</sup> após reação de Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup> com etanol em meio ácido.....	39

Figura 18 - Diagrama do sistema analítico para determinação de etanol. Det = fotodetector OPT301; LED = diodo emissor de luz; $S_0$ = sinal gerado pelo fotômetro em mV; $I_a$ = feixe de radiação eletromagnética emitida pelo LED ( $\lambda = 570$ nm), e passando pela câmara de reação; $I_b$ = feixe de radiação saindo da câmara de reação em direção ao fotodetector; COMP = compressor de ar; $C_1$ = câmara de amostragem; $C_2$ = câmara de reação; $P_1$ e $P_2$ = mini-bomba solenoide, 40 $\mu$ L/pulso; $P_3$ = mini bomba peristáltica, 17,4 mL/min; L = reator; W = descarte; x = conector de três vias, feito em acrílico. ....	43
Figura 19 - Esquema da montagem dos dispositivos de controle do módulo de análise para determinação do etanol. $Ch_1$ e $Ch_2$ = chaves para contato elétrico normalmente abertas; $A_0$ = entrada analógica do Arduino Due; Det = detector fotométrico; $Cn_1$ , $Cn_2$ ..., $Cn_8$ = soquetes para acoplamento das bombas peristálticas e solenoide. ....	45
Figura 20 - Teste de arraste do vapor etanólico em Tubo Falcon de 15 mL. ....	50
Figura 21 - Teste de arraste do vapor etanólico em Tubo Falcon de 50 mL. ....	50
Figura 22 – Avaliação da influência da $[Cr_2O_7^{2-}]$ sobre o sinal analítico. ....	51
Figura 23 - Avaliação do tempo de arraste (purga) sobre o sinal analítico. ....	52
Figura 24 - Estudo do efeito da concentração do ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). ....	54
Figura 25 - Revisão do estudo da concentração de Dicromato de Potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ). ....	55
Figura 26 – Avaliação do sistema em Intraday. ....	57
Figura 27 – Avaliação do sistema em Interday. ....	57
Figura 28 - Avaliação do efeito da concentração do glicerol sobre o sinal analítico. ....	59
Figura 29 – Curva analítica de comparação entre soluções de etanol com e sem glicerol. ....	60
Figura 30 – Estudo exploratório do efeito da temperatura no processo de arraste. ....	61
Figura 31 - Curva analítica para determinação de etanol em vinhos. ....	62

## RESUMO

### DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS AUTOMÁTICOS PARA DETERMINAÇÃO FOTOMÉTRICA DE ALUMÍNIO EM ÁGUA POTÁVEL E ETANOL EM VINHOS EMPREGANDO O PROCESSO DE MULTICOMUTAÇÃO EM ANÁLISE EM FLUXO

A qualidade da água potável é crucial para a saúde pública, assim como a qualidade dos vinhos para a indústria alimentícia. O alumínio, que apresenta riscos à saúde como distúrbios neurológicos, tem limite máximo permitido de  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  em água potável, segundo a OMS. A concentração de etanol nos vinhos de mesa, importante para sua regulamentação e qualidade, deve estar entre 8,6 e 14% (v/v). Métodos de análise precisos e eficientes são essenciais para garantir a segurança do consumidor e a conformidade com as normas regulatórias. O estudo propõe desenvolver procedimentos analíticos automáticos, usando análise em fluxo, para a determinação de alumínio, em água potável e etanol em vinho, visando redução de resíduos e otimização da produtividade. O sistema para determinação de alumínio é constituído por um módulo de propulsão de fluídos (minibombas), agitação (flow-batch) e sistema de detecção (fotômetro) com diodo emissor de luz (LED,  $\lambda = 534 \text{ nm}$ ). Para a determinação do etanol em vinhos o sistema é composto por módulo de arraste de vapor (purga), propulsão de fluídos (minibombas) e sistema de detecção (fotômetro) com diodo emissor de luz (LED,  $\lambda = 570 \text{ nm}$ ). Ambos os sistemas controlados por um microcontrolador Arduino Due, equipado com as interfaces necessárias e executando um software escrito para este fim. Após a seleção das melhores condições operacionais, a eficácia das propostas foi avaliada: (1) para a determinação do alumínio em água potável a faixa de recuperação foi 93 a 128%, resposta linear na faixa de 50 a  $400 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9994$ ); limite de detecção de  $61,29 \mu\text{g L}^{-1}$ ; consumo de cromo azurol S  $20 \mu\text{g}$  por determinação, coeficiente de variação 1,26%; e frequência analítica de 30 determinações por hora; (2) para a determinação de etanol foi empregado o teste *t pareado* ( $n = 8$ ) com  $t_{cal} = 1,948$ , não havendo diferença significativa com o método de referência (densimetria), resposta linear na faixa de 2,5 a 20 % (v/v) ( $R^2 = 0,9989$ ); limite de detecção de  $0,0974 \mu\text{g L}^{-1}$ ; consumo de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$   $17,65 \text{ mg}$  por determinação, coeficiente de variação 4,14%; e frequência

analítica de 60 determinações por hora. Ambos os procedimentos desenvolvidos demonstraram que procedimento analítico proposto para a determinação de alumínio em água potável é eficaz e atendem aos requisitos das agências reguladoras, como CONAMA, FUNASA e WHO, que estabelecem um limite de  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ . Da mesma forma, o método para a determinação do teor de etanol em vinhos de mesa, provou ser válido ao ser comparado com o método de referência oficial, revelando-se prático e eficiente.

## ABSTRACT

### DEVELOPMENT OF AUTOMATIC PROCEDURES FOR PHOTOMETRIC DETERMINATION OF ALUMINUM IN DRINKING WATER AND ETHANOL IN WINE USING THE MULTI-COMMUTING PROCESS IN FLOW ANALYSIS

The quality of drinking water is crucial for public health, as is the quality of wines for the food industry. Aluminum, which poses health risks such as neurological disorders, has a maximum allowable limit of  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  in drinking water, according to the WHO. The ethanol concentration in table wines, important for their regulation and quality, must be between 8.6 and 14% (v/v). Accurate and efficient analysis methods are essential to ensure consumer safety and compliance with regulatory standards. The study proposes to develop automatic analytical procedures, using flow analysis, to determine aluminum in drinking water and ethanol in wine, aiming to reduce waste and optimize productivity. The system for determining aluminum consists of a fluid propulsion module (minipumps), agitation (flow-batch) and detection system (photometer) with light-emitting diode (LED,  $\lambda = 534 \text{ nm}$ ). To determine ethanol in wines, the system consists of a vapor drag module (purge), fluid propulsion (minipumps) and detection system (photometer) with light-emitting diode (LED,  $\lambda = 570 \text{ nm}$ ). Both systems controlled by an Arduino Due microcontroller, equipped with the necessary interfaces and running software written for this purpose. After selecting the best operating conditions, the effectiveness of the proposals was evaluated: (1) for the determination of aluminum in drinking water, the recovery range was 93 to 128%, linear response in the range of 50 to  $400 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $R^2 = 0.9994$ ); detection limit of  $61.29 \mu\text{g L}^{-1}$ ; consumption of chromium azurol S  $20 \mu\text{g}$  per determination, coefficient of variation 1.26%; and analytical frequency of 30 determinations per hour; (2) to determine ethanol, the paired t test was used ( $n = 8$ ) with  $t_{\text{cal}} = 1.948$ , with no significant difference with the reference method (densimetry), linear response in the range of 2.5 to 20% (v/v) ( $R^2 = 0.9989$ ); detection limit of  $0.0974 \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  consumption  $17.65 \text{ mg}$  per determination, coefficient of variation 4.14%; and analytical frequency of 60 determinations per hour. Both procedures developed demonstrated that the proposed analytical procedure for determining aluminum in drinking water is effective and meets the requirements of regulatory agencies, such as CONAMA,

FUNASA and WHO, which establish a limit of 0.2 mg L<sup>-1</sup>. Likewise, the method for determining the ethanol content in table wines proved to be valid when compared with the official reference method, proving to be practical and efficient.

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	1
<b>1.1.</b> Aspectos importantes sobre o alumínio .....	1
1.1.1. Informações sobre água potável .....	3
1.1.2. Determinação de alumínio em água potável .....	5
<b>1.2.</b> Aspectos importantes sobre o etanol em vinhos .....	5
1.2.1. Métodos analíticos para determinação de etanol .....	7
<b>1.3.</b> Procedimentos automáticos de análises .....	8
1.3.1. Análise em fluxo .....	9
1.3.2. Uso do microcontrolador Arduino .....	11
2. OBJETIVOS .....	15
3. DETERMINAÇÃO DE ALUMÍNIO EM ÁGUA POTÁVEL .....	16
<b>3.1.</b> CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	16
<b>3.2.</b> PARTE EXPERIMENTAL .....	18
3.2.1. Reagentes e Soluções .....	18
3.2.2. Amostras .....	19
3.2.3. Equipamentos e acessórios .....	19
3.2.4. Descrição do fotômetro .....	20
3.2.5. Descrição do sistema de fluxo e desenvolvimento do programa .....	23
<b>3.3.</b> RESULTADOS OBTIDOS .....	27
3.3.1. Análise do pH e do volume do tampão .....	27
3.3.2. Estudo do efeito da concentração e do volume do reagente .....	30
3.3.3. Estudo dos interferentes .....	32
3.3.4. Desempenho analítico do sistema .....	34
3.3.5. Análise das amostras .....	35
<b>3.4.</b> CONCLUSÃO .....	36
4. DETERMINAÇÃO DE ETANOL EM VINHOS .....	38
<b>4.1.</b> CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	38
<b>4.2.</b> PARTE EXPERIMENTAL .....	40
4.2.1. Reagentes e Soluções .....	40
4.2.2. Amostras .....	40
4.2.3. Equipamentos e acessórios .....	41
4.2.4. Descrição do módulo de análise .....	42

<b>4.3.</b>	<b>RESULTADOS OBTIDOS .....</b>	<b>49</b>
4.3.1.	Teste de arraste de vapor de etanol .....	49
4.3.2.	Estudo do efeito da concentração do dicromato de potássio .....	51
4.3.3.	Estudo do efeito do tempo de arraste (purga).....	52
4.3.4.	Estudo da concentração da solução de ácido sulfúrico .....	53
4.3.5.	Revisando a concentração do Dicromato de Potássio.....	55
4.3.6.	Estudo de desempenho do sistema .....	56
4.3.7.	Estudo da concentração do glicerol .....	58
4.3.8.	Estudo do tempo e da temperatura no arraste.....	60
4.3.9.	Desempenho analítico do sistema .....	61
4.3.10.	Validação do método.....	63
<b>4.4.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>65</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>66</b>
<b>7.</b>	<b>APÊNDICE.....</b>	<b>74</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Aspectos importantes sobre o alumínio

Desde a sua primeira produção comercial por Henri Deville em 1858, o alumínio trouxe entusiasmo para uma era de novas descobertas, impulsionando os avanços da Revolução Industrial. Esse metal obteve mais atenção e prestígio do que outro material moderno, pois era, até então, raro e seu valor era superior ao ouro. Naquela época muitas previsões foram feitas sobre este metal, talvez com base nele pudesse surgir uma nova era baseada em alumínio, mas essas ambições nunca foram satisfeitas [1].

Embora, essa nova era do alumínio seja apresentada para um futuro próximo, ele desempenhou importante papel no início do século XX, em especial na indústria bélica. Hoje o seu uso é visto em vários segmentos industriais e ele passou de um elemento decorativo para se tornar o metal mais utilizado no século XXI [1, 2]. Isso se dá pela abundância desse elemento na natureza, cerca de 8% da crosta terrestre é formada por alumínio, o que torna esse o metal mais abundante no nosso planeta [3].

Devido à intensa atividade humana na extração ou em outras ações que afetam diretamente a disponibilidade do alumínio, como por exemplo, a acidificação de bacias hidrográficas, houve mudanças no ciclo geoquímico desse elemento, assumindo, então, um caráter biogeoquímico. Dessa forma, todo esse alumínio tem potencial para entrar e se acumular dentro do ciclo biótico [4, 5].

Sendo considerado o terceiro elemento mais abundante da crosta terrestre, o alumínio não apresenta funções bioquímicas conhecidas, mas sua presença é detectada facilmente em vegetais, solos, utensílios domésticos, entre outros. Embora, não apresente função biológica conhecida, no organismo humano, é possível constatar sua concentração na corrente sanguínea na ordem de  $7 \mu\text{g L}^{-1}$  [5, 6].

Devido às suas inúmeras aplicações e abundante presença na natureza, há uma percepção de que o alumínio é um metal que não apresenta implicações significativas para a saúde humana. Embora, seja essa uma visão conveniente para a indústria, não é apoiada pela observação e nem pela literatura [5].

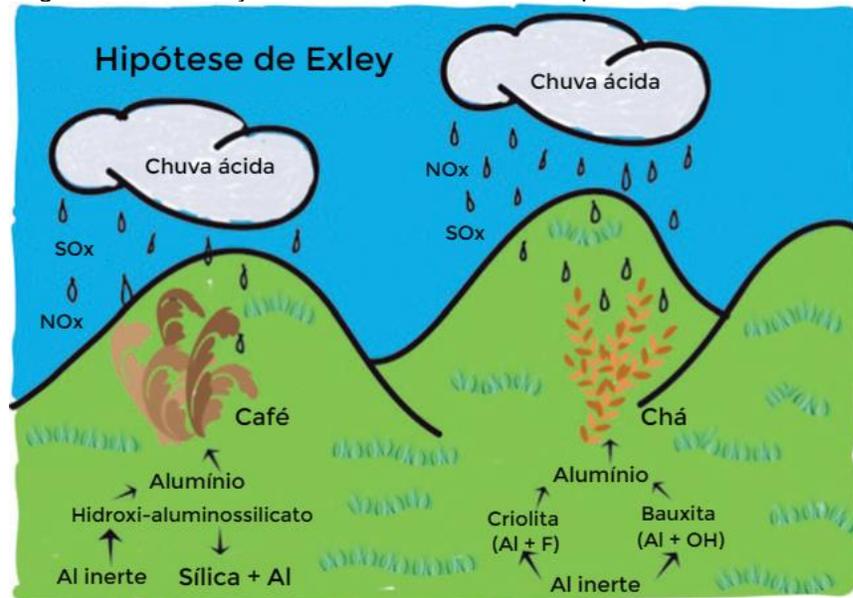
Devido ser predominantemente excretado via renal, o alumínio manifesta sua toxicidade principalmente em pessoas com deficiência renal crônica (DRC). Além disso, pode acumular em diversos tecidos e órgãos, como ossos, cérebro e glândulas paratireoides, apresentando diversas manifestações clínicas, que variam de acordo com o órgão afetado e a magnitude da intoxicação. Em geral, os principais sintomas de uma intoxicação por alumínio são anemia hipocrômica e microcítica, neurotoxicidade aguda, encefalopatia dialítica e doenças ósseas [2, 7, 8].

As principais formas de contaminação por alumínio ocorrem por via oral, principalmente durante o consumo de quelantes de fósforo à base desse metal e por via parenteral, através da água utilizada na preparação de dialisado. É importante notar que a contaminação pode ser potencializada pelo uso de medicamentos contendo citrato, que facilita a absorção desse metal pelos intestinos. Além dessas modalidades, foram registradas contaminações provenientes do uso de utensílios domésticos de alumínio. [7, 8, 9].

A exposição ao alumínio pode ocorrer de diversas maneiras, seja por meio do consumo de plantas que naturalmente acumulam altas concentrações desse elemento, como certos tipos de chás e ervas de especiarias, ou pelo consumo de alimentos comuns como batatas, espinafres, frutas e hortaliças. O aumento da concentração de alumínio nesses alimentos inclui fatores como acidez do solo, qualidade da água utilizada para irrigação e a variedade específica das plantas cultivadas [10].

Vale lembrar que há uma hipótese para a mobilização do alumínio no solo em consequência da chuva ácida, a qual influencia na liberação de alumínio dos depósitos naturais na forma de hidróxi-aluminossilicatos, aumentando a disponibilidade de alumínio para organismos vivos e na poluição de corpos de água [10, 12, 13]. A imagem apresentada na Figura 1, esquematiza essa hipótese.

Figura 1 - Mobilização do alumínio como consequência da chuva ácida.



Fonte: Adaptado de Crisponi, 2013 [14].

É evidente que a exposição humana ao alumínio, proveniente de diversas fontes, especialmente de origem antropogênica, suscita uma crescente preocupação devido aos potenciais impactos adversos à saúde a médio e longo prazo, como evidenciado em casos clínicos [14]. Diante dessa preocupação, as agências reguladoras (FDA, OMS, ANVISA, EFSA) estabeleceram limites específicos para a concentração máxima de alumínio em diversos compostos e produtos. Um denominador comum nesse cenário é o papel central desempenhado pela água, seja no consumo direto, na irrigação de cultivos ou no uso em medicamentos e dialisados.

#### 1.1.1. Informações sobre água potável

Conforme parecer do Ministério de Estado da Saúde, água potável é descrita como apresentando um limite padrão de potabilidade, definido pelo próprio ministério, além de não oferecer riscos à saúde, abrangendo a água para consumo humano proveniente de qualquer fonte [15]. A água de poço, conforme a CONAMA, se enquadra como sendo águas subterrâneas, podem ser potáveis ou não, cabendo análise química para definir seu enquadramento [16].

Nessas determinações normativas, são estabelecidos os parâmetros máximos permitidos para a contaminação hídrica por alumínio. Na Tabela 1 é possível observar as concentrações máximas aceitáveis de alumínio, considerando o uso preponderante da água.

Tabela 1 - Valores máximos permitidos (VMP) de alumínio.

<b>Usos Preponderantes da Água</b>	<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
Consumo Humano	200*
Dessedentação de animais	5.000
Irrigação	5.000
Recreação	200

Fonte: CONAMA [16].

Devido ao uso dos sais de alumínio como floculante em estações de tratamento de água, faz-se necessário o controle e determinação do teor de  $\text{Al}^{3+}$ , obedecendo o limite máximo permitido pela legislação de  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (WHO) e adotado pelo governo brasileiro [, 1617,18, 21, 22].

Tendo em conta a importância de otimizar a coagulação para evitar a contaminação microbiana e a necessidade de minimizar a deposição de flocos de alumínio nos sistemas de distribuição, é importante garantir que os resíduos médios não excedam estes valores ( $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Al}^{3+}$  para grandes instalações de tratamento e  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Al}^{3+}$  para pequenas instalações) [22].

O Ministério da Saúde, no Manual Prático de Análise de Água – FUNASA [17], sugere que essa determinação pode ser realizada usando-se métodos de Absorção Atômica, Espectrofotometria ou Comparação Visual.

É importante destacar que em sistemas aquáticos o alumínio pode ser encontrado em diversas formas, incluindo  $\text{Al}^{3+}$  livre, complexos de Al-hidróxidos, complexos monoméricos de fluoreto e vários complexos orgânicos [18]. As formas monoméricas de alumínio reconhecidas como as espécies mais tóxicas foram  $\text{Al}^{3+}$  (pH < 4),  $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$  e  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$  (pH entre 4 e 6) [19, 20]. A forma do alumínio que ocorre como complexos depende principalmente do pH da reação, da temperatura, da concentração de ligantes

\* Efeito Organoléptico

orgânicos e inorgânicos, tais como: carbono orgânico dissolvido, fluoretos, sulfatos, fosfatos e partículas suspensas.

#### 1.1.2. Determinação de alumínio em água potável

Na literatura, podem ser encontradas diversas técnicas analíticas empregadas para a determinação de alumínio em amostras ambientais. Entre essas técnicas, destacam-se a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) [18, 19, 20], a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) [18, 19, 20] e em forno de grafite (GF-AAS) [23, 24], além da espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) [18, 23].

Esses métodos são frequentemente acoplados a técnicas de separação como cromatografia líquida (HPLC). Métodos como voltametria, potenciometria, amperometria e fluorimetria oferecem opções para a análise precisa e sensível de concentrações de alumínio em diferentes contextos ambientais [18].

Técnicas automáticas de análise, tais como análise por injeção em fluxo (FIA), análise por injeção sequencial (SIA) e análise em fluxo com multicomutação (MCFA), têm sido progressivamente desenvolvidas para a determinação de Al(III) em amostras de água, empregando diversas metodologias analíticas [18, 24, 25, 26].

### 1.2. Aspectos importantes sobre o etanol em vinhos

Os vinhos, apreciados por suas características sensoriais complexas, são produtos ligados diretamente aos processos químicos, em que o etanol desempenha um papel central. Tendo sua história atrelada aos tempos bíblicos, o vinho foi um componente importante e integrado à dieta humana, possuindo evidências de sua fabricação que datam de 6.000 anos [27].

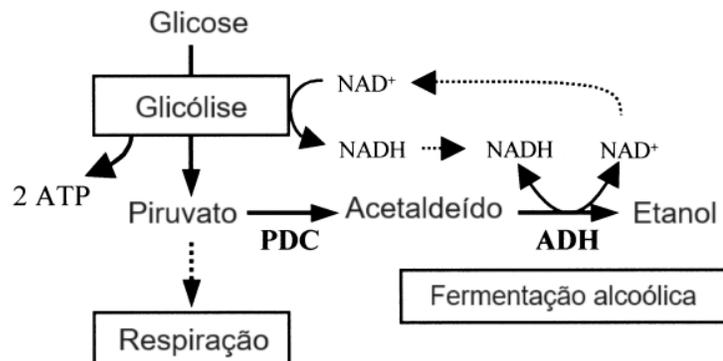
Registros mais detalhados sobre plantio, fabricação e preparo de vinhos foram encontrados em antigas tumbas egípcias. No período do Novo Reino (1539-1075 a.C.), as ânforas de vinhos continham uma espécie de rótulo, indicando o ano da colheita, a propriedade, a qualidade e o nome do fornecedor ou produtor. Vinho branco foi

encontrado, por exemplo, em cânforas na Tumba de Tutancâmon. Para os egípcios tomar vinho era “uma necessidade para uma boa vida após a morte” [28, 29]. O vinho seria servido quando o Faraó ressuscitasse e se apresentasse diante de Osíris. “O juízo final seria irrigado a vinho”.

O processo de fabricação do vinho pode ser descrito, de forma sucinta, como o resultado de um processo natural de fermentação. Os elementos químicos que compõem o vinho são todos encontrados na casca da uva e na sua polpa. Após a maceração do fruto e sob condições controladas de temperatura, ocorre a fermentação. Nesse processo, o açúcar é convertido em álcool pelas leveduras com liberação dióxido de carbono [28].

O álcool mais importante e abundante no vinho é o etanol. Em condições de fermentação padrão, o etanol pode acumular-se em cerca de 14-15%, mas geralmente as concentrações de etanol no vinho variam entre 10-13%. Os principais fatores que controlam a produção de etanol são os açúcares, a temperatura e a cepa de levedura [27]. O diagrama mostrado na Figura 2 apresenta a via de fermentação alcoólica por leveduras.

Figura 2 - Diagrama da via de fermentação alcoólica por leveduras.



Fonte: Adaptado de Saika, 2006 [30].

O diagrama apresenta a fermentação alcoólica ocorrendo em duas etapas de reação: a descarboxilação do piruvato em acetaldeído pela piruvato descarboxilase (PDC) e a subsequente redução do acetaldeído a etanol pela enzima álcool desidrogenase (ADH). Esta via metabólica apoia a glicólise e a síntese de ATP através da reciclagem de  $\text{NAD}^+$  [30, 31].

O etanol é crucial para a estabilidade, envelhecimento e propriedades sensoriais do vinho. À medida que sua produção aumenta durante a fermentação, ele limita cada vez mais o crescimento da maioria dos microrganismos, permitindo que a *Saccharomyces cerevisiae* domine o processo de fermentação. A atividade inibitória do etanol, combinada com a acidez do vinho e o metabissulfito de potássio adicionado, permite que o vinho permaneça íntegro por anos na ausência de ar. Durante a fermentação da casca de uvas tintas, o etanol atua como um solvente importante na extração de pigmentos e taninos. Ele também influencia os tipos e quantidades de compostos aromáticos produzidos, afetando a atividade metabólica das leveduras [27, 31].

Conforme a legislação brasileira, regida pela Lei nº 7.678 de 1988 [32], que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados de uva e do vinho, e dá outras providências, os vinhos são classificados em três níveis conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Classificação dos vinhos conforme legislação brasileira.

<b>Classificação</b>	<b>Descrição</b>	<b>Teor alcoólico % (v/v)</b>
Classe	De mesa	8,6 a 14
	Leve	7 a 8,5
	Fino	8,6 a 14
	Espumante	10 a 13 (Champange, Espumante natural)
		7 a 10 (Moscatel Espumante)
	Frisante	7 a 14
	Gaseificado	7 a 14
	Licoroso	14 a 18
	Composto	14 a 20

Fonte: BRASIL [32].

A fiscalização e os controles dos parâmetros físico-químico e sensorial de vinhos e derivados é competência do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Nesta pesquisa foi escolhido trabalhar com os vinhos classificados como de mesa, que conforme legislação possuem teor alcoólico de 8,6% a 14% em volume, podendo conter até uma atmosfera de pressão a 20 °C e rotulados como seco, que contém até quatro gramas de glicose por litro [32, 33].

### 1.2.1. Métodos analíticos para determinação de etanol

Atualmente, a determinação de etanol em bebidas alcoólicas pode ser realizada de diversas maneiras incluindo: análise densimétrica (34), método do índice de refração (34), oxidação do destilado (34, 35), espectrofotometria (34-36), método enzimático (37, 39), biossensor (38, 39), potenciometria (39), cromatografia gasosa (GC) (40), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (41, 42), espectrometria Raman (43), FT-NIR (43) e Análise de Injeção em Fluxo (FIA) (44, 45).

Nesse estudo, utilizamos o método de determinação de etanol por espectrofotometria a partir da oxidação com dicromato. A determinação de etanol usando a reação oxidante com dicromato de potássio em ácido sulfúrico, tem sido descrita desde 1930 [46]. Em 1968, foi proposto o método baseado nessa reação, o qual foi adotado como um dos métodos oficiais para determinação de etanol em vinhos (Official Method of Analysis, AOAC) [47].

### 1.3. Procedimentos automáticos de análises

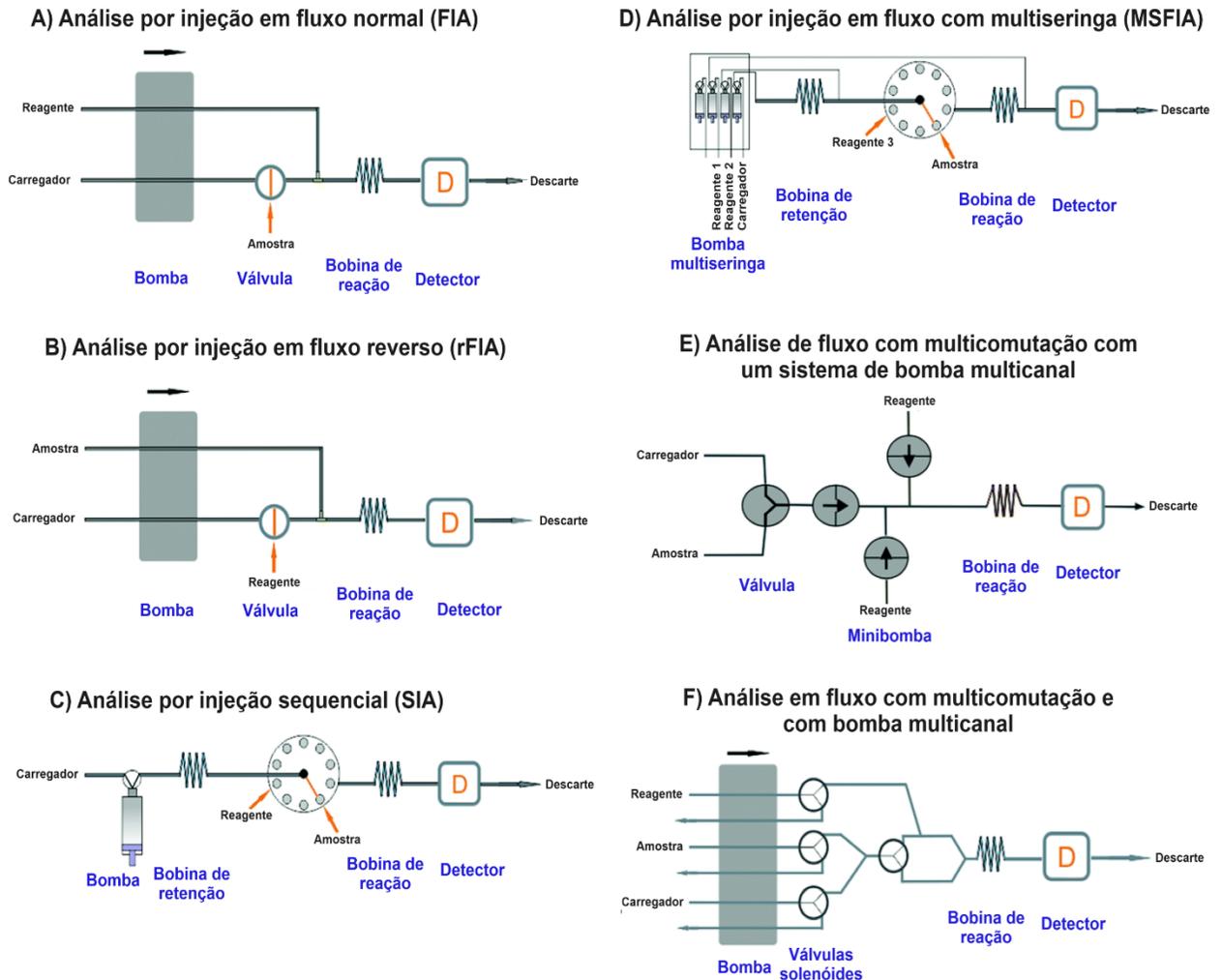
A crescente demanda por análise de múltiplas amostras, incluindo a determinação de diversas espécies químicas, em uma única análise, com precisão, eficiência e alta repetibilidade, favorece o desenvolvimento e aplicação de procedimentos analíticos automatizados. Um procedimento analítico automático permite que todo o processo seja concluído sem intervenção direta do analista ou com intervenção mínima, mas também deve permitir a possibilidade de ajuste das condições de operação com base nos resultados obtidos [48, 49].

Entre os diversos processos de automação disponíveis, a análise por injeção em fluxo (FIA - *Flow Injection Analysis*) se destaca por várias razões: pode ser implementada com equipamentos de baixo custo; representa um sistema de processamento de amostra pré-deteção; pode ser integrada com equipamentos que empregam diferentes técnicas de detecção; e é um ambiente fechado que reduz ao máximo o risco de contaminação [49, 50, 51]. Este processo foi adotado no presente estudo para desenvolver os procedimentos analíticos propostos.

### 1.3.1. Análise em fluxo

Os procedimentos analíticos empregando processos de análise em fluxo [3, 6, 8, 26, 44, 45], apresentam como vantagem a versatilidade, robustez, baixo consumo de reagentes e redução de volume de efluente gerado em comparação com os procedimentos manuais, ganhando ampla aceitação na comunidade analítica. O crescente interesse dos analistas por métodos analíticos em fluxo e o desenvolvimento de suas inúmeras aplicações práticas, levaram à criação de diversos tipos de sistemas de análise em fluxo, como os exemplos ilustrados na Figura 3.

Figura 3 - Diagrama de sistemas básicos de análise por injeção em fluxo.



Fonte: Trojanowicz & Kolacinska, 2016 [49].

Em sistemas de análise em fluxo, a sensibilidade é controlada pela dispersão da zona da amostra no fluido transportador, portanto, quando a sensibilidade é um parâmetro essencial, o módulo de análise deve ser operado na condição de volume infinito, isto é, praticamente sem dispersão. Para alcançar essa condição, o percurso analítico deveria ser preenchido somente com a amostra. Entretanto, sem a presença de um reagente, não haveria a formação do produto a ser detectado. Esta limitação pode ser contornada, empregando os processos conhecidos como fluxo-batelada (*flow-batch*) [49, 51, 52, 53] e o bombeamento em malha fechada (*closed-loop*) [51, 54, 55].

No primeiro caso [51, 52, 53], um volume de amostra previamente estabelecido, é colocado em uma câmara de mistura, onde são adicionadas pequenas alíquotas dos reagentes. Após um intervalo de tempo para o desenvolvimento da reação, a solução é bombeada da câmara para o sistema de detecção. O uso de soluções de reagentes concentradas permite o uso de pequenos volumes, e assim diluindo a amostra o mínimo possível.

O segundo caso [51, 54, 55], é outra vertente do processo de análise em fluxo. O percurso analítico compreendendo a cela de fluxo e o reator é preenchido com a solução da amostra, a qual é bombeada em circuito fechado. Uma alíquota da solução do reagente é inserida no circuito e é forçado a circular dentro da zona da amostra, onde se dispersa permitindo que a reação para formação do composto ocorra. O volume da alíquota da solução do reagente é muito menor que o volume da amostra, então diluição da amostra pela solução do reagente é minimizada. O sinal gerado pelo fotômetro é monitorado em tempo real e depois de alguns ciclos, o reagente se distribui em toda extensão da amostra. A circulação é mantida até que o sinal gerado se estabilize, indicando que a reação alcançou o estado de equilíbrio dinâmico, permitindo ganho significativo de sensibilidade.

Estas duas estratégias têm como característica comum, a implementação empregando o processo de multicomutação em análise em fluxo. O bombeamento em malha fechada (*close-loop*) não necessita de dispositivo de agitação para misturar as soluções, e a evolução da formação do composto pode ser monitorada em tempo real [56]. Neste projeto, o processo de *flow-batch* foi utilizado visando encontrar a melhor solução para determinação das espécies químicas de interesse.

### 1.3.2. Uso do microcontrolador Arduino

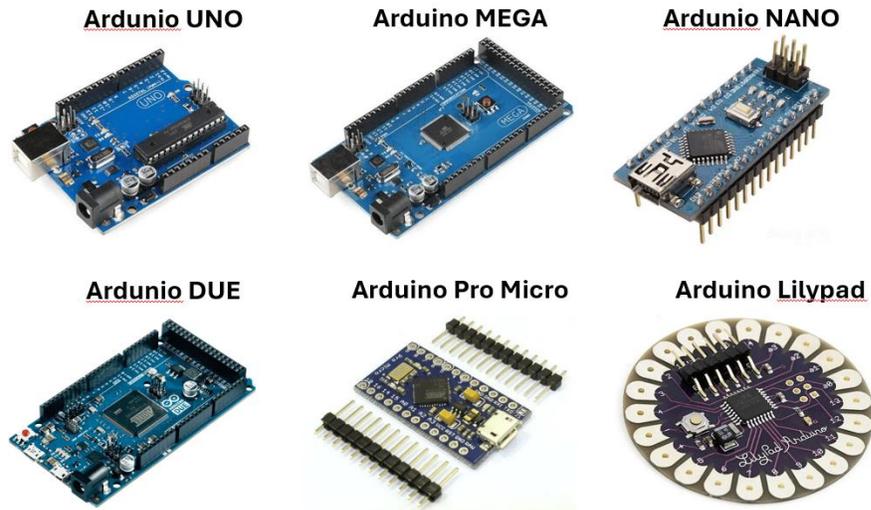
O avanço da instrumentação para a criação de protótipos e ferramentas científicas destinadas a resolver problemas experimentais específicos, além de facilitar as atividades de pesquisa diárias, é fundamental nos laboratórios de pesquisa, especialmente na área da química analítica. Geralmente, o objetivo é aprimorar as condições de trabalho de forma econômica e eficiente. A customização de instrumentos científicos é cada vez mais viável graças aos módulos eletrônicos de código aberto [57, 58].

Dentro dessa categoria, os microcontroladores da família Arduino se destacam, graças à sua compatibilidade com os sistemas operacionais atuais, ao seu tamanho compacto (algumas versões são do tamanho de um *pendrive*), ao preço acessível (aproximadamente R\$ 150), ao grande número de portas de comunicação e à capacidade de acoplar *shields*, que agregam funcionalidades especiais ao sistema, como módulos Bluetooth, Wi-Fi e outros [57, 58].

Essas características tornam esses dispositivos ferramentas ideais para o desenvolvimento de protótipos nos laboratórios de pesquisa, além disso, a linguagem de programação utilizada no Arduino é baseada em C/C++. O ambiente de desenvolvimento para programar o Arduino é conhecido como Arduino IDE (Integrated Development Environment). Apesar de ser baseado em C/C++, a Arduino IDE simplifica muitos aspectos da programação para torná-la mais acessível a iniciantes e pessoas com pouca experiência em programação [59, 60].

As Figuras 4 e 5 apresentam modelos de placas da família Arduino e a interface do software para programação e carregamento de informação para a placa Arduino.

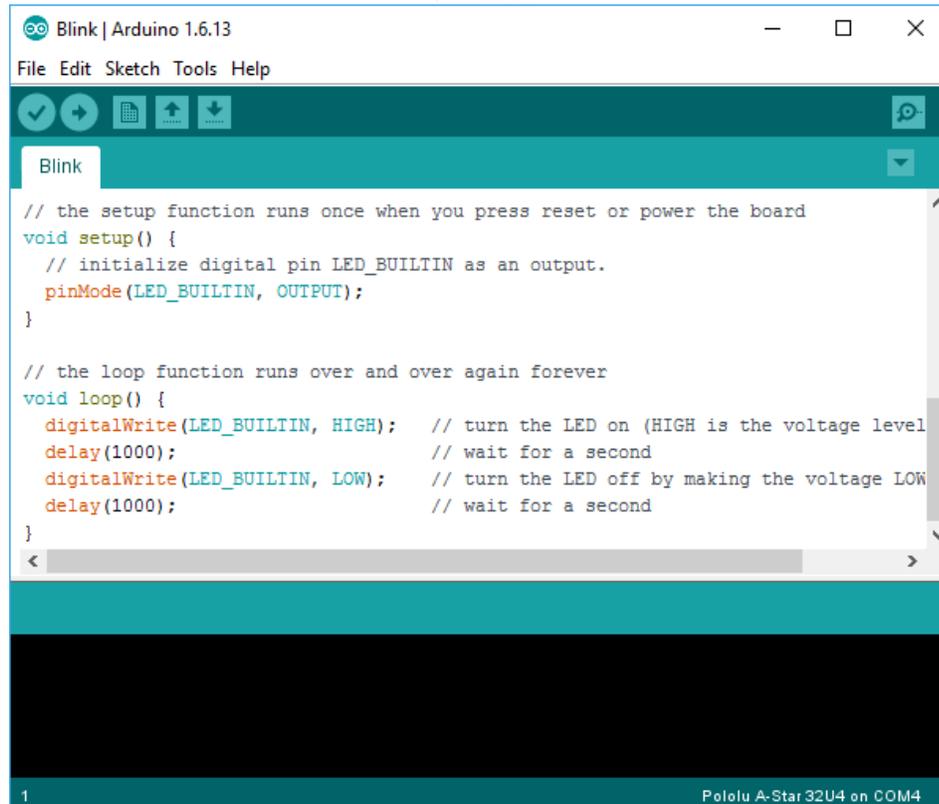
Figura 4 - Modelos de microcontroladores Arduino.



Fonte: Arduino - <https://www.arduino.cc/> (2024).

Para os propósitos desta pesquisa, o modelo utilizado foi o Arduino DUE, que é uma placa microcontroladora baseada na CPU Atmel SAM3X8E ARM Cortex-M3, essa placa foi a primeira de sua linha baseada em um microcontrolador ARM de 32 bits. Além disso, dispõe de 54 pinos (portas) de entrada/saída digital, sendo que 12 portas podem ser utilizadas como saídas PWM (*Pulse Width Modulation*). Esta função permite controlar a rotação de motores de corrente contínua e a intensidade de emissão de LEDs (*light emitting diode*). O maior número de pinos favorece o desenvolvimento e implementações de modificações e conexões no sistema a ser construído [61].

Figura 5 - Interface do ambiente de programação do Arduino – Arduino IDE. Código para ligar e desligar um LED.

The image shows a screenshot of the Arduino IDE window titled "Blink | Arduino 1.6.13". The menu bar includes "File", "Edit", "Sketch", "Tools", and "Help". Below the menu bar is a toolbar with icons for saving, running, and uploading. The main editor area contains the following C++ code for a Blink sketch:

```
// the setup function runs once when you press reset or power the board
void setup() {
  // initialize digital pin LED_BUILTIN as an output.
  pinMode(LED_BUILTIN, OUTPUT);
}

// the loop function runs over and over again forever
void loop() {
  digitalWrite(LED_BUILTIN, HIGH); // turn the LED on (HIGH is the voltage level)
  delay(1000); // wait for a second
  digitalWrite(LED_BUILTIN, LOW); // turn the LED off by making the voltage LOW
  delay(1000); // wait for a second
}
```

The status bar at the bottom indicates "1" on the left and "Pololu A-Star 32U4 on COM4" on the right.

Fonte: Arduino - <https://www.arduino.cc/> (2024).

O Arduino IDE se destaca como uma ferramenta valiosa para pesquisadores em diversas áreas de estudo, especialmente devido à sua simplicidade de uso e ampla acessibilidade. Esta plataforma de desenvolvimento de código aberto facilita a prototipagem rápida de dispositivos eletrônicos, podendo ser utilizada por pesquisadores com limitada experiência em programação. A interface do Arduino IDE é intuitiva, oferecendo suporte para várias linguagens de programação e compatibilidade com uma vasta gama de módulos e sensores [57, 60, 61].

Nos módulos desenvolvidos para sistemas de análise em fluxo, geralmente faz-se uso das entradas e saídas digitais, operando com diferença de potencial elétrico nos estados de nível baixo (*off*, LOW) ou nível alto (*on*, HIGH). As entradas digitais são tipicamente empregadas na leitura de sinais simples de chaves nos estados de ativação e desativação, enquanto as saídas digitais são utilizadas para controlar relés ou outros dispositivos de potência que, por sua vez, acionam diretamente válvulas, motores, bombas, eletroímãs e similares. As entradas analógicas das placas Arduino são

comumente utilizadas para aquisição de potenciais elétricos provenientes dos circuitos de sensores. Os sinais gerados pelos sensores estão no padrão analógico e são convertidos para o padrão digital. Uma mesma porta digital pode funcionar tanto como entrada, quanto como saída, sendo esta configuração determinada pelo software. Esta capacidade aumenta a versatilidade do Arduino para o controle de instrumentos analíticos [57, 60, 62].

Além disso, dispositivos como bombas, que operam com motores de corrente contínua, podem ter sua vazão controlada pela manipulação da duração dos sinais alto e baixo das saídas digitais, utilizando a técnica de modulação de largura de pulso (PWM). Bombas que utilizam motores de passo podem ser controladas através de um conjunto de linhas de saída, configuradas de acordo com a estrutura do equipamento a ser controlado. A resolução desse tipo de controle varia conforme o modelo da placa utilizada; por exemplo, no Arduino UNO (com PWM de 8 bits) podem ser selecionados 256 níveis discretos, enquanto o Arduino DUE (com PWM de 12 bits) pode alcançar até 4096 valores discretos [62, 63].

Devido à facilidade de acesso a essa tecnologia, vários trabalhos voltados para a química analítica têm sido propostos, empregando placas Arduino para o desenvolvimento de sistemas de detecção de baixo custo e automação de processos, sobretudo associados aos procedimentos em fluxo [58, 62 - 65].

## 2. OBJETIVOS

Desenvolver um procedimento analítico, alternativo aos procedimentos oficiais, para a determinação de alumínio em água potável, usando o processo de análise em fluxo, tendo como foco a redução da geração de efluentes e automação do procedimento analítico.

Desenvolver um método analítico automatizado e inovador, alternativo aos procedimentos oficiais para a determinação de etanol em vinho, utilizando processo de análise em fluxo, com o objetivo de reduzir a geração de efluentes, sem sacrificar a precisão e a produtividade.

### 3. DETERMINAÇÃO DE ALUMÍNIO EM ÁGUA POTÁVEL

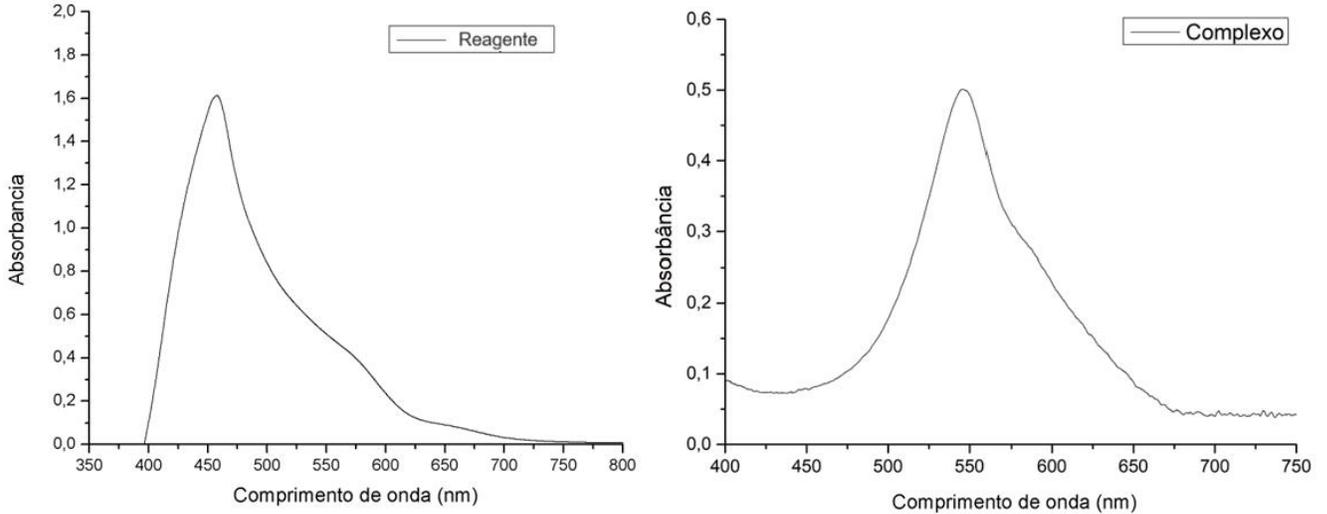
#### 3.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O procedimento para determinação espectrofotométrica de alumínio em água potável, desenvolvido nessa pesquisa, baseia-se na reação entre o Al(III) e o reagente cromo azurol S (CAS). Foram encontradas na literatura metodologias de fluxo para a determinação de alumínio em águas, de forma rápida, automatizada e menos dispendiosas utilizando a reação citada [66, 67, 68].

Os reagentes cromogênicos mais utilizados nos métodos espectrofotométricos para determinação de Al (III) são eriocromo cianina R (ECR), violeta de pirocatecol (PCV), aluminon e cromo azurol S (CAS), também conhecido como azul mordente 29 [66 - 71]. A escolha do CAS para esta pesquisa foi baseada na sensibilidade, linearidade e estabilidade relatadas na literatura. Também, apresenta uma faixa de pH mais ampla, o que facilita as condições de tamponamento do meio reacional [66, 71].

O método espectrofotômetro para determinação do alumínio pela reação com o CAS formando o  $Al(CAS)_2$ , é baseado na formação de complexos binários com reagentes da classe trifenilmetano, no qual ocorrem a desprotonação do grupo carboxila e hidroxila ligando-se ao metal. Essa reação ocorre em uma faixa de pH que varia de 4 a 7, e o complexo apresenta máximo de absorção em 545 nm [72 - 75]. O espectro de absorção do complexo formado nessa reação é apresentado na Figura 6.

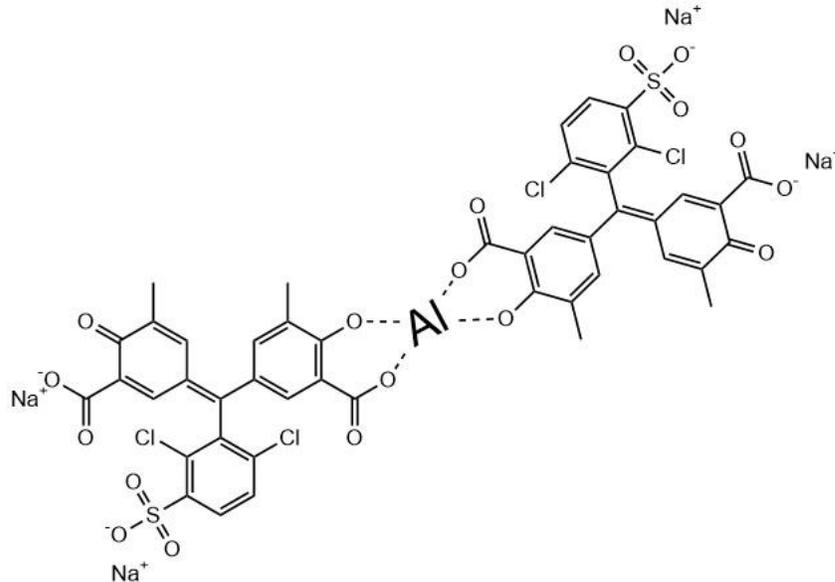
Figura 6 - Espectro de absorção do reagente CAS e do complexo Al(CAS)2.



Fonte: Autor.

Em água, o complexo apresenta uma coloração violeta, com uma forte banda na região do visível, entre 525 a 600 nm. O cromo azurol S apresenta vantagens distintas sobre outros reagentes cromogênicos, que inclui rápido desenvolvimento de cor, sensibilidade, uso em temperatura ambiente, estabilidade de cor [76]. Uma possível estrutura química do complexo alumínio cromo azurol S 1:2 é mostrada na Figura 7.

Figura 7 - Possível estrutura para o complexo Alumínio Cromo Azurol S 1:2.



Fonte: Autor.

## 3.2. PARTE EXPERIMENTAL

Nos tópicos a seguir descreve-se o processo de construção dos equipamentos empregados para a determinação de alumínio em água potável.

### 3.2.1. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas com água purificada, com condutividade elétrica menor que  $0,1 \mu\text{S}/\text{cm}$ . As soluções estoque foram armazenadas em frascos de polipropileno e as soluções de trabalho foram preparadas no dia de uso.

As soluções estoque utilizada nesse estudo são descritas a seguir:

- Solução do reagente cromogênico cromo azurol S – CAS (65%) (Merck)  $0,1 \text{ g L}^{-1}$ , foi preparada dissolvendo  $0,025 \text{ g}$  do reagente em  $250 \text{ mL}$  de água. A solução foi armazenada em ambiente refrigerado.
- Solução de acetato de sódio (Sigma)  $2,5 \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada dissolvendo-se  $102,53 \text{ g}$  do reagente em  $500 \text{ mL}$  de água.
- A solução de  $\text{Al}^{3+}$  utilizada para a construção dos padrões foi obtida de uma solução estoque de tritisol de  $\text{AlCl}_3$  (Merck) ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em água.

Para a realização dos trabalhos diários, eram preparadas as seguintes soluções:

- Solução de acetato – em  $50 \text{ mL}$  da solução estoque de acetato de sódio  $2,5 \text{ mol L}^{-1}$ , era feito um ajuste do valor do pH da solução para 6 com adição de ácido acético glacial P.A. (Merck).
  - Foram adicionados a solução de acetato  $0,5 \text{ g}$  de ácido ascórbico e  $1 \text{ mL}$  de  $\text{La}^{2+}$ , obtido de uma solução padrão de lantânio  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  (SpecSol), os quais serviram como agentes mascarantes.
- Solução de trabalho de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Al}^{3+}$  era preparada diluindo  $100 \mu\text{L}$  do estoque de  $\text{Al}^{3+}$  e completando o volume para  $50 \text{ mL}$ .

As soluções padrão para a construção das curvas analíticas foram de  $50, 100, 150, 200, 250, 300$  e  $400 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Al}^{3+}$ , preparadas a partir da solução estoque de  $\text{Al}^{3+}$ .

Em cada solução padrão era adicionado 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{HNO}_3$  5 mol  $\text{L}^{-1}$ , ajustando o volume final para 50 mL. A concentração de  $\text{HNO}_3$  nestas soluções padrão foi estabelecida em 0,01 mol  $\text{L}^{-1}$ .

### 3.2.2. Amostras

As amostras de água potável foram adquiridas em supermercados da região e a água de poço obtida com moradores da região. Não houve diluições e nem pré-tratamento das amostras. As amostras foram preparadas conforme os padrões descritos anteriormente, com a adição de  $\text{HNO}_3$  (0,01 mol  $\text{L}^{-1}$ ) para evitar a hidrólise do alumínio.

### 3.2.3. Equipamentos e acessórios

A instrumentação proposta compreende as seguintes unidades: módulo de propulsão de fluídos e de reação constituído por duas minibombas solenoide, duas minibombas peristálticas, um minimotor de corrente contínua (MCC), para agitação e uma câmara de reação em vidro; sistema de detecção fotométrica constituído por um LED (fonte de radiação), um fotodiodo com amplificação de sinal integrada e uma cela de detecção. O controle do módulo de análise (propulsão de fluídos + agitação + sistema de detecção) e a aquisição de dados foram realizados empregando um microcontrolador Arduino Due, acoplado a um computador de bancada, operando com um software desenvolvido no Arduino IDE para este projeto.

O desenvolvimento do software de controle destinado ao módulo de análise representa uma parte essencial dos produtos deste projeto. O desenvolvedor ou pesquisador pode incluir adaptações no código fonte, visando ajustá-lo às especificidades do seu sistema. No Apêndice 1, disponibilizamos o programa completo utilizado para o sistema de determinação analítica proposto neste estudo, uma vez que a pesquisa engloba a otimização e a automação do controle do sistema.

A seguir são apresentados os equipamentos e acessórios empregados para o desenvolvimento do sistema de propulsão de fluídos, de detecção e de controle:

- um microcomputador equipado com interface eletrônica;

- interface digital para acionamento das minibombas;
- fonte de corrente contínua, estabilizada em 12 V e intensidade de corrente de 1 A para alimentar as minibombas e as válvulas solenoide;
- uma válvula solenoide de 3 vias, NReaserach HP2251031;
- fonte de alimentação de corrente contínua regulada em -12 V e + 12 V, para alimentar o fotômetro;
- interface de potência para acionamento das válvulas solenoide e das minibombas;
- duas minibombas solenoide *Bio-Chen Valves* de 40 µL (120SP1240-5TV/12VDC 1211261);
- cela de reação moldada em vidro;
- acrílico para construção de componentes do módulo de análise;
- tubos de polietileno para construção de bobinas de reação e linhas de fluxo;
- LED de alto brilho e ângulo de emissão estreito ( $<25^\circ$ ), máximo de emissão em 534 nm;
- fotodiodo 0PT301 (*Burr-Brown*);
- resistores diversos;
- capacitores diversos;
- placa de circuito impresso em fibra de vidro;
- cela de fluxo com caminho óptico de 200 mm.

O valor gasto para a construção dos módulos desse projeto, sem incluir os valores dos serviços e o tempo de construção, foi de aproximadamente 290 dólares, sem a inclusão do computador pessoal.

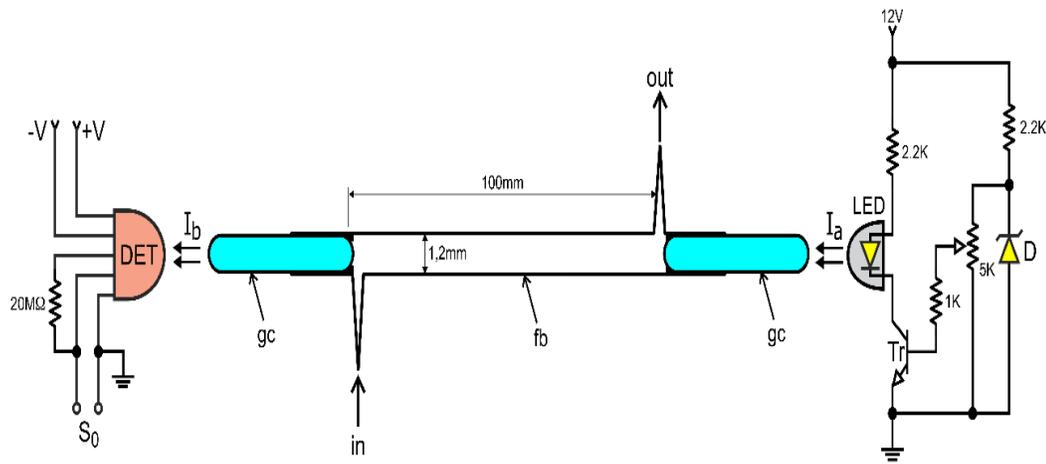
#### 3.2.4. Descrição do fotômetro

O sistema de detecção fotométrica compreende um fotômetro constituído pelo fotodetector 0PT301 (*Texas Instruments*), um díodo emissor de luz (LED) com emissão máxima em 534 nm, e uma cela de fluxo com 200 mm de caminho óptico e 1,2 mm de diâmetro interno.

O fotodetector e o LED foram acoplados à cela de fluxo, disposto em uma geometria que maximiza o aproveitamento do feixe de radiação eletromagnética emitido pelo LED. A detecção com fotômetro baseado em LED, é feita com a cela de fluxo posicionada com uma janela direcionada para o LED e a outra voltada para o fotodetector.

O sistema de detecção foi acondicionado em uma caixa de madeira para evitar interferência de luz externa. O diagrama da Figura 8 representa a estrutura de montagem do fotômetro.

Figura 8 - Diagrama do fotômetro de LED para determinação de alumínio. Det = fotodetector OPT301;  $S_0$  = sinal gerado pelo fotômetro em mV;  $I_a$  = feixe de radiação eletromagnética emitida pelo LED ( $\lambda = 534$  nm), e entrando na cela de fluxo;  $I_b$  = feixe de radiação saindo da cela de fluxo rumo ao fotodetector; gc = cilindros de vidro, 20 mm de comprimento e 1,2 mm de diâmetros; fb = corpo de cela de fluxo, tubo de vidro, comprimento de 200 mm e diâmetro interno de 1,2 mm; D = diodo Zener para 3,3 V; Tr = transistor BC547; +V e -V = diferenças de potenciais de 12 V.

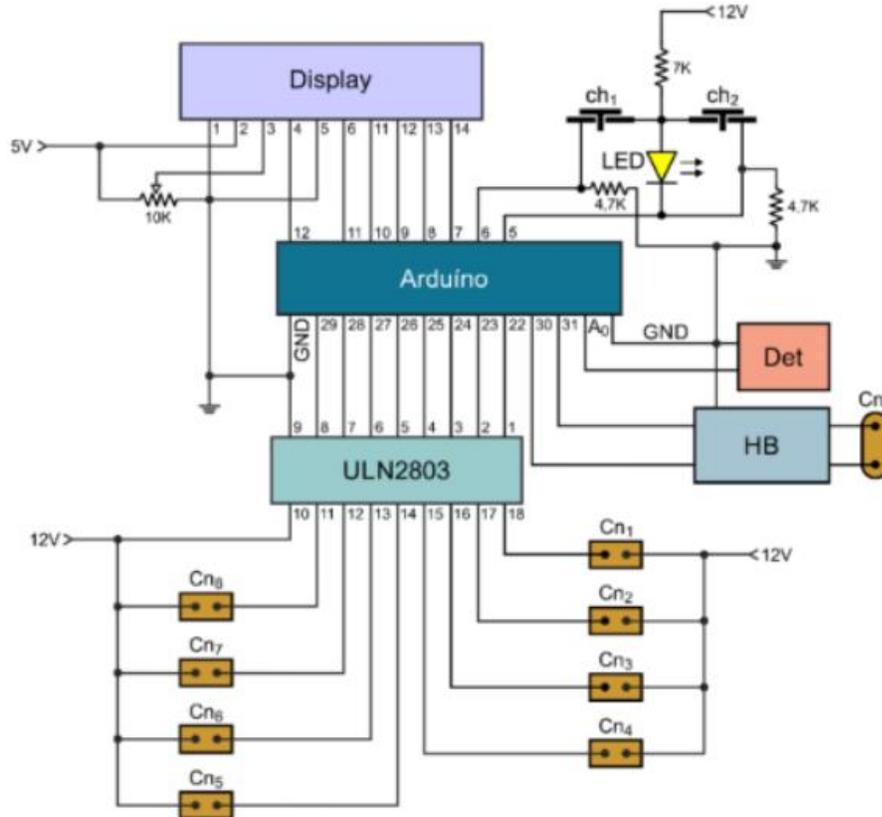


Na saída do fotodetector (Det) a diferença de potencial  $S_0$  expressa em mV, é proporcional à intensidade do feixe de radiação ( $I_b$ ), proveniente da cela de detecção (fb). A intensidade do feixe de radiação ( $I_a$ ), emitida pelo LED, foi ajustada através do resistor variável conectado à base do transistor (Tr).

O microcontrolador, Arduino Due, foi programado para trabalhar com uma resolução de 12 bits, atingindo um valor digital máximo de 4096 unidades digitais (ud), o que corresponde ao sinal de entrada analógica de 3200 mV. Diariamente, na inicialização do software, era feito o ajuste do sinal para o valor digital de trabalho de 3800 ud. Isto era feito mantendo a cela de fluxo preenchida com o branco da solução a ser estudada. O ajuste era feito girando o resistor variável conectado à base do transistor (Tr).

A Figura 9 apresenta o diagrama eletrônico do dispositivo de controle do sistema.

Figura 9 - Esquema eletrônico dos dispositivos de controle do módulo de análise para determinação do alumínio. Ch1 e Ch2 = chaves para contato elétrico, normalmente abertas; A0 = entrada analógica do Arduino Due; Det = fotômetro de LED; Cn1, Cn2 ..., Cn8 = soquetes para acoplamento das bombas peristálticas e solenoide.



O fotodetector OPT301 trabalha em uma ampla faixa de diferenças de potências elétrica. Alimentado com diferenças de potências de -12 e +12 V, pode fornecer diferenças de potenciais de 0 a  $\pm 10$  V. Pode ser acoplado direto ao sistema de conversão de sinal de analógico para digital do Arduino Due, sem uma etapa de amplificação.

O LED sinaliza que o equipamento está conectado à rede elétrica, e gera uma diferença de potencial estável de 2,4 V, a qual é fornecida para as chaves Ch1 e Ch2. Estas chaves estão conectadas às linhas número 5 e 6 do Arduino, que foram programadas como portas de entrada digital. O LED também age como um redutor de diferença de potencial estável (2,4 V), uma vez que o valor máximo que pode ser aplicado à porta de entrada do Arduino é de 3,2 V. Quando uma das chaves é pressionada, o

Arduino verifica se o sinal de entrada é alto (cerca de 3000 UD) e executa a tarefa associada àquela chave.

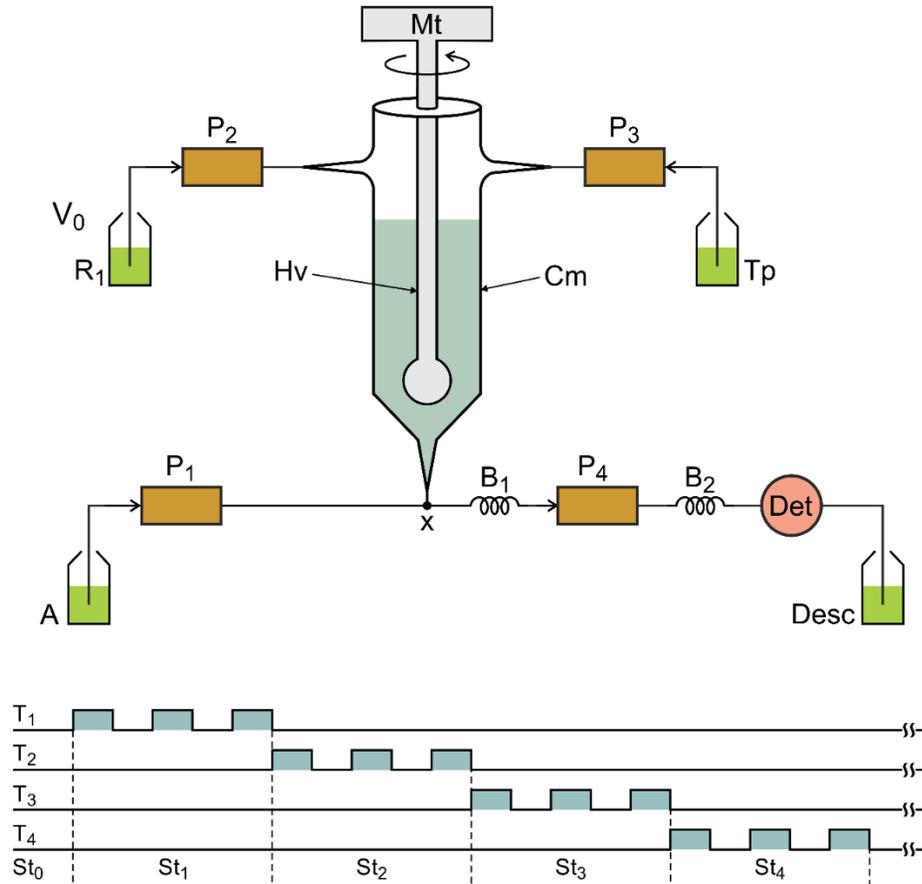
O circuito integrado ULN2803, pode fornecer intensidades de corrente elétrica de 400 mA em cada linha de saída. O display tem duas linhas de 16 caracteres. O software de controle e aquisição de dados foi criado no Ambiente de Desenvolvimento Integrado (IDE) do Arduino Due, desenvolvido especificamente para este trabalho. Por meio dessa plataforma é possível a comunicação do usuário com o sistema de análise, usando os estados das chaves Ch1 e Ch2 (ligadas ou desligadas) e o display.

### 3.2.5. Descrição do sistema de fluxo e desenvolvimento do programa

O módulo de análise foi criado com base nos princípios dos processos flow-batch e multicomutação, utilizando uma câmara de mistura equipada com motor CC para homogeneizar as soluções, e minibombas peristálticas e solenoide como meios de propulsão de fluidos. Além disso, uma câmara de mistura em vidro foi utilizada para promover a reação.

O diagrama do sistema de fluxo é mostrado na Figura 10 na condição de espera.

Figura 10 - Diagrama do módulo de análise para determinação de alumínio. A = Amostra; P<sub>1</sub> e P<sub>4</sub> = minibombas peristáltica, vazão 17,4 mL/min; P<sub>2</sub> e P<sub>3</sub> = bombas solenoide, 40 µL por pulso, frequência de acionamento 3 Hz; R1 = solução de cromo azulol S; Tp = solução tampão acetato; Desc = descarte de fluídos; Mt = motor de corrente contínua, 12 V; Cm = câmara de mistura (vidro), volume 5 mL; Hv = haste de vidro; B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> = bobinas, tubos de polietileno, 25 cm de comprimento e diâmetro interno de 0,8 mm; det = fotômetro de LED; x = conector de três vias, feito de acrílico. T<sub>1</sub> – T<sub>4</sub> = linhas de tempo de acionamento das bombas. As superfícies sombreadas indicam que o dispositivo correspondente está ligado. O estado st<sub>0</sub>, indica que o processo de análise ainda não começou. St<sub>1</sub> = etapa de amostragem, St<sub>2</sub> = Inserção da solução de cromo azulol S, St<sub>3</sub> = adição da solução tampão acetato, St<sub>4</sub> = agitação da solução. As setas indicam a direção de bombeamento.



O software de controle foi desenvolvido para gerenciar todas as etapas envolvidas no procedimento analítico. A comunicação do microcontrolador Arduino Due com o usuário, era feita por meio de mensagens mostradas no display ou na tela do computador. Instruções para executar atividades pré-programadas, eram informadas ao microcontrolador por meio das chaves Ch<sub>1</sub> e Ch<sub>2</sub>.

Ao iniciar o programa, as válvulas e as minibombas solenoide são ligadas ou desligadas seguindo o padrão do tempo de comutação, conforme exposto na Figura 5. O processo de análise compreende as etapas descritas abaixo.

### *Calibração*

Ao ser iniciada a execução do programa, uma mensagem mostrada no display, inquiria se era para executar a calibração do fotômetro. A resposta era dada, pressionando uma das chaves, Ch<sub>1</sub> ou Ch<sub>2</sub>. A chave Ch<sub>1</sub> indicava para fazer a calibração. Se a resposta fosse positiva, a minibomba P<sub>1</sub> era mantida acionada durante 5 s, e bombeava 1,45 mL da solução do branco para a câmara. Em seguida, a minibomba P<sub>4</sub> era mantida ligada durante 5 s, e nessa condição a cela de fluxo do fotômetro era preenchida com a solução do branco. Em seguida, a intensidade de emissão do LED era ajustada para 3800 ud, e era mostrado no display. A chave Ch<sub>1</sub> era pressionada para confirmar o valor de calibração e encerrar o procedimento. Finalizada a calibração do fotômetro, dava-se início a etapa de lavagem das linhas de bombeamento dos reagentes, descrita na etapa seguinte.

### *Lavagem dos tubos de bombeamento dos reagentes*

Pressionando a chave Ch<sub>1</sub>, o microcontrolador entendia que a etapa de lavagem era para ser executada, e para isso, as minibombas solenoide P<sub>2</sub> e P<sub>3</sub> eram ligadas/desligadas 20 vezes. O excesso dos reagentes que era acumulado na câmara de mistura, era descartado pelo acionamento da minibomba peristáltica P<sub>4</sub>. Após essa etapa, o módulo de análise estava apto para iniciar o processamento de soluções padrão e de amostras, realizado como descrito na próxima etapa.

### *Leitura de referência*

Inicialmente, a minibomba P<sub>1</sub> era mantida ligada durante 5 s, bombeando 1,45 mL da solução do branco ou da amostra para a câmara de mistura. Em seguida, as minibombas solenoide P<sub>2</sub> e P<sub>3</sub> eram acionadas 5 e 3 vezes, bombeando para câmara de mistura 200, 120 µL das soluções de CAS e de tampão acetato, respectivamente. Durante esta etapa, o motor foi mantido ligado para proceder a mistura das soluções. Na fase seguinte, o motor era desligado, e a bomba peristáltica P<sub>4</sub> era mantida ligada durante

5 s, e assim enchendo a cela de fluxo do fotômetro com solução proveniente da câmara de mistura. Finalizada esta fase, microcontrolador Arduino Due, lia o sinal gerado pelo fotômetro através da entrada analógica (A<sub>0</sub>, Fig. 9). O valor da leitura era salvo como referência (R<sub>s</sub>), a qual era usada para calcular a absorbância durante a realização das análises.

### *Amostragem*

A minibomba P<sub>1</sub> era mantida ligada durante 5 s, e nesta etapa era bombeado para a câmara de mistura 1,45 mL de solução padrão ou amostras. Em sequência, as minibombas solenoide P<sub>2</sub> e P<sub>3</sub> eram ligadas/desligadas 5 e 3 vezes respectivamente, adicionando à câmara de mistura, alíquotas de 200 e 120 µL das soluções do reagente CAS e do tampão de acetato, respectivamente. Após essa etapa, o motor era mantido ligado durante 8 s para homogeneizar a mistura das soluções dentro da câmara, onde ocorria a reação do reagente CAS como os Al<sup>3+</sup>, formando o composto a ser detectado.

### *Leitura do sinal gerado*

A minibomba solenoide P<sub>4</sub> era mantida ligada durante 5 s, tempo suficiente para encher a cela de fluxo do fotômetro com a solução do composto formado, proveniente da câmara de mistura. Em seguida, o Arduino lia o sinal (S<sub>0</sub>) gerado pelo fotômetro, durante 6 s. Cada leitura mostrada na tela do computador, era a média de 200 leituras consecutivas. O software era instruído para detectar o valor máximo do sinal analítico e então exibia-o na tela do microcomputador, juntamente com os demais sinais de leitura. O tempo para leitura foi programado em 6 s, portando cada replicata era representada por 15 valores de leituras.

O fotômetro gerava o sinal analógico em mV, o microcontrolador Arduino os convertia para digital, o qual era usado para calcular a absorbância, usando a equação mostrada abaixo, considerando que a absorção de radiação eletromagnética obedecia a lei de Lambert-Beer.

Absorbância =  $\log (R_s/S_{\text{Sinal}})$ ;

$R_s$  = sinal referência previamente obtido e salvo para esta finalidade durante a etapa de calibração;

Sinal = última leitura.

As medições referentes às soluções padrão de  $\text{Al}^{3+}$  foram utilizadas para obter a curva analítica, e as relacionadas às amostras foram usadas para calcular a concentração do analito. Além das etapas citadas, havia uma etapa de limpeza do percurso analítico. Esta tarefa era implementada, ligando a bomba  $P_1$  durante 6 s, sendo bombeado 1,74 mL de solução para a câmara de mistura. O motor era mantido ligado durante 3 s para lavar a câmara de mistura. Em seguida, a minibomba peristáltica  $P_4$  era mantida ligada durante 7 s para esvaziar a câmara de mistura e lavar a cela de fluxo do fotômetro.

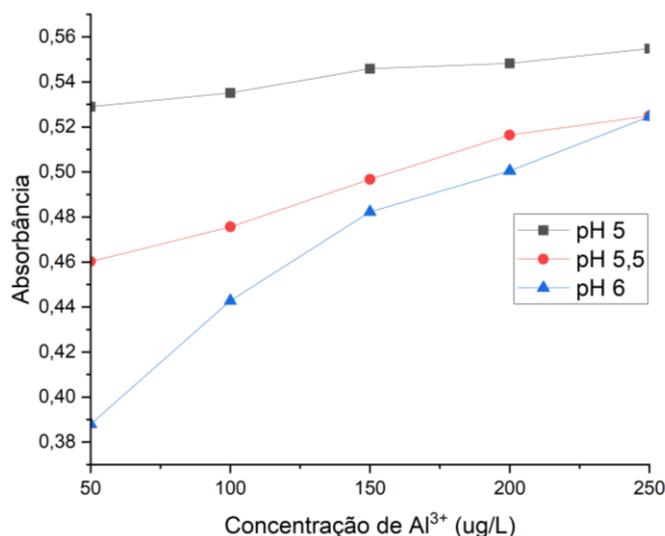
A variação do intervalo de tempo de acionamento de cada minibomba foi realizada pelo software desenvolvido para este trabalho, o qual permitia a atualização das variáveis de controle necessárias para o desenvolvimento do procedimento analítico. São elas: número de ciclos de amostragem; número de replicatas; tempo de mistura das soluções e reação; tempo de leitura do sinal analítico e ciclo de acionamento das minibombas.

### 3.3. RESULTADOS OBTIDOS

#### 3.3.1. Análise do pH e do volume do tampão

O potencial hidrogeniônico  $[\text{H}^+]$  do meio reacional tem efeito significativo na detecção, pois a coloração do complexo formado varia com o pH, portanto este foi o primeiro parâmetro estudado. As variáveis relacionadas para este estudo foram as seguintes: faixa de concentrações das soluções padrão de 50 a 250  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; concentração da solução de acetato de sódio 2,5 mol  $\text{L}^{-1}$ , volume da solução de acetato de sódio 120  $\mu\text{L}$  (3 pulsos); concentração da solução do reagente CAS 0,01% (m/v), volume de CAS 200  $\mu\text{L}$  por replicata; tempo de rotação do motor 8 s; volume das soluções padrão 1,15 mL; comprimento do caminho óptico da cela de fluxo do fotômetro, 100 mm. Os resultados são mostrados na Figura 11.

Figura 11 – Estudo do efeito do potencial hidrogeniônico na resposta analítica.



As informações obtidas nas curvas analíticas são apresentadas a seguir:

Tabela 3 - Parâmetros obtidos nas curvas analíticas para o estudo da influência da concentração de H<sup>+</sup>.

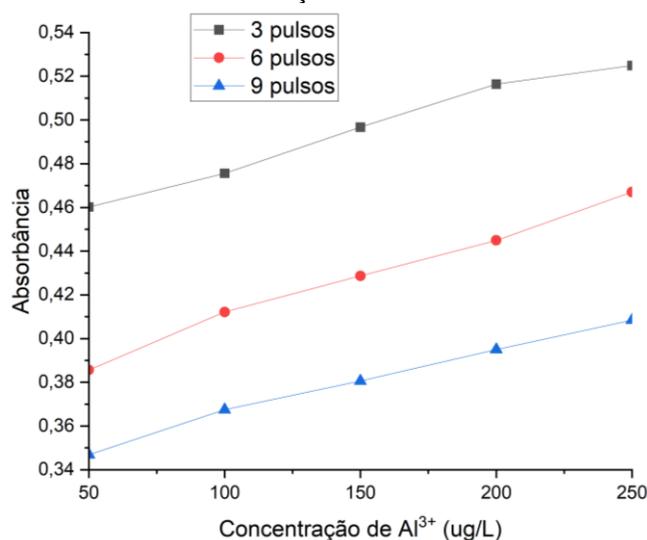
pH (pH final da solução)	Curva analítica	R <sup>2</sup>
5 (4,7)	$y = 0,00013x + 0,52312$	0,96967
5,5 (5,24)	$y = 0,00002x + 0,44373$	0,98459
6 (5,41)	$y = 0,00008x + 0,3683$	0,95243

É evidente que há melhor correlação linear para o valor de pH 5,5, mas a faixa de absorbância foi pequena nesse pH variando apenas 14% (0,46021 a 0,52488). Em pH 6, obteve-se a maior faixa de diferença na absorbância de 35% (0,38795 a 0,52463). Esse pH foi escolhido para os testes a seguir. Para evitar a hidrólise de íon Al(III) [69, 77], as soluções padrão foram acidificadas com HNO<sub>3</sub> (0,01 mol L<sup>-1</sup>), e foi verificado que o pH destas soluções estava em torno de 2,3. Então, na condição de pH 6, o pH final do meio reacional era em torno de 5,41.

As informações obtidas na literatura [69], indicam que o valor de pH final da solução deve ficar entre 5,5 – 6,0. Esta faixa é considerada ideal para a formação do complexo entre o Alumínio e o CAS. Então, a solução tampão de acetato não estabilizou o pH na faixa apropriada para o desenvolvimento da reação.

Os resultados discutidos foram obtidos usando-se 120  $\mu\text{L}$  da solução tampão por replicata, então, tendo em vista a inconsistência do valor do pH do meio reacional, experimentos adicionais foram realizados, aumentando os volumes das alíquotas da solução tampão. Os parâmetros utilizados para este estudo foram os seguintes: faixa de concentrações das soluções padrão 50 a 250  $\mu\text{g L}^{-1}$ , concentração da solução de acetato de sódio 2,5  $\text{mol L}^{-1}$ ; pH da solução de acetato de sódio 6,0; concentração do CAS 0,01% (m/v), volume da solução de CAS 200  $\mu\text{L}$  por replicata; tempo de rotação do motor 8 s; volume das soluções padrão 1,15 mL; comprimento da cela de detecção 100 mm; volumes das alíquotas da solução tampão 120, 246 e 360  $\mu\text{L}$ . Os resultados são mostrados na Figura 12.

Figura 12 – Influência do volume da solução de acetato de sódio na resposta analítica.



Os valores obtidos nesse estudo são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros obtidos nas curvas (volume do tampão).

<b>Volume do tampão (pulsos)</b>	<b>Curva de calibração</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
120 $\mu\text{L}$ (3 pulsos)	$y = 0,00034x + 0,44373$	0,98459
240 $\mu\text{L}$ (6 pulsos)	$y = 0,00039x + 0,36899$	0,99178
360 $\mu\text{L}$ (9 pulsos)	$y = 0,0003x + 0,33441$	0,9921

Observa-se que as três curvas são praticamente paralelas, portanto não houve ganho significativo de sensibilidade. Entretanto, maior variação ocorreu no valor do intercepto, mas há uma razão para isso: o aumento de volume da solução de acetato de

sódio, diluía ambas as soluções, do reagente e da amostra, o que contribuía para diminuição da magnitude do sinal do branco. Tendo em vista que não afetou de forma significativa a sensibilidade, podemos optar por uma solução compromisso, considerando o intercepto, a sensibilidade e as condições de tamponamento, então foi selecionado o volume de 240  $\mu\text{L}$  para a solução de acetato de sódio.

### 3.3.2. Estudo do efeito da concentração e do volume do reagente

O estudo do efeito da concentração do reagente CAS foi realizado em dois níveis. Os parâmetros fixados anteriormente, pH e volume da solução de acetato de sódio, foram mantidos para os testes seguintes. Os parâmetros utilizados para o estudo da concentração foram: faixa de concentrações das soluções padrão 150 a 300  $\mu\text{g L}^{-1}$ , concentração da solução de acetato de sódio 2,5 mol  $\text{L}^{-1}$ , pH da solução de acetato de sódio 6, volume da solução de acetato de sódio 240  $\mu\text{L}$ , volume de CAS 240  $\mu\text{L}$  por replicata, tempo de rotação do motor 8 s, volume das soluções padrão 1,15 mL, comprimento do caminho óptico da cela de detecção 200 mm. Os resultados são mostrados na Figura 13.

Figura 13 - Avaliação da influência da concentração do reagente CAS sobre o sinal analítico.

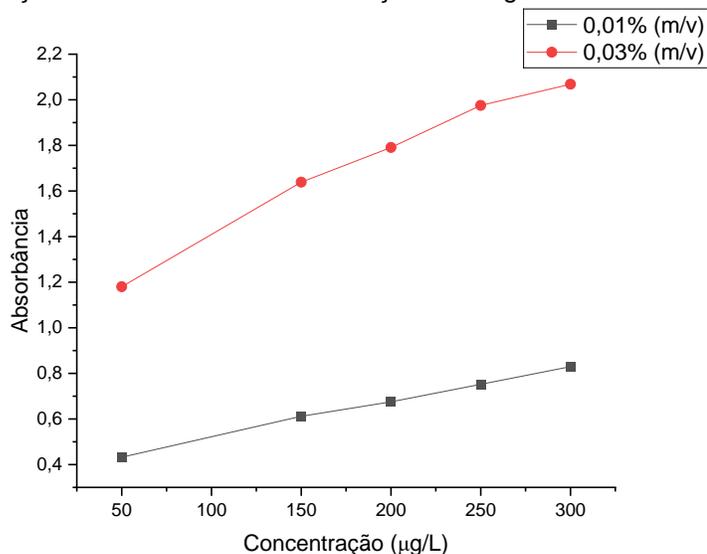


Tabela 5 - Parâmetros analíticos obtidos nas curvas sob diferentes concentrações do reagente CAS.

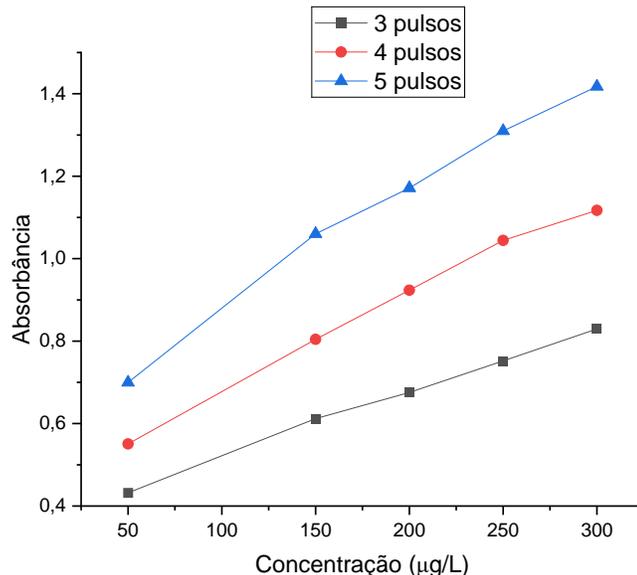
<b>Concentração do CAS % (m/v)</b>	<b>Curva de calibração</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
0,01	$y = 0,00157x + 0,36164$	0,99677
0,03	$y = 0,0036x + 1,04706$	0,98020

Nesse estudo foi modificada a cela de detecção para uma de caminho óptico de 200 mm. Nos estudos anteriores o volume de CAS foi de 200  $\mu\text{L}$ , mas com a nova cela esse volume saturava o sinal. O volume foi então reduzido para 120  $\mu\text{L}$  e realizado os novos testes. O estudo da concentração do CAS foi realizado em dois níveis 0,01% ( $1,65 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) e 0,03% ( $4,95 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ).

Com a cela de 100 mm o maior valor do coeficiente angular (inclinação) obtido foi de 0,0036, com a nova cela de 200 mm, na concentração de 0,01% foi de 0,00157, portanto mais de três vezes maior que com a cela anterior de 100 mm. Embora a inclinação tenha sido maior na concentração de 0,03%, o valor do intercepto foi maior que uma unidade de absorbância e a correlação linear foi inferior. Os valores obtidos nos levaram a adotar a concentração de 0,01% (m/v) para os próximos estudos.

Com a concentração do cromo azurol S fixado em 0,01%, foi feito o estudo do volume que deveria ser utilizado para cada análise. Os parâmetros foram fixados em: faixa de concentrações das soluções padrão 150 a 300  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; concentração da solução de acetato de sódio 2,5  $\text{mol L}^{-1}$ ; volume da solução de acetato de sódio 240  $\mu\text{L}$ ; pH da solução de acetato de sódio 6; concentração do CAS 0,01% (m/v); tempo de rotação do motor 8 s; volume das soluções padrão 1,15 mL, comprimento da cela de detecção 200 mm (Figura 14).

Figura 14 - Avaliação da influência do volume do reagente CAS sobre o sinal analítico.



Os resultados desse estudo são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Parâmetros analíticos obtidos nas curvas sob diferentes volumes do reagente CAS.

<b>Volume do reagente</b>	<b>Curva de calibração</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
120 µL	$y = 0,00157x + 0,36164$	0,99677
160 µL	$y = 0,00231x + 0,44898$	0,99315
200 µL	$y = 0,00286x + 0,58810$	0,98755

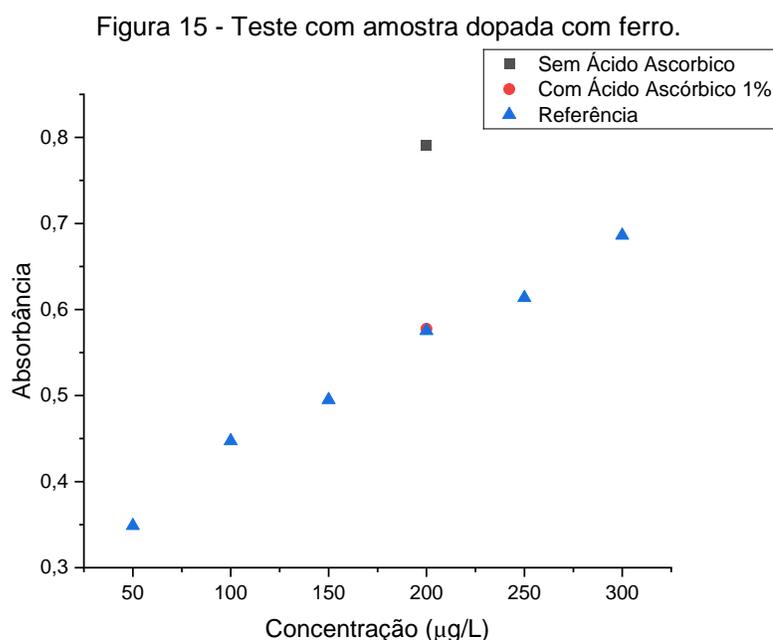
Observa-se um aumento de aproximadamente 2 vezes do coeficiente angular, do volume de 120 µL para o de 200 µL. O coeficiente de correlação linear entre esses dois volumes manteve-se em uma faixa próxima, mas houve um aumento no intercepto, mas não compromete a qualidade dos resultados. Foi escolhido o volume de 200 µL (5 pulsos) para o estudo seguinte.

### 3.3.3. Estudo dos interferentes

O cromo azurol S reage com muitos íons metálicos (por exemplo, ferro, zinco, chumbo, manganês, níquel, cobre, cromo e cádmio). Sabe-se que fluoreto, fosfato, detergentes, EDTA, citrato, oxalato e tartarato interferem, mas destes poucas espécies estão presentes em água potável em níveis suficientemente elevados para causar

interferência [69, 73, 78]. Apenas as interferências de ferro (III) e fluoreto foram investigadas.

O cátion Fe (III) forma complexo com o reagente CAS, e o espectro de absorção de radiação é similar ao do complexo formado com Al (III). O CAS não reage com o cátion Fe (II), o que permite evitar a interferência usando um reagente redutor. Segundo a literatura, solução com 1 % (m/v) de ácido ascórbico é suficiente para mascarar 4 mg de íon Fe (III) [66, 69, 76, 78]. Este recurso foi usado no presente trabalho, e foi verificado que a adição de 1% (m/v) de ácido ascórbico na solução tampão de acetato foi eficiente para suprimir a interferência. A Figura 15 apresenta o resultado deste teste realizado.



Os resultados desse estudo são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados obtidos do estudo do interferente (Ferro III).

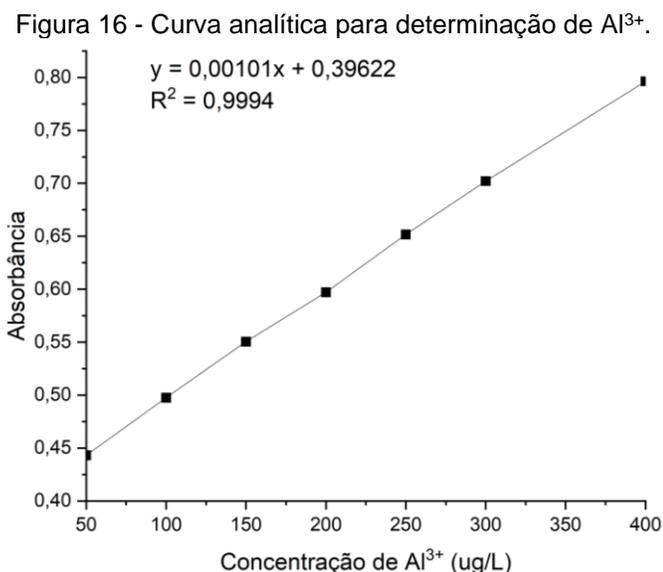
Concentração Al <sup>3+</sup>	Absorbância		
	Referência	Sem Ácido Ascórbico	Com Ácido Ascórbico 1%
200 µg L <sup>-1</sup> *	0,57531	0,79101	0,57763

\* Valor máximo permitido de Al<sup>3+</sup> em água potável [16].

A dopagem de ferro (III) foi de  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  na amostra de teste, esse valor é o máximo permitido pela legislação brasileira [16] para água potável. A interferência observada do ferro (III) foi de mais de 30%, mas com a adição do ácido ascórbico essa interferência foi eliminada. A curva analítica de referência mostra que com adição de ácido ascórbico o padrão testado ( $200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) se enquadra perfeitamente na curva apresentada. Para mascarar o fluoreto, que só interfere em quantidades superiores a  $5 \text{ mg L}^{-1}$ , foi adicionado Lantânio [79, 80, 81] a solução de acetato de sódio, na concentração de  $30 \text{ mg L}^{-1}$ .

### 3.3.4. Desempenho analítico do sistema

Após a otimização do sistema para determinação de alumínio em água potável, uma curva analítica foi obtida usando soluções padrão de 50, 100, 150, 200, 250, 300 e  $400 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Al}^{3+}$ . O desempenho do sistema proposto é definido pela performance do fotômetro, do módulo de análise, do software de controle e aquisição, e do procedimento analítico. Cada um desses componentes apresentou uma resposta individual satisfatória.



Os parâmetros operacionais consistem em variáveis controláveis que influenciam diretamente o desempenho e os resultados de um método analítico. A performance do

método analítico é medida pela sua capacidade de entregar resultados precisos, exatos e confiáveis para a análise em questão (Tabela 8 e 9).

Tabela 8 - Parâmetros operacionais do método proposto para determinação de Alumínio.

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>
Comprimento de onda, $\lambda_{\max}$ (nm)	540
Concentração do tampão acetato ( $\text{mol L}^{-1}$ )	2,5
Volume do tampão acetato ( $\mu\text{L}$ )	240
Concentração do ácido ascórbico no tampão ( $\text{g L}^{-1}$ )	10
Concentração do Lantânio no tampão ( $\text{mg L}^{-1}$ )	30
pH solução tampão	6
Concentração do reagente CAS ( $\text{g L}^{-1}$ )	0,1
Volume do reagente CAS ( $\mu\text{L}$ )	200
Volume da amostra (mL)	1,15
Concentração de $\text{HNO}_3$ na amostra ( $\text{mol L}^{-1}$ )	0,01
Tempo de agitação (s)	8
Cela de detecção (mm)	200

Tabela 9 - Desempenho do método proposto para determinação de Alumínio.

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>
Faixa Linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	50 - 400
Consumo de Cromo Azurol S ( $\mu\text{g det.}^{-1}$ )	20
Geração de efluentes ( $\text{mL det.}^{-1}$ )	1,32
Frequência analítica ( $\text{Det h}^{-1}$ )	30
Coeficiente de correlação linear ( $R^2$ )	0,9994
Limite de Detecção ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	61,29
Coeficiente de variação (%)	1,26

### 3.3.5. Análise das amostras

A exatidão do método, viabilidade e a eficácia do sistema proposto para a determinação fotométrica de  $\text{Al}^{3+}$ , foram avaliados analisando um conjunto de amostras de água potável (água mineral obtidas em supermercados da região e água de poço). A metodologia de adição e recuperação foi utilizada para validade e exatidão do método proposto. Amostras de água foram fortificadas com adição de alumínio em dois níveis de concentração (50 e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ), então a análise foi realizada em três alíquotas da mesma amostra, sendo duas com dopagem e uma sem. Os resultados são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10 - Validação do método proposto para determinação de Alumínio.

<b>Procedimento proposto</b>			
Amostra de água	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Encontrado ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Recuperação (%)
1	0	34,24	-
	50	93,99	119%
	100	141,51	107%
2	0	-	-
	50	63,78	128%
	100	114,31	114%
3	0	2,44	-
	50	62,36	120%
	100	101,66	99%
4	0	-	-
	50	46,78	94%
	100	92,73	93%
5	0	-	-
	50	54,99	110%
	100	93,88	94%
6	0	6,16	-
	50	60,53	109%
	100	105,20	99%

Os resultados da Tabela 10 mostram que a recuperação alcançada está entre 93-128%, e pode ser considerada aceitável para amostras com concentração a nível de  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

### 3.4. CONCLUSÃO

O procedimento analítico desenvolvido foi construído com um investimento aproximado de 290 dólares, demonstrando sua viabilidade como uma solução de baixo custo. Optamos por materiais amplamente disponíveis e acessíveis, garantindo que o método possa ser facilmente reproduzido em diferentes laboratórios e/ou ambientes de pesquisa. Esse foco em materiais de baixo custo não apenas reduz os gastos iniciais de implementação, mas também promove uma maior acessibilidade e democratização da técnica analítica. Essa abordagem econômica não compromete a qualidade ou a precisão dos resultados, mas sim ressalta a eficiência e a eficácia do método desenvolvido.

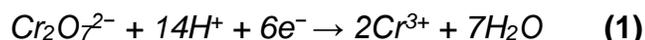
Os resultados exibidos nesta seção demonstram que o procedimento analítico desenvolvido é eficiente para a determinação de alumínio em água potável. Este procedimento pode ser adaptado para a determinação de alumínio em outras matrizes, mediante os ajustes necessários e otimizações do sistema.

## 4. DETERMINAÇÃO DE ETANOL EM VINHOS

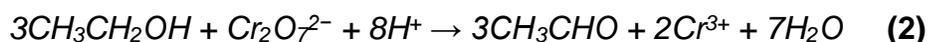
### 4.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Nesta fase da tese utilizou-se a reação de oxidação entre etanol e dicromato de potássio em meio ácido, que é uma reação amplamente conhecida na química orgânica, para desenvolver um sistema capaz de realizar a determinação de etanol em vinhos. A oxidação de álcoois usando solução de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ), em meio ácido, tem sido utilizada para produzir aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos e como uma forma para distinguir entre álcoois primários, secundários e terciários [82, 83].

O reagente oxidante usado nessas reações, normalmente é uma solução de dicromato de sódio ou potássio, acidificada com ácido sulfúrico. A reação de oxidação do etanol causa a mudança de cor da solução de dicromato, então a cor alaranjada característica da solução dos íons dicromato (VI) muda para cor esverdeada, característica dos íons de cromo (III) [82, 83]. A equação 1 apresenta a semirreação de oxidação do íon dicromato (IV).



Os álcoois primários podem ser oxidados a aldeídos ou ácidos carboxílicos, dependendo das condições da reação. Neste estudo, o etanol foi usado como um álcool primário para produzir o aldeído etanal ( $C_2H_4O$ ). A equação 2 apresenta a reação envolvida.

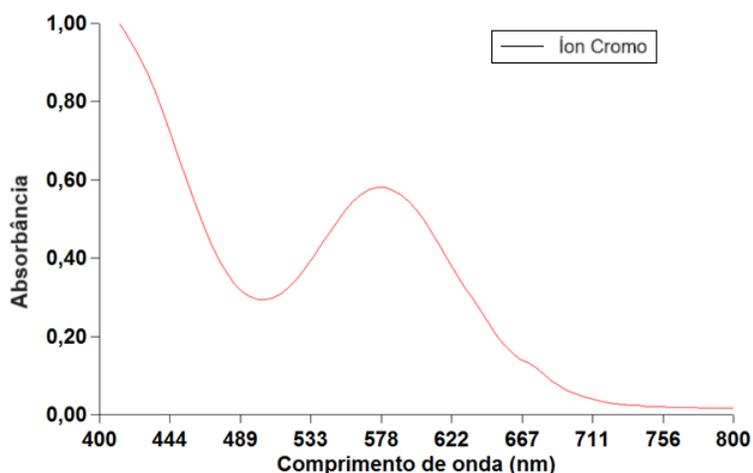


Reações de oxidação de etanol tem sido utilizadas em dispositivos para avaliar o teor de álcool no sangue (BAC): os chamados “bafômetros”. Desde a proposta inicial em 1954 por Robert Frank Borckenstein, reações de oxidação de etanol e fotometria foram utilizados para determinar a concentrações de álcool em diferentes tipos de amostras [83].

A solução de íons dicromato exibe uma coloração alaranjada. À medida que a reação de óxido-redução com o etanol progride, ocorre uma alteração na cor desta solução, tornando-a esverdeada. Essa mudança da intensidade de coloração, foi empregada para desenvolver o procedimento analítico para quantificação do etanol em vinhos.

Inicialmente foi selecionado o comprimento de onda apropriado para a detecção de  $\text{Cr}^{3+}$  na solução (cor verde), e o espectro de absorção de radiação eletromagnética apresentou máximo em torno de 578 nm, como mostrado na Figura 17. Baseado nesta resposta, um LED com máximo de emissão de radiação em 570 nm foi utilizado como fonte radiação eletromagnética. A largura da banda de emissão do LED é  $\pm 25$  nm, portanto abrange uma faixa de 50 nm do espectro de absorção do cátion Cr (III).

Figura 17 - Pico máximo de absorção do  $\text{Cr}^{3+}$  após reação de  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  com etanol em meio ácido.



O vinho é uma matriz complexa, composta por diversas espécies químicas, as quais também podem ser oxidadas pelo dicromato, portanto para evitar que ocorram interferências, uma etapa de separação do analito da amostra deve ser implementada antes da etapa da reação de oxidação. Para essa finalidade, tem sido usado sistemas de destilação, sistemas com reações enzimáticas, ebulimetria, entre outros [35, 36, 88 – 91].

O método desenvolvido nesse estudo, utilizou como técnica de separação do etanol da amostra de vinho, o arraste com fluxo de ar (purga). As moléculas de etanol eram removidas da amostra pelo fluxo de ar, o qual borbulhava na solução de reagente

( $K_2Cr_2O_7$ ) em uma câmara de reação. Esse método de baseou no princípio de destilação por arraste, utilizado em laboratório e na indústria para produção de óleos, que pode ser empregado para a determinação de teores de etanol em amostras complexas, como vinhos [84].

## 4.2. PARTE EXPERIMENTAL

Nos tópicos a seguir o processo de construção do sistema empregado para a determinação do teor alcoólico em vinhos é descrito.

### 4.2.1. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas com água purificada com condutividade elétrica menor que  $0,1 \mu S \text{ cm}^{-1}$ . As soluções estoque foram armazenadas em frascos de vidro transparente ou âmbar. As soluções de trabalho foram preparadas no dia de uso.

As soluções estoque foram preparadas como descritas a seguir.

1. Solução de  $H_2SO_4$  ( $5 \text{ mol L}^{-1}$ ), preparada diluindo o volume apropriado com água, a partir do estoque concentrado (Merck, 95% - 97%).
2. Solução de  $K_2Cr_2O_7$  ( $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ) em ácido  $H_2SO_4$  ( $5 \text{ mol L}^{-1}$ ), foi preparada dissolvendo 29,4 g do sólido (Merck) completado para 500 mL.

As soluções padrão para a construção das curvas analíticas foram preparados pela diluição do etanol absoluto (Merck, 99%) em água. As soluções padrão (trabalho) foram preparadas com as seguintes concentrações de etanol: 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0% (v/v). Em cada solução foi adicionado glicerol para a concentração de 11% (v/v), usando uma solução estoque de 85% (v/v) (Merck).

### 4.2.2. Amostras

As amostras de vinho utilizadas neste estudo foram adquiridas em estabelecimentos comerciais na cidade de Piracicaba - SP. Para garantir a integridade das amostras, elas foram armazenadas sob refrigeração (geladeira) até o momento das análises. A temperatura de trabalho das amostras foi de 20° C, conforme manual metodológico para determinação de vinhos da Embrapa [85]. Foram adquiridas amostras de vinho de mesa tinto e branco, com concentrações rotuladas de etanol entre 12 e 14%.

#### 4.2.3. Equipamentos e acessórios

O equipamento proposto compreende as seguintes unidades: sistema de arraste fluxo de ar, constituído por mini compressor de ar e pela câmara de separação, usada com recipiente da amostra; módulo de propulsão de fluídos constituído por duas mini bombas solenoide, uma mini bomba peristáltica, e uma câmara para coleta do etanol transportado pelo fluxo de ar do compressor; sistema de detecção fotométrica constituído por um LED (fonte de radiação), um fotodiodo com amplificação de sinal integrada e uma cela de detecção (câmara de coleta). O controle do módulo de análise (compressor + propulsão de fluídos) e a aquisição de dados foram realizados empregando um microcontrolador Arduino Due acoplado a um computador de bancada, programado com um software desenvolvido no Arduino IDE, específico para as análises que foram feitas.

O desenvolvimento do software de controle para o módulo de análise é parte dos produtos gerados por este trabalho. Cada desenvolvedor/pesquisador poderá realizar as suas adaptações ao código, buscando adequá-lo ao seu sistema. No Apêndice 2 é apresentado o programa completo utilizado para o sistema de determinação analítica proposto, uma vez que a proposta desta pesquisa envolve a otimização e o controle automatizado do sistema.

Os equipamentos e acessórios empregados neste trabalho são descritos a seguir. A lista compreende os materiais utilizados para desenvolvimento do sistema de detecção, interface de controle, sistema de arraste de etanol (purga) e sistema de propulsão de fluídos:

- um microcomputador equipado com interface eletrônica;
- interface digital para acionamento das minibombas;

- fonte de corrente contínua, estabilizada em 12 V e intensidade de corrente de 1 Å para alimentar as minibombas e as válvulas solenoide;
- fonte de alimentação de corrente contínua regulada em -12 V e + 12 V, para alimentar o fotômetro;
- interface de potência para acionamento das minibombas;
- duas minibombas solenoide *Bio-Chen Valves* de 40 µL (120SP1240-5TV/12VDC 1211261);
- Compressor de Ar Maxxi Pro-3000 3,5W para aquário até 100L - 110V;
- acrílico para a construção do sistema de controle;
- madeira para a construção do sistema de arraste e do sistema de propulsão de fluídos;
- caixa de montagem feita de metal para a construção do módulo de análise e do detector fotométrico;
- tubos de polietileno para construção das linhas de fluxo e de destilação;
- LED de alto brilho e ângulo de emissão estreito ( $<25^\circ$ ), máximo de emissão em 570 nm;
- fotodiodo 0PT301 (*Burr-Brown*);
- resistores diversos;
- capacitores diversos;
- placa de circuito impresso em fibra de vidro;
- tubos falcon de 50 mL para o uso no sistema de arraste e de amostragem;
- cela para leitura com caminho óptico de 10 mm em vidro.

O valor gasto para a construção dos módulos desse projeto, sem incluir os valores dos serviços e o tempo de construção, foi de aproximadamente 320 dólares, sem considerar o valor do computador utilizado para escrita do software.

#### 4.2.4. Descrição do módulo de análise

O módulo de análise foi criado com base nos princípios dos processos flow-batch e multicomutação, utilizando uma câmara de mistura equipada para homogeneizar a

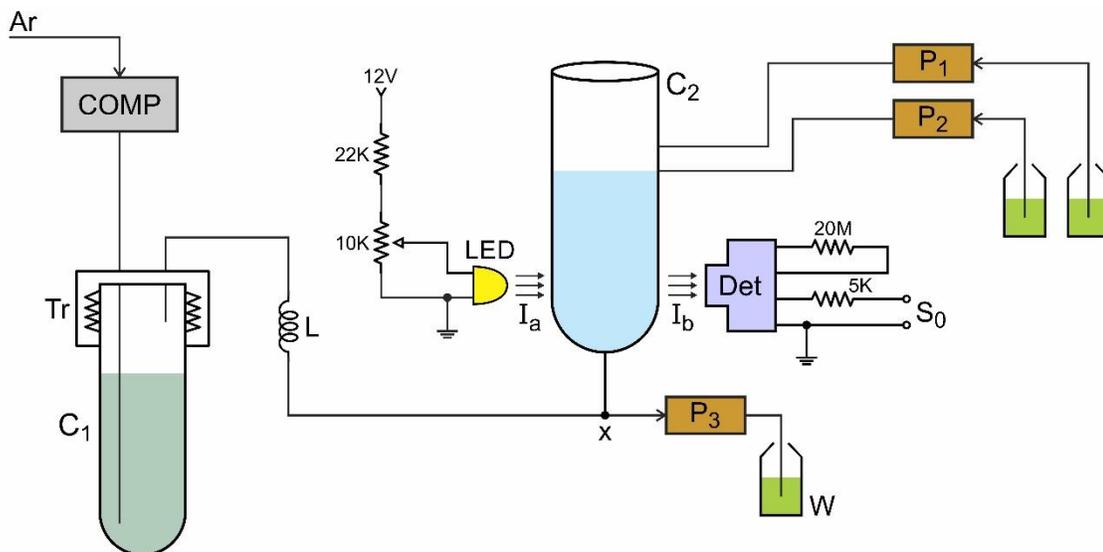
solução do reagente e o vapor de etanol, além de minibombas peristálticas e solenoides como meios de propulsão de fluidos. Além disso, a câmara de detecção foi a mesma usada para o desenvolvimento da reação de oxidação do etanol.

O sistema de detecção fotométrica compreende um fotodetector OPT301 (*Burr-Brown*) e um diodo emissor de luz (LED) com emissão máxima em 570 nm. Foi utilizada uma cela de fluxo (Câmara de reação) moldada em vidro, com 10 mm de diâmetro interno e, em vista disso, o caminho óptico para a detecção fotométrica era de 10 mm.

O fotodetector e o LED foram acoplados à câmara de mistura, empregando uma geometria que maximiza o aproveitamento do feixe de radiação eletromagnética emitido pelo LED.

O sistema de detecção acoplado à câmara de mistura (flow-batch) foi acondicionado em uma caixa de metal para evitar interferência de luz externa. A Figura 18 apresenta a montagem completo do sistema:

Figura 18 - Diagrama do sistema analítico para determinação de etanol. Det = fotodetector OPT301; LED = diodo emissor de luz;  $S_0$  = sinal gerado pelo fotômetro em mV;  $I_a$  = feixe de radiação eletromagnética emitida pelo LED ( $\lambda = 570$  nm), e passando pela câmara de reação;  $I_b$  = feixe de radiação saindo da câmara de reação em direção ao fotodetector; COMP = compressor de ar;  $C_1$  = câmara de amostragem;  $C_2$  = câmara de reação;  $P_1$  e  $P_2$  = mini-bomba solenoide, 40  $\mu$ L/pulso;  $P_3$  = mini bomba peristáltica, 17,4 mL/min; L = reator; W = descarte; x = conector de três vias, feito em acrílico.



Na saída do fotodetector (Det), a diferença de potencial  $S_0$  expressa em mV, é proporcional à intensidade do feixe de radiação ( $I_b$ ), proveniente da cela de detecção

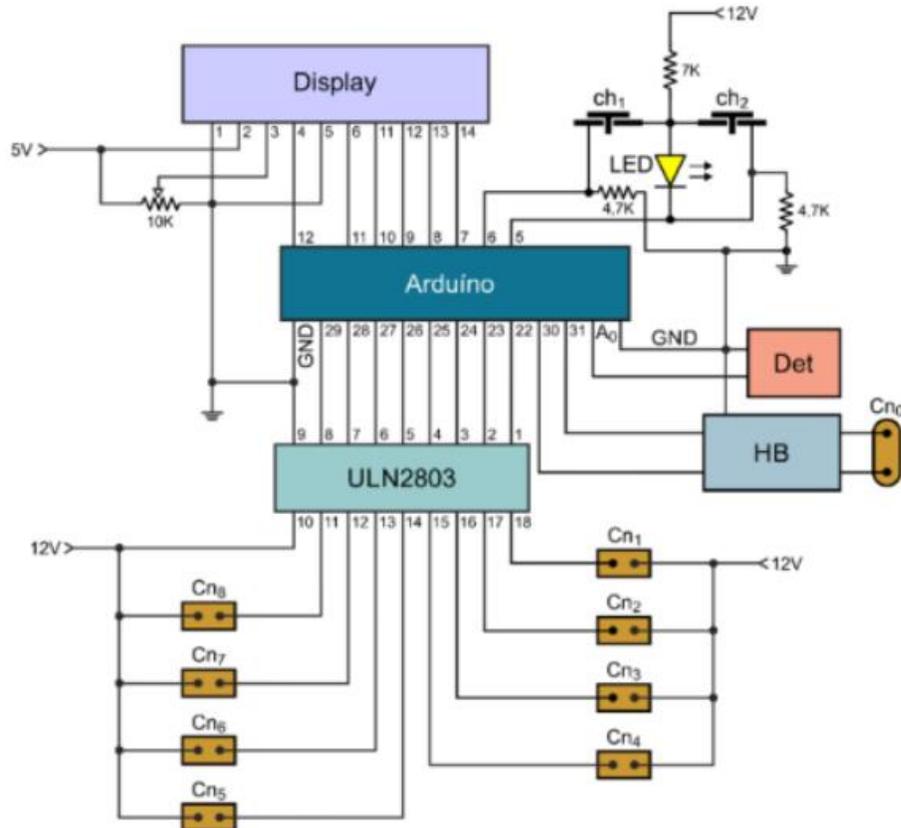
(C<sub>2</sub>). A intensidade do feixe de radiação ( $I_a$ ), emitida pelo LED, foi ajustada através do resistor variável conectado à base do transistor (Tr).

O fotodetector OPT301 trabalha em uma ampla faixa de diferenças de potenciais elétrico. Alimentado com diferenças de potenciais de -12 e +12 V, pode fornecer diferenças de potenciais com magnitude de 0 a  $\pm 10$  V. Pode ser acoplado direto ao sistema de conversão de sinal de analógico para digital, sem uma etapa de amplificação.

O conversor de sinal de analógica para digital do microcontrolador Arduino Due foi programado para trabalhar com uma resolução de 12 bits, atingindo um valor digital máximo é 4096 ( $2^n$ ,  $n$  = número de bits de resolução). Este valor corresponde ao sinal analógico de entrada (gerado pelo fotômetro) de 3200 mV. Quando o software do microcontrolador Arduino Due era inicializado, era feito o ajuste do sinal gerado pelo detector para 3800 unidades digital (ud). O valor máximo permitido é 4096 ud, então nesta condição teríamos uma faixa de tolerância em torno 190 ud. Este ajuste era feito mantendo a cela de detecção com a solução de dicromato de potássio. O ajuste era feito girando o resistor variável conectado à base do transistor (Tr).

A seguir é apresentado o diagrama eletrônico do dispositivo de controle do sistema (Figura 19).

Figura 19 - Esquema da montagem dos dispositivos de controle do módulo de análise para determinação do etanol. Ch<sub>1</sub> e Ch<sub>2</sub> = chaves para contato elétrico normalmente abertas; A<sub>0</sub> = entrada analógica do Arduino Due; Det = detector fotométrico; Cn<sub>1</sub>, Cn<sub>2</sub> ..., Cn<sub>8</sub> = soquetes para acoplamento das bombas peristálticas e solenoide.



O LED sinaliza que o equipamento está conectado à rede elétrica, e gera uma diferença de potencial estável de 2,4 V, a qual é fornecida para as chaves Ch<sub>1</sub> e Ch<sub>2</sub>. Estas chaves estão conectadas às linhas número 5 e 6 do Arduino, que foram programadas como portas de entrada digital. O LED também age como um redutor de voltagem, uma vez que a diferença de potencial máxima que pode ser aplicada às portas de entrada do Arduino é 3,2 V. Quando uma das chaves é pressionada, o Arduino verifica se o sinal de entrada é alto (> 2000 ud), e sendo verdade executa a tarefa associada àquela chave no momento.

O circuito integrado ULN2803, pode fornecer intensidades de corrente elétrica de 400 mA em cada linha de saída, portanto poderia ligar ao mesmo 8 dispositivos elétrico e cada um poderia drenar até 400 mA de corrente. O display tem duas linhas de 16 caracteres. O software de controle e aquisição de dados foi desenvolvido no Ambiente

de Desenvolvimento Integrado (IDE) do Arduino Due, desenvolvido especificamente para este trabalho. Por meio dessa plataforma, é possível a comunicação do usuário com o sistema de análise, usando os estados das chaves Ch<sub>1</sub> e Ch<sub>2</sub> (ligadas ou desligadas) e o display.

O software de controle foi desenvolvido para gerenciar todas as etapas envolvidas no procedimento analítico. A comunicação do microcontrolador Arduino Due com o usuário, era feita por meio de mensagens mostradas no display ou na tela do computador. Instruções para executar atividades pré-programadas, eram informadas ao microcontrolador por meio das chaves Ch<sub>1</sub> e Ch<sub>2</sub>. O processo de análise compreende as etapas descritas a seguir.

### *Calibração*

Ao ser iniciada a execução do programa, uma mensagem mostrada no display, inquiria se era para executar a calibração do fotômetro. A resposta era dada, pressionando uma das chaves Ch<sub>1</sub> ou Ch<sub>2</sub>. A chave Ch<sub>1</sub> indicava para fazer a calibração. Se a resposta fosse positiva, a minibomba P<sub>1</sub> era acionada (liga/desliga) 30 vezes, e bombeava 1,2 mL da solução de Dicromato de Potássio em meio ácido para a câmara de reação. A altura da coluna de líquido dentro da câmara de detecção, tinha que ser superior ao feixe de radiação proveniente do LED. Em seguida, a intensidade de emissão do LED era ajustada para 3800 ud. Durante o ajuste, valor dos sinais gerados eram mostrados no display. A chave Ch<sub>1</sub> era pressionada para confirmar o valor de calibração e encerrar o procedimento. Finalizada a calibração do fotômetro, dava-se início a etapa de lavagem da câmara de reação e a troca de amostra, descrita na etapa seguinte.

### *Troca de amostra e Limpeza da câmara de reação*

Pressionando a chave Ch<sub>1</sub>, o microcontrolador entendia que a etapa de troca de amostra deveria ser executada. O display apresentava uma mensagem solicitando a troca de amostra e ficava em modo de espera, esse processo acontecia de forma manual, substituindo o tubo com a amostra na plataforma de arraste. Realizada a troca da

amostram, a chave Ch<sub>1</sub> era pressionada, iniciando uma etapa de limpeza da câmara de reação. Com a minibomba P<sub>3</sub> acionada durante 7,5 s e nessa condição, a câmara de reação era completamente esvaziada. Após essa etapa, uma alíquota de 1 mL da solução do reagente (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) era inserida na câmara de reação, seguindo a sequência descrita no item abaixo.

#### *Inserção do reagente*

A minibomba P<sub>1</sub> era pulsada 25 vezes, bombeando ao todo 1 mL da solução de dicromato para a câmara de reação. Este volume era suficiente para que o nível da solução ficasse acima da linha do feixe de radiação emitida pelo LED. Após essa etapa, o Arduino Due ligava o compressor de ar, dando início ao processo de arraste do vapor de etanol para a câmara de reação.

#### *Leitura de referência e do sinal*

Antes de ligar o compressor, o microcontrolador Arduino Due lia o sinal gerado pelo fotômetro através da entrada analógica (A<sub>0</sub>, Figura 19). Esta leitura era salva como referência (Referência), a qual era usada para calcular a absorbância das replicatas desta solução, quando processada com a reação do etanol com o Dicromato de Potássio. Essa etapa era realizada para as soluções padrão e para as amostras.

#### *Amostragem*

O compressor de ar era acionado durante 30 s e borbulhava ar na câmara contendo a amostra ou as soluções padrão (C<sub>1</sub>). O vapor gerado pelo arraste com o ar era conduzido para a câmara de reação preenchida anteriormente com Dicromato de Potássio em meio ácido. Essa solução ao ser borbulhada com o vapor contendo etanol, mudava a coloração de alaranjado, para verde. Após esse tempo de arraste, o compressor era desligado e em seguida era realizada a leitura da absorbância.

### *Leitura do sinal gerado*

O microcontrolador Arduino lia o sinal ( $S_0$ ) gerado pelo fotômetro, através da entrada analógica  $A_0$  (Figura 19) acoplada ao fotômetro (Figura 18) durante 5 s. O microcontrolador foi programado para efetuar uma leitura a cada 2,0 s, e cada leitura mostrada na tela do computador, era a média de 200 leituras consecutivas, obtidas em intervalo de tempo de 2,0 ms. O software foi programado para imprimir sequencialmente os valores lidos e os respectivos intervalos de tempo e, ao finalizar a etapa de leituras, detectava o valor máximo do sinal analítico e exibia-o na tela do microcomputador. O intervalo tempo para aquisição das leituras de sinais foi fixado 5 s, portando cada replicata era representada por 12 valores de leituras. O fotômetro gerava o sinal analógico em mV, o microcontrolador Arduino os convertia para digital, o qual era usado para calcular a absorbância, usando a equação mostrada abaixo, considerando que a absorção de radiação eletromagnética obedecia a lei de Lambert-Beer.

$$\text{Absorbância} = \log (\text{Referencia}/\text{Sinal});$$

Referencia = sinal previamente obtido na etapa de calibração e salvo para esta finalidade;

Sinal = última leitura.

As medições referentes às soluções padrão de etanol foram utilizadas para obter a curva analítica e fazer os ajustes de otimização para o sistema. Além das etapas citadas, havia uma etapa de limpeza do percurso analítico. Esta tarefa era implementada, fazendo a minibomba  $P_2$  pulsar 30 vezes, sendo bombeado 1,2 mL de água para a câmara de reação. Em seguida, a minibomba peristáltica  $P_3$  era mantida ligada durante 7,5 s para esvaziar a câmara de reação e lavar o percurso.

A variação do número de pulsos de acionamento de cada minibomba solenoide foi realizada pelo software desenvolvido para este trabalho, o qual permitia a atualização das variáveis de controle necessárias para o desenvolvimento do procedimento analítico e são indicadas seguir: número de ciclos de inserção da solução do reagente ( $K_2Cr_2O_7$ ); número de ciclos de inserção da solução de limpeza ( $H_2O$ ); número de replicatas; tempo

de reação; tempo de arraste (purga) do etanol para a câmara de reação; tempo de leitura do sinal analítico, concentração do reagente e da acidez do meio reacional.

### 4.3. RESULTADOS OBTIDOS

#### 4.3.1. Teste de arraste de vapor de etanol

A câmara C<sub>1</sub> mostrada na Figura 18, é um tubo de Falcon usado como recipiente para a amostra, encaixado em um suporte de PVC. O compressor bombeava ar para esta câmara e, quando a pressão interna tornava-se superior à da atmosfera, o ar se deslocava através da linha de fluxo (L) e borbulhava na solução do reagente (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) dentro da câmara de reação C<sub>2</sub> (Fig. 18). As moléculas de etanol transportadas pelo fluxo de ar, reagem com a solução de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Em vista da oxidação das moléculas de etanol, ocorria a produção de íons Cr (III), causando mudança na tonalidade de coloração da solução, a qual foi monitorada pelo fotômetro usando como fonte de radiação um LED com máximo de emissão em 570 nm.

Os testes preliminares foram realizados para verificar se o volume do recipiente da amostra (tubo de Falcon), poderiam afetar o rendimento no transporte das moléculas de etanol. Para esse teste foram usados tubos de Falcon com volumes de 15 e de 50 mL. Considerando-se que o volume de amostra no recipiente poderia ter efeito na magnitude dos sinais gerados, ensaios foram realizados usando os seguintes volumes: 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0 mL de etanol (92,8%) v/v, e os resultados são mostrados abaixo.

Figura 20 - Teste de arraste do vapor etanólico em Tubo Falcon de 15 mL.

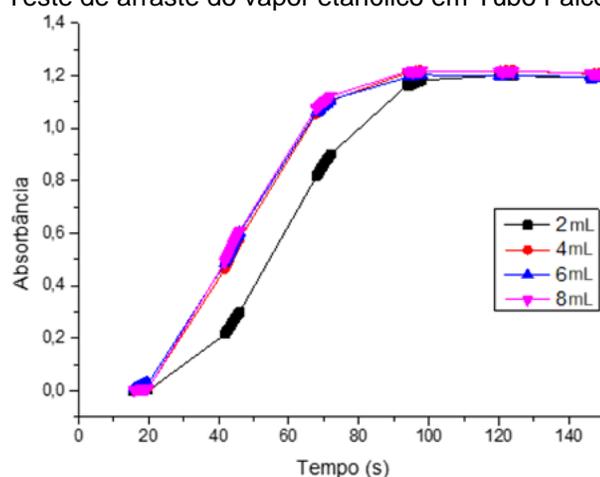
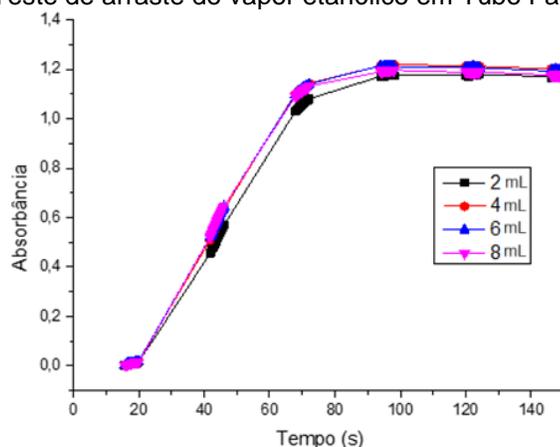


Figura 21 - Teste de arraste do vapor etanólico em Tubo Falcon de 50 mL.



Observa-se que as curvas das duas Figuras são similares, exceto à relacionada ao volume de 2 mL da Fig. 20, portanto nem o volume de etanol usado e nem o volume interno do recipiente de purga, apresentaram efeito significativo na magnitude do sinal gerado. A partir de 90 segundos, os valores da absorbância estabilizaram, sugerindo que foi atingida a condição de equilíbrio dinâmico (estado estacionário). Este estudo temporal foi conduzido mantendo constante o volume da solução de  $K_2Cr_2O_7$  (1 mL).

Optamos por utilizar o tubo de 50 mL para a realização de outros testes, uma vez que ao borbulharmos o etanol em um tubo de menor volume, poderia haver a transferência de gotículas da solução para a câmara de reação. A partir destes dados, selecionou-se o volume de 6 mL para a alíquota da amostra nos testes seguintes.

#### 4.3.2. Estudo do efeito da concentração do dicromato de potássio.

Para os estudos posteriores foi fixado um tempo de arraste de 80 s. Para este estudo foram fixadas as seguintes condições de trabalho: soluções padrão de 5,0 a 25,0 % (v/v) de etanol; concentração de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  na solução de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , fixado em  $4 \text{ mol L}^{-1}$ . Os resultados obtidos são mostrados na Figura 22 e na Tabela 11.

Figura 22 – Avaliação da influência da  $[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}]$  sobre o sinal analítico.

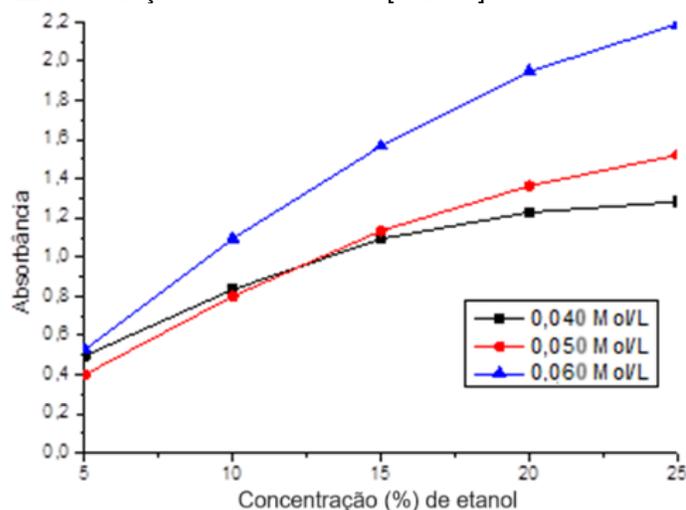


Tabela 11 - Parâmetros obtidos no estudo da concentração de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .

Concentração $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Equação da reta	$R^2$
0,040	$y = 0,03931x + 0,39712$	0,91843
0,050	$y = 0,05608x + 0,20265$	0,96947
0,060	$y = 0,08356x + 0,21126$	0,97783

As curvas da observadas na Figura 22, mostram que ocorreu um aumento significativo da absorvância em função da concentração da solução de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ . Observa-se que a linearidade melhorou com o aumento da concentração da solução do reagente oxidante. Em todos os casos, os valores das absorvâncias atingiram valores superiores a uma unidade (1.0). O fotômetro de LED usado não realiza a correção de radiação difusa, portanto pode ocorrer perdas de linearidade quando a absorvância é muito alta [92, 93]. Embora a concentração de  $0,06 \text{ mol L}^{-1}$  tenha apresentado o melhor coeficiente de correlação linear ( $R^2 = 0,97783$ ), optamos por escolher uma concentração menor do  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  para os estudos futuros, buscando manter a nossa curva analítica

entre 0 e 1 de absorvância. Assim para os próximos estudos a concentração em  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  foi fixada.

#### 4.3.3. Estudo do efeito do tempo de arraste (purga)

Anteriormente, observou-se que o tempo para o equilíbrio da reação foi de 100 s. O estudo feito para a concentração do  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , utilizou um tempo total de arraste de 80 s. Em sistemas automáticos, onde os intervalos tempos programados são invariantes, não é necessário trabalhar na condição equilíbrio. Tendo vista este conceito, alguns experimentos foram realizados para definir o intervalo de tempo para o araste de etanol da câmara de purga para a de reação. Para este estudo, os parâmetros utilizados foram fixados como segue: faixa de concentrações das soluções padrão de 2,5 a 20,0 % (v/v); concentração de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ( $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ); concentração de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $4 \text{ mol L}^{-1}$ ). Os resultados são mostrados na Figura 23 e na Tabela 12.

Figura 23 - Avaliação do tempo de arraste (purga) sobre o sinal analítico.

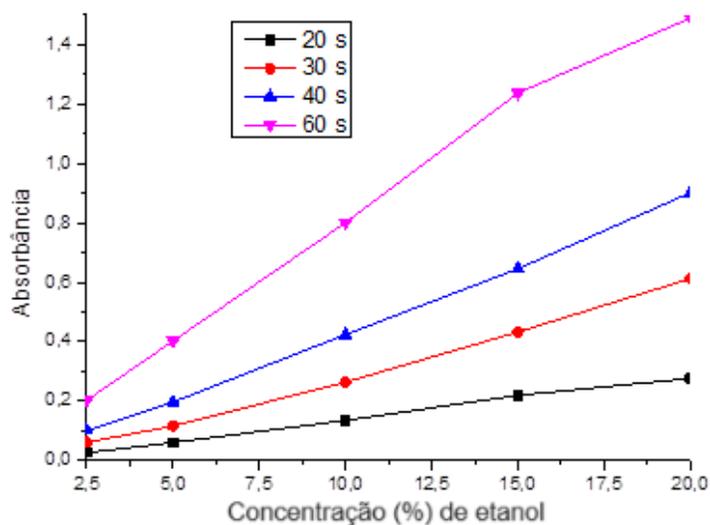


Tabela 12 – Avaliação dos parâmetros analíticos em função do tempo de arraste.

Tempo do arraste (s)	Equação da reta	R <sup>2</sup>
20	$y = 0,0146x - 0,0098$	0,9966
30	$y = 0,0317x - 0,0354$	0,9955
40	$y = 0,0456x - 0,0254$	0,9985
60	$y = 0,0755x + 0,0336$	0,9926

Pode-se observar que o aumento do tempo de arraste, teve como resultado o aumento da magnitude dos sinais gerados. Observa-se que, quando o intervalo de tempo de arraste foi multiplicado por três, o coeficiente angular teve um ganho de cinco vezes. Há uma explicação para esse efeito: durante o intervalo de tempo estabelecido para leitura dos sinais gerados, a amostra permanecia em repouso na câmara de reação. Verificou-se que o último sinal gerado era sempre maior que os anteriores. Portanto, a reação de oxidação não era muito rápida.

Tempos de arraste mais longos, além de aumentar a concentração do analito na câmara de reação, permitem melhor desenvolvimento da reação de oxidação do etanol. Em comparação com dados da Figura 22 e da Tabela 11, observa-se que houve melhora significativa na linearidade das curvas analíticas, embora tenha ocorrido perda de sensibilidade. Entretanto, não afeta a faixa de trabalho necessária para a determinação de etanol em vinhos de mesa, a qual pode variar de 8 a 15% (v/v). Baseado nestes resultados, optamos pelo intervalo de tempo de 30 s de arraste para os próximos testes.

O sistema desenvolvido envolve o transporte com fluxo de ar proveniente de um compressor de ar, usualmente empregado em aquário, o qual tem vazão de ar de 1,2 L min<sup>-1</sup>. O vapor de etanol era transportado até a câmara de reação pelo fluxo de ar onde era borbulhado diretamente na solução de dicromato de potássio em meio ácido, local onde a reação ocorria. A leitura do sinal gerado pelo fotômetro é feita diretamente na câmara de reação.

O etanol é mais volátil que a água, portanto tende a evaporar mais rapidamente. Isso significa que, mesmo que não alcance um arraste total, os primeiros vapores gerados no processo de arraste de vapor já conterão uma proporção significativa de etanol. Portanto, o processo de arraste com ar ocorre na fração volátil da mistura, então podemos obter resultados confiáveis em um intervalo de tempo mais curto, em comparação com a destilação total convencional, que envolve a separação completa de analito.

#### 4.3.4. Estudo da concentração da solução de ácido sulfúrico

A literatura apresenta estudos que trabalharam com essa reação usando soluções com concentrações fixas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (4 mol L<sup>-1</sup>) e K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> em (0,2 mol L<sup>-1</sup>) [86, 87, 88]. O

sistema foi otimizado em relação à concentração do  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , estudando os limites do sistema proposto e definindo a concentração adequada para este trabalho. As curvas obtidas com os dados dessa etapa são mostradas na Fig. 24.

Este estudo foi feito usando os seguintes parâmetros: faixa de concentração das soluções padrão de etanol de 2,5 a 20,0 % (v/v); concentração da solução de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ( $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ); tempo de arraste 30 s. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 24 e na Tabela 13.

Figura 24 - Estudo do efeito da concentração do ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).

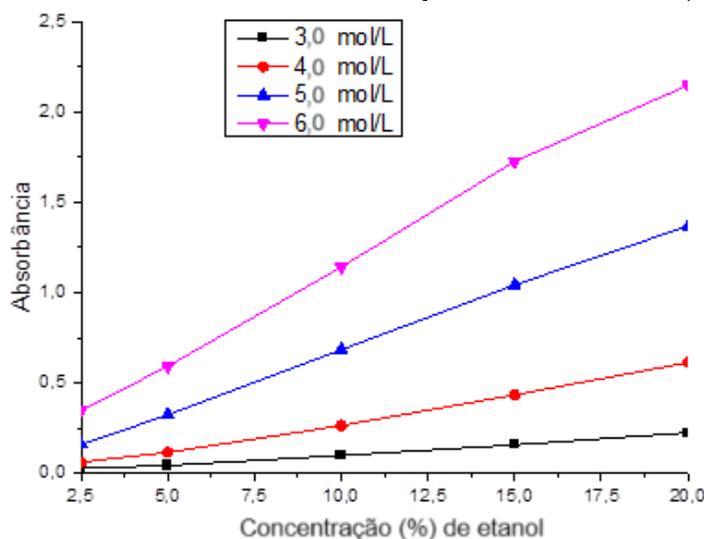


Tabela 13 – Parâmetros obtidos no estudo da concentração do  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Concentração ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )	Equação da reta	$R^2$
$3 \text{ mol L}^{-1}$	$y = 0,0113x - 0,0086$	0,9935
$4 \text{ mol L}^{-1}$	$y = 0,0317x - 0,0354$	0,9955
$5 \text{ mol L}^{-1}$	$y = 0,0697x - 0,0166$	0,9996
$6 \text{ mol L}^{-1}$	$y = 0,1051x + 0,0875$	0,9973

Analisando estes dados, observa-se que uma resposta linear, o melhor resultado está relacionado à concentração de ácido sulfúrico de  $5 \text{ mol L}^{-1}$ . Observa-se que o coeficiente angular aumentou em função da concentração de ácido sulfúrico, portando a acidez do meio tem efeito significativo sobre a sensibilidade do método analítico proposto. Este efeito está de acordo com resultados relatados por outros autores [46]. Os valores de absorbância obtidos nas concentrações mais elevadas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $5$  e  $6 \text{ mol L}^{-1}$ )

ultrapassam uma unidade, mas é possível perceber que com a concentração de  $5 \text{ mol L}^{-1}$ , a absorvância máxima está em torno de 1,2, e a curva analítica correspondente tem ótima linearidade, portanto o fotômetro de LED não está limitando o alcance da lei de Lambert-Beer.

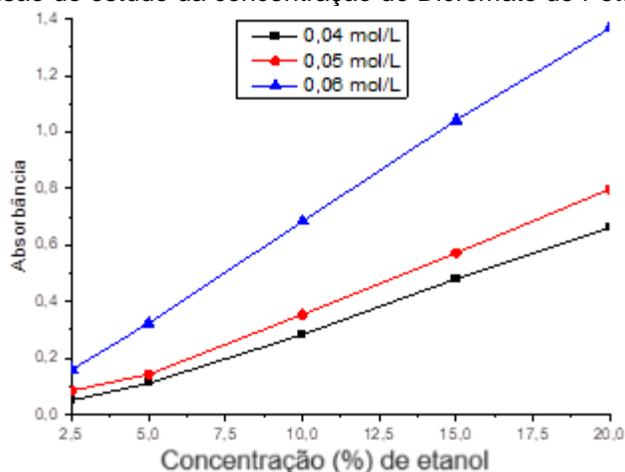
Considerando os resultados discutidos previamente, optou-se pela concentração de  $5 \text{ mol L}^{-1}$  para a solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , usada para os estudos subsequentes. Além disso, o coeficiente angular observado para a curva relacionada à solução com concentração de  $5 \text{ mol L}^{-1}$ , foi o dobro da obtida com a concentração de  $4 \text{ mol L}^{-1}$ . Embora o maior coeficiente angular tenha sido observado na concentração de  $6 \text{ mol L}^{-1}$ , o coeficiente de correlação linear ( $R^2$ ) foi inferior ao da concentração de  $5 \text{ mol L}^{-1}$ .

#### 4.3.5. Revisando a concentração do Dicromato de Potássio

Após fixar a concentração do  $\text{H}_2\text{SO}_4$  em  $5 \text{ mol L}^{-1}$ , decidiu-se refazer o estudo da concentração da solução de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ . A Figura 25 apresenta os resultados deste estudo.

Os parâmetros utilizados foram: faixa de concentrações das soluções padrão de 2,5 a 20,0 % (v/v); concentração do  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $5 \text{ mol L}^{-1}$ ; tempo de arraste 30 s.

Figura 25 - Revisão do estudo da concentração de Dicromato de Potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ).



A Tabela 14 apresenta os valores obtidos em cada curva analítica.

Tabela 14 – Parâmetros obtidos da revisão da concentração do reagente  $K_2Cr_2O_7$ .

Concentração ( $K_2Cr_2O_7$ )	Equação da reta	$R^2$
0,04 mol L <sup>-1</sup>	$y = 0,0356x - 0,0137$	0,9970
0,05 mol L <sup>-1</sup>	$y = 0,0415x - 0,0195$	0,9941
0,06 mol L <sup>-1</sup>	$y = 0,0697x - 0,0092$	0,9995

Observa-se que, usando a solução de  $K_2Cr_2O_7$  na concentração de 0,06 mol L<sup>-1</sup>, foi possível obter um melhor coeficiente de correlação linear. Além disso, a sensibilidade (coeficiente angular da curva analítica) para a concentração de 0,06 mol L<sup>-1</sup> de  $K_2Cr_2O_7$ , teve um aumento de magnitude de 100%. Em comparação com a de 0,04 mol L<sup>-1</sup>. As soluções padrão de 15 e 20% apresentaram valores de absorvância maiores que uma unidade (1.0), entretanto a curva apresentou resposta linear em toda a sua extensão. Com base nas informações obtidas neste ensaio, decidiu-se adotar para os estudos seguintes, a solução de dicromato de potássio com concentração de 0,06 mol L<sup>-1</sup>.

#### 4.3.6. Estudo de desempenho do sistema

Também foi utilizado um estudo temporal do sistema proposto, aplicando uma análise combinada de *intraday* e *interday*. Essa abordagem permitiu examinar não apenas as flutuações de curto prazo no sistema, identificando padrões e comportamentos imediatos mas, também, compreender tendências e variações de longo prazo ao longo de um período mais extenso. Ambas as análises demonstraram que o sistema apresentou um comportamento estável, portando apropriado para os estudos. As Figuras 26 e 27 apresentam as curvas obtidas nesse estudo.

Figura 26 – Avaliação do sistema em Intraday.

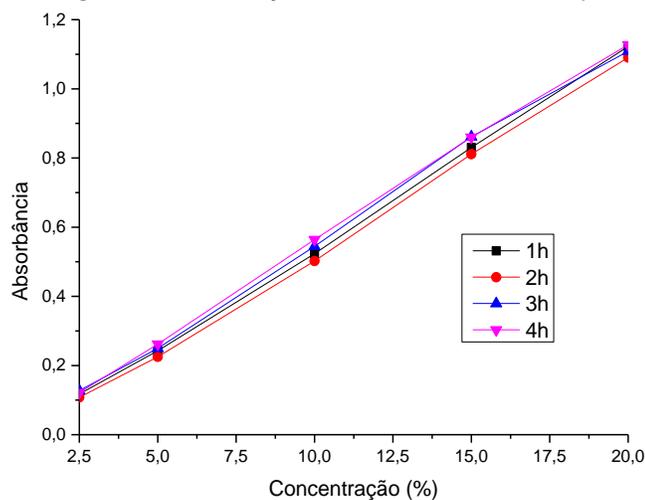
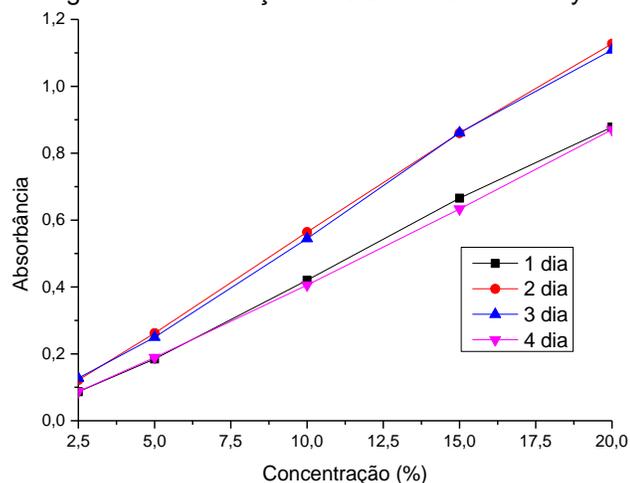


Figura 27 – Avaliação do sistema em Interday.



As Tabelas 15 e 16 apresentam os parâmetros relacionados às curvas obtidas nos estudos de “intraday” e “interday”, obtidas com o sistema proposto. Os parâmetros definidos para os testes foram: faixa de concentrações das soluções padrão de 2,5 a 20% (v/v); concentração da solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $5 \text{ mol L}^{-1}$ ); concentração da solução de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ( $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ ), tempo de arraste 30 s.

Tabela 15 – Parâmetros obtidos nas curvas analítica da avaliação em Intraday.

Período	Equação da reta	$R^2$	Coeficiente de variação
1h	$y = 0,0578x - 0,0404$	0,9992	0,9034 %
2h	$y = 0,0568x - 0,0496$	0,9989	
3h	$y = 0,0572x - 0,0232$	0,9983	
4h	$y = 0,0579x - 0,0215$	0,9995	

Tabela 16 - Parâmetros obtidos nas curvas analítica da avaliação em Interday.

Período	Equação da reta	R <sup>2</sup>	Coeficiente de variação
1 dia	$y = 0,0459x - 0,0354$	0,9992	13,79 %
2 dia	$y = 0,0579x - 0,0215$	0,9995	
3 dia	$y = 0,0572x - 0,0232$	0,9983	
4 dia	$y = 0,0447x - 0,0329$	0,9994	

As informações obtidas indicam que o sistema apresentou um desempenho excelente nos testes realizados. As variações nos valores do coeficiente angular, do intercepto e do coeficiente de correlação linear não apresentam erros significativos para a leitura dos dados.

Para o teste “intraday”, o coeficiente de variação é menor que um. Para o “interday”, o sistema não foi calibrado novamente, foram repetidos os testes com as mesmas condições do dia 1. O comportamento do sistema, em apresentar um coeficiente de variação superior a 13% não compromete a confiabilidade dos resultados ou a precisão do método, sendo aceitável para o procedimento proposto. Os resultados deste teste indicam o desempenho global envolvendo ao mesmo tempo a resposta da instrumentação e as variações do método analítico, portando é um teste de desempenho global, e os resultados são muito bons.

#### 4.3.7. Estudo da concentração do glicerol

Após a água e o álcool, o glicerol surge como um dos componentes mais significativos no vinho. Origina-se durante o processo de fermentação, sendo classificado como um subproduto secundário da fermentação alcoólica. Sua presença no vinho está intimamente ligada à quantidade de açúcar presente no mosto, à condição sanitária das uvas, ao tipo de levedura empregada e às condições de fermentação, tais como temperatura, acidez, aeração e adição de sulfitos [85].

O glicerol é um composto orgânico presente no vinho e desempenha um papel significativo na sua textura e sabor. Ele contribui para a sensação de corpo e suavidade na boca, tornando o vinho mais viscoso e redondo. Além disso, o glicerol também pode influenciar as características aromáticas e gustativas do vinho, proporcionando uma maior sensação de doçura, mesmo quando o vinho não contém açúcar residual [89, 90].

A quantidade de glicerol em vinhos pode variar significativamente, dependendo do tipo de vinho e do processo de produção, sendo este um dos principais componentes do vinho [89]. As concentrações de glicerol em vinhos secos variam de 1,9 a 14,7 g L<sup>-1</sup>, a concentração pode ser maior dependendo se houve ou não uma colheita tardia da uva, se os bagos de uvas foram contaminados com fungos como *Botrytis*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*; se a temperatura da fermentação aumentar até 25 graus, entre outros [89, 90].

O estudo do efeito da concentração do glicerol feito visou verificar possíveis interferências no método que proposto. Para esse teste os parâmetros fixados foram: faixa de concentrações das soluções padrão de 2,5 a 20,0% (v/v); concentração da solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5 mol L<sup>-1</sup>); concentração da solução de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (0,06 mol L<sup>-1</sup>), tempo de arraste 30 s. Os resultados são mostrados na Tabela 17, e as respectivas curvas analíticas são mostradas na Figura 28.

Figura 28 - Avaliação do efeito da concentração do glicerol sobre o sinal analítico.

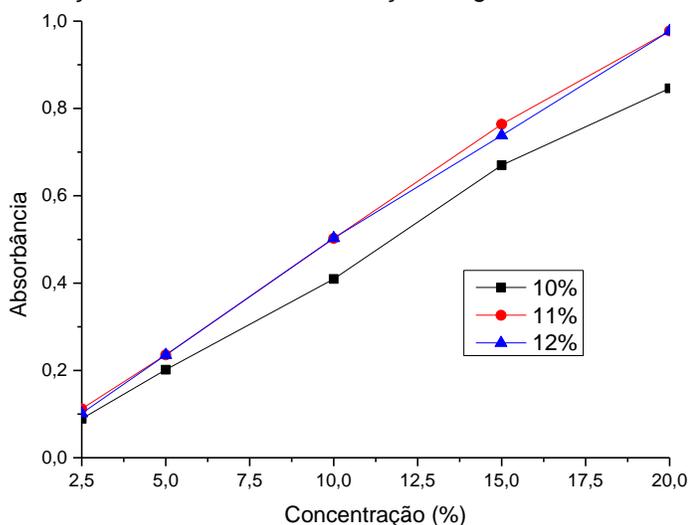


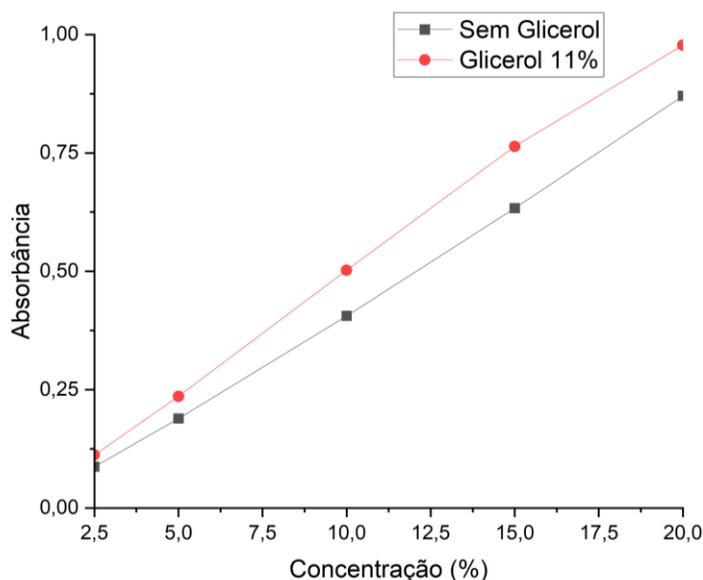
Tabela 17 – Parâmetros analíticos obtidos no estudo da concentração do Glicerol.

Concentração de Glicerol	Equação da reta	R <sup>2</sup>
10 %	$y = 0,0440x - 0,0189$	0,9970
11 %	$y = 0,0501x - 0,0081$	0,9983
12 %	$y = 0,0499x - 0,0136$	0,9991

Como o teor do glicerol pode variar de cultivar para cultivar, torna-se difícil estipular um valor para otimizar essa variável, mas por ser o terceiro componente mais abundante

nos vinhos, é necessário realizar esse estudo e definir um parâmetro. A partir destes resultados, optou-se por fixar o teor do glicerol nas soluções padrão em 11%. A Figura 29 apresenta a comparação entre as curvas analíticas com e sem glicerol.

Figura 29 – Curva analítica de comparação entre soluções de etanol com e sem glicerol.



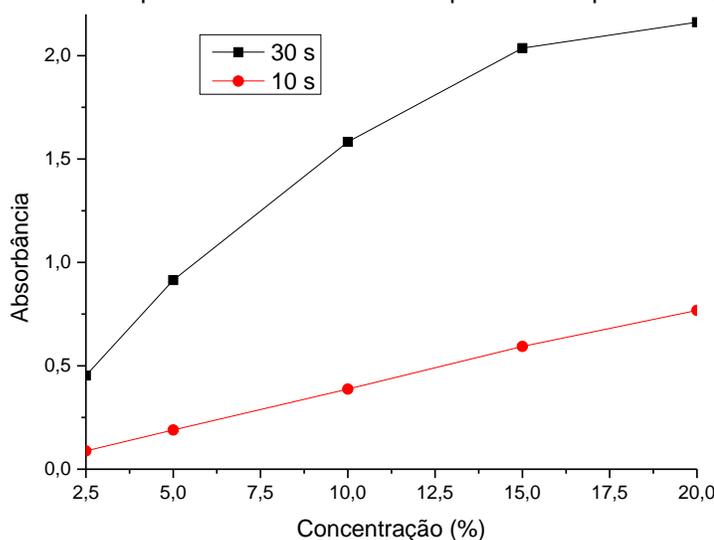
As equações relacionadas a cada curva são mostradas a seguir: a) sem glicerol  $y = 0,04477x - 0,03294$ ; e b) com glicerol 11%  $y = 0,05014x - 0,00818$ , respectivamente. Observa-se que com a presença de glicerol, o coeficiente angular teve um aumento de 11%. Esta resposta está de acordo com as curvas da Figura 28, nas quais observa-se que a curva correspondente à concentração de glicerol de 10% (v/v) apresenta um coeficiente angular menor. Considerando estes resultados, optou-se pela preparação das soluções padrão de etanol contendo 11% (v/v) de glicerol.

#### 4.3.8. Estudo do tempo e da temperatura no arraste

Com o objetivo de verificar em que extensão a eficiência do sistema de destilação seria afetada pelo aquecimento das soluções padrão de etanol, conduzimos um estudo para comparar a resposta do sistema, trabalhando com temperatura mais alta. Os parâmetros utilizados foram as seguintes: faixa de concentrações das soluções padrão de 2,5 a 20,0% (v/v) etanol; concentração da solução de  $H_2SO_4$  ( $5 \text{ mol L}^{-1}$ ); concentração

da solução de  $K_2Cr_2O_7$   $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ ; concentração de glicerol 11% (v/v); temperatura das soluções padrão de etanol  $60^\circ \text{ C}$ . Os resultados são mostrados na Fig. 30.

Figura 30 – Estudo exploratório do efeito da temperatura no processo de arraste.



Observa-se que para o intervalo de tempo de arraste de 30 s, ocorreu um acréscimo significativo na magnitude dos sinais, entretanto a curva correspondente não apresenta uma resposta linear. Observa-se que a partir de uma concentração de etanol estimada em torno de 6% (v/v), absorbância é superior a uma unidade ( $abs = 1,0$ ), portanto para concentrações mais elevadas, a magnitude do sinal gerado pode ultrapassar a faixa de resposta linear do sistema de detecção. Entretanto, este recurso pode ser útil para analisar amostras com concentrações de etanol menor que 5%. Com intervalo de tempo de 10 s, o sistema respondeu de forma linear, com o valor da inclinação em 0,0391, intercepto em -0,0055 e o  $R^2$  0,9991.

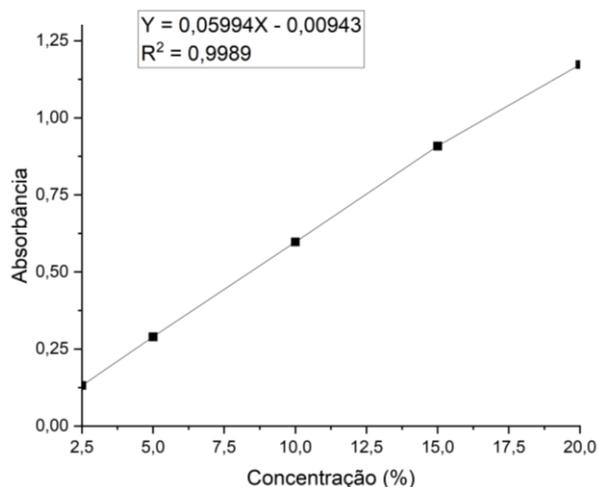
#### 4.3.9. Desempenho analítico do sistema

Após a realização dos estudos experimentais de otimização, foram definidos os parâmetros para a análise quantitativa do teor alcoólico em vinhos. Uma curva analítica foi obtida usando soluções padrão de 2,5, 5, 10, 15, 20% (v/v) de etanol. O desempenho geral do sistema proposto é determinado pela resposta do fotômetro, do módulo de

análise, do software de controle e aquisição, e do procedimento analítico. Cada componente respondeu de maneira satisfatória de forma individual.

A curva analítica (Figura 31), os parâmetros operacionais e performance do método (Tabela 18 e 19) são apresentadas a seguir:

Figura 31 - Curva analítica para determinação de etanol em vinhos.



Os parâmetros operacionais são variáveis controláveis que afetam diretamente o funcionamento e os resultados de um método analítico. A performance do método analítico refere-se à capacidade do método em fornecer resultados precisos, exatos e confiáveis para a análise desejada.

Tabela 18 - Parâmetro Operacional do sistema de determinação de etanol.

Parâmetro	Valor
Comprimento de onda, $\lambda_{\max}$ (nm)	570
Concentração do Ácido Sulfúrico ( $\text{mol L}^{-1}$ )	5
Concentração do Dicromato de Potássio ( $\text{mol L}^{-1}$ )	0,06
Volume Total da solução (mL) de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	1
Tempo de arraste (s)	30
Cela de detecção (mm)	10

Tabela 19 - Desempenho do Método para determinação de etanol.

Parâmetro	Valor
Faixa Linear (%)	2,5 - 20
Consumo de reagente $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (mg)	17,65
Geração de efluentes (mL/det.)	1
Frequência analítica (Det/h)	60
Coefficiente de correlação linear ( $R^2$ )	0,9989
Limite de detecção ( $\mu\text{g/L}$ )	0,0974
Coefficiente de variação (%)	4,14

#### 4.3.10. Validação do método

A Tabela 20 apresenta os resultados obtidos com o teste do procedimento proposto em 8 amostras de vinhos, comparando-os com os obtidos com o método de referência (densimetria [85]).

Tabela 20 – Resultados para determinação de etanol pelo método proposto (FIA) e de referência (densimetria).

Amostra	Método Proposto % (v/v)	Método de referência % (v/v)
1	12,71 ± 0,01	12,14
2	13,22 ± 0,01	12,93
3	12,87 ± 0,01	13,54
4	13,52 ± 0,01	13,15
5	13,33 ± 0,01	13,2
6	13,96 ± 0,01	13,42
7	13,71 ± 0,01	13,16
8	13,28 ± 0,01	12,88

A exatidão do método proposto foi verificada, comparando com os resultados obtidos em amostras de vinho, utilizando o método proposto e o método de referência. O teste estatístico empregado para a análise dos resultados foi o teste *t* pareado, com um intervalo de confiança de 95% e um número de amostra (*n*) igual a 8. O valor de *t* Tabelado para estas condições é de  $t = 2,365$ , e o valor calculado de  $t_{cal}$  foi de 1,948. Portanto, de acordo com o teste estatístico, não há diferença significativa entre os resultados obtidos pelo método proposto e pelo método de referência.

#### 4.4. CONCLUSÃO

O procedimento analítico que desenvolvemos foi construído com um investimento aproximado de 320 dólares, demonstrando sua viabilidade como uma solução de baixo custo. Optou-se por materiais amplamente disponíveis e acessíveis, garantindo que o método possa ser facilmente reproduzido em diferentes laboratórios, ambientes de pesquisa e na indústria. Esse enfoque em materiais de baixo custo não apenas reduz os gastos iniciais de implementação mas, também, promove uma maior acessibilidade e democratização da técnica analítica. Essa abordagem econômica não compromete a

qualidade ou a precisão dos resultados, mas sim ressalta a eficiência e a eficácia do método desenvolvido.

Os resultados exibidos nesta seção mostram que o procedimento analítico desenvolvido é eficiente para realizar a determinação de etanol em vinhos. Podendo o método em apreço ser aplicado para determinação de etanol em outras matrizes.

## 5. CONCLUSÃO GERAL

Os procedimentos desenvolvidos tiveram como foco a determinação de espécies químicas, as quais, podem afetar a qualidade da água potável e dos vinhos de mesa. Essas espécies são, geralmente, determinadas empregando procedimentos demorados e/ou com alto custo. Nesta tese, foram desenvolvidos dois procedimentos que podem ser usados como alternativa aos procedimentos comumente empregados para a determinação dessas espécies químicas.

O primeiro foi voltado para a determinação de alumínio em água potável, empregando um processo de fluxo-batelada com detecção espectrofotométrica. O outro procedimento descreve a determinação de etanol em vinhos de mesa, utilizando um sistema de arraste de vapor acoplado a um sistema de fluxo-batelada com detecção espectrofotométrica.

Com exceção a substituição da amostra, todas as etapas do procedimento analítico foram realizadas sem qualquer intervenção por parte do analista. Nesse sentido, pode-se concluir que os sistemas implementados neste trabalho permitem o desenvolvimento de um procedimento analítico automático.

Os resultados exibidos nas seções anteriores permitem concluir que, tanto o protótipo, quanto o procedimento analítico são viáveis para a determinação de alumínio em água potável e atendem às recomendações das agências reguladoras CONAMA, FUNASA, WHO de  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ . O procedimento para determinação do etanol em vinhos de mesa se mostrou válido após comparação com o método de referência oficial, apresentando aplicação prática e eficiente.

Os sistemas propostos são considerados de baixo custo, incluindo também sua manutenção. Os procedimentos analíticos apresentam um consumo reduzido de reagentes. Nesse sentido, pode-se concluir que os métodos implementados, podem ser considerados ferramentas seguras para a determinação dos analitos em questão, sendo que ambos atendem os requisitos de métodos limpos.

## 6. REFERÊNCIAS

1. Schatzberg, E. (2003). Symbolic Culture and Technological Change: The Cultural History of Aluminum as an Industrial Material. **Enterprise & Society**, 4(2), 226-271.
2. Exley, C. (2013). Human exposure to aluminium. **Environmental Science: Processes & Impacts**, 15(10), 1807-1816.
3. Rabinovich, D. (2013). The allure of aluminium. **Nature Chemistry**, 5(1), 76-76.
4. Hachez-Leroy, F. (2013). Aluminium in health and food: a gradual global approach. **European Review of History: Revue européenne d'histoire**, 20(2), 217-236.
5. Exley, C. (2003). A biogeochemical cycle for aluminium?. **Journal of inorganic biochemistry**, 97(1), 1-7.
6. Pereira, M. D. S. S., & Reis, B. F. D. (2002). Determinação espectrofotométrica de alumínio em concentrados salinos utilizados em hemodiálise empregando pré-concentração em fluxo. **Química Nova**, 25, 931-934.
7. Araújo, S. M. H. A., & Barreto, F. C. (2008). Intoxicação Alumínica na DRC. **Brazilian Journal of Nephrology**, 30 (1 suppl. 2), 16-22.
8. Nayak, P. (2002). Aluminum: impacts and disease. **Environmental research**, 89(2), 101-115.
9. Ja-Liang, L., Yu-Jen, Y., Sun-Shen, Y., & Mei-Ling, L. (1997). Aluminum utensils contribute to aluminum accumulation in patients with renal disease. **American Journal of Kidney Diseases**, 30(5), 653–658.
10. Alasfar, R. H., & Isaifan, R. J. (2021). Aluminum environmental pollution: the silent killer. **Environmental Science and Pollution Research**, 28(33), 44587–44597.
11. Borowska, S., and Brzóska, M. M. (2015). Metals in cosmetics: implications for human health. **Journal of Applied Toxicology**, 35, 551–572.
12. Exley, C., Pinnegar, J. K., & Taylor, H. (1997). Hydroxyaluminosilicates and Acute Aluminium Toxicity in Fish. **Journal of Theoretical Biology**, 189(2), 133–139.
13. Exley, C., Schneider, C., & Doucet, F. J. (2002). The reaction of aluminium with silicic acid in acidic solution: an important mechanism in controlling the biological availability of aluminium? **Coordination Chemistry Reviews**, 228(2), 127–135.

14. Crisponi, G., Fanni, D., Gerosa, C., Nemolato, S., Nurchi, V., Crespo-Alonso, M., Lachowicz, J. & Faa, G. (2013). The meaning of aluminium exposure on human health and aluminium-related diseases. **BioMolecular Concepts**, 4(1), 77-87.
15. Ministério de Estado de Saúde. (2021). "Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021". **Diário Oficial da União**, nº 85, de 7-5-2021, Seção 1: 126-136.
16. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. (2008). "Resolução CONAMA nº 396, de 3 de abril de 2008". **Diário Oficial da União**, nº 66, de 7 de abril de 2008, Seção 1: 64-68.
17. de Água, M. P. D. A. (2013). Fundação Nacional de Saúde. **Vigilância Ambiental em Saúde**. Brasília.
18. Tria, J., Butler, E. C., Haddad, P. R., & Bowie, A. R. (2007). Determination of aluminium in natural water samples. **Analytica Chimica Acta**, 588(2), 153-165.
19. Courtijn, E., Vandecasteele, C., & Dams, R. (1990). Speciation of aluminium in surface water. **Science of the total environment**, 90, 191-202.
20. Mitrovic, B., Milacic, R., Pihlar, B., & Simoncic, P. (1998). Speciation of trace amounts of aluminium in environmental samples by cation-exchange FPLC-ETAAS. **Analisis**, 26(10), 381-388.
21. Dubey, S., Agarwal, M., & Gupta, A. B. (2018). Experimental investigation of Al-F species formation and transformation during coagulation for fluoride removal using alum and PACl. **Journal of Molecular Liquids**, 266, 349-360.
22. Edition, F. (2011). Guidelines for drinking-water quality. **WHO chronicle**, 38(4), 104-8.
23. Frankowski, M., Ziola-Frankowska, A., Kurzyca, I., Novotný, K., Vaculovič, T., Kanický, V., ... & Siepak, J. (2011). Determination of aluminium in groundwater samples by GF-AAS, ICP-AES, ICP-MS and modelling of inorganic aluminium complexes. **Environmental monitoring and assessment**, 182, 71-84.
24. Fairman, B., & Medel, A. S. (1993). Improved determination of aluminium species in waters using FIA separation/fluorimetric detection techniques. **International journal of environmental analytical chemistry**, 50(3), 161-171.
25. Brach-Papa, C., Coulomb, B., Boudenne, J. L., Cerda, V., & Theraulaz, F. (2002). Spectrofluorimetric determination of aluminum in drinking waters by sequential injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, 457(2), 311-318.
26. Reis, B. F., Giné, M. F., Zagatto, E. A., Lima, J. L. F., & Lapa, R. A. (1994). Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation

- and spectrophotometric determination of iron in plant digests. **Analytica Chimica Acta**, 293(1-2), 129-138.
27. Soleas, G. J., Diamandis, E. P., & Goldberg, D. M. (1997). Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. **Journal of clinical laboratory analysis**, 11(5), 287-313.
28. Phillips, R. (2020). **Uma breve história do vinho**. Editora Record.
29. Guasch-Jané, M. R., Andrés-Lacueva, C., Jáuregui, O., & Lamuela-Raventós, R. M. (2006). First evidence of white wine in ancient Egypt from Tutankhamun's tomb. **Journal of archaeological science**, 33(8), 1075-1080.
30. Saika, H., Matsumura, H., Takano, T., Tsutsumi, N., & Nakazono, M. (2006). A point mutation of Adh1 gene is involved in the repression of coleoptile elongation under submergence in rice. **Breeding Science**, 56(1), 69-74.
31. Moreno-Arribas, M. V., & Polo, M. C. (Eds.). (2009). **Wine chemistry and biochemistry** (Vol. 735, p. 975). New York, NY, USA: Springer.
32. **Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988**. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados de uva e do vinho, e dá outras providências. Brasília, DF: Presidência da República. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Leis/1980-1988/L7678.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/1980-1988/L7678.htm).
33. **Decreto nº 8.198, de 20 de fevereiro de 2014**. Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. Brasília, DF: Presidência da República. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2011-2014/2014/decreto/d8198.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2014/decreto/d8198.htm).
34. **AOAC Official Method of Analysis**. (1990). Wines. In Official Methods of Analysis of AOAC International. 15th edition, pp. 739-750.
35. Caputi Jr, A., & Wright, D. (1969). Collaborative study of the determination of ethanol in wine by chemical oxidation. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, 52(1), 85-88.
36. Caputi, A., Ueda, M., & Brown, T. (1968). Spectrophotometric determination of ethanol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, 19(3), 160-165.
37. Jones, A. W. (1995). Measuring ethanol in saliva with the QED® enzymatic test device: comparison of results with blood-and breath-alcohol concentrations. **Journal of analytical toxicology**, 19(3), 169-174.

38. Mason, M. (1983). Ethanol determination in wine with an immobilized enzyme electrode. **American Journal of Enology and Viticulture**, 34(3), 173-175.
39. Rotariu, L., Bala, C., & Magearu, V. (2004). New potentiometric microbial biosensor for ethanol determination in alcoholic beverages. **Analytica chimica acta**, 513(1), 119-123.
40. Sriariyanun, M., MUTRAKULCHAROEN, P. A. R. I. T. A., TEPAAMORN DECH, S. U. R. A. P. U. N., Cheenkachorn, K., & Rattanaporn, K. (2019). A rapid spectrophotometric method for quantitative determination of ethanol in fermentation products. **Oriental Journal of Chemistry**, 35(2).
41. Martin, E., Iadaresta, V., Giacometti, J. C., & Vogel, J. (1986). Ethanol determination by HPLC in alcoholic beverages. **Mitt Geb Lebensmittelunters Hyg**, 77, 528-534.
42. Lefebvre, D., Gabriel, V., Vayssier, Y., & Fontagné-Faucher, C. (2002). Simultaneous HPLC determination of sugars, organic acids and ethanol in sourdough process. **LWT-Food Science and Technology**, 35(5), 407-414.
43. Yang, D., & Ying, Y. (2011). Applications of Raman spectroscopy in agricultural products and food analysis: A review. **Applied Spectroscopy Reviews**, 46(7), 539-560.
44. Wagner, K., Bilitewski, U., & Schmid, R. D. (1992). Flow injection analysis of wine—Accomplishments and needs. **Microchemical journal**, 45(2), 114-120.
45. Salgado, A. M., Folly, R. O. M., Valdman, B., Cos, O., & Valero, F. (2000). Colorimetric method for the determination of ethanol by flow injection analysis. **Biotechnology letters**, 22, 327-330.
46. Guymon, J. F., & Crowell, E. A. (1959). The chemical determination of alcohol in wines and stillage by dichromate. **Journal of Association of Official Agricultural Chemists**, 42(2), 393-398.
47. Caputi Jr, A. (1970). Determination of ethanol in wine by chemical oxidation: 1969 studies. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, 53(1), 11-12.
48. Thurow, K., & Junginger, S. (2022). **Devices and systems for laboratory automation**. John Wiley & Sons.
49. Trojanowicz, M., & Kołacińska, K. (2016). Recent advances in flow injection analysis. **The Analyst**, 141(7), 2085–2139.
50. Růžička, J. (1992). The second coming of flow-injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, 261(1-2), 3–10.

51. Trojanowicz, M. (2000). Flow injection analysis. **World Scientific Publishing**: Singapore.
52. Lima, R. A., Santos, S. R., Costa, R. S., Marcone, G. P., Honorato, R. S., Nascimento, V. B., & Araujo, M. C. (2004). Hardness screening of water using a flow-batch photometric system. **Analytica Chimica Acta**, 518(1-2), 25-30.
53. Lima, E. A., Lima, M. B., Andrade, S. I. E., Barreto, I. S., Araújo, M. C. U., Lima, R. A., & Almeida, L. F. (2014). A micro-flow-batch analyzer using an in-line cadmium sponge microcolumn for the photometric determination of nitrate and nitrite in dairy samples. **Food analytical methods**, 7, 1925-1931.
54. Rios, A., Luque de Castro, M. D., Valcarcel, M., & Mottola, H. A. (1987). Electrochemical determination of sulfur dioxide in air samples in closed-loop flow injection system. **Analytical Chemistry**, 59(4), 666-670.
55. da Silva Magalhães, T., & Reis, B. F. (2018). A novel multicommutated flow analysis strategy for the spectrophotometric determination of cadmium in water at  $\mu\text{g L}^{-1}$  levels without using a preconcentration step. **Analytical methods**, 10(8), 900-909.
56. Trojanowicz, M., & Pyszynska, M. (2022). Flow-injection methods in water analysis—recent developments. **Molecules**, 27(4), 1410.
57. Grinias, J. P., Whitfield, J. T., Guetschow, E. D., & Kennedy, R. T. (2016). An inexpensive, open-source USB Arduino data acquisition device for chemical instrumentation. **Journal of Chemical Education**, 93(7), 1316–1319.
58. Papadimitropoulos, N., Dalacosta, K., & Pavlatou, E. A. (2021). Teaching chemistry with Arduino experiments in a mixed virtual-physical learning environment. **Journal of Science Education and Technology**, 30(4), 550-566.
59. Arduino, S. A. (2015). Arduino. **Arduino LLC**, 372.
60. Noble, J. (2012). **Programming interactivity**. " O'Reilly Media, Inc."
61. Due, A., & Core, A. R. M. (2017). Arduino due. **Retrieved**, 9(16), 2019.
62. Lima, M. D. J. D. A. (2019). **Estratégias em fluxo para a determinação de acidez, sulfato e cloreto em etanol hidratado combustível** (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
63. Urban, P. L. (2015). Universal electronics for miniature and automated chemical assays. **The Analyst**, 140(4), 963–975.

64. Itterheimová, P., Foret, F., & Kubáň, P. (2021). High-resolution Arduino-based data acquisition devices for microscale separation systems. **Analytica Chimica Acta**, 1153, 338294.
65. Prabowo, N. K., & Irwanto, I. (2023). The Implementation of Arduino Microcontroller Boards in Science: A Bibliometric Analysis from 2008 to 2022. **arXiv preprint arXiv:2312.10840**.
66. Mesquita, R. B., & Rangel, A. O. (2008). Development of sequential injection methodologies for the spectrophotometric direct and kinetic determination of aluminium in natural and waste waters. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 19, 1171-1179.
67. Vanloot, P., Branger, C., Margaillan, A., Brach-Papa, C., Boudenne, J. L., & Coulomb, B. (2007). On-line solid-phase extraction and multisyringe flow injection analysis of Al (III) and Fe (III) in drinking water. **Analytical and bioanalytical chemistry**, 389, 1595-1602.
68. Pyrzyńska, K., Guçer, S., & Bulska, E. (2000). Flow-injection speciation of aluminium. **Water Research**, 34(2), 359-365.
69. Pakalns, P. (1965). Spectrophotometric determination of aluminium with chrome azurol S. **Analytica Chimica Acta**, 32, 57-63.
70. Røyset, O. (1985). Comparison of four chromogenic reagents for the flow-injection determination of aluminum in water. **Analytica chimica acta**, 178, 223-230.
71. Hawke, D. J., & Powell, H. K. J. (1994). Flow-injection analysis applied to the kinetic determination of reactive (toxic) aluminium: comparison of chromophores. **Analytica Chimica Acta**, 299(2), 257-268.
72. Marczenko, Z., & Jarosz, M. (1982). Formation of ternary complexes of aluminium with some triphenylmethane reagents and cationic surfactants. **Analyst**, 107(1281), 1431-1438.
73. Bouzid, B., & Macdonald, A. M. G. (1988). Flow-injection spectrophotometric determination of aluminium based on chrome azurol S and cetylpyridinium chloride. **Analytica chimica acta**, 207, 337-342.
74. Hawke, D. J., Powell, H. K. J., & Simpson, S. L. (1996). Equilibrium modelling of interferences in the visible spectrophotometric determination of aluminium (III): Comparison of the chromophores chrome azurol S, eriochrome cyanine R and pyrocatechol violet, and stability constants for eriochrome cyanine R-aluminium complexes. **Analytica chimica acta**, 319(3), 305-314.

75. Einaga, H., & Iwasaki, I. (1981). Spectrophotometric study of the reaction of zirconium with chrome azurol S and fluoride. **Talanta**, 28(12), 889-900.
76. Kennedy, J. A., & Powell, H. K. J. (1986). Colorimetric determination of aluminium(III) with chrome azurol S and the reactivity of hydrolysed aluminium species. **Analytica Chimica Acta**, 184, 329–333.
77. Bottero, J. Y., Cases, J. M., Fiessinger, F., & Poirier, J. E. (1980). Studies of hydrolyzed aluminum chloride solutions. 1. Nature of aluminum species and composition of aqueous solutions. **The Journal of Physical Chemistry**, 84(22), 2933–2939.
78. Zhou, T., Feng, S., Huang, Y., Yuan, D., Ma, J., & Zhu, Y. (2016). Determination of Aluminum in Natural Waters by Flow Injection Analysis with Spectrophotometric Detection. **Analytical Letters**, 49(11), 1669–1680.
79. Fries, J. (1972). **Análisis de trazas: métodos fotométricos comprobados**. E. Merck.
80. West, P. W., Lyles, G. R., & Miller, J. L. (1970). Spectrophotometric determination of atmospheric fluorides. **Environmental Science & Technology**, 4(6), 487–491.
81. Ranjan, R., & Ranjan, A. (2015). **Fluoride toxicity in animals**. Springer.
82. Clark, J., Owen, S., Yu, R. (2017). **Edexcel International GCSE (9-1) Chemistry: Student Book**. Pearson Education Limited.
83. Costa, M. F. P. C. M., Dorrió, J. B. V., Novell, J. M. F. (2018). **Hands-on Science: Advancing Science. Improve Education**. Copissaurio Repro – Centro Imp. Unip. Lda. Campus de Gualtar.
84. Jacques, K. A., Lyons, T. P., Kelsall, D. R. (2003) **The Alcohol Textbook: A reference for the beverage, fuel and industrial alcohol industries**. Nottingham University Press.
85. Rizzon, L. A. (2010). Metodologia para análise de vinho. **Brasília: Embrapa Informação Tecnológica**, 120, 37-41.
86. Ratanawimarnwong, N., Pluangklang, T., Chysiri, T., & Nacapricha, D. (2013). New membraneless vaporization unit coupled with flow systems for analysis of ethanol. **Analytica Chimica Acta**, 796, 61-67.
87. Comitre, A. L. D., & Reis, B. F. (2000). Automatic multicommutated flow system for ethanol determination in alcoholic beverages by spectrophotometry. **Laboratory Robotics and Automation**, 12(1), 31-36.

88. Fletcher, P. J., & Van Staden, J. F. (2003). Determination of ethanol in distilled liquors using sequential injection analysis with spectrophotometric detection. **Analytica Chimica Acta**, 499(1-2), 123-128.
89. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Glories, Y., & Maujean, A. (2017). **Traité d'Œnologie: chimie du vin, stabilisation et traitements**. Dunod.
90. Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., Gump, B. H., Nury, F. S. (1995). **Production wine analysis**. Springer Science & Business Media.
91. Pilone, G. J. (1985). Determination of ethanol in wine by titrimetric and spectrophotometric dichromate methods: collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, 68(2), 188-190.
92. Dias, T. R., Brasil, M. A. S., Feres, M. A., & Reis, B. F. (2014). A flow cell with a new design to improve the utilization of the radiation emitted by LED and employed as a radiation source for photometric detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 198, 448–454.
93. Reule, A. G. (1976). Errors in spectrophotometry and calibration procedures to avoid them. **Journal of research of the National Bureau of Standards. Section A, Physics and chemistry**, 80(4), 609.

## 7. APÊNDICE

### Softwares desenvolvidos para controle dos módulos de análise e para aquisição de dados

Os softwares apresentados a seguir foram codificados com a finalidade de otimizar e automatizar os procedimentos analíticos para a determinação fotométrica de alumínio em água mineral e para a determinação de etanol em vinhos. Foram retiradas as informações referentes ao que cada código executa, a documentação para as bibliotecas e para as funções de cada comando podem ser acessadas na página oficial do Arduino, na aba Documentation, no link [Arduino - Home](#).

A seguir está apresentado o código escrito e comentários adicionais.

#### 1. Programa desenvolvido para determinação de alumínio em água potável

Programa desenvolvido na versão Arduino IDE 1.8.18 disponível no link: ([Previous IDE Releases | Arduino](#)). O acesso ao programa pode ser feito também na plataforma repositórios GitHub, por meio do link: <https://github.com/projectegb/aluminium.git>. Ali são descritas a função de algumas das linhas de comando apresentadas nesse código, bem como a pinagem que foi realizada na placa Arduino e a localização de cada minibomba e válvula.

#### Sketch principal

```
int Bomba1 = 23
int Bomba2 = 24;
int Bomba3 = 25;
int Bomba4 = 26;
int Chave1 = 7;
int Chave2 = 6;
int PinoPWM = 2;
int analogico0 = A0;
int TempoTrocaAmostra = 6000;
int TempoAmostragem = 5000;
int CiclosLavaRegentes = 20;
```

```

int CiclosInsereReag = 5;
int CiclosLimpeza = 15;
int CiclosInsereTampao = 3;
int TempoLeitura = 6000;
int TempoLavaCarreg = 5000;
int TempoEncheCela = 5000;
int TempoSecaCela = 7000;
int TempoReacao = 8000;
int Replicatas = 4;
int LarguraPulso = 240;
int ImprimeDados = HIGH;
float Referencia = 3900;
float SinalMaior = 0;
float Absorbance = 0;
int Escuro = 67;
float SinalA = 0;
float SinalB = 0;
float SinalC = 0;
float SinalD = 0;
float SinalE = 0;
int Tempoinicio = 0;
int Marcador = 0;
int sinalChave1 = 0;
int sinalChave2 = 0;
float MaximoMiliv = 0;
float SinalMilivolt = 0;
#include <LiquidCrystal.h>
LiquidCrystal lcd(13, 12, 11, 10, 9, 8);

void setup()
{
pinMode(Bomba1, OUTPUT);
pinMode(Bomba2, OUTPUT);
pinMode(Bomba3, OUTPUT);
pinMode(Bomba4, OUTPUT);
pinMode(Chave1, INPUT);
pinMode(Chave2, INPUT);
pinMode(analogico0, INPUT);
pinMode(PinoPWM, OUTPUT);
Serial.begin(9600); // Inicializa a interface serial.
lcd.begin(16, 2); // Inicializa o display.
analogReadResolution(12);
Calibracao();
SecaCamara();
LavaReagentes();
}

```

```
void loop()
{
  if(Marcador == 0)
  {
    Serial.print(" ");
    Serial.print("Tempo");
    Serial.print("");
    Serial.println("Sinal");
    Marcador = 1;
  }
  Tempoinicio = millis();
  LavaAmostra();
  LeReferencia();
  SecaCamara();
  for(int contador = 0; contador < Replicatas; contador++)
  {
    Serial.print(" Replicata = ");
    Serial.println(contador + 1);
    Amostragem();
    InseReagentes();
    EncheCela();
    LeituraSinal();
    Serial.print (" Maximo = ");
    Serial.print(SinalMaior,5);
    Serial.println(" ");
    if(contador == 0)
    {
      SinalA = SinalMaior;
    }
    else if(contador == 1)
    {
      SinalB = SinalMaior;
    }
    else if(contador == 2)
    {
      SinalC = SinalMaior;
    }
    else if(contador == 3)
    {
      SinalD = SinalMaior;
    }
    else if(contador == 4)
    {
      SinalE = SinalMaior;
    }
  }
}
```

```

        else if(contador == 5)
        {
            SinalE = SinalMaior;
        }
        SecaCamara();
    }
    Serial.println(" Maximos");
    Serial.print(" ");
    Serial.println(SinalA,5);
    Serial.print(" ");
    Serial.println(SinalB,5);
    Serial.print(" ");
    Serial.println(SinalC,5);
    Serial.print(" ");
    Serial.println(SinalD,5);
    Serial.print(" ");
    Serial.println(SinalE,5);
    Serial.print(" ");
}

```

A seguir são apresentados os subprogramas individuais para cada etapa de operacionalização do sistema:

#### **void Amostragem()**

```

{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Faz amostragem");
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print(TempoAmostragem);
    digitalWrite(Bomba1,HIGH);
    int TempoX = millis();
    while(millis()- TempoX < TempoAmostragem)
    {
        float pt = float(millis()- TempoX);
        float px = float(pt/1000);
        lcd.setCursor(8,1);
        lcd.print(px);
    }
    digitalWrite(Bomba1,LOW);
}

```

#### **void Calibracao()**

```

{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);

```

```

lcd.print("Chave1:Calibra");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print("Chave2:Retorna");
int sinalChave1 = LOW;
int sinalChave2 = LOW;
while((sinalChave1 == LOW)&&(sinalChave2 == LOW))
{
    sinalChave1 = digitalRead(Chave1);
    sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
}
if (sinalChave1 == HIGH)
{
    LavaPercurso();
    EncheCela();
    sinalChave2 = LOW;
    while(sinalChave2 == LOW)
    {
        lcd.clear();
        lcd.setCursor(0,0);
        lcd.print("Ajust sinal:3800");
        for(int nj = 0; nj <20 ; nj++)
        {
            int sinal = analogRead(analogico0);
            lcd.setCursor(0,1);
            lcd.print(sinal);
            delay (200);
        }
        lcd.setCursor(0,0);
        lcd.print("Ch2:Finaliza");
        int tpx = millis();
        while((millis() - tpx)<500)
        {
            sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
        }
    }
    int xy = 0 ;
    int soma1 = 0;
    for (int x = 0; x < 400; x++)
    {
        int sinal = analogRead(analogico0);
        soma1 = soma1 + sinal;
        xy = xy +1;
        delay(2);
    }
    Referencia = float(soma1/xy);
    lcd.clear();
}

```

```

        lcd.setCursor(0,0);
        lcd.print("Referencia");
        lcd.setCursor(0,1);
        lcd.print(Referencia,2);
    }
    while(sinalChave2 == HIGH)
    {
        sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
        delay(100);
    }
    Serial.println(" ");
    Serial.print(" Referencia = ");
    Serial.println(Referencia);
}

```

### **void EncheCela()**

```

{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Enche Cela");
    int tempf = millis();
    digitalWrite(Bomba2,HIGH);
    while((millis() - tempf) < TempoEncheCela)
    {
        float ht =float(millis() - tempf);
        float px = float(ht/1000);
        lcd.setCursor(0,1);
        lcd.print(px);
    }
    digitalWrite(Bomba2,LOW);
}

```

### **void InseReagentes()**

```

{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("InseReagentes");
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print(CiclosInseReag);
    analogWrite(PinoPWM, LarguraPulso);
    for(int px = 0; px < CiclosInseReag; px++)
    {
        digitalWrite(Bomba3,HIGH);
        delay(150);
        digitalWrite(Bomba3,LOW);
        delay(150);
    }
}

```

```

        lcd.setCursor(8,1);
        lcd.print(px);
    }
    for(int wx = 0; wx < CiclosInsereTampao; wx++)
    {
        digitalWrite(Bomba4,HIGH);
        delay(150);// ULN2803.
        digitalWrite(Bomba4,LOW);//Desliga.
        delay(150);
        lcd.setCursor(8,1);
        lcd.print(wx);
    }
    int Tems = millis();
    while ((millis() - Tems) < TempoReacao)
    {
        lcd.clear();
        lcd.setCursor(0,0);
        lcd.print("Completa reacao");
        float txy = float(millis() - Tems);
        float vzt = float(txy/1000);
        lcd.setCursor(0,1);
        lcd.print(vzt,2);
    }
    delay(1000);
    analogWrite(PinoPWM, 0);
}

void LavaAmostra()
{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Ch1:LavaAmostra");
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print("Cha2:Retorna");
    int sinalChave1 = LOW;
    int sinalChave2 = LOW;
    while((sinalChave1 == LOW)&&(sinalChave2 == LOW))
    {
        sinalChave1 = digitalRead(Chave1);
        sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
    }
    if (sinalChave1 == HIGH)
    {
        lcd.clear();
        lcd.setCursor(0,0);
        lcd.print("Lava com amostra");
    }
}

```

```

    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print(TempoTrocaAmostra);
    digitalWrite(Bomba1,HIGH);
    int Temp = millis();
    while((millis() - Temp) < TempoTrocaAmostra)
        {
            float pxt = float(millis() - Temp);
            float px = float(pxt/1000);
            lcd.setCursor(8,1);
            lcd.print(px);
        }
    digitalWrite(Bomba1,LOW);
    delay(1000);
    digitalWrite(Bomba2,LOW);
}
while(sinalChave2 == HIGH)
{
    sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
    delay(100);
}
}

```

### **void LavaPercurso()**

```

{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Lava percurso");
    int tempf = millis();
    digitalWrite(Bomba1,HIGH);
    while((millis() - tempf) < TempoLavaCarreg)
        {
            float ht =float(millis() - tempf);
            float px = float(ht/1000);
            lcd.setCursor(0,1);
            lcd.print(px);
        }
    digitalWrite(Bomba1,LOW);
}

```

### **void LavaReagente1()**

```

{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Lava Reag1");
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print(CiclosLavaRegentes);
}

```

```

for(int px = 0; px < CiclosLavaRegentes; px++)
{
    digitalWrite(Bomba3,HIGH);
    digitalWrite(Bomba4,HIGH);
    delay(150);// ULN2803.
    digitalWrite(Bomba3,LOW);
    digitalWrite(Bomba4,LOW);
    delay(150);
    lcd.setCursor(8,1);
    lcd.print(px);
}
}

void LavaReagentes()
{
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Ch1:LavaReagent");
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print("Chave2:Retorna");
    int sinalChave1 = LOW;
    int sinalChave2 = LOW;
    while((sinalChave1 == LOW)&& (sinalChave2 == LOW))
    {
        sinalChave1 = digitalRead(Chave1);
        sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
    }
    if (sinalChave1 == HIGH)
    {
        LavaReagente1();
        SecaCamara();
    }
    while(sinalChave2 == HIGH)
    {
        sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
        delay(100);
    }
}

void LeReferencia()
{
    EncheCela();
    delay (5000);
    int xy = 0 ;
    int soma1 = 0;
    for (int x = 0; x < 500; x++)
    {

```

```

    int sinal = analogRead(analogico0);
    soma1 = soma1 + sinal;
    xy = xy +1;
    delay(2);
}
Referencia = int(soma1/xy);
lcd.clear();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("Referencia");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print(Referencia,2);
Serial.println(" ");
Serial.print(" Referencia = ");
Serial.println(Referencia);
}

```

### **void LeituraSinal()**

```

{
lcd.clear();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("Leitura Final");
delay(1000);
SinalMaior = 0;
int mxt = millis();
while((millis()- mxt) < TempoLeitura)
{
Absorbance = 0;
float soma = 0;
float Media = 0;
float Tempo = 0;
int yx = 0;
for (int x = 0;x < 200; x++)
{
int sinal = analogRead(analogico0);
soma = float(soma + sinal);
delay(2);
yx = yx +1;
}
float MediaB = float(soma/yx);
Media = float (MediaB - Escuro);
float kj = log(10);
float Razao = float(Referencia/Media);
float Ref1 = float(log(Razao));
Absorbance = float(Ref1/kj);
float Temp = float(millis()-Tempoinicio);
Tempo = float(Temp/1000);
}
}

```

```

        if(SinalMaior < Absorbance)
        {
            SinalMaior = Absorbance;
        }
        Serial.print(" ");
        Serial.print(Tempo, 2);
        Serial.print(" ");
        Serial.print(Absorbance, 5 );
        Serial.println(" ; ");
    }
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print(SinalMaior,5);
}

void SecaCamara()
{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Seca Cela");
    int tempf = millis();
    digitalWrite(Bomba2,HIGH);
    while((millis() - tempf) < TempoSecaCela)
    {
        float ht =float(millis() - tempf);
        float px = float(ht/1000);
        lcd.setCursor(0,1);
        lcd.print(px);
    }
    digitalWrite(Bomba2,LOW);
}

```

## 2. Programa desenvolvido para determinação de etanol em vinhos

Programa desenvolvido na versão Arduino IDE 1.8.18 disponível no link: ([Previous IDE Releases | Arduino](#)). O acesso ao programa pode ser feito também na plataforma repositórios GitHub, por meio do link: <https://github.com/projectegb/ethanol.git>. Ali são descritas a função de algumas das linhas de comando apresentadas nesse código, bem como a pinagem que foi realizada na placa Arduino e a localização de cada minibomba e válvula.

### Sketch principal

```
int Chave1 = 7;
int Chave2 = 6;
int Compressor = 22;
int BombaP1 = 23;
int BombaP2 = 24;
int BombaP3 = 25;
int AtivaPortaH1 = 40;
int AtivaPortaH2 = 41;
int SinalPortaH1 = 42;
int SinalPortaH2 = 43;
int LeituraPortaH1 = HIGH;
int LeituraPortaH2 = HIGH;
int sinalChave1 = 0;
int sinalChave2 = 0;
int Analogico0 = A0;
int TempoSecaCa2 = 7500;
int TempoDestila = 30000;
int TempoLeitura = 5000;
int CiclosLavaReag = 22;
int CiclosReagente = 25;
int CiclosEnche = 30;
int CiclosLimpeza = 30;
int Tempoinicio = 0;
int Contador = 0;
int Replicatas = 1;
int Repeticao = 1;
float Referencia = 3800;
float LeituraEscuro = 8;
float Absorbance = 0;
float Soma = 0;
float media = 0;
float MediaMovelA = 0;
float MaximoA = 0;
float RefCoeficiente = 3.5;

#include <LiquidCrystal.h>
LiquidCrystal lcd(13, 12, 11, 10, 9, 8);

void setup()
{
  pinMode(Chave1, INPUT);
  pinMode(Chave2, INPUT);
  pinMode(AtivaPortaH1,OUTPUT);
  pinMode(AtivaPortaH2,OUTPUT);
  pinMode(Compressor,OUTPUT);
```

```

pinMode(BombaP1,OUTPUT);
pinMode(BombaP2,OUTPUT);
pinMode(BombaP3,OUTPUT);
pinMode(Analogico0, INPUT);
Serial.begin(9600);
lcd.begin(16, 2);
analogReadResolution(12);
Limpeza();
SecaCamara2();
LavaReagente();
SecaCamara2();
Calibracao();
}

void loop()
{
TrocaAmostra();
Contador = 0;
for(int replic = 0; replic < Replicatas; replic ++)
{
Tempoinicio = millis();
Serial.print(" Replicata = ");
Serial.println(Contador +1);
SecaCamra2();
InsereReagente();
LeituraSinalRef();
LeituraSinal();
for(int repet = 0; repet < Repeticao; repet ++)
{
Serial.print("Repeticao = ");
Serial.println(repet +1);
Destila();
LeituraSinal();
}
Contador = Contador + 1;
}
}

```

A seguir são apresentados os subprogramas individuais para cada etapa de operacionalização do sistema:

#### **void Calibracao()**

```

{
lcd.clear();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("Ajusta leitura ?");

```

```

lcd.setCursor(0,1);
lcd.print("Ch1=Sim:Ch2=Nao");

float SinalA = 0;
sinalChave2 = LOW;
sinalChave1 = LOW;
while((sinalChave1 == LOW)&&(sinalChave2 == LOW))
{
    sinalChave1 = digitalRead(Chave1);
    sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
}
if (sinalChave1 == HIGH)
{
    EncheCamara2();
    sinalChave2 = LOW;
    while(sinalChave2 == LOW)
    {
        sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
        lcd.setCursor(0,0);
        lcd.print("Ajust sinal=3800");
        delay(1000);
        float media = 0;
        float Soma = 0;
        int x = 0;
        for (int px = 0; px < 50; px++)
        {
            SinalA = analogRead(Analogico0);
            Soma = float(Soma + SinalA);
            x = x +1;
            delay(2);
        }
        media = float(Soma/x);
        lcd.clear();
        lcd.setCursor(0,1),
        lcd.println(media,2);
        delay(600);
        lcd.setCursor(0,0);
        lcd.print("Ch2:Finaliza");
        delay(600);
    }
    float media = 0;
    float Soma = 0;
    int x = 0;
    for (int px = 0; px < 400; px++)
    {
        SinalA = analogRead(Analogico0);

```

```

        Soma = float(Soma + SinalA);
        x = x +1;
        delay(2);
    }
    Referencia = float(Soma/x);
    Serial.print(" Referencia = ");
    Serial.print(Referencia,2);
    Serial.print(" Leitura no escuro = ");
    Serial.println(LeituraEscuro,2);
}
lcd.clear();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("Finalizou");
delay(1000);
}

```

### **void Destila()**

```

{
lcd.clear();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("Destila");
digitalWrite(Compressor,HIGH);
int ht = millis();
while((millis() - ht)< TempoDestila)
{
    int bt = ((millis() - ht)/1000);
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print(bt);
}
digitalWrite(Compressor,LOW);
delay(1000);
}

```

### **void EncheCamara2()**

```

{
lcd.clear();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("Enche Camara2");
for(int ft = 0; ft < CiclosEnche; ft++)
{
    digitalWrite(BombaP4,HIGH);
    delay(100);
    digitalWrite(BombaP4,LOW);
    delay(100);
}
}

```

**void InsereReagente()**

```

{
  lcd.clear();
  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print("Inser Reagente");
  for(int nj = 0; nj < CiclosReagente; nj ++)
  {
    digitalWrite(BombaP3,HIGH);
    delay(150);
    digitalWrite(BombaP3,LOW);
    delay(150);
  }
}

```

**void LavaReagente()**

```

{
  lcd.clear();
  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print("Lava Reagente");
  lcd.setCursor(0,1);
  lcd.print("Ch1=Lava:Ch2=Nao");
  sinalChave2 = LOW;
  sinalChave1 = LOW;
  while((sinalChave1 == LOW)&&(sinalChave2 == LOW))
  {
    sinalChave1 = digitalRead(Chave1);
    sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
  }
  if(sinalChave1 == HIGH)
  {
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Bombeia Reagente");
    int xconta = 0;
    for(int cont = 0; cont < CiclosLavaReag;cont ++)
    {
      xconta = xconta +1;
      lcd.setCursor(0,1);
      lcd.print(cont);
      lcd.setCursor(8,1);
      lcd.print(xconta);
      digitalWrite(BombaP3,HIGH);
      delay(100);
      digitalWrite(BombaP3,LOW);
      delay(100);
    }
  }
}

```

```

    }
    if(sinalChave2 == HIGH)
    {
        Calibracao();
    }
}
delay(200);
}

void LeiturEscuro()
{
    sinalChave1 = LOW;
    while(sinalChave1 == LOW)
    {
        lcd.clear();
        lcd.setCursor(0,0);
        lcd.print("Apague o LED");
        delay(200);
        int Sinal = analogRead(Analogico0);
        lcd.setCursor(0,1);
        lcd.print(Sinal);
        delay(500);
        lcd.setCursor(0,1);
        lcd.print("Ch1:finaliza");
        delay(500);
        sinalChave1 = digitalRead(Chave1);
    }
    int tx = 0;
    float soma0 = 0;
    for(int vk = 0; vk <200; vk ++)
    {
        float Sinal0 = analogRead(Analogico0);
        soma0 = float(soma0 + Sinal0);
        tx = tx +1;
        delay(1);
    }
    LeituraEscuro = float(soma0/tx);
    Serial.print(" Leitura no escuro = ");
    Serial.println(LeituraEscuro,2);
}

void LeituraSinal()
{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Leitura Sinal");

```

```

MaximoA = 0;
int jk = 0;
int tempo = millis();
while((millis() - tempo) < TempoLeitura)
{
    int tx = 0;
    float soma0 = 0;
    for(int vk = 0; vk <200; vk ++)
    {
        float Sinal0 = analogRead(Analogico0);
        soma0 = float(soma0 + Sinal0);
        tx = tx +1;
        delay(1);
    }
    media = float(soma0/tx);
    float Refence = (Referencia - LeituraEscuro);
    float MediaR = (media - LeituraEscuro);
    float kj = log(10);//Calcula o log neperiano de 10.
    float Ref = float(Refence/MediaR);
    float Ref1 = float(log(Ref));
    Absorbance = float(Ref1/kj);
    if(jk < 3)
    {
        Absorbance = 0;
    }
    jk = jk + 1;
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print(Absorbance,5);
    float Temp = float(millis()- Tempoinicio);
    float Tempo = float(Temp/1000);
    Serial.print(" ");
    Serial.print(Tempo,2);
    Serial.print(" ");
    Serial.println(Absorbance,5);
    if(MaximoA < Absorbance)
    {
        MaximoA = Absorbance;
    }
}
Serial.print(" Maximo = ");
Serial.println(MaximoA,5);
}

```

```

void LeituraSinalRef()

```

```

{
    int tx = 0;

```

```

float soma0 = 0;
for(int vk = 0; vk <400; vk ++)
{
    float Sinal0 = analogRead(Analogico0);
    soma0 = float(soma0 + Sinal0);
    tx = tx +1;
    delay(1);
}
Referencia = float(soma0/tx);
}

```

### **void Limpeza()**

```

{
    lcd.clear();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("Limpa sistema");
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print("Ch1=Lava:Ch2=Nao");
    sinalChave2 = LOW;
    sinalChave1 = LOW;
    while((sinalChave1 == LOW)&&(sinalChave2 == LOW))
    {
        sinalChave1 = digitalRead(Chave1);
        sinalChave2 = digitalRead(Chave2);
    }
    if(sinalChave1 == HIGH)
    {
        lcd.clear();
        lcd.setCursor(0,0);
        lcd.print("Limpeza");
        int xconta = 0;
        for(int cont = 0; cont< CiclosLimpeza;cont ++)
        {
            xconta = xconta +1;
            lcd.setCursor(0,1);
            lcd.print(cont);
            lcd.setCursor(8,1);
            lcd.print(xconta);
            digitalWrite(BombaP4,HIGH);
            delay(100);
            digitalWrite(BombaP4,LOW);
            delay(100);
        }
    }
}

```

**void SecaCamara2()**

```

{
  lcd.clear();
  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print("Seca a Camara2");
  digitalWrite(BombaP2,HIGH);
  int tempo = millis();
  while(millis() - tempo < TempoSecaCa2)
  {
    int tx = (millis()-tempo);
    int tv = (tx/1000);
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print(tv);
  }
  digitalWrite(BombaP2,LOW);
}

```

**void SinalEscuro()**

```

{
  for(int nj = 0; nj <4 ; nj++)
  {
    int tx = 0;
    float soma0 = 0;
    for(int vk = 0; vk <100; vk ++)
    {
      float Sinal0 = analogRead(Analogico0);//Fotodetector.
      soma0 = float(soma0 + Sinal0);
      tx = tx +1;
      delay(1);
    }
    media = float(soma0/tx);
    float Temp = float(millis()- Tempoinicio);
    float Tempo = float(Temp/1000);
    Serial.print(" ");
    Serial.print(Tempo,2);
    Serial.print(" ");
    Serial.println(media,5);
  }
}

```

**void TrocaAmostra()**

```

{
  lcd.clear();
  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print("Troque a amostra");
  lcd.setCursor(0,1);

```

```
lcd.print("Ch1=Troca realizada");  
sinalChave1 = LOW;  
while(sinalChave1 == LOW)  
    {  
        sinalChave1 = digitalRead(Chave1);  
    }  
}
```