

Universidade Federal de Uberlândia  
Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

**DESENVOLVIMENTO DE PLATAFORMA PORTÁTIL E DE BAIXO CUSTO PARA  
DETERMINAÇÃO DE SULFETO EM ÁGUAS UTILIZANDO SMARTPHONES E  
IMPRESSÃO 3D**

VANDERLI GARCIA LEAL

Uberlândia – MG  
Dezembro 2020

Universidade Federal de Uberlândia  
Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

**DESENVOLVIMENTO DE PLATAFORMA PORTÁTIL E DE BAIXO CUSTO PARA  
DETERMINAÇÃO DE SULFETO EM ÁGUAS UTILIZANDO SMARTPHONES E  
IMPRESSÃO 3D**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Aluno: Vanderli Garcia Leal  
Orientador: Prof. Dr. João Flávio da Silveira Petrucí  
Área de concentração: Química Analítica

Uberlândia – MG  
Dezembro 2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

L435d      Leal, Vanderli Garcia, 1982-  
2020      Desenvolvimento de plataforma portátil e de baixo custo para  
determinação de sulfeto em águas utilizando smartphones e impressão  
3D [recurso eletrônico] / Vanderli Garcia Leal. - 2020.

Orientador: João Flávio da Silveira Petrucci.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Química.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.6007>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Petrucci, João Flávio da Silveira, 1984-, (Orient.). II.  
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em  
Química. III. Título.

---

CDU: 54



## ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

|                                    |  |                 |       |                       |       |
|------------------------------------|--|-----------------|-------|-----------------------|-------|
| Programa de Pós-Graduação em:      | Química  |                 |       |                       |       |
| Defesa de:                         | Dissertação de Mestrado Acadêmico, 319, PPGQUI   |                 |       |                       |       |
| Data:                              | Quatorze de dezembro de dois mil e vinte   | Hora de início: | 09:00 | Hora de encerramento: | 11:45 |
| Matrícula do Discente:             | 11912QMI011  |                 |       |                       |       |
| Nome do Discente:                  | Vanderli Garcia Leal   |                 |       |                       |       |
| Título do Trabalho:                | Desenvolvimento de plataforma portátil e de baixo custo para determinação de sulfeto em águas utilizando smartphones e impressão 3D    |                 |       |                       |       |
| Área de concentração:              | Química  |                 |       |                       |       |
| Linha de pesquisa:                 | Instrumentação analítica e preparo de amostra  |                 |       |                       |       |
| Projeto de Pesquisa de vinculação: | Construção de plataformas ópticas portáteis, versáteis e de baixo custo para sensoriamento de gases e vapores em diferentes atmosferas |                 |       |                       |       |

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma ConferênciaWeb (WebConf), link <https://conferenciaweb.rnp.br/webconf/joao-flavio-da-silveira-petruci>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Rodrigo Sequinel, da Universidade Federal do Paraná; Vanessa Nunes Alves, da Universidade Federal de Catalão e João Flávio da Silveira Petruc, orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. João Flávio da Silveira Petruc, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **João Flávio da Silveira Petrucí, Professor(a) do Magistério Superior**, em 15/12/2020, às 13:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Sequinel, Usuário Externo**, em 15/12/2020, às 15:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Nunes Alves, Usuário Externo**, em 15/12/2020, às 21:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2458984** e o código CRC **6C42FB33**.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me proporcionar saúde para ir em busca dos meus ideais na formação profissional.

Aos meus pais, esposa e irmãos que sempre me apoiaram nessa caminhada com muito incentivo.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. João Flávio da Silveira Petrucy pela paciência, prontidão e dedicação na realização deste trabalho, sabendo que sua colaboração nesse trabalho não tenho palavras para descrever o quanto importante foram as contribuições diretamente na minha formação profissional e pessoal.

Agradeço a UFU nas pessoas de todos os professores do IQ-UFU que colaboraram na minha formação e no incentivo para crescimento profissional.

Agradeço a todos os membros do GRISA por me proporcionar uma segunda casa.

Agradeço a banca examinadora por fazer parte e contribuir para melhoria deste trabalho.

## RESUMO

A presença do ânion sulfeto ( $S^{2-}$ ) em diversos tipos de águas é indesejável devido a sua alta toxicidade e poder corrosivo. Além disso, seu odor desagradável característico – devido a formação de  $H_2S$  – pode ser percebido pelo olfato a partir da concentração de  $0,05\text{ mg L}^{-1}$  e, acima de  $100\text{ mg L}^{-1}$ , não é mais perceptivo devido a fadiga do sistema olfatório. Diversos métodos analíticos têm sido desenvolvidos para quantificação de sulfeto em amostras na fase líquida ( $S^{2-}$ ), porém devido a sua alta reatividade é preferível que métodos portáteis e de baixo custo sejam utilizados para permitir a quantificação *in situ*, diminuindo erros analíticos relativos a etapas de amostragem e transporte ao laboratório. Dessa forma, foi desenvolvido nesse trabalho uma plataforma modular construída com impressão 3D para determinação *in situ* de sulfeto em águas utilizando o fenômeno da fluorescência e tratamento de imagens digitais. O método analítico se baseia na geração de  $H_2S$  gasoso por meio da adição de  $H_3PO_4$  na solução contendo sulfeto seguido pela difusão do gás por uma membrana porosa e coleta pelo reagente Acetato de fluoresceína de Mercúrio (AFM). A reação entre AFM e sulfeto provoca supressão da fluorescência com emissão máxima em 535 nm (cor verde) quando excitada em 470 nm (região de cor azul). Um LED com emissão máxima em 470 nm foi utilizado como fonte de radiação e um smartphone foi posicionado adequadamente para aquisição de imagens digitais do reagente fluorescente. As condições otimizadas resultaram em uma relação linear para sulfeto na faixa de  $0,5$  a  $5,0\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  com tempo de análise de 20 minutos e  $25^\circ\text{C}$  (temperatura ambiente) e 10 mL de amostra. Recuperações entre 98,0 e 107,4% foram obtidas. Embora a AFM já tenha sido usada para determinação de sulfeto a combinação da abordagem de geração de vapor com uma quantidade reduzida de reagente e com o procedimento de tratamento de imagem digital foi demonstrada pela primeira vez.

Palavras chave: Sulfeto, Fluorescência, Imagens digitais, Análises de água, extração de vapor.

## ABSTRACT

The presence of the sulfide anion ( $S^{2-}$ ) in several types of water is undesirable due to its high toxicity and corrosive properties. Besides, its characteristic unpleasant odor - due to the formation of  $H_2S$  - can be perceived in a concentration of  $0.05\text{ mg L}^{-1}$  and when reaching the concentration of  $100\text{ mg L}^{-1}$  is no longer perceptible due to fatigue of the olfactory system sensitive. Several analytical methods have been developed to quantify sulfide in solutions ( $S^{2-}$ ), however due to its high reactivity it is preferable that portable and low-cost methods are used to enable quantification *in situ*, reducing analytical errors related to sampling steps and transport to the laboratory. Here, a modular platform built with 3D printing was developed for *in situ* determination of sulfide in waters using the phenomenon of fluorescence and treatment of digital images. The analytical method is based on the generation of gaseous  $H_2S$  through the addition of  $H_3PO_4$  in the solution containing sulfide followed by the diffusion of the gas through a porous membrane and collected by the reagent Mercury fluorescein acetate (FMA). The reaction between FMA and sulfide causes suppression of fluorescence with maximum emission at 535 nm (green color) when excited at 470 nm (blue region). LED with maximum emission at 470 nm was used as a radiation source and a smartphone was properly positioned to acquire digital images of the fluorescent reagent. The optimized conditions resulted in a linear relationship for sulfide in the range of  $0.5$  to  $5.0\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  with an analysis time of 20 minutes and  $25^\circ\text{C}$  (room temperature) and 10 mL of sample. Recoveries between 98.0 and 107.4% were obtained. Although AFM has already been used for sulfide determination, the combination of the vapor generation approach with a reduced amount of reagent and digital imaging has been demonstrated for the first time.

Keywords: Sulfide, Fluorescence, Digital images, Water analysis, steam extraction.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Ciclo do enxofre representado esquematicamente -----   | 13 |
| <b>Figura 2.</b> Curva de equilíbrio das espécies de sulfeto em gás e em solução --   | 17 |
| <b>Figura 3.</b> Esquema do primeiro fotômetro de absorção com uso de LED -----   | 27 |
| <b>Figura 4.</b> Espectro eletromagnético -----   | 32 |
| <b>Figura 5.</b> Representação dos modelos de cor RGB e CMYK -----  | 33 |
| <b>Figura 6.</b> Cubo de cores RGB, CMY e representação da escala de cinza -----  | 33 |
| <b>Figura 7.</b> Circuito elétrico para fornecer 20 mA ao LED -----   | 38 |
| <b>Figura 8.</b> Desenho 3D da plataforma de determinação de sulfeto (a)<br>componentes e (b) montados e prontos para uso -----   | 39 |
| <b>Figura 9.</b> Sinal analítico obtido pelo smartphone -----   | 40 |
| <b>Figura 10.</b> Comportamento dos parâmetros RGB em função da<br>concentração de AFM (a) efeito do uso de um filtro de passagem longa (LP)<br>na linearidade do canal verde (b) -----   | 41 |
| <b>Figura 11.</b> (a) Efeito da corrente conduzida do LED na intensidade do canal<br>verde da imagem digital AFM; (b) Efeito da variação da corrente conduzida<br>do LED na intensidade do canal verde da imagem digital AFM Concentração<br>de AFM usada nesse experimento: $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ -----                                     | 45 |
| <b>Figura 12.</b> Avaliação do tempo de geração e reação de $\text{H}_2\text{S}$ com AFM.<br>Condições experimentais: 10 mL de 0,5 e $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de sulfeto<br>e $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AFM. As imagens digitais foram obtidas com smartphone<br>J5 e extraídos o RGB de uma área de $183 \times 8$ pixels ----- | 48 |
| <b>Figura 13.</b> Avaliar variação do tempo de geração e reação de $\text{H}_2\text{S}$ com<br>AFM. Condições experimentais: 10 mL de 0,5 e $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de<br>sulfeto e $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AFM. -----  | 49 |
| <b>Figura 14.</b> Curva de calibração de sulfeto -----  | 50 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Efeitos da exposição em vários níveis do sulfeto de hidrogênio na saúde humana -----   | 15 |
| <b>Tabela 2.</b> Classificação das águas doce -----   | 18 |
| <b>Tabela 3.</b> Parâmetros analíticos obtidos pelo método digital usando diferentes smartphones -----  | 43 |
| <b>Tabela 4.</b> Níveis de recuperação para determinação de sulfeto -----   | 51 |
| <b>Tabela 5.</b> Desempenho analítico para o dispositivo de determinação de sulfeto descrito -----  | 51 |
| <b>Tabela 6.</b> Resultados da determinação de sulfeto de águas naturais e da torneira pelo método proposto e usando o espectrômetro de fluorescência --- | 52 |
| <b>Tabela 7.</b> Métodos para determinação de sulfeto com base na geração de vapor ou na reação FMA -----   | 54 |

## Sumário

|  |    |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO .....   | 11 |
| 1.1 Enxofre .....  | 11 |
| 1.2 A presença do ânion sulfeto em águas .....   | 15 |
| 1.3 Métodos analíticos .....   | 19 |
| 1.4 Sensores .....   | 20 |
| 1.3.1 Sensores ópticos diretos .....   | 22 |
| 1.3.2 Sensores ópticos indiretos .....   | 22 |
| 1.5 Espectroscopia de fluorescência molecular .....  | 24 |
| 1.6 Uso de LEDs em química analítica (medidas de absorbância e fluorescência)<br>.....                       | 26 |
| 1.7 Uso de imagens digitais em química analítica. ....   | 30 |
| 1.7.1 Imagem digital .....   | 30 |
| 1.7.2 Sistema RGB .....  | 31 |
| 1.8 Impressão 3D em análise química .....  | 34 |
| 2 OBJETIVO.....  | 36 |
| 2.1 Objetivo geral.....  | 36 |
| 2.2 Objetivos específicos .....  | 36 |
| 3 MATERIAIS E MÉTODOS.....   | 37 |
| 3.1 Reagentes e soluções .....   | 37 |
| 3.2 Materiais e construção da plataforma analítica.....  | 37 |
| 3.3 Protocolo otimizado de medição de sulfeto em águas ambientais .....                                      | 39 |
| 4 RESULTADOS OBTIDOS .....   | 40 |
| 4.1 Relação entre concentração do reagente Acetato de Fluoresceína de Mercúrio<br>e intensidade de cor ..... | 40 |
| 4.2 Avaliação da resposta analítica em função de diferentes smartphones .....                                | 42 |
| 4.3 Otimização de sinal analítico .....  | 44 |
| 4.4 Geração de vapor de H <sub>2</sub> S como estratégia para determinação de sulfeto .....                  | 46 |
| 4.5 Avaliação do desempenho analítico do método para determinação de sulfeto<br>.....                        | 49 |
| 4.6 Aplicação em amostras de águas ambientais.....   | 52 |
| 4.7 Comparação com outros métodos analíticos para determinação de sulfeto....                                | 53 |
| 5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....  | 55 |
| 6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA .....  | 56 |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Enxofre

O enxofre é um dos elementos químicos mais abundantes na natureza. Grande parte dos reservatórios de enxofre está em rochas sulfurosas, depósitos de elementos sulfurosos e combustíveis fósseis, e é um dos mais importante e essencial para todo reino biológico por incorporar em aminoácidos, proteínas, vitaminas, enzimas e diversas outras biomoléculas. Alguns minérios de sulfeto podem ser de origem biogênica. O enxofre pode estar presente na biosfera na forma reduzida, como por exemplo sulfeto de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ ) e mercaptanas orgânicas ( $\text{R-SH}$ ). Ocorre também no estado nativo (ortorrômbica ou monoclinica) ou elementar e combinado com ferro e metais básicos. O enxofre no petróleo encontra-se em uma variedade de compostos orgânicos complexos e no gás natural na forma de sulfeto de hidrogênio. Diferentemente dos seres humanos e dos animais monogástricos, as plantas podem usar enxofre inorgânico e sintetizar aminoácidos contendo enxofre, como metionina ( $\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ) e cisteína ( $\text{HSCH}_2\text{CHNH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ) (KOMARNISKY, 2003).

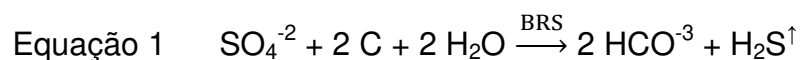
De maneira geral, os compostos de enxofre são encontrados nas formas oxidada e reduzida, variando os estados de oxidação de -2 (completamente reduzido) a +6 (completamente oxidado), podendo ser transformados na natureza tanto quimicamente quanto biologicamente. Por possuir uma massa molar baixa, a maioria dos compostos de enxofre são gases ou potencialmente volatizáveis. Os principais compostos voláteis sob forma reduzida são: sulfeto de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ ), sulfeto de carbonila ( $\text{COS}$ ), dissulfeto de carbono ( $\text{CS}_2$ ), sulfeto de metila ( $\text{CH}_3\text{SH}$ ), sulfeto de dimetila ( $\text{CH}_3\text{SCH}_3$ , DMS), e dissulfeto de dimetila ( $\text{CH}_3\text{SSCH}_3$ , DMDS), também chamados de compostos reduzidos de enxofre (CRE) (KOMARNISKY, 2003). A maior parte dos CRE é fixada no processo de assimilação intracelular por organismos vivos e apenas uma pequena fração é liberada como compostos voláteis de enxofre para o ambiente. Contudo, após a morte destes seres, com a ação da degradação microbiana os CRE são emitidos para a atmosfera, principalmente sob a forma de  $\text{H}_2\text{S}$  (ANDREAE, 1992). A investigação das concentrações destes compostos contendo sulfetos são difíceis, pois, em temperatura ambiente são voláteis e alguns são solúveis (WARDENCKI, 1998).

Segundo Martins (2002) o enxofre na forma oxidada encontrado na atmosfera tem como principal forma o  $\text{SO}_2$ . Na maioria dos ambientes com baixa atividade antrópica a concentração de  $\text{SO}_2$  é relativamente baixa. Porém, o homem interfere no ciclo do enxofre por meio de grandes quantidades de dióxido de enxofre liberadas nos processos de queima de carvão e óleo combustível em indústrias e usinas termelétricas. Fatores naturais que aumentam a concentração de  $\text{SO}_2$  (e também de  $\text{H}_2\text{S}$ ) são por exemplo erupção de vulcões. Devido ao caráter altamente oxidante da atmosfera terrestre, os compostos reduzidos de enxofre são oxidados a  $\text{SO}_2$  que também sofre reação formando ácido sulfúrico, dependendo das condições ambientais. Se esse ácido não for neutralizado por substâncias alcalinas presentes na atmosfera (tais como  $\text{NH}_3$ ), podem provocar chuvas ácidas. (MOREIRA, 1994). A chuva ácida passa muitas vezes despercebida, porém, esse fato torna perigoso. Uma das principais preocupações da chuva ácida são os prejuízos à saúde humana e acidificação do solo (JESUS, 1996). No ser humano as partículas de ácido sulfúrico solúveis na água da chuva acumulam nos brônquios, diminuindo as defesas do corpo humano contra infecções, ao atingir os pulmões, podem aumentar os riscos de enfisemas (FROTA, 2019). Além disso, o dano da chuva a materiais, tais como esculturas e edifícios, é um importante efeito negativo da acidez.

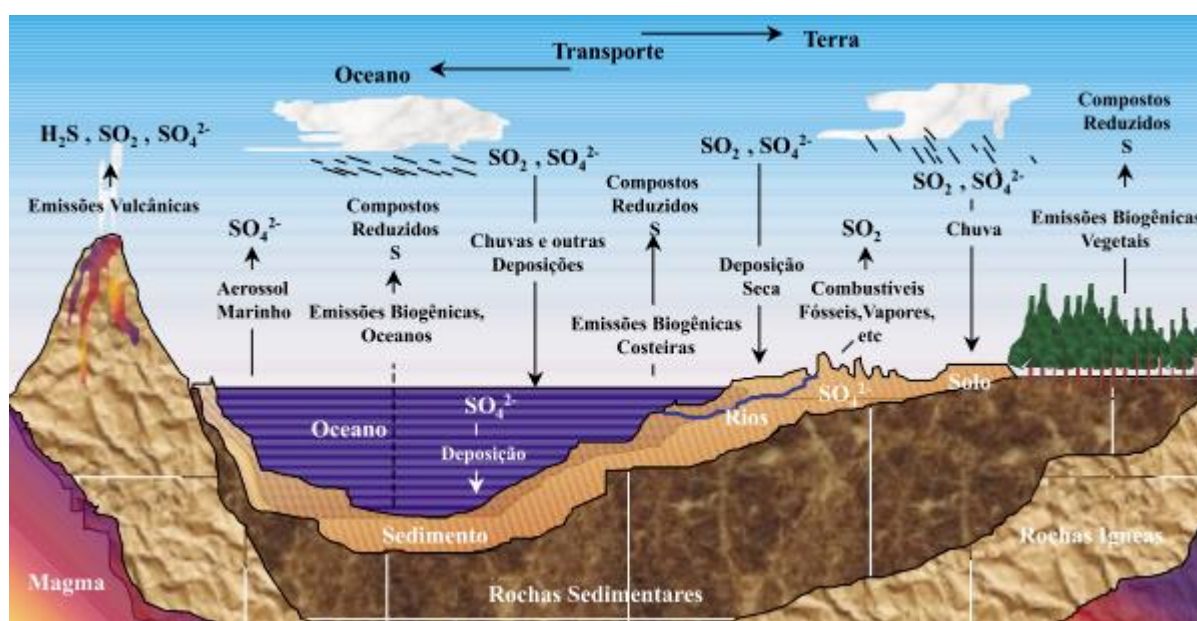
Vale ressaltar que as fontes naturais são responsáveis por aproximadamente 90% da emissão total de  $\text{H}_2\text{S}$  na atmosfera, destacando as atividades vulcânicas e geotérmicas, águas estagnadas, decomposição da matéria orgânica e a vaporização da água do mar (MARTINS, 2002). A figura 1 apresenta o ciclo biogeoquímico do enxofre. O  $\text{H}_2\text{S}$ , geralmente está presente nos depósitos de fontes energéticas, como em aterros sanitário, podendo chegar a 1% do volume dos gases provenientes de aterros. A indústria de cimento, fabricas de papel (Kraft), metalurgia, curtumes, têxtil, queima de combustíveis fósseis e biomassa são consideradas importantes fontes de emissão de gases contendo enxofre (MARTINS, 2002).

Em águas naturais a principal fonte de sulfeto vem do lançamento de esgotos sanitários e de efluentes industriais que contenham sulfato, em condições anaeróbicas, ocorre à redução do sulfato a sulfeto com ação biológica das bactérias redutoras de sulfeto (BRS). Alguns efluentes industriais já possuem diretamente o sulfeto, isto é, as características dos efluentes industriais inerentes do processo industrial. São os casos dos efluentes de curtumes, indústrias de celulose e

refinarias de petróleo, não sendo necessário a redução de sulfato pelas bactérias. Segundo a WEF (1995), no esgoto doméstico as concentrações sulfato pode variar de 30 a 250 mg L<sup>-1</sup>. A formação de sulfeto de hidrogênio a partir de sulfato tem uma relação estequiométrica de 1:3 em termo de massa. A equação 1 representa a redução de sulfato a sulfeto em meio anaeróbio pelas BRS (VON SPERLING, 2005).



**Figura 1:** Ciclo do enxofre representado esquematicamente (MARTINS, 2002)



O sulfeto de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ ) – também conhecido por ácido sulfídrico – é um gás incolor, com odor aproximado ao de ovo podre, com alta toxicidade, mais denso que o ar, tornando o mesmo mais nocivo (MAINIER 2005). Dentre os compostos reduzidos de enxofre, o  $\text{H}_2\text{S}$  é um dos mais importantes e está relacionado com poluição atmosférica, poluição de rios e águas naturais, processos biogênicos e também efeitos nocivos na saúde humana. O  $\text{H}_2\text{S}$  é emitido principalmente por duas fontes: (a) natural, advindo de fontes biológicas ou de reações de decomposição térmica de sulfetos metálicos ou de (b) fontes industriais, tais como as citadas anteriormente. Os mecanismos de produção de  $\text{H}_2\text{S}$  necessitam de fontes de enxofre e uma fonte mediadora, podendo ser as bactérias redutoras de enxofre ou as altas temperaturas que podem estar relacionadas a vulcões (MAINIER, 2005). Ao se tratar das bactérias redutoras de sulfato, alguns parâmetros são fundamentais no

desenvolvimento do processo de geração de  $\text{H}_2\text{S}$ , por exemplo: pH, teor de matéria orgânica, temperatura, salinidade e ausência de oxigênio. Considerando a reação de produção de  $\text{H}_2\text{S}$ , conclui-se que dependendo do meio que ocorre o processo, pode variar de 10 a  $10^5 \text{ mg L}^{-1}$  (MAINIER, 2005).

Devido ao equilíbrio entre  $\text{H}_2\text{S}$ , um ácido fraco ( $K_a = 10^{-22}$ ), e sua forma totalmente desprotonada, a relação entre as concentrações dessas espécies estão relacionadas e podem ser utilizadas como parâmetros de qualidade ou de poluição. Por exemplo, a partir de uma concentração do ânion sulfeto de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ , o odor característico do  $\text{H}_2\text{S}$  pode ser sentido e ao atingir uma concentração maior que  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , o odor pode não ser mais perceptivo devido a fadiga do sistema olfatório causado pela destruição dos nervos responsáveis por essa função. O tempo de exposição e a concentração do sulfeto de hidrogênio podem causar diversas consequências prejudiciais pela exposição (ou seja, pode resultar na morte instantâneo ao inalar quantidades maiores que  $700 - 1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) (OSHA, 2020). Dessa forma, é fundamental que a concentração de sulfeto e sulfeto de hidrogênio seja monitorada para garantir a segurança e o bem-estar de seres humanos que estão diretamente em contato com esses compostos.

Os efeitos da exposição de vários limites de concentração de  $\text{H}_2\text{S}$  na saúde humana (tabela 1), em baixas concentrações pode causar irritação nos olhos, nariz ou garganta, causando dificuldade de respiração; para concentrações acima de  $500 \text{ mg L}^{-1}$  pode-se levar à perda de consciência (TSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry - Hydrogen Sulfide). O sulfeto de hidrogênio tem baixa absorção através da pele, por isso a maior preocupação é a exposição pela inalação do gás (OSHA, 2015).

**Tabela 1.** Efeitos da exposição em varios niveis do sulfeto de hidrogênio na saúde humana (GUIDOTTI, 1996).

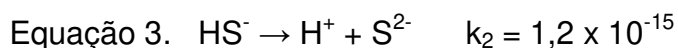
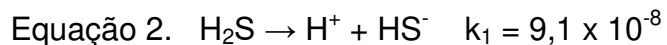
| Concentração H <sub>2</sub> S (mg L <sup>-1</sup> ) | Efeito   |
|---|--|
| 0,05 – 0,3  | Limite de percepção do odor caracteristico.  |
| 1 – 5   | Odor desagradável pode estar associado a náuseas, lacrimejamento, dores de cabeça ou perda de sono com exposição prolongada.                 |
| 20 – 50   | Irritação ocular e pulmonar, com possível dano aos olhos após vários dias de exposição; pode causar problemas digestivos e perda de apetite. |
| 100   | Paralisia olfativa, odor caracteristico nao é perceptivo.  |
| 150 - 200   | Irritação severa dos olhos e pulmões   |
| 250 – 500   | Pode ocorrer edema pulmonar, especialmente se a exposição for prolongada.  |
| 1000  | A respiração pode parar dentro de uma ou duas respirações; colapso imediato.   |

## 1.2 A presença do ânion sulfeto em águas

Como mencionado, o ácido sulfídrico é um ácido fraco que possui dois hidrogênios ionizáveis cujo equilíbrios são governados por suas respectivas constantes ácidas. O ácido sulfídrico possui pKa 6,85 e 14,15, indicando qual espécie é mais presente em determinados pH. A presença do ânion sulfeto é bastante importante devido ao seu alto poder de formar precipitados pouco solúveis com diversos metais. Por exemplo, nos ambientes sem a presença de oxigênio, os sulfetos governam as interações com as espécies metálicas ionizadas na maioria dos casos, principalmente devido à baixa constante de solubilidade (KPS) entre sulfeto e a maioria dos íons metálicos. Desse modo, mesmo em ambientes impactados por despejo de efluentes industriais e domésticos, se a presença de sulfetos for elevada, não se verifica toxicidade relacionada com a presença dos metais, desta forma, os complexos metálicos de sulfeto se mostram essenciais tanto para a estabilização do ânion sulfeto e para o controle da solubilidade de metais-

traço. (SCHEFFER, 2007). No processo de redução dissimilativa de sulfeto, o principal produto é o sulfeto de hidrogênio, composto tóxico para muitos micro-organismos, mesmo as BRS pertencentes ao gênero *Dessulfotomaculum* são sensíveis a alta concentração de  $H_2S$  produzido a partir do sulfato (KLEMP, 1985). A presença do  $H_2S$  produzidas pelas BRS pode funcionar como estratégia em eliminar grupos micro bacterianos, assim as BRS prevalecem no ambiente aquático (DWORKIN *et al.*, 2006)

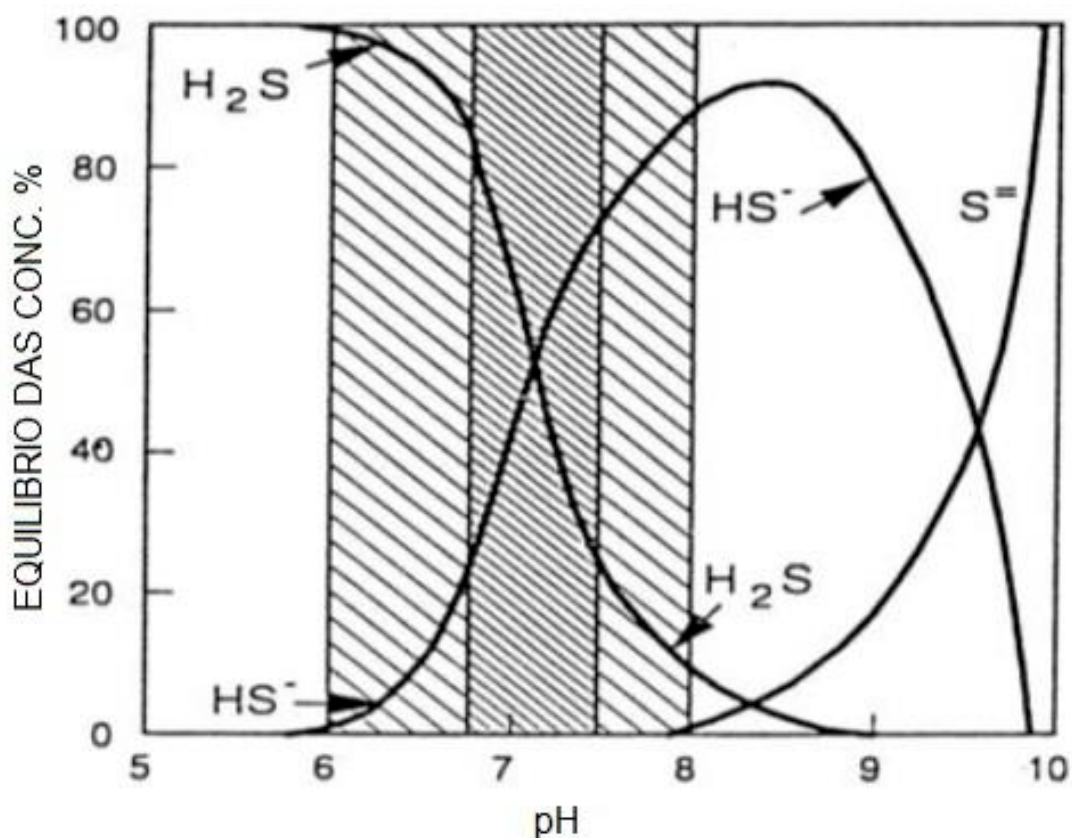
O gás  $H_2S$  é parcialmente solúvel em água formando as espécies químicas  $HS^-$  (sulfeto ácido) e  $S^{2-}$  (sulfeto) conforme mostram as equações 2 e 3. Praticamente, somente os íons  $HS^-$  estão presentes em solução, devido ao baixo valor da segunda constante de dissociação do  $H_2S$  (MARTINS, 2010).



A produção de sulfeto em solução é associada coletivamente às formas  $S^{2-}$ ,  $HS^-$  e  $H_2S$  (em gás e em solução) (figura 2) e em alguns casos, associados a sulfetos metálicos insolúveis de acordo com o equilíbrio químico do sistema (RINTALA 1994). Segundo Zimer (2009), o pH tem influência direta nas espécies de sulfeto em solução. Em pH com valores menores que 4, a forma majoritária é  $H_2S$ , não havendo dissociação do sulfeto. Entre pH 7 e 9 há uma mistura do sulfeto de hidrogênio com seu primeiro produto de dissociação, o íon  $HS^-$ , ao atingir pH entre 9 e 10, segunda dissociação do sulfeto de hidrogênio (figura 2). Acima deste valor, em pH mais alcalino, é encontrado somente o último produto de dissociação do sulfeto de hidrogênio ( $S^{2-}$ ).

Em pH próximo a 7,0 as concentrações do íon  $HS^-$  e o  $H_2S_{(Aq)}$  se iguala, mas essa igualdade é válida em uma faixa de concentração de sulfeto total de 3,2 a 32  $mg\ L^{-1}$ . Em pH menores que 6,0 mais de 90% do sulfeto está presente na forma de  $H_2S_{(Aq)}$ , mostrando que a quantidade de sulfeto de hidrogênio é inversamente proporcional ao pH. Ao passo que em pH maiores que 8 mais de 90% do sulfeto presente está na forma de  $HS^-$  que não é volátil (GLÓRIA, 2009).

Figura 2. Curva de equilíbrio das espécies de sulfeto em gás e em solução (RINTALA 1994).



Devido a alta toxicidade e odor desagradável de soluções contendo sulfeto em níveis traço, sua presença em águas ambientais tem sido monitorada em função da classificação dos tipos águas e efluentes. Segundo a resolução CONAMA 357, as águas doces são classificadas em: classe especial - classes 1 a 4. Dentro dessa classificação, as classes 1 e 3 limitam a presença de sulfeto em  $0,002$  e  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Em relação a lançamentos de efluentes de qualquer fonte poluidora, somente poderão ser lançados – direta ou indiretamente – os que obedeçam às condições, padrões e exigências dispostos nesta Resolução e em outras normas aplicáveis. A concentração de sulfeto em efluentes é limitada em  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  (CONAMA, 2005). A tabela 2 apresenta uma descrição das classificações dos corpos de água doce regulamentada pela resolução CONAMA 357.

**Tabela 2:** classificação das águas doce (CONAMA, 2005).

| <b>Classe</b>                             | <b>Tipo de Uso</b>   |
|---|--|
| Classe especial: águas destinadas:        | a) ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção;<br>b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e,<br>c) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.   |
| Classe 1: águas que podem ser destinadas: | a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado;<br>b) à proteção das comunidades aquáticas;<br>c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;<br>d) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película; e<br>e) à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas. |
| Classe 2: águas que podem ser destinadas: | a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional;<br>b) à proteção das comunidades aquáticas;<br>c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;<br>d) à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e<br>e) à aquicultura e à atividade de pesca.                    |
| Classe 3: águas que podem ser destinadas: | a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado;<br>b) à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;<br>c) à pesca amadora;<br>d) à recreação de contato secundário; e<br>e) à dessedentação de animais.   |

---

Classe 4: águas  
que podem ser  
destinadas:

---

a) à navegação; e  
b) à harmonia paisagística.

---

Devido ao controle da concentração de sulfeto em diferentes tipos de águas e efluentes, é fundamental que métodos analíticos confiáveis sejam desenvolvidos para que o monitoramento da qualidade da água seja efetuado para que a legislação seja devidamente cumprida.

### **1.3 Métodos analíticos**

Diversos métodos analíticos têm sido desenvolvidos para determinação de compostos reduzidos de enxofre, principalmente o ânion sulfeto em solução e  $\text{H}_2\text{S}$  em fase gasosa, utilizando técnicas instrumentais individualmente ou acopladas com técnicas de separação. A exigência por métodos com alta exatidão, confiáveis e sensíveis para o monitoramento de componentes traços inclui a preocupação com aspectos relacionados a qualidade ambiental, para identificação e solução de problemas (CRUZ, 2008. LAWRENCE, 2000. WANG *et al*, 2013).

Na determinação de sulfeto em solução, algumas técnicas são consideradas padrão que serve de comparação: (a) iodometria é considerada uma técnica clássica e se baseia na adição de uma quantidade conhecida e em excesso de uma solução padrão de iodo na amostra. O sulfeto reduz o iodo em meio ácido e o excesso do iodo que não reagiu é titulado utilizando uma solução padronizada de tiosulfato de sódio e amido como indicador. Apesar de ser um método simples, existem algumas limitações em termos de sensibilidade e seletividade quando aplicado em amostras reais. A principal deficiência dessa técnica é a interferência de outras espécies oxidativas que reagirão com o iodo adicionado, além da pequena possibilidade de portabilidade e análises *in situ*. (b) instrumentais: O método mais comum na determinação de sulfeto aquoso é o que utiliza a técnica de espectrofotometria de absorção molecular na região do UV/Vis. Este método é baseado na formação do corante azul de metileno e é o recomendado pela Agência Internacional de Métodos Analíticos (AOAC), devido a sua simplicidade, seletividade e sensibilidade. A formação do corante baseia-se no acoplamento oxidativo de duas moléculas do reagente N,N-dimetilfenileno-1,4-diamina com sulfeto, na presença de íon férrico,

produzindo o corante azul de metileno ( $C_{16}H_{18}ClN_3S$ ), cuja absorção máxima ocorre a 670 nm (REES, 1971; SILVA *et al.*, 2011). Outro método espectrofotométrico utilizado é baseado na formação de um produto vermelho-violeta (nitroprussiato), obtido da reação  $(2[Fe(CN)_5(NO)]^{2-} + S^{2-} \rightarrow 2[Fe(CN)_2(NOS)]^{4-})$  do sulfeto com nitrosilpentacianoferrato (II). Essa reação eleva a sensibilidade de detecção (LEE, 1999; KUBAN, 1992). Neste método é importantíssimo a necessidade de um controle rígido do pH do meio variando de 10 a 12,5, visto que a velocidade da reação de formação do complexo colorido e a sensibilidade do método diminuem bastante em valores de pH menores que 10; em valores de pH maiores que 12,5 o reagente se decompõe, diminuindo a quantidade do produto obtido (KUBAN, 1992). Apesar desses métodos serem bastante utilizados e recomendados, possuem desvantagens tais como tempo de reação maior que 30 minutos, uso de grandes quantidades de amostra/reagente para obtenção de sensibilidade adequada e geração de resíduos tóxicos.

A detecção eletroquímica é uma outra técnica instrumental usada na determinação de sulfeto, sendo a potenciometria a mais explorada. Esses sistemas tendem a envolver sulfeto de prata como o principal elemento de detecção. As interferências com os componentes do eletrodo de referência causados pelo sulfeto têm limitado o uso de eletrodos seletivos a sulfeto (APHA, 2017; LAWRENCE, 2000). Técnicas de separação também são utilizadas, tais como a cromatografia em fase gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Estas técnicas foram aplicadas na detecção de sulfeto em várias matrizes, incluindo farmacêuticas, efluentes, solo, água de processamento de papel, fluídos corporais e sangue humano (CRUZ, 2008; LAWRENCE, 2000).

#### **1.4 Sensores**

Os sensores são ferramentas promissoras para suplementar as técnicas existentes e são projetados para operar em condições bem definidas para analitos específicos e em determinados tipos de amostra, portanto, são vantajosos por suas características singulares, tais como: seletividade; baixo custo; potencial para miniaturização, facilidade de automação e construção de equipamentos simples e portáteis para um monitoramento rápido feito *in loco*, sob condições operacionais cuidadosamente controladas (HULANICKI 1991).

A quantificação de analitos químicos no local é uma questão de crescente interesse em virtude da necessidade da determinação da concentração ou da variação da concentração dos analitos em tempo real. Além disso, a preocupação crescente com a qualidade ambiental mundial e a consciência dos custos, ha uma economia considerável de pessoal em comparação com métodos off-line manuais e isso contribui para a conveniência dos sensores. Portanto, um tremendo esforço tem sido dedicado ao desenvolvimento de vários dispositivos sensores que, parcialmente em combinação com sistemas robóticos de laboratório, permitirá que as análises sejam realizadas de forma totalmente automática ou on-line.

Segundo Hulanicki (1991) os sensores químicos podem ser classificados de acordo com o princípio de operação do transdutor.

Dispositivos ópticos transformam mudanças de fenômenos ópticos, que são o resultado de uma interação do analito com a parte do receptor. Este grupo pode ser subdividido ainda mais de acordo com o tipo de propriedades ópticas que foram aplicadas em sensores químicos:

- a) absorvância, medida em meio transparente, causada pela capacidade de absorção do próprio analito ou por uma reação com algum indicador adequado.
- b) a reflectância é medida em meios não transparentes, geralmente usando um indicador imobilizado.
- c) luminescência, com base na medição da intensidade da luz emitida no sistema receptor.

Os sensores ópticos podem ser classificados em direto e indireto em relação a detecção de analitos alvo: os diretos - que utilizam uma propriedade óptica intrínseca do analito (absorvância ou fluorescência) e os indiretos - baseiam em reações químicas do analito com compostos que possuem propriedades ópticas (PETRUCCI, 2014). O transdutor pode reagir ao parâmetro a ser medido diretamente, as propriedades ópticas do analito (como sua cor ou fluorescência) são medidas. As medições indiretas da pela alteração das propriedades via um produto de reação ou uma reação intermediária de Indicadores adequados de luminescência e absorção suprimindo o sinal analítico. Nessas condições as substâncias a serem analisadas podem ser concentradas por difusão e solubilidade seletiva, o que aumentará ainda mais a precisão na quantificação (YANG et al 2018; WANG, 2012).

### **1.3.1 Sensores ópticos diretos**

Os métodos analíticos por absorção utilizando sensores ópticos diretos são baseados nas propriedades intrínsecas dos analitos e o sinal analítico é o resultado da interação da radiação eletromagnética com as moléculas provocando alteração nos níveis eletrônicos, rotacionais, vibracionais das ligações entre átomos que compõe determinada molécula. Este tipo de sensor possibilita o sensoriamento remoto desde que a propriedade óptica intrínseca do analito na amostra possa ser distinguida, fornecendo informação analítica diretamente, por meio de absorção ou emissão de radiação (WANG, 2012).

Uma grande desvantagem dos sensores ópticos diretos na análise de sulfeto está relacionando com o perfil de absorção, por exemplo, por possuir baixa absorção na região do infravermelho médio, infravermelho próximo e ultravioleta, dificultando a utilização do método de absorção por sensor óptico direto para quantificar sulfeto em nível traços visto que no infravermelho a baixa sensibilidade é fator limitante, enquanto no ultravioleta o número de compostos interferentes são abundantes (PETRUCI, 2014). A aplicação de sensores ópticos direto no infravermelho, a absorção é pequena comparado com a absorção para comprimentos de onda maiores. Sendo assim, a utilização dessas técnicas de absorção no infravermelho na detecção direta de compostos gasosos é pouco viável na perspectiva de sensibilidade e seletividade adequadas para aplicação em amostras complexas (CHEN et al., 2008).

### **1.3.2 Sensores ópticos indiretos**

Nos sensores ópticos indiretos, ocorre a reação entre o analito e um determinado reagente, também chamado de cromóforo ou fluoróforo, resultando em um produto com propriedades ópticas diferente do estado inicial. Dessa forma, o sinal analítico medido dessa interação pode ser utilizado na quantificação de analitos que não possuem nenhuma propriedade óptica mensurável. A espectrometria de fluorescência é uma técnica analítica poderosa devido a sua alta sensibilidade e, se utilizado um reagente específico, conferirá ao método também uma alta seletividade. Dentre os métodos baseados na técnica de fluorescência, destaca-se aqueles que produzem espécies fluorescentes (aumentando assim a intensidade de fluorescência) ou onde a interação resulta na diminuição dessa fluorescência. Os

processos que diminuem a intensidade de fluorescência são divididos em dois tipos: estáticos e a dinâmicos (colisional) e ambos requerem contato molecular entre o fluoróforo e o supressor. No estático, o supressor e o fluoróforo, no estado fundamental, formam um complexo não fluorescente. Já na supressão dinâmica ocorrem colisões entre a espécie excitada e o supressor (LAKOWICZ, 2006).

Nos sensores indiretos fluorimétricos, analitos promovem *quenching* ou supressão da fluorescência, definido como qualquer processo que há uma redução na intensidade da fluorescência emitida por uma determinada substância química. Esse processo pode ser definindo como uma transferência de energia da molécula excitada, por processos não radiativos, para outras espécies químicas, denominados como agentes desativadores, fazendo com que uma parte de moléculas fluorescentes, proporcional à população desses agentes desativadores, retornando ao estado fundamental não emitindo fluorescência. No processo de supressão há colisão das moléculas fluorescente com os agentes desativadores. Consequentemente, a desativação é uma função da concentração dos agentes desativadores e a capacidade de difusão no meio (LAKOWICZ, 2006; VALEUR, 2012).

A aplicação de sensores fluorescentes indiretos para detecção de  $\text{H}_2\text{S}$  foi proposta por Yu (2014) onde foi observada a diminuição da intensidade de fluorescência após a adição de  $\text{S}^{2-}$  em solução de rodamina na presença de  $\text{Cu}^{2+}$ .

Em trabalho realizado por Prado (2017), foi desenvolvido um sensor para detecção de  $\text{H}_2\text{S}$ , utilizando como indicador nanopartículas de ouro. A interação química entre enxofre e ouro tende a ser direta associada à grande força de ligação entre esses dois elementos químicos. O fato que provocou a deposição de uma pequena quantidade de nanoestruturas na ponta da fibra e em contato com sulfeto de hidrogênio, entretanto, com essa quantidade foi possível verificar o efeito da redução da fluorescência, devido à redução na disponibilidade de elétrons livres relacionados ao processo de ressonância de Plasmon nas nanopartículas de ouro.

A utilização de sensor com arranjo de gotas de solução de fluoresceína de mercúrio (AFM) para a coleta e análise de gases de sulfetos traços do ar se mostrou satisfatória na aplicação analítica. Após a passagem da amostra gasosa contendo sulfeto de hidrogênio sobre a gota, ocorre à diminuição da fluorescência, resultado da reação entre a fluoresceína de mercúrio II e o sulfeto de hidrogênio. Nesse

arranjo detecta concentrações sulfeto de hidrogênio entre 20 e 150  $\mu\text{g.m}^{-3}$  no ar com amostragens de 2 minutos. Com a utilização da gota suspensa, o intervalo entre amostragem e análise é relativamente curto, e não ocorre oxidação do sulfeto em grandeza significativa para interferir nos resultados (CARDOSO, 1998).

A detecção de sulfeto de hidrogenio em sensores ópticos indiretos utilizando solução de acetato de tetraoctilamônio fluoresceína mercúrio (II) (TOAFMA), nessa pesquisa foi mostrado que a intensidade de fluorescência diminuiu irreversivelmente ao adicionar  $\text{H}_2\text{S}$ , isso pode ser explicado pela liberação de íons hidrosulfeto ( $\text{HS}^-$ ) produzidos pelo  $\text{H}_2\text{S}$ , por ser reação favorecida com os íons  $\text{Hg}^{2+}$  presente na molecula de TOAFMA, deslocando os íons acetato ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ), acontecendo a supressão da emissão de fluorescência. A irreversibilidade da reação da florescência acontece porque os íons  $\text{HS}^-$  ligam fortemente com os íons  $\text{Hg}^{2+}$  (CHOI, 2003).

Complexos com propriedades luminescentes utilizando paládio e prata também foram aplicados na determinação de sulfeto e  $\text{H}_2\text{S}$  gasoso. Nesses casos, a interação entre o enxofre com o átomo metálico provocou a liberação do ligante luminescente para o meio aumentando assim a intensidade da fluorescência medida (PETRUCI, 2013; PETRUCI, 2015; SEGURA *et al.*, 2016). Baseado em reações fluorimétricas, em trabalho realizado por Petrucci (2016), foi desenvolvido um sensor portátil utilizando um espectrômetro USB na detecção de fluorescência on-line para quantificação *in situ* de sulfeto de hidrogênio gasoso. Usando um LED de cor azul com um comprimento de 470 nm como fonte de excitação. O sulfeto de hidrogênio é determinado baseado na extinção de fluorescência do Acetato de fluoresceína de mercúrio (AFM) da reação com o gás sulfeto. Uma grande vantagem deste tipo de detector é um curto tempo de resposta (60 s), que permite seu uso em aplicativos de análise rápida e permite uma sensibilidade na ordem 3 ppb de  $\text{H}_2\text{S}$ .

### **1.5 Espectroscopia de fluorescência molecular**

Na área de química analítica a espectroscopia de luminescência tornou uma ferramenta extremamente sensível e amplamente aplicada nas análises química que requerem baixos limites de quantificação, detectando nível de traços e com seletividade dos analitos (FENG *et al.*, 2005).

A fluorescência molecular baseia-se em uma substância como a capacidade de emitir luz quando esta é exposta à radiação eletromagnética (na região do UV-Vis), as moléculas absorvem energia em forma de fótons passando do estado fundamental ao estado mais energético, quando estas retornam ao seu estado fundamental emite energia na forma de fluorescência. A energia absorvida neste processo é maior que o valor da energia liberada, isso acontece devido às perdas no processo de decaimento dos elétrons ao estado fundamental, depois de receber a radiação eletromagnética na amostra (VALEUR, 2012).

O espectro de emissão de fluorescência é definido com um comprimento de onda específico para excitar a molécula em que deseja analisar dos componentes da amostra. A radiação incidente é estabelecida como aquela na qual a amostra absorve com maior intensidade, registrando os comprimentos de onda e as intensidades das emissões provenientes da relaxação das moléculas excitadas dos analitos de interesse na amostra (SCHEFFER, 2006).

A espectroscopia de fluorescência molecular além de ser uma técnica com alta sensibilidade e eficiência para análise nos mais diversos tipos de amostras, pode ser sólido, solução ou em gás, portanto, algumas variáveis afetam as análises de fluorescência devem ser consideradas, tais como: o tipo de transição eletrônica, a estrutura da molécula a ser analisada, a temperatura, o solvente, o pH são algumas das várias variáveis que interfere (MOURA, 2013). Vale ressaltar que análise por fluorescência dificilmente pode ser resultado da absorção de fótons na região do ultravioleta com comprimentos de onda menores que 250 nm, nesse comprimento de onda a radiação é muito energética, podendo causar desativação dos estados excitados pela pré-dissociação ou dissociação das moléculas fluorescente. Um comprimento de onda em 200 nm corresponde cerca de 585,76 kJ/mol. Grande parte das moléculas orgânicas tem pelo menos algumas ligações que podem ser rompidas perdendo assim a fluorescência (HOLLER, 2009).

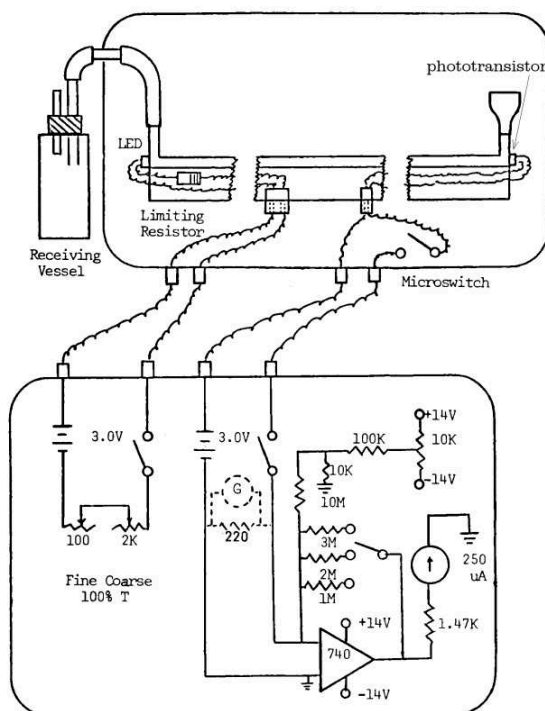
Os métodos fluorimétricos com equipamento comercial possuem sensibilidade de uma a três ordens de grandeza maiores comparada a outros métodos de espectroscopia. Uma característica importante na fluorescência é o rendimento quântico, sendo razão entre a quantidade de fótons emitidos sobre a quantidade fótons absorvidos (GAROUX *et al.*, 2017). Uma das desvantagens deste método é a baixa seletividade quando mercaptanas estão presentes diminui a fluorescência

(LAWRENCE, 2000). Esses problemas de supressão da fluorescência em análise de  $\text{H}_2\text{S}$ , causados por outros compostos de enxofre principalmente os gases, não são significativos nas faixas de concentração em que esses são encontrados na atmosfera (JAESCHKE, 1995).

### **1.6 Uso de LEDs em química analítica (medidas de absorbância e fluorescência)**

Uma possibilidade bastante interessante no desenvolvimento de sensores ópticos portáteis é a utilização de LEDs (*light-emitting diodes*) como fontes de radiação. O primeiro diodo emissor de luz (LED) baseado nos elementos GaAsP foi desenvolvido em 1962 por Holonyak e Bevacqua e emitiam radiação vermelha. Assim é marcado o início dos LEDs viáveis da junção p-n emitidos na faixa visível do comprimento de onda. A intensidade da luz variava linearmente com a corrente (SCHUBERT, 2003). Posteriormente, em trabalho realizado por Flaschka (1973) foi proposto o primeiro fotômetro de absorção molecular empregando LED (figura 3) com espectro na região do visível. O LED foi acoplado diretamente na cela do fotômetro e na extremidade oposta foi colocado um fototransistor contornando problemas de perdas de radiação. Desde então, os LEDs ocupam local de destaque nos sensores ópticos portáteis.

**Figura 3.** Esquema do primeiro fotômetro de absorção com uso de LED (FLASCHKA 1973)



Segundo Guadagnini (2019), a utilização do sensor BH1750 como detector de luminosidade na construção de um fotômetro de LED para a determinação de concentrações desconhecidas de  $\text{CuSO}_2$  a partir de medidas de absorbância teve limite de detecção de  $0,002 \text{ mol L}^{-1}$ .

Os fotômetros com uso de LED têm o mesmo princípio de interação da radiação eletromagnética com a matéria (por exemplo: absorção de luz). O comprimento de onda de emissão do LED é selecionado em função da faixa de absorção do composto de interesse. Quando necessitar de outro comprimento de onda para monitorar outro analito, troca-se o LED. Os fotômetros são projetados para facilitar a troca do LED, tendo como vantagens: baixo custo, consumo baixo de energia, ótima estabilidade do feixe de emissão e longa vida útil (100.000 horas, em média) (SILVA, 2015).

A maior parte dos espectros de emissão em LEDs na região visível tem larguras de bandas menores do que 20 nm, alta estabilidade de emissão e longa vida útil, possibilita que essa fonte de radiação seja adequada na construção de fotômetros usados em análises de absorção molecular na região UV-Vis (ARAUJO *et al.*, 1997; BUI, 2017). Os LEDs de alta intensidade emitem feixe de radiação cinco vezes maior comparadas ao feixe de radiação emitida por fontes convencionais

com monocromador, permitindo o uso de cela de detecção com caminho óptico mais longo aumentando a detecção do analito de interesse (DASGUPTA *et al.*, 1993).

Segundo Araújo *et al.* (1997) a simplicidade do sistema óptico e a cela de detecção nos fotômetros, e as análises são realizadas com um menor consumo de reagentes e amostras comparados às análises fotométricas com instrumentos e procedimentos clássicos. Necessitando apenas 0,1 ml, enquanto as técnicas clássicas necessitam cerca de 2,5 a 5,0 ml, permite baratear significativamente o custo das análises. Os fotocolorímetros tem grande aplicabilidade nas análises clínicas, uma vez que a maioria pode ser realizada usando LED de emissão verde ou a emissão vermelha do LED bicolor. O fotômetro de fluxo pode ser também utilizado em sistemas de análise em fluxo (FIA e CFA). Nas análises realizadas com o fotômetro de fluxo, os valores encontrados estavam dentro de uma faixa aceitável dos encontrados nos fotocolorimétricos clássicos, o desvio padrão relativo 1,2% contra 2,1% para as análises com fotômetro clássico.

É possível aplicar o fotômetro de LED para análises quantitativas de uma grande variedade de analitos trocando somente o LED para um comprimento de onda que a molécula absorve radiação. Deve-se enfatizar algumas limitações referindo à velocidade de leitura relativamente baixa, limitando análise de cinética de reações químicas. Outra limitação é a baixa sensibilidade do sensor em radiação ultravioleta e infravermelho, restringindo sua aplicação na região do visível (GUADAGNINI, 2019).

Segundo (OLIVEIRA 2017), em estudo com sensor óptico utilizando a fonte de radiação LED para verificar a cinética química da reação que ocorre no sensor de H<sub>2</sub>S, é importante na determinação de parâmetros como a velocidade e o tempo de reação química, o resultado na simulação com dois tipos de metais; o ouro e cobre, possibilita observar que, com o aumento da concentração do gás H<sub>2</sub>S, a detecção do pico no sinal analítico torna-se mais rápida.

Um fotômetro baseado em LEDs visível com três comprimentos de onda 563, 580 e 638 nm foi empregado para determinar simultaneamente zinco e alumínio. A construção do equipamento tem o intuito de realizar a análise, por injeção em fluxo, das misturas dos respectivos metais, usando medidas de absorbâncias dos complexos metálicos com diferentes reagentes cromogênicos (TROJANOWICZ, 1991).

Fluorímetros utilizando LEDs como fonte de excitação também foram desenvolvidos utilizando uma serie de LEDs com os comprimentos de ondas em 370, 430, 470, 505, 530, 590 e 636 nm para excitação das espécies fluorescentes, e uma câmera CCD como dispositivo de detecção (Hart, 2002). Hossain e colaboradores (2015) desenvolveram o primeiro fluorímetro para medir pH *in situ* usando plataforma com smartphone com suporte para amostra impressa em 3D. O instrumento em particular foi baseado em um quimiossensor sensível ao pH que usa um corante fluorescente intenso pra sobrepor à emissão espectral azul de OLEDs (ou AMOLEDs) típicos de smartphones embora uma maior irradiância tenha sido obtida usando um filtro e o LED branco usado para iluminação da imagem. Nas amostras de água do mar utilizando o fluorímetro portátil para medir o pH, mostrou resultado satisfatório comparado ao sistema de eletrodo com pequena variação.

Silva Neto e colaboradores (2016) desenvolveram sensores com uso de smartphone e LED em análise de água mineral utilizando dois agentes quelantes em contato com metal formando um complexo colorido. As medidas são realizadas por colorimetria diretamente sobre a amostra complexada com o sistema RGB a partir de um aplicativo de smartphone. Considerando estes aspectos um método rápido, simples e de baixo custo para a classificação de águas mineral comercial baseada na reação dos íons metálicos constituintes com reagentes colorimétricos. Utilizando os reagentes colorimétricos murexida e negro de eriocromo T nas análises exploratórias de águas minerais podem ser realizadas com sucesso a partir de medidas fotométricas.

Toda (2011) desenvolveu um sistema miniaturizado de análise de sulfeto utilizando geração de vapor (VG- $\mu$ GAS), detector de fluorescência em miniatura composto por diodo emissor de luz azul e fotodiodo. O reagente AFM contida na solução reagiu com o sulfeto resultando na diminuição da fluorescência. A mudança na fluorescência foi monitorada continuamente com fotodiodo na detecção da fluorescência. A faixa mensurável foi de até  $100 \text{ nmol L}^{-1}$  de sulfeto aquoso com  $5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de AFM. Esse intervalo é limitado pelo consumo de AFM, e uma maior concentração de AFM pode ser selecionado para determinação de concentrações mais altas de sulfeto.

Para Roda *et al* (2016) o desenvolvimento de sensores ópticos sensíveis e detector o smartphones, torna desafiador pela complexidade da instrumentação,

incluindo um módulo óptico que inclui uma fonte de luz, filtro óptico e lente. Apesar das limitações, a fluorescência é utilizada como princípio de detecção em sensores baseados em detectores por smartphones, com alta sensibilidade. Esses sensores ópticos são baseados em uma fonte de luz LED, um conjunto de filtros de fluorescência e uma lente acoplada à câmera integrada do smartphone, obtendo imagem com alta resolução da fluorescência, analisada com aplicativo no processamento rápido da imagem permitindo detecção do analito em minutos. Coskun *et al.* (2013) desenvolveu dispositivo portátil baseado em smartphone para detecção de albumina. Para medir a concentração de albumina em amostras de urina por fluorescência e imagem de smartphones. O sinal fluorescente do tubo de ensaio é comparado pelo sinal do tubo de controle.

## **1.7 Uso de imagens digitais em química analítica.**

### **1.7.1 Imagem digital**

Uma imagem é definida como a reprodução de um objeto real. Para fins científicos, as imagens expressam as propriedades dos objetos observados, tais como tamanho, brilho, cores e outros. As imagens para fins científicos podem ser usadas nas técnicas de varredura, projeção, tomográficas ou a combinação entre elas (GELADI, 1996). As imagens digitais são divididas em dois grupos: vetorial e bitmap. As vetoriais são produzidas por figuras geométricas, gráficos, desenhos e são utilizadas em softwares de desenhos técnicos e podem possuir a extensão .svg, .pdf ou .ai, dependendo do software utilizado. A dependência de dispositivos para a interpretação e visualização e, portanto, teve seu uso dificultado, perdendo espaço para o tipo bitmap. As imagens bitmap (mapa de bits) são as que são formadas a partir do menor elemento de composição, também conhecido como pixel. As imagens do tipo bitmap é o resultado de um conjunto de pixel (JAIN, 1989).

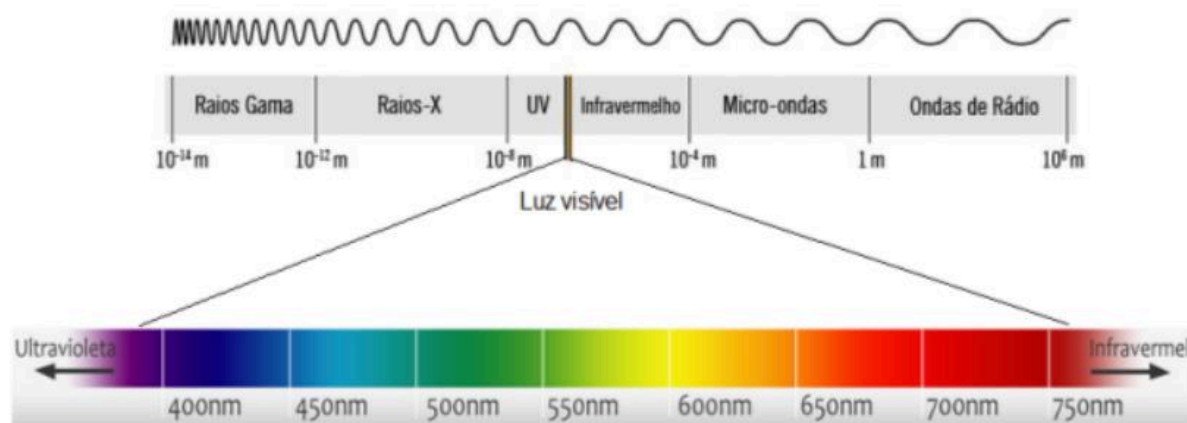
Os dispositivos capazes de adquirir imagens digitais, tais como câmeras, webcams e scanners, podem possuir dois tipos de detectores de luz, CCD (Dispositivos de carga-acoplada) e CMOS (Semicondutor de óxido metálico complementar). Esses detectores funcionam basicamente transformando luz em corrente elétrica. Os CCD são dispositivos que realizam a movimentação de cargas elétricas que são convertidas em sinal digitais e são largamente utilizados para construção de câmeras de vídeo e máquinas fotográficas. Em um dispositivo para

captura de imagens, projetada através de uma lente em uma matriz (bidimensional no caso de câmeras) de capacitores (região fotoativa feita de uma camada de  $\text{SiO}_2$ ), acumulando uma carga proporcional da intensidade da luz em cada pixel (cada um contendo um fotodetector e um amplificador). Nos sensores CMOS o sinal pode ser interpretado de várias formas na intensidade e os parâmetros de cores. Os CCD além de ser mais baratos e mais rápidos, consomem menos energia e são de fácil construção nas câmeras de celulares, webcam e câmeras digitais de bolso (BERNAR, 2017). Em química analítica, o uso das imagens digitais mostrou-se promissora à partir do primeiro trabalho realizado por Monemi *et al.* (1999) que utilizou uma câmera CCD como sistema de detecção para determinar um tipo de proteína por meio de reações quimiluminescentes a partir dos capilares de vidro detectado por uma varredura lenta com a câmera CCD com um tempo de exposição definido.

### **1.7.2 Sistema RGB**

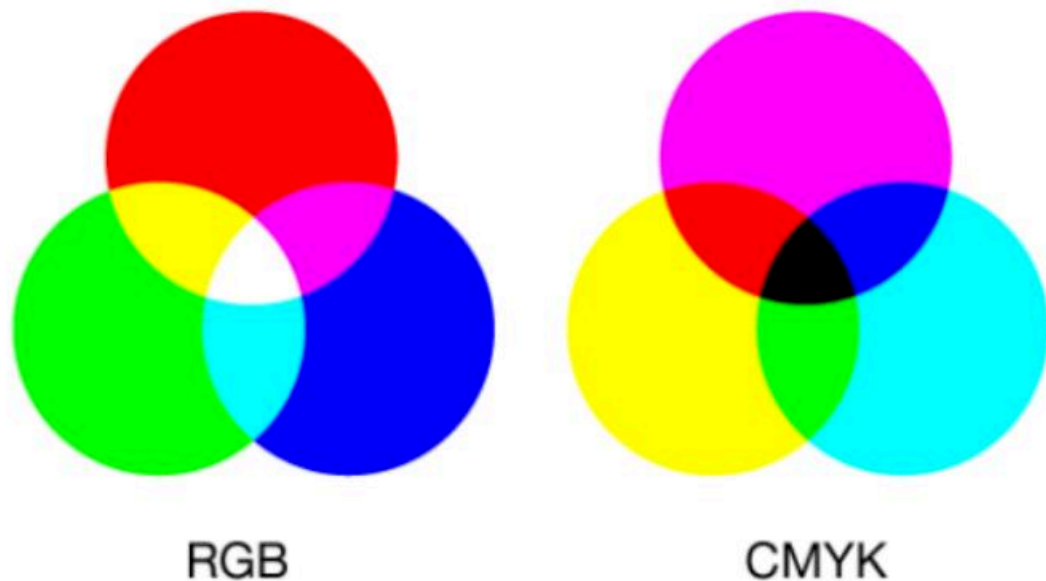
Os dispositivos usados na captura de imagens digitais e posterior codificação e representação de cores são baseados nas características da visão humana, isto é, através de modelos aditivos de cores primárias (vermelho, verde e azul). Se o cérebro faz o papel de decodificar os sinais enviados pelas células sensíveis a luz, as imagens digitais são processadas por computadores e as cores podem ser descritas como modelo ou espaço de cores. A maneira mais comum para extrair as informações é a decompondo em sistema de cores primarias: red (vermelha), green (verde), e blue (azul) (RGB) (ALMEIDA, 2012). A noção de cor é uma descrição da sensibilidade espectral do olho para intensidades iguais de luz visível. Essa percepção visual relativa a diferentes componentes espectrais da luz é capaz de detectar apenas uma fração (figura 4) que é conhecida como luz visível no espectro.

**Figura 4.** Espectro eletromagnético (HALLIDAY, 2009).



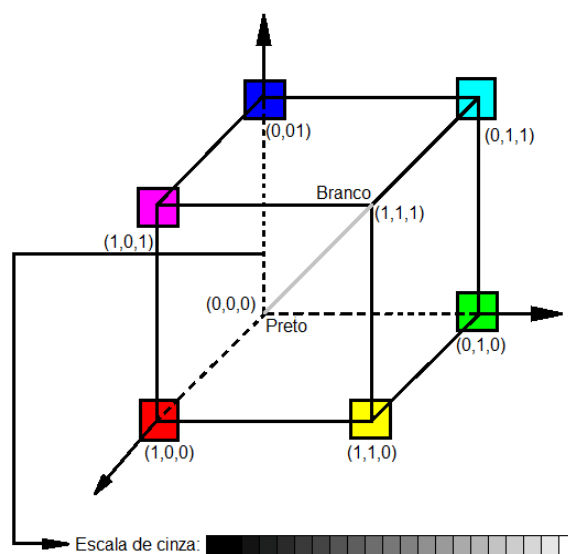
Existem diferentes modelos de cores representadas digitalmente e dentre eles estão o RGB (Red, Green, Blue) e CMYK (Ciano, Magenta, Yellow, Black). O modelo de cores aditivas RGB tem grande interesse e aplicação na química analítica moderna. Basicamente, este modelo divide as informações de luz em três canais de cores primárias (vermelho, verde e azul). Cada cor é representada digitalmente por um canal de 8 bits ( $2^8 = 256 = 0 - 255$ ) de informação. O canal 0 significa ausência total de uma cor, enquanto o canal 255 representa a intensidade máxima da mesma cor gerando mais de 16 milhões de cores através da combinação dos três canais. O branco é a intensidade máxima das três cores primárias aditivas (255, 255, 255). A fácil correlação com a visão humana fez com quase todos os dispositivos de interpretação de imagens utilize uma variação deste modelo de cores (BERNER, 2017). Nos modelos subtrativos CMY (ciano, magenta e amarelo), as cores são geradas pela subtração dos comprimentos da onda dominante da luz branca, portanto, a cor resultante corresponde a luz que é refletida. As matrizes intermediárias das cores são obtidas através da combinação das intensidades máximas de duas cores. A cor preta é a combinação das três cores C+M+Y subtrativas e o branco é a intensidade máxima das três cores primárias R+G+B aditivas (figura 5) (CARDOSO, 2014).

**Figura 5.** Representação dos modelos de cor RGB e CMYK (MADEIRA, 2012).



O modelo RGB em um sistema de coordenadas cartesianas também pode ser chamada de cubo RGB sendo visualizado em um cubo 3D. Aa origem do cubo localiza-se a cor preta e ao oposto a coloração branca. Entre essas duas cores esta a escala de cinza. Por conversão normaliza-se de 0 e 1 para indicar a cor. As cores são definidas por vetores (figura 6) que parte da origem neste modelo (MADEIRA, 2012)

**Figura 6.** Cubo de cores RGB, CMY e representação da escala de cinza (MADEIRA, 2012).



A combinação da análise de imagens digitais utilizando o modelo RGB com o fenômeno de quimiluminescência foi utilizado na determinação de Cr (VI) em águas superficiais, baseado na redução quantitativa de Cr (VI) para Cr (III) que atua como catalisador da reação de oxidação do luminol por peróxido de hidrogênio. A radiação quimiluminescente resultante é detectada utilizando uma webcam como fotodetector e as imagens digitais são convertidas para valores de R, G e B. O componente azul (B) predomina na radiação quimiluminescente resultante da redução do Cr (VI), e o método desenvolvido apresentou valores de LOD e LOQ de 2,20 e 7,36  $\mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente (ALMEIDA, 2012).

LYRA *et al.* (2009) desenvolveu um método que combina espectrometria de emissão em chama e imagens digitais para determinação de lítio em comprimidos antidepressivos, sódio em soro fisiológico e cálcio em águas. O método se baseia na decomposição de imagem em suas componentes individuais R, G e B e seus valores foram usados para definir um vetor posição no espaço tri-dimensional RGB. A resposta analítica revelou linearidade em função da concentração do analito.

Em trabalho realizado por Souza e colaboradores (2014), ferro (II) foi determinado utilizando um scanner como sistema de detecção e os resultados foram comparados com uma técnica de referência (espectrofotometria de absorção na região do visível). As imagens capturadas pelo scanner foram decompostas em cores pelos modelos RGB e CMYK. O LD calculado para o procedimento executado por meio da análise espectrofotométrica foi igual a 0,09  $\text{mg L}^{-1}$ . Por outro lado, os LDs encontrados para a análise das imagens digitais capturadas com o scanner foram 0,67 e 0,50  $\text{mg L}^{-1}$ , nos canais RGB e CMYK, respectivamente. Diversos outros trabalhos têm sido desenvolvidos utilizando análise de imagens digitais e sua aplicação na quantificação de analitos. Um artigo de revisão foi recentemente publicado e vários desses trabalhos são discutidos (FERNANDES *et al.* 2020).

### **1.8 Impressão 3D em análise química**

A impressão 3D em pesquisas em escala de laboratório está se expandindo em um ritmo acelerado e é indiscutivelmente devido ao rápido fluxo de trabalho de design para objeto, permitindo a produção de protótipos em uma etapa de maneira

reproduzível relativamente acessível e rápida, especialmente nas ciências químicas na miniaturização (PALENZUELA, 2018).

Segundo Palenzuela (2018), na química analítica, os cientistas têm explorado a impressoras 3D para usos engenhosos. O espectro de aplicações tem se expandido amplamente nos últimos anos, tornando popular o objeto final impresso em 3D. Os custos e o tempo de fabricação são reduzidos em grande parte, e os recursos iterativos habilitados pela impressão 3D estão se tornando indispensáveis para os pesquisadores avançando para a impressão de dispositivos inteligentes e funcionais que tenham características simples no manuseio. Esses esforços provavelmente continuarão sendo a tendência mais buscada na pesquisa para os próximos anos.

A utilidade da impressão 3D em química analítica tem uma ampla gama de aplicações, tais como fabricação de suportes e dispositivos microfluidicos, sensores eletroquímicos e para materiais de catálise. Ao comparar as vantagens e limitações da impressão 3D com outras técnicas de fabricação para dispositivos analíticos, fica claro que a impressão 3D é benéfica para a maioria das aplicações, permitindo criar equipamentos personalizados para análise, com capacidade de reutilização e facilidade de integração em componentes comercialmente disponíveis (LED, fotodiodo, celulares e etc). O crescimento das publicações apresentando dispositivos impressos em 3D evidencia que essa técnica de fabricação permanecerá popular no futuro (GROSS, 2016; CARDOSO *et al.*, 2020).

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo geral desse trabalho foi o desenvolvimento de uma plataforma óptica portátil e de baixo custo para quantificação de sulfeto em amostras de águas ambientais utilizando impressão 3D e tratamento de imagens digitais.

### **2.2 Objetivos específicos**

Construir um dispositivo para introdução de amostra, volatilização e captura do analito em fase gasosa por um reagente específico.

Avaliar a utilização de smartphones para aquisição do sinal analítico (tratamento de imagens digitais).

Calibração e obtenção dos parâmetros analíticos.

Aplicação em amostras de águas ambientais.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Reagentes e soluções**

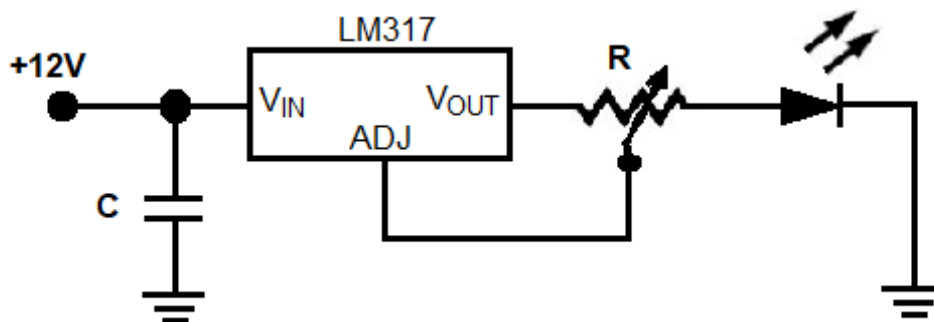
Os reagentes e padrões de acetato de fluoresceína de mercúrio (AFM), hidróxido de sódio e sulfeto de sódio nonahidratado ( $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) foram obtidos de Sigma-Aldrich (Alemanha), Qhemis (São Paulo, Brasil) e Synth (Brasil), respectivamente. A solução estoque de sulfeto de sódio com concentração de  $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada semanalmente pela dissolução da massa apropriada de  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  em água deionizada. Esta solução foi padronizada pelo método de titulação iodométrica e armazenada em um frasco âmbar a  $4^\circ\text{C}$ . As soluções de trabalho foram preparadas por diluição antes da utilização.

A solução estoque de Acetato de Fluoresceína de Mercúrio (AFM) foi preparada com uma concentração de  $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  ( $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH e armazenada sob abrigo da luz a  $4^\circ\text{C}$ . A solução de trabalho com concentração de  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  foi preparada por diluição da solução estoque em meio alcalino antes da utilização. A solução de  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  de ácido fosfórico foi preparada por diluição apropriada em água deionizada.

#### **3.2 Materiais e construção da plataforma analítica**

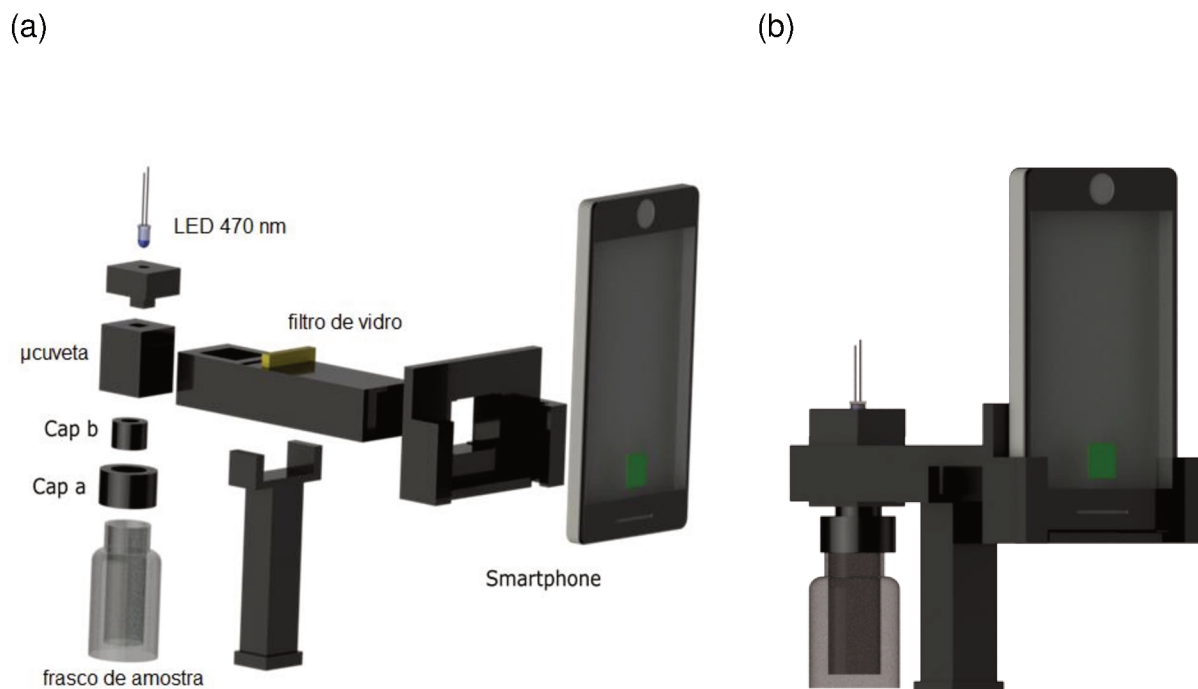
Um diodo emissor de luz azul (LED) (pico de emissão máxima a 470 nm) modelo 300-74-763 foi utilizado como fonte de radiação e foi obtido da Distrelec (Suíça). O circuito elétrico de corrente constante usado para acionar o LED com 20 mA e fornecer luz de excitação constante foi baseado na utilização do circuito integrado (CI) do regulador de tensão LM317 (Texas Instrument) (BUI, 2015). Uma fonte de +12V foi utilizada para fornecer a tensão apropriada ao circuito. Nesse circuito, a corrente ( $i$ ) é obtida em função do resistor ( $R$ ) utilizado, de acordo com a equação  $i = 1,25/R$ . Um esquema do circuito utilizado está apresentado na figura abaixo:

**Figura 7.** Circuito elétrico para fornecer 20 mA ao LED.



A plataforma para a realização da análise foi projetada usando um software do tipo CAD (Autodesk Inventor) e fabricada por uma impressora 3D (modelo A2 Core, GTMax, Brasil). O dispositivo final foi montado conectando vários módulos contendo o suporte de amostra, microcubeta para acomodação do reagente, posicionadores, membrana de PTFE, optoeletrônicos (LED e filtro) e smartphone, conforme descrito na Figura 8a. O frasco de amostra (feito de vidro) foi conectado a microcubeta através de tampas cilíndricas adequadas, indicadas pelas letras **a** (i.d 20 mm; o.d. 28 mm) e **b** (i.d 7,5 mm; o.d 15 mm; comprimento 12,5 mm). Uma membrana de politetrafluoretileno (PTFE) (tamanho de poro de 1,0  $\mu\text{m}$ ; Amanco, Brasil) foi posicionada na parte superior do cilindro b, permitindo a difusão do vapor e evitando o vazamento da solução de AFM. O reagente foi inserido na microcubeta com dimensões externas de 20 x 20 x 25 mm e dimensões internas de 6,5 x 6,5 x 20 mm (L x H x h). Um orifício com dimensões adequadas foi colocado no fundo da microcubeta para tampar o frasco da amostra. Um orifício retangular selado com uma janela de vidro (5,0 x 5,0 mm; 1,0 mm de espessura) foi colocado na face lateral da microcubeta para permitir a aquisição da imagem digital da emissão de luz verde. O LED foi posicionado na parte superior da microcubeta como fonte de luz de excitação. Esses módulos foram colocados em suportes adequados, permitindo a fixação estável do smartphone a 8 cm (distância focal) da microcubeta. Um filtro de vidro amarelo do tipo passa-banda longa (LP) (515 nm) foi posicionado entre a microcubeta e o smartphone para bloquear a interferência da emissão do LED na imagem digital. O dispositivo montado pode ser mostrado na Figura 8b. Toda a plataforma foi fabricada com filamento ABS e custa menos de R\$ 50.

**Figura 8.** Desenho 3D da plataforma de determinação de sulfeto (a) componentes e (b) montados e prontos para uso.



### 3.3 Protocolo otimizado de medição de sulfeto em águas ambientais

Para determinação do sulfeto em amostras de água, a microcubeta foi previamente preenchida com 750  $\mu\text{L}$  de solução de AFM com concentração de 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O procedimento de análise é descrito a seguir: 10 mL da amostra foram adicionados ao frasco da amostra com uma micropipeta, seguido de 1,0 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  2,0  $\text{mol L}^{-1}$  e imediatamente depois o frasco foi fechado com o sistema descrito na seção anterior, permitindo assim a geração de  $\text{H}_2\text{S}$  e difusão pela membrana de PTFE. A imagem digital de 24 bits da emissão do reagente AFM após excitação com LED azul foi obtida após 20 minutos de difusão do  $\text{H}_2\text{S}$  e reação usando um smartphone. A imagem foi enviada para o computador e o software ImageJ foi utilizado para recortar a imagem com dimensões de 183 x 8 pixels. A intensidade de cor foi obtida pela média dos valores individuais da intensidade da cor representada digitalmente pelo modelo RGB dos pixels selecionados. A figura 9 apresenta um exemplo de imagem obtida com smartphone modelo Samsung J5 da emissão de AFM após excitação com LED em 470 nm.

**Figura 9.** Sinal analítico obtido pelo smartphone.



## **4 RESULTADOS OBTIDOS**

### **4.1 Relação entre concentração do reagente Acetato de Fluoresceína de Mercúrio e intensidade de cor**

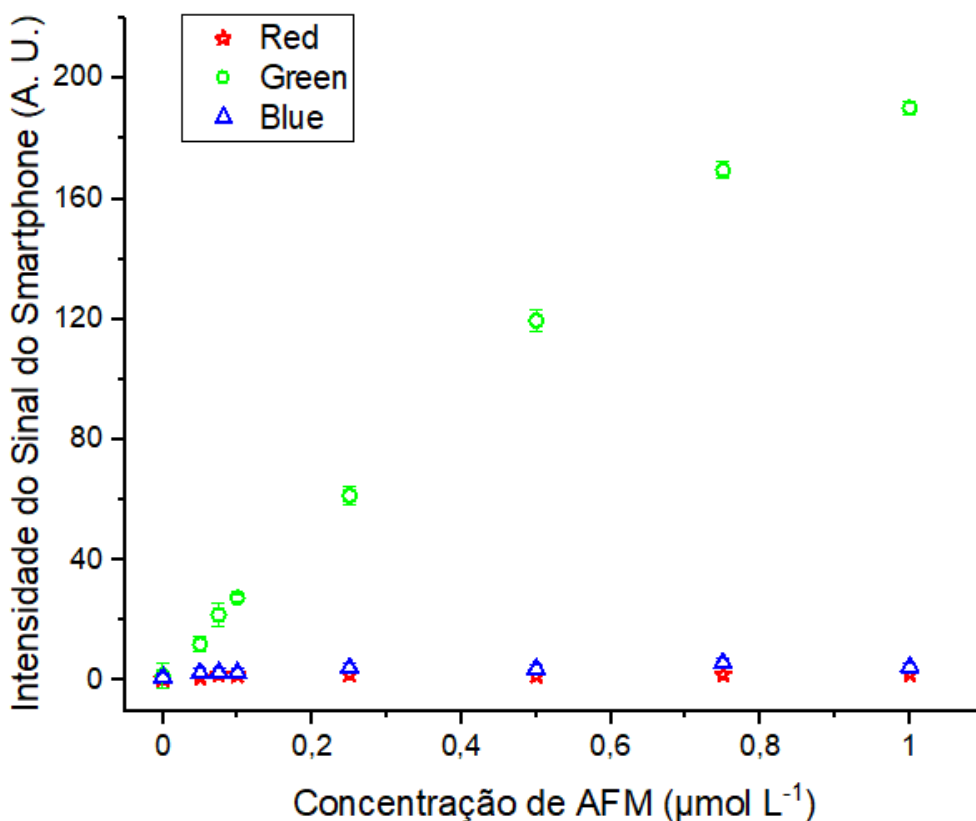
No primeiro conjunto de experimentos foi avaliado o comportamento dos valores de intensidade de cor utilizando o modelo RGB em relação a diferentes concentrações do reagente AFM. O objetivo desse experimento inicial foi avaliar a relação entre RGB extraído da imagem em função da concentração do fluoróforo. Quando o acetato de fluoresceína de mercúrio foi excitado com o LED a 470 nm (região de cor azul), apresentou um pico máximo de fluorescência a 535 nm (região de cor verde). Portanto, foi esperado que o canal responsável pela cor verde G (green) seja mais sensível às diferenças na concentração de AFM. Entretanto, não foi possível prever se o canal G foi diretamente linear à concentração, ou se alguma operação matemática fosse realizada com o sinal analítico obtido (RGB). Procedimentos como transformação para escala de cinza ou conversões logarítmicas são bastante comuns quando o processamento de imagens digitais é usado em química analítica, apesar de trazer complexidade adicional ao tratamento dos dados. Para isso, soluções de AFM na faixa de concentração de 0,05 a 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  foram preparadas e 750  $\mu\text{L}$  de cada solução foi transferida para a microcubeta. As imagens digitais de 24 bits foram obtidas utilizando smartphone Samsung modelo J5 e, para extração da intensidade RGB, foi fixada uma região de interesse (ROI) de 183 x 8 pixels. Conforme apresentado na Figura 10a, o canal verde (G) foi mais sensível e linear às mudanças na concentração de AFM do que R e B, como esperado, indicando que G foi o canal a ser escolhido para experimentos posteriores.

Outro aspecto importante avaliado foi a influência da radiação do LED (azul) na imagem digital obtida. Idealmente, a radiação que chega ao detector

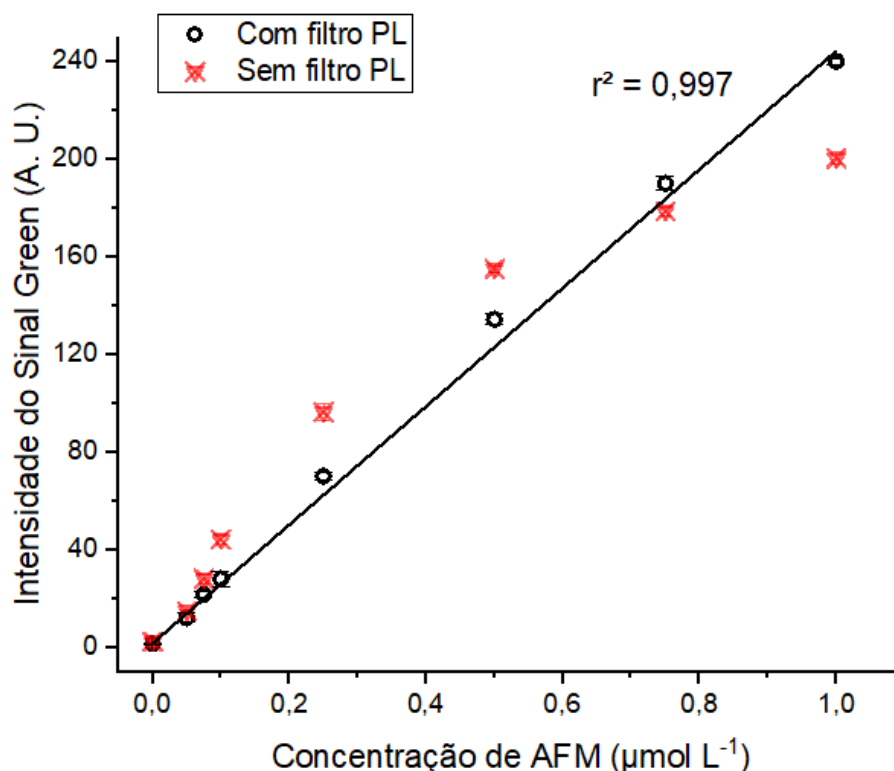
(smartphone) deveria ser apenas aquela proveniente da emissão do reagente, porém, a radiação azul pode sofrer espalhamento em solução e pelo dispositivo e influenciar na cor da imagem obtida. Para isso, um filtro do tipo passa-banda longa amarelo (ponto de corte a 515 nm) foi posicionado entre a cubeta e o smartphone para avaliar a influência da luz azul de excitação na composição de cores das AFM. Como pode ser visto na figura 10b, o posicionamento do filtro passagem longa no caminho óptico foi essencial para melhorar a linearidade da relação de G e AFM, pois a contribuição da luz azul do LED foi minimizada.

**Figura 10.** (a) Comportamento dos parâmetros RGB em função da concentração de AFM (b) efeito do uso de um filtro de passagem longa (LP) na linearidade do canal verde.

(a)



(b)



## 4.2 Avaliação da resposta analítica em função de diferentes smartphones

A representação matemática de fenômenos físicos, como modelos de espaço de cores, pode ser expressa de muitas maneiras diferentes, onde cada um tem suas vantagens e desvantagens (CAPITÁN-VALLVEY *et al.* 2015). O modelo de espaço RGB foi desenvolvido para facilitar o processamento de dados em máquinas, a fim de minimizar a complexidade da formulação e o número de variáveis. Devido à grande quantidade de software que não é capaz de lidar com arquivos de imagem incorporados aos perfis de calibração de cores, os espaços associados às plataformas de computação são geralmente definidos em relação a uma exibição de referência específica (PASCALE, 2013). Isso resulta na criação de modelos de espaços de cores RGB diferentes (por exemplo, Adobe RGB, Apple RGB), que evoluíram algumas vezes por razões tecnológicas. Basicamente, significa que os mesmos valores RGB podem representar visualmente duas cores diferentes em dois dispositivos eletrônicos diferentes. Portanto, o uso do espaço de cores RGB como informação analítica também foi avaliado através da comparação de diferentes

dispositivos com especificações diferentes; caso contrário, os resultados gerados pela metodologia baseada em imagem digital devem ser seriamente afetados se outros dispositivos eletrônicos forem empregados. Apesar de vários métodos analíticos baseados em RGB terem sido desenvolvidos, a maioria não menciona se o desempenho analítico é afetado pelo uso de dispositivos eletrônicos semelhantes. Nessa etapa, foi avaliado a relação do sinal analítico (Canal G) com a concentração de AFM na faixa de 0,05 a 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  empregando diferentes smartphones para adquirir imagens digitais.

A tabela 3 mostra os parâmetros das curvas analíticas obtidas por cada modelo de smartphone. Foi possível observar que os valores de inclinação, coeficiente linear e coeficiente de correlação relacionados ao canal G dependem do modelo, o que significa que a imagem digital usada para medições analíticas deve ser obtida com o mesmo dispositivo. Se diferentes dispositivos foram empregados (por exemplo, análise realizada com vários dispositivos), o usuário deve construir uma nova curva de calibração com o mesmo dispositivo que será empregado para a análise da amostra, caso contrário, os resultados analíticos não serão precisos. Além disso, foi observado que a sensibilidade muda de acordo com o modelo de smartphone usado, como pode ser visto com os valores de inclinação das curvas analíticas. A tabela 3 apresenta as curvas obtidas com cada dispositivo. Para os experimentos de validação, o modelo de smartphone Samsung J5 foi utilizado.

**Tabela 3.** Parâmetros analíticos obtidos pelo método digital usando diferentes smartphones

|                | Inclinação<br>(intensidade do canal<br>verde / $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | Canal Green (G)    |       |
|----------------|---|--------------------|-------|
|                |   | Coeficiente linear | $R^2$ |
| Samsung S9     | 186,4   | 92,6               | 0,987 |
| Xiaomi Redmi 8 | 78,7  | 52,9               | 0,988 |
| Samsung A50    | 102,4   | 78,7               | 0,993 |
| Samsung J5     | 223,6   | 3,6                | 0,998 |
| iPhone 6       | 77,7  | 38,8               | 0,970 |

### 4.3 Otimização de sinal analítico

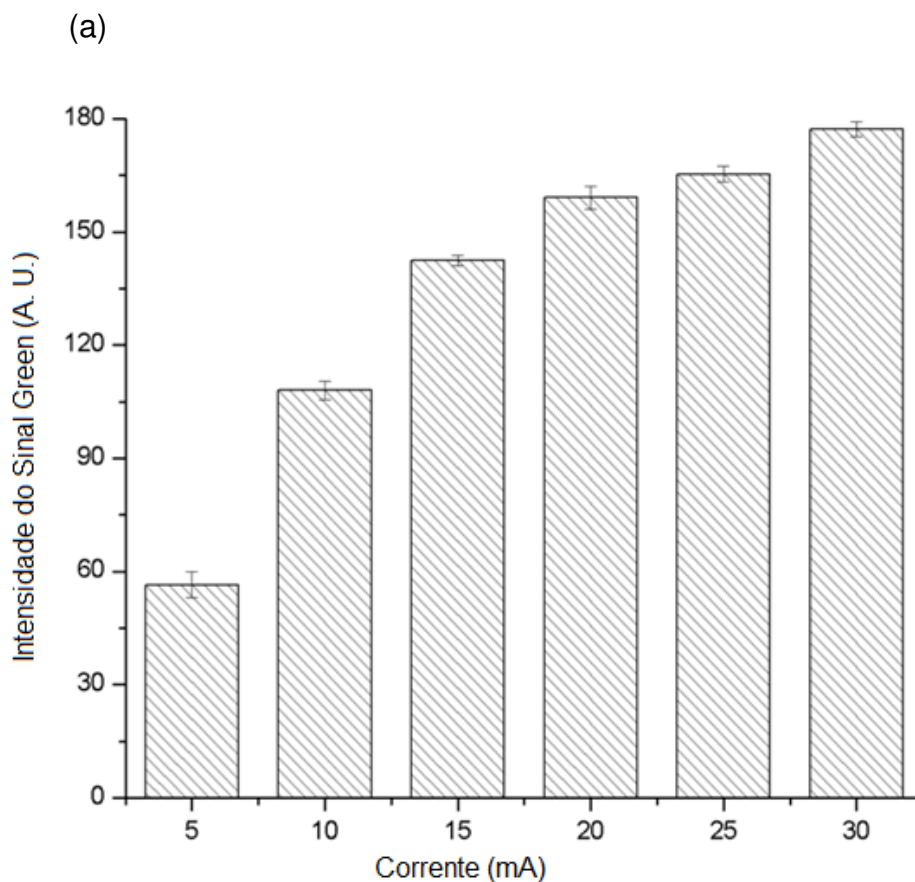
LEDs que emitem na região azul (430 - 480 nm) fornecem alta intensidade de luz, devido ao alto brilho característico desses dispositivos. Esse fato pode ser particularmente vantajoso em métodos baseados no fenômeno da fluorescência. Outro aspecto importante na utilização de LED como fonte de radiação para fins analíticos é a estabilidade da emissão de luz, para garantir a reprodutibilidade das medidas realizadas. Uma alternativa para garantir que a corrente necessária para operação do LED seja constante é o seu acionamento utilizando uma fonte de corrente constante, que é obtida com a construção de um circuito elétrico baseado no regulador de tensão LM317. A principal função desse dispositivo é garantir a tensão constante necessária para que o LED seja ligado. A corrente é controlada em função do resistor (R) utilizado, de acordo com a fórmula  $i = 1,25/R$ . O circuito elétrico montado para o acionamento e utilização do LED está apresentado na seção anterior (figura 7).

Para avaliar a influência da intensidade da luz de excitação no sinal analítico, primeiro variou-se a corrente de alimentação do LED na faixa de 5 a 30 mA. Conforme apresentado na Figura 11, o sinal analítico aumenta significativamente até 20 mA, seguido de um ligeiro aumento após esse ponto. Portanto, 20 mA pode ser selecionado como a melhor corrente de acionamento para o LED, sem perda significativa na magnitude do sinal analítico. Além disso, o uso de altas correntes pode induzir mudanças de temperatura no LED, resultando em variações na intensidade da luz. Outro experimento importante foi avaliar o efeito da exposição a radiação na estabilidade do reagente AFM, devido ao fato de os corantes orgânicos podem ser degradados quando expostos a altos níveis de irradiação. Além disso, como a determinação de sulfeto baseia-se na emissão de fluorescência do corante, foi crucial garantir que a diminuição da intensidade de cor seja causada exclusivamente pela interação  $H_2S$ -AFM. Nesse experimento, as imagens digitais foram obtidas a cada 5 minutos, durante 40 minutos, em duas condições diferentes: (i) LED aceso continuamente e (ii) LED aceso somente quando a imagem digital foi obtida. A corrente de alimentação do LED foi mantida constante em 20 mA. Os desvios padrão relativos (DPR) do sinal analítico calculados foram de 1,5 e 1,4% para as condições (i) e (ii), respectivamente, indicando que a emissão do LED não

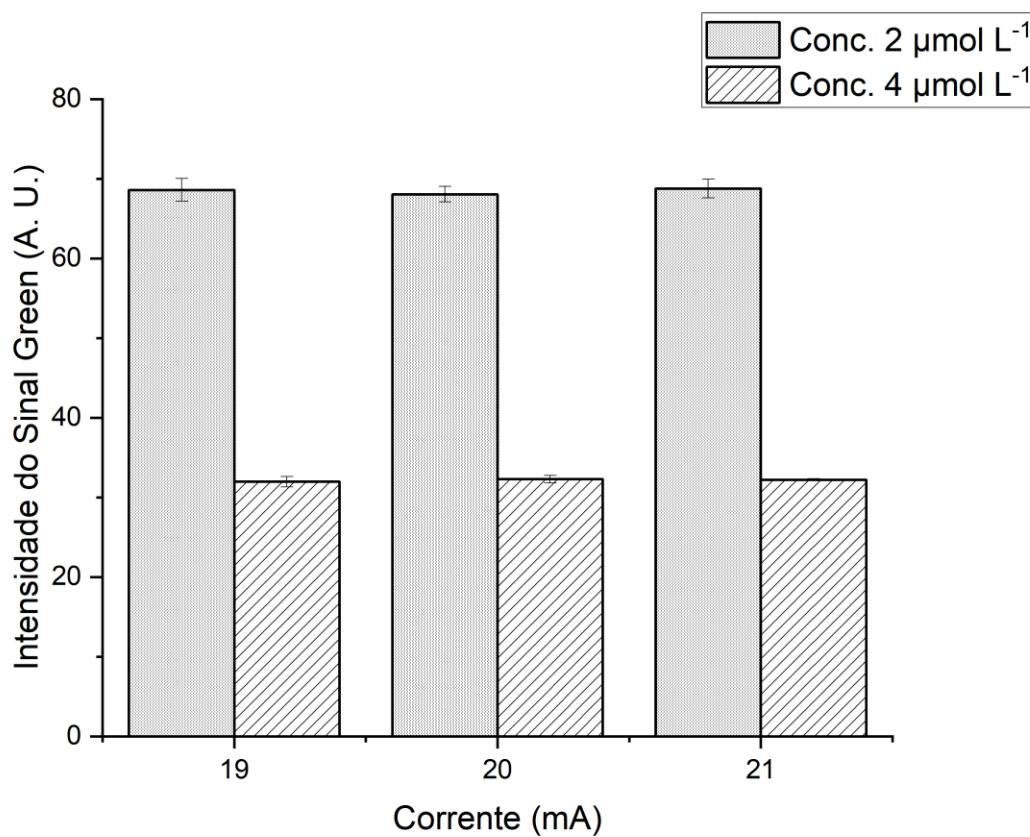
afeta a estabilidade das AFM. A figura 11a apresenta a variação de G em função do tempo.

Definido uma corrente de 20 mA para alimentar o led para excitação da molécula e obtenção do sinal analito, foi avaliada se uma pequena variação na corrente poderia interferir no sinal analítico. Um experimento proposto foi variar a corrente em 19, 20 e 21 mA para alimentar o led com o tempo fixado em 20 minutos e concentração de sulfeto em 2 e 4  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . As imagens tratada para obter o sinal G, o desvio padrão relativo foi de 1,42 e 0,65% respectivamente. Nessas condições a variação na corrente em 1mA (figura 11b) não interfere significativo no sinal analítico.

**Figura 11.** (a) Efeito da corrente conduzida do LED na intensidade do canal verde da imagem digital AFM; (b) Efeito da variação da corrente conduzida do LED na intensidade do canal verde da imagem digital AFM Concentração de AFM usada nesse experimento: 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$



(b)



#### 4.4 Geração de vapor de $\text{H}_2\text{S}$ como estratégia para determinação de sulfeto

A análise de amostras complexas utilizando técnicas instrumentais diversas podem sofrer com a presença de substâncias indesejadas que causam erros positivos ou negativos nos resultados obtidos. Essas substâncias indesejadas são comumente conhecidas como interferentes. No caso da utilização de métodos indiretos baseados em reações em que ocorre a supressão de fluorescência, alguns fenômenos indesejados podem acontecer, tais como a reação não seletiva entre o reagente e analito, a absorção e emissão de luz por outras moléculas, prejudicando assim o sinal analítico. Nesses casos, um procedimento de extração deve ser avaliado para retirar o analito da amostra complexa e permitir que o sinal analítico gerado seja exclusivamente em função da reação desejada.

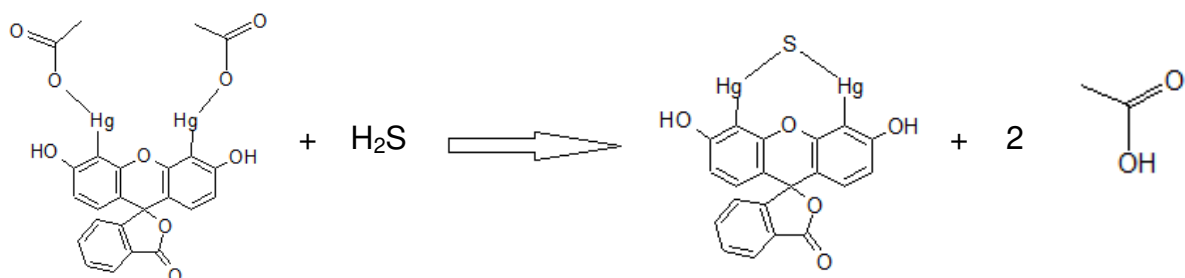
Uma estratégia interessante de extração de espécies voláteis é a utilização da técnica de extração por difusão gasosa por membrana. Essa técnica consiste na geração da espécie volátil do analito, ou apenas aquecimento, de forma a deslocar o

equilíbrio para formação máxima de espécies no estado gasoso. Após essa etapa, ocorre a difusão das moléculas gasosas através de uma membrana porosa e posterior coleta do gás em solução adequada.

A eficiência dos procedimentos de extração de difusão gasosa por membrana está relacionada principalmente à temperatura e ao tempo de difusão. Os compostos com baixa constante de Henry ( $K_H < 1$ ) têm alta volatilização, o que significa que a vaporização será favorável. Como discutido por Toda (2011), o  $H_2S$  possui  $K_H$  de 0,1, indicando uma alta eficiência de volatilização, possibilitando assim a aplicação da abordagem de extração por geração de vapor e difusão por membrana. A formação de espécie volátil se dá pelo deslocamento do equilíbrio do sulfeto pela adição de ácidos não voláteis no sentido da formação de  $H_2S$ . Neste dispositivo proposto, o frasco da amostra foi vedado com a membrana de politetrafluoretileno (PTFE) e imediatamente após a acidificação da solução de sulfeto alcançando um estado de equilíbrio entre  $H_2S$  gasoso e dissolvido. Esse equilíbrio - regido pela lei de Henry - é desequilibrado pela difusão dos compostos gasosos através da membrana de Teflon. Portanto, tempos de extração mais longos levam a uma maior coleta do analito pelo reagente.

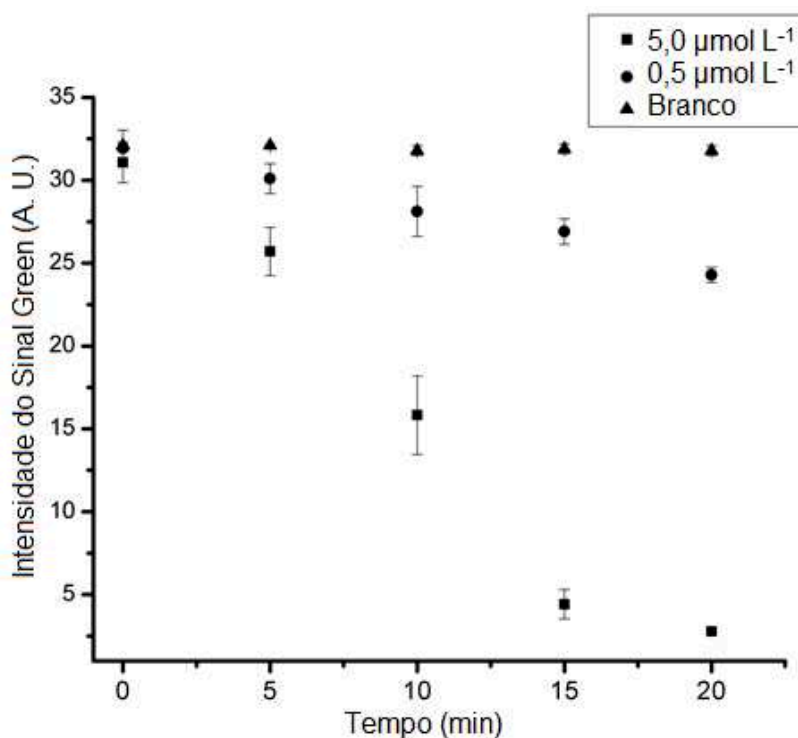
Foi avaliado nesse trabalho o tempo necessário para o  $H_2S$  gerado atingir a microcubeta e reagir com AFM utilizando dois níveis de concentração de sulfeto. Nos experimentos, 10 mL das soluções de 0,5 e 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de sulfeto foram, separadamente, adicionados ao frasco de amostra, seguido pela adição de 1,0 mL de  $H_3PO_4$  2,0  $\text{mol L}^{-1}$ . Imediatamente depois, o dispositivo foi vedado, permitindo a geração de  $H_2S$  e a difusão através da membrana de Teflon em direção ao reagente. As imagens digitais foram obtidas a cada 5 minutos por 30 minutos e os parâmetros RGB foram extraídos. Como pode ser visto na Figura 12, os sinais analíticos diminuíram em função do tempo, o que significa que as moléculas de  $H_2S$  difundiram pela membrana e reagiram com AFM (equação 4) a 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

Equação 4



No caso do trabalho desenvolvido nessa dissertação e considerando os níveis potenciais de sulfeto em águas naturais e residuais, definimos 20 minutos e 25°C (temperatura ambiente) como condições de trabalho para análise de sulfeto com alto grau de simplicidade. Otimizações adicionais podem ser realizadas para aumentar o limite de detecção do método, como aumentar o tempo de coleta ou a temperatura de volatilização. Portanto, 20 minutos foram definidos como o tempo ideal para obter a imagem digital após acidificação da solução da amostra contendo sulfeto.

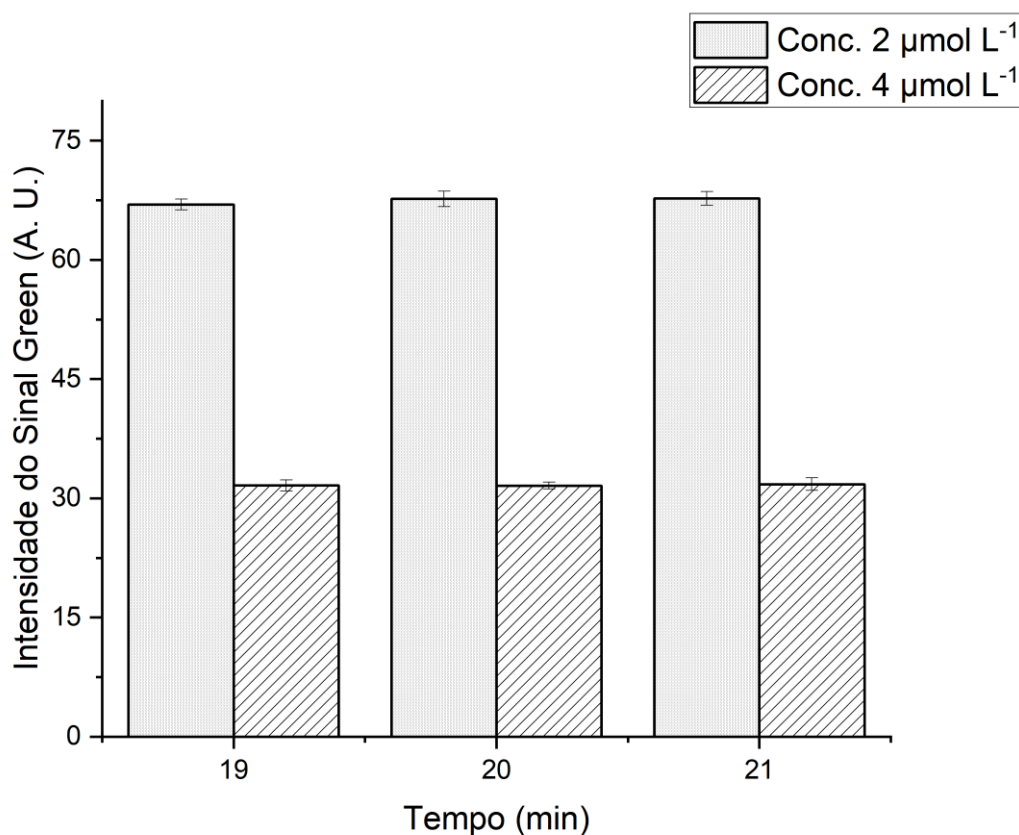
**Figura 12.** Avaliação do tempo de geração e reação de  $\text{H}_2\text{S}$  com AFM. Condições experimentais: 10 mL de 0,5 e 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de solução de sulfeto e 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de AFM. As imagens digitais foram obtidas com smartphone J5 e extraídos o RGB de uma área de 183 x 8 pixels.



Como visto, o tempo de difusão do  $\text{H}_2\text{S}$  e reação com AFM influencia significativamente na sensibilidade da técnica em estudo. Nesse caso, realizamos um experimento com variação do tempo em um minuto para mais e para menos mantendo a corrente em 20 mA e utilizando concentrações de 2 e 4  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para verificar se havia uma variação no sinal analítico comparado com o tempo escolhido

para as análise que foi de 20 minutos. Foi verificado que a variação de um minuto teve um desvio padrão relativo de 0,97 e 0,78% respectivamente (figura 13), não tendo uma variação significativa deixando um espaço de tempo flexível para as análises tornando uma técnica com simplicidade de manuseio.

**Figura 13.** Avaliar variação do tempo de geração e reação de  $\text{H}_2\text{S}$  com AFM. Condições experimentais: 10 mL de 2,0 e 4,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de solução de sulfeto e 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de AFM.

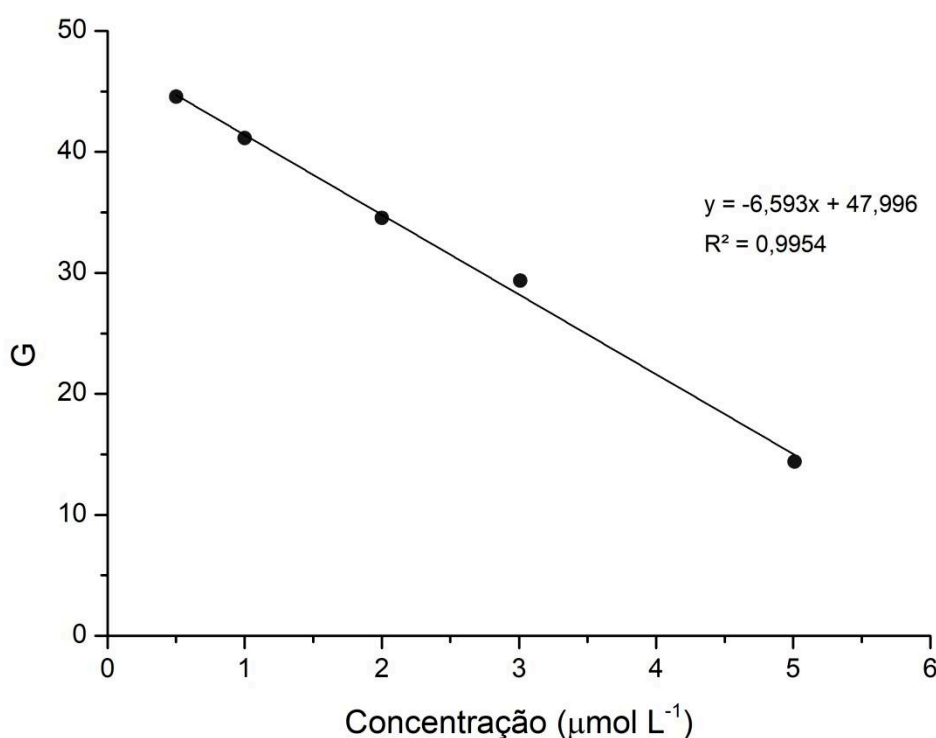


#### 4.5 Avaliação do desempenho analítico do método para determinação de sulfeto

O desempenho analítico da plataforma sensora foi avaliado em função da variação da concentração de sulfeto no intervalo de 0,5 a 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Para isso, 10 mL de cada solução padrão de sulfeto foram transferidos para o frasco da amostra, seguidos por 1,0 mL de ácido fosfórico e vedação do frasco com a membrana. 750  $\mu\text{L}$  de solução 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de AFM foram previamente adicionados à microcubeta. Após 20 minutos, uma imagem digital foi obtida e os parâmetros RGB foram extraídos utilizando o software ImageJ. Uma resposta linear foi obtida na faixa de 0,5

a  $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de sulfeto, como pode ser observada na figura 14. É importante ressaltar que os experimentos de calibração de sulfeto foram realizados usando o protótipo final do dispositivo, no qual o LED foi posicionado ligeiramente acima quando comparado ao protótipo usado nas experiências anteriores. Esse fato produziu diferentes intensidades de fluorescência para a mesma concentração de AFM.

Figura 14. Curva de calibração de sulfeto.



O acetato de fluoresceína de mercúrio pode reagir com outros compostos reduzidos de enxofre e que podem ser potencialmente vaporizados, como o metanotiol ( $\text{CH}_3\text{SH}$ ). Entretanto, a reatividade entre  $\text{CH}_3\text{SH}$  e AFM é significativamente menor que o  $\text{H}_2\text{S}$ , em torno de 10% (TODA *et al.*, 2004). Além disso, a constante da lei de Henry para metanotiol é maior quando comparado ao  $\text{H}_2\text{S}$ , resultando em menor evaporação e, portanto, menor eficiência de coleta (TODA, 2011). O  $\text{CH}_3\text{SH}$  pode ser considerado um interferente crítico nos casos em que sua concentração é maior que a de sulfeto, levando a erros positivos nos resultados. Outros compostos de enxofre que podem ser encontrados em amostras de água, como o dimetilsulfeto (DMS), sulfito e sulfato não reagem com AFM.

O desempenho da plataforma para determinação de sulfeto foi avaliado por meio de experimentos de recuperação. Nesse experimento, amostras de água de torneira com quantidades conhecidas de sulfeto em quatro níveis diferentes de concentração foram preparadas e posteriormente submetidas à análise. A concentração de sulfeto foi obtida usando a relação linear previamente construída e as porcentagens de recuperação foram calculadas comparando a concentração encontrada com a concentração adicionada. As recuperações médias foram entre 98,0 e 107,4%, indicando exatidão adequada da plataforma descrita. A repetibilidade foi calculada como desvio padrão relativo (DPR) de 5 análises da concentração de sulfeto de  $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Todos os resultados do desempenho analítico para o dispositivo de determinação de sulfeto estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

**Tabela 4.** Níveis de recuperação para determinação de sulfeto.

| Concentração $\text{S}^{2-}$<br>adicionada ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | Concentração $\text{S}^{2-}$<br>encontrada<br>( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | % Recuperação |
|---|--|---------------|
| 0,5   | 0,5  | 107,4         |
| 2,0   | 2,0  | 101,0         |
| 4,0   | 3,9  | 98,0          |
| 5,0   | 5,2  | 104,4         |

**Tabela 5.** Desempenho analítico para o dispositivo de determinação de sulfeto descrito.

| Parâmetro  | Valor   |
|--|---|
| Faixa linear   | 0,5 a $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$                          |
| Coeficiente de correlação                                    | 0,996   |
| Curva de calibração  | $G = -6,59 [\text{S}^{2-} (\mu\text{mol L}^{-1})] + 47,9$ |
| Tempo de análise   | 20 min.   |
| Repetibilidade (n = 5)                                       | 3,5%  |
| Quantidade de FMA por análise                                | 0,8 nmol  |
| Limite de detecção ( $3 \cdot \text{SD}$ / inclinação)       | $0,02 \mu\text{mol L}^{-1}$                               |
| Limite de quantificação ( $10 \cdot \text{SD}$ / Inclinação) | $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$                                |

#### 4.6 Aplicação em amostras de águas ambientais

A plataforma de análise de sulfeto (dimensões totais de 80 x 120 x 100 mm) foi empregada na determinação de sulfeto em diversos tipos de águas, a fim de provar a aplicabilidade do método proposto. As amostras de água foram coletadas em diversos pontos e a análise e tratamento de dados foram realizados no laboratório do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Amostras de águas residuais e lagos foram coletadas em diferentes cidades brasileiras e analisadas pela plataforma desenvolvida. A água da torneira foi coletada no Instituto de Química da UFU. Todas as amostras também foram analisadas em laboratório usando o espectrômetro de fluorescência convencional (Horiba modelo Fluoromax-4). As amostras foram analisadas em triplicatas. Para algumas amostras naturais e de águas residuais coletadas para este estudo, uma etapa de diluição foi realizada da seguinte forma: 500 µL ou 1,0 mL da amostra foram diluídos em 10 mL de água deionizada. Essa razão de diluição foi necessária devido à concentração de sulfeto ser maior que a faixa linear da metodologia proposta. Os resultados obtidos pelas duas metodologias mostraram boa concordância ao aplicar o teste t com nível de confiança de 95%. Com os resultados obtidos, pode-se confirmar que o dispositivo proposto pode ser aplicado com sucesso na determinação de sulfeto aquoso. A Tabela 6 apresenta os resultados da análise de sulfetos, bem como a localização da coleta de cada amostra.

**Tabela 6.** Resultados da determinação de sulfeto de águas naturais e da torneira pelo método proposto e usando o espectrômetro de fluorescência.

| Amostra                      | Método baseado em<br>smartphone ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | Espectrômetro de<br>fluorescência<br>( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | Teste t pareado<br>$t_{\text{tab}} = 3,18$ |
|------------------------------|--|---|--|
| Águas residuais <sup>a</sup> | $12,0 \pm 0,5$   | $11,3 \pm 0,2$  | 1,44                                       |
| Água do lago <sup>b</sup>    | $1,0 \pm 0,1$  | $1,3 \pm 0,2$   | 0,95                                       |
| Águas residuais <sup>c</sup> | $4,4 \pm 0,2$  | $4,9 \pm 0,5$   | 1,03                                       |
| Água natural <sup>d</sup>    | $83,6 \pm 0,3$   | $86 \pm 3$  | 2,28                                       |
| Águas residuais <sup>e</sup> | $5,5 \pm 0,1$  | $5,1 \pm 0,2$   | 0,94                                       |
| Água da torneira             | < LD   | < LD  | -  |

a. 19°44'36.8"S e 50°12'01.0"W; b. 19°44'38.0"S e 50°12'01.8"W; c. 19°59'04.7"S e 50°17'21.8"W; d. 19°44'37.88" S e 50°12'01.07" O; e. 19°34'07.8"S e 50°00'36.9"W.

#### **4.7 Comparação com outros métodos analíticos para determinação de sulfeto**

O desempenho analítico do método descrito foi comparado com outras metodologias empregadas para determinação de sulfeto e publicadas na literatura. Como pode ser visto na Tabela 7, a sensibilidade do método baseado em smartphone é comparável às medições utilizadas por sistemas de LED / fotodiodo, com a vantagem de não haver necessidade de fontes de alimentação para alimentar o sistema de detecção. Além disso, nosso método é totalmente portátil, sem necessidade de bombas para fornecer a interação gás/reagente. Nossa abordagem também mostrou vantagens quando comparada a outros métodos que aplicaram extração de geração de vapor ou detecção química indireta em termos de custos gerais e concentração de reagentes usados em cada análise.

**Tabela 7.** Métodos para determinação de sulfeto com base na geração de vapor ou na reação AFM.

| Reagente       | Faixa linear                           | Tipo de amostra e tratamento   | Observações  | Custos totais/<br>concentração<br>de reagentes | Ref                            |
|----------------|--|--|--|--|--------------------------------|
| AFM            | 0,005 – 0,1<br>$\mu\text{mol L}^{-1}$  | Águas naturais Extração em<br>fase de vapor  | Fotodiodo LED como sistema de<br>detecção e necessidades de<br>bombas de ar              | Médio<br>5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$            | TODA (2011)                    |
| 2,4-DNBS-<br>F | 0,05 – 1,0<br>$\mu\text{mol L}^{-1}$   | Águas residuais sintéticas   | Instrumento de bancada<br>(fluorímetro)  | Alto<br>140,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$           | YANG <i>et al.</i> ,<br>(2009) |
| AFM            | 0,15 – 10,0<br>$\mu\text{mol L}^{-1}$  | Dispositivo de extração de<br>microcanais com padrão de<br>água e óleo / com favo de mel | No sistema de fluxo, necessidades<br>de bombas e sistema de detecção<br>de LED-fotodiodo | Médio<br>5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$            | (TODA <i>et al.</i> ,<br>2012) |
| ICP-OES        | 0,15 – 780,0<br>$\mu\text{mol L}^{-1}$ | Geração de vapor usando HCL  | Necessidade de instrumentação de<br>volume/sem portabilidade                             | Alto   | (COLON <i>et al.</i> , 2008)   |
| AFM            | 0,1 – 5,0<br>$\mu\text{mol L}^{-1}$    | Águas naturais / Geração de<br>vapor   | Metodologia baseada em<br>smartphone/sem necessidade de<br>bombas/totalmente portátil    | Baixo<br>1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$            | Este trabalho                  |

## 5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho de mestrado, foi desenvolvido uma plataforma portátil para medidas de fluorescência utilizando LED como fonte de luz de excitação e smartphone como detector. A plataforma foi construída em impressora 3D de maneira modular, onde as peças se encaixam e personalizando melhorando o encaixe dos dispositivos (exemplo, LED e smartphone) e permitem que a análise seja realizada. Essa plataforma foi utilizada na análise de sulfeto aquoso utilizando a técnica de difusão gasosa por membrana. Nessa técnica,  $\text{H}_2\text{S}$  é gerado pela acidificação do meio contendo sulfeto seguido de difusão através de uma membrana de PTFE e a coleta por um reagente específico. O reagente utilizado nesse trabalho foi o acetato de fluoresceína de mercúrio, que reage seletivamente com compostos reduzidos de enxofre provocando supressão da fluorescência na região de emissão da cor verde. Devido a alta reatividade enxofre, as vantagens da abordagem proposta são possibilidade de análise em campo, fácil manuseio, baixo custo na construção do protótipo e economia de energia. Além disso, o arranjo tem alta sensibilidade (na ordem de  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e baixo consumo de reagente (na ordem de nmol) atendendo o requisito de mínima geração de resíduos. Os reagentes podem ser preparados com antecedência no laboratório, necessitando somente uma micropipeta para análise no campo.

A utilização da técnica de extração por difusão gasosa por membrana minimiza a presença de interferentes nas amostras quando comparados com análises realizadas diretamente em solução. Embora a AFM já tenha sido usada para determinação de sulfeto em vários estudos, a combinação da abordagem de geração de vapor com uma quantidade reduzida de reagente e o tratamento de imagem digital foi demonstrada pela primeira vez. Além disso, a abordagem baseada em imagem digital também pode ser usada para medir outras propriedades ópticas, como absorbância / transmitância ou refletância. Assim, a plataforma pode ser empregada para realizada uma investigação das espécies outras especies volateis absorventes e/ou fluorescente no local alterando o reagente e algumas adaptações na plataforma.

## 6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

ALMEIDA, J. B. S. Um método quimiluminescente baseado em imagem digitais para determinação de Cr (VI) em águas usando um sistema fluxo batelada. 2012. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências exatas e da natureza, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa – PB. 2012.

ANDREAE, M. O.; JAESCHKE, W. A. **Em Sulphur Cycling on the Continents**; Howard, R.; Stewart, I.; Ivanow, M., eds.; John Wiley & Sons: New York, 1992.

APHA, **American Public Health Association** (2017). Standard methods for examination of water and wastewater, American Public Health Association, W.W.A, Washington, D.C.

ARAÚJO, M. C. U.; SANTOS, S. R. B.; SILVA, E. A.; VÉRAS, G.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA R. A. S. Um fotômetro de fluxo para análises clínicas a base de um diodo emissor de luz bicolor. **Química Nova**. 20(2), 137-145, 1997. DOI: 10.1590/S0100-40421997000200004.

ATSDR - **Agency for Toxic Substances and Disease Registry** - Hydrogen Sulfide. EUA. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tf.asp?id=388&tid=>>. Acesso em: 25 Out 2020.

BERNAR, L. P. Titulação automática com detecção digital RGB e uso de seringa microvolumétrica. 2017. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade de Brasília. Brasília – DF, 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução Conama nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 mar. 2007. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em 15 Mar. 2020.

BUI, D. A.; HAUSER, P. C. Analytical devices based on light-emitting diodes - A review of the state-of-the-art, **Anal. Chim. Acta**. 853, 46–58, 2015. DOI: 10.1016/j.aca.2014.09.044.

BUI, D. A.; KRAICZEK, K. G. HAUSER, P. C. Molecular absorption measurements with an optical fibre coupled array of ultra-violet light-emitting diodes. **Anal. Chim. Acta**. 986, 95-100, 2017. DOI: 10.1016/j.aca.2017.07.007.

CAPITÁN-VALLVEY, L. F.; LÓPEZ-RUIZ, N.; MARTÍNEZ-OLMOS, A.; ERENAS, M. M.; PALMA, A. J. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review. **Anal. Chim. Acta**. 899, 23-56, 2015. DOI: 10.1016/j.aca.2015.10.009.

CARDOSO, A. A.; PEREIRA, E. A.; ROCHA, J. C; Gotas suspensas: uma proposta para amostragem e análise de gases traços da atmosfera, **Química Nova**, 21, 217-20, 1998. DOI: 10.1590/S0100-40421998000200019.

CARDOSO, D. E. B. F. Aplicação de imagem digital ao controlo da qualidade. 2014. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química. Universidade de Coimbra. Coimbra – Portugal, 2014.

CARDOSO, R. M.; KALINKE, C.; ROCHA, R. G.; SANTOS, P. L dos; ROCHA, D. P.; OLIVEIRA, P. R.; MUNOZ, R. A. A. Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, 1118, 73-91, 2020. DOI: 10.1016/j.aca.2020.03.028.

CHEN, W.; KOSTEREV, A. A.; TITTEL, F. K.; GAO, X.; ZHAO, W. H<sub>2</sub>S trace concentration measurements using off-axis integrated cavity output spectroscopy in the near-infrared. **Applied Physics B**, 90(2), 311–315, 2008. DOI: 10.1007/s00340-007-2858-5.

CHOI, M. M. F.; HAWKINS, P. Development of an optical hydrogen sulphide sensor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 90(1-3), 211–215. 2003. DOI: 10.1016/S0925-4005(03)00030-3.

COLON, M.; TODOLÍ, J. L.; HIDALGO, M.; IGLESIAS, M. Development of novel and sensitive methods for the determination of sulfide in aqueous samples by hydrogen sulfide generation-inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy. **Anal. Chim. Acta**. 609, 160–168, 2008. DOI: 10.1016/j.aca.2008.01.001.

COSKUN, A. F.; NAGI, R.; SADEGHI, K.; PHILLIPS, S.; OZCAN, A. Albumin testing in urine using a smart-phone. **Lab on a Chip**. 13(21), 4231 – 8, 2013. DOI: 10.1039/c3lc50785h.

CRUZ, L. P. S.; CAMPOS, V. P. Métodos de amostragem e análise para compostos reduzidos de enxofre atmosférico. **Química Nova**, 31(5), 1180-1189, 2008. DOI: 10.1590/S0100-40422008000500047.

DASGUPTA, P. K.; BELLAMY, H. S.; LIU, H. H.; LOPEZ, J. L.; LOREE E. L.; MORRIS, K.; PETERSEN, K.; MIR, K. A. Light emitting diode based flow-through optical absorption detectors. **Talanta**, 40, 53-74, 1993. DOI: 10.1016/0039-9140(93)80206-7.

DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K. –H.; STACKEBRANDT, E. **The prokaryotes –A handbook on the biology of bacteria**. Springer. Ed. 3, v. 2, 1156, 2006.

FENG, S.; WANG, J.; CHEN, X.; FAN, J. Kinetic spectrofluorimetric determination of trace ascorbic acid based on its inhibition on the oxidation of pyronine Y by nitrite. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 61(5), 841–844, 2005. DOI: 10.1016/j.saa.2004.06.008.

FERNANDES, G. M.; SILVA, W. R.; BARRETO, D. N.; LAMARCA, R. S.; GOMES, P. C. F. L.; PETRUCI, J. F. da S.; BATISTA, A. D. Novel approaches to colorimetric measurements in analytical chemistry - A review. **Analytica Chimica Acta**, 1135, 187-203, 2020. DOI: 10.1016/j.aca.2020.07.030.

FLASCHKA, H.; MCKEITHAN, C.; BARNES, R. Light Emitting Diodes and Phototransistors in Photometric Modules. **Analytical Letters**, 6(7), 585–594, 1973. DOI: 10.1080/00032717308058708.

FROTA, E. B.; VASCONCELOS, N. M. S. de. **Química Ambiental**. 2<sup>o</sup> edição. EdUECE. Fortaleza, 2019.

GAROUX, L.; GOURHAND, S.; HÉBRANT, M.; SCHNEIDER, M.; DILIBERTO, S.; MEUX, E. Hydrodemetallation and Hydrodesulfurization Spent Catalysts Elemental Analysis: Comparison of Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence and Atomic Emission Spectrometries. **Applied Spectroscopy**, 71(8), 1884–1893, 2017. DOI: 10.1177/0003702817694382.

GELADI, P.; GRAHN, H. **Multivariate image analysis**. 1<sup>st</sup> Edition. John Wiley & sons. New York, 1996.

GLÓRIA, R. M. Estudo dos Processos de Formação, Acumulação, Emissão e Oxidação de Sulfeto de Hidrogênio em Reatores UASB Tratando Esgotos Domésticos. 2009. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos), Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2009.

GROSS, B.; LOCKWOOD, S. Y.; SPENCE, D. M. Recent Advances in Analytical Chemistry by 3D Printing. **Analytical Chemistry**, 89(1), 57–70, 2016. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b04344.

GUADAGNINI, P. H.; ROCHA, F. S. DA; BARLETTE, V. E. Um medidor de luminosidade com módulo sensor integrado e aquisição automática de dados com aplicações didáticas. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, 41(3), 2019. DOI: 10.1590/1806-9126-rbef-2018-0294.

GUIDOTTI, T. L. Hydrogen Sulphide. **Occupational medicine**, 46, (5) 367-371, 1996. DOI: 10.1093/occmed/46.5.367.

HALLIDAY, D.; RESNICK, R.; WALKER, J. **Fundamentos de física – Vol. III**, Editora LTC, 2009.

HART, S. J.; JIJI, R. D. Light emitting diode excitation emission matrix fluorescence spectroscopy. **The Analyst**, 127(12), 1693–1699, 2002. DOI: 10.1039/b207660h.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6<sup>a</sup> edição, Bookman, Porto Alegre, 2009.

HOSSAIN, A.; CANNING, J.; AST, S.; RUTLEDGE, P. J.; YEN, T. L.; JAMALIPOUR, A. Lab-in-a-Phone: Smartphone-Based Portable Fluorometer for pH Measurements of Environmental Water. **IEEE Sensors Journal**, 15(9), 5095–5102, 2015. DOI: 10.1109/JSEN.2014.2361651.

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors: definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, 63(9), 1247-1250, 1991. DOI: 10.1351/pac199163091247.

JAESCHKE, W.; SCHUNN, H.; HAUNOLD, W. A continuous flow instrument with flow regulation and automatic sensitivity range adaptation for the determination of atmospheric H<sub>2</sub>S. *Fresenius J. Anal. Chem.* 351, 27-32, 1995. DOI: 10.1007/BF00324288.

JAIN, A. K. **Fundamentals of digital image processing**. New Jersey: Prentice-Hall, 1989.

JESUS, E. F. R. de. A Importância do Estudo das Chuvas Ácidas no Contexto da Abordagem Climatológica. *Sitientibus*, 14, 143-153, 1996.

KLEMPES, R.; CYPIONKA, H.; WIDDEL, F.; PFENNIG, N. Growth with hydrogen, and further physiological characteristics of *Desulfotomaculum* species. *Arch. Microbiol.* 143, 203-208, 1985. DOI: 10.1007/BF00411048.

KOMARNISKY, L. A.; CHRISTOPHERSON, R. J.; BASU, T. K.; Sulfur: its clinical and toxicologic aspects. *Nutrition*, 19, 54. 2003. DOI: 10.1016/s0899-9007(02)00833-x.

KUBAN, V.; DASGUPTA, P. K.; MARX, J. N. Nitroprusside and methylene blue methods for silicone membrane differentiated flow injection determination of sulfide in water and wastewater. *Analytical chemistry*. 64(1), 36-43, 1992. DOI: 10.1021/ac00025a008.

LAKOWICZ, J. R., ed. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3<sup>rd</sup> ed. Springer, New York, 2006.

LAWRENCE, N. S.; DAVIS, J.; COMPTON, R. G. Analytical strategies for the determination of sulfide: a review. *Talanta*. 52, 771-784, 2000. DOI: 10.1016/s0039-9140(00)00421-5.

LEE, J. D. **Química Inorgânica Não Tão Concisa**. Editora Edgard Blucher; 1<sup>a</sup> edição; São Paulo; 1999.

LYRA, W. S.; SANTOS, V. B.; DIONÍZIO, A. G. G.; MARTINS, V. L.; ALMEIDA, L. F.; GALVÃO, E. N.; DINIZ, P. H. G. D.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U. Digital image-based flame emission spectrometry. *Talanta*. 77, 1584-1589, 2009. DOI: 10.1016/j.talanta.2008.09.057.

MADEIRA, L. M. C. G. Tratamento de cor em pós-produção televisiva: O caso da produtora de conteúdos SP televisão. 2012. Dissertação (Mestrado em Audiovisual e Multimídia). Instituto Politécnico de Lisboa. Lisboa – Portugal, 2012.

MAINIER, F. B.; VIOLA, E. D. M. O sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) e o meio ambiente. II **Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia – SEGeT**, 2005.

MARTINS, C. R.; SILVA, L. A.; ANDRADE, J. B. de. Sulfetos: por que nem todos são insolúveis? *Quim. Nova*, 33(10), 2283-2286, 2010. DOI: 10.1590/s0100-40422010001000044.

MARTINS, C. R.; ANDRADE, J. B. Química atmosférica do enxofre (IV): Emissões, reações em fase gasosa e impacto ambiental. **Química Nova**, 25, 259-272, 2002. DOI: 10.1590/S0100-40422002000200015.

MONEMI, N.; RAMANATHAN, K.; LARSSON, P. -O.; DANIELSSON, B.; BENGMARK, S.; KHAYYAMI, M. CCD-camera based capillary chemiluminescent detection of retinol binding protein. **Analytica Chimica Acta**, 387(1), 21-27, 1999. DOI: 10.1016/S0003-2670(99)00037-9.

MOREIRA, R. F. P. M. Estudos da formação de sulfeto de carbono e redução de dióxido de enxofre. 1994. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 1994.

MOURA, N. N. Análise exploratória de espécies de madeiras tropicais por medidas de fluorescência e resolução de curvas multivariadas. 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília. Brasília – DF, 2013.

OSHA - **OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH ADMINISTRATION**. H<sub>2</sub>S Safety and Health Hazards. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration Disponível em <[https://www.osha.gov/SLTC/etools/oilandgas/general\\_safety/h2s\\_monitoring.html](https://www.osha.gov/SLTC/etools/oilandgas/general_safety/h2s_monitoring.html)>. Acesso em: 20 out. 2020.

OSHA - **OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH ADMINISTRATION**. Hydrogen Sulfide (H<sub>2</sub>S). Disponível em: <[https://www.osha.gov/OshDoc/data\\_Hurricane\\_Facts/hydrogen\\_sulfide\\_fact.pdf](https://www.osha.gov/OshDoc/data_Hurricane_Facts/hydrogen_sulfide_fact.pdf)>. acesso em: 25 Out 2020.

OLIVEIRA, H. J. B. de. Modelagem do sensor de gás H<sub>2</sub>S usando o efeito de ressonância de plásmos de superfície numa fibra óptica tipo D. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

PALENZUELA, C. L. M.; PUMERA, M. (Bio)Analytical chemistry enabled by 3D printing: Sensors and biosensors. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 103, 110–118. 2018. DOI: 10.1016/j.trac.2018.03.016.

PASCALE, D. A Review of RGB Color Spaces ...from xyY to R'G'B'. **Babel Color**. 18, 136-152, 2003.

PETRUCI, J. F. da S.; CARDOSO, A. A. A new palladium chelate compound for determination of sulfide. **Microchemical Journal**, 106, 368–372, 2013. DOI: 10.1016/j.microc.2012.09.009.

PETRUCI, J. F. da S.; CARDOSO, A. A. Sensitive luminescent paper-based sensor for the determination of gaseous hydrogen sulfide. **Anal. Analytical Methods**, 7(6), 2687–2692, 2015. DOI: 10.1039/c4ay02952f.

PETRUCI, J. F. S. Sensores ópticos para quantificação de sulfeto de hidrogênio em matrizes gasosas por Espectrometria de Fluorescência no UV-visível e Espectroscopia de absorção no Infravermelho, 2014. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara – SP, 2014.

PETRUCI, J. F.; CARDOSO, A. A. Portable and disposable paper-based fluorescent sensor for in situ gaseous hydrogen sulfide determination in near real-time. **Anal. Chem.**, 88: 11714–11719, 2016. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b03325.

PRADO, A. R. Nanopartículas de Ouro em Fibras Ópticas: Uma Proposta Empírica para Detecção de Sulfeto de Hidrogênio (H<sub>2</sub>S) por Ressonância Plasmônica. 2017. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica.) – Centro Tecnológico, Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória – ES, 2017.

REES, T. D.; GYLLENSPETZ, A. B.; DOCHERTY A. C. The determination of traces amounts of sulphide in condensed steam with N,N-diethyl-p-phenylenediamine. **Analyst**, 96, 201-208, 1971. DOI: 10.1039/AN9719600201.

RINTALA, J. A.; PUHAKKA, J. A. Anaerobic treatment in pulp- and paper-mill waste management: a review. **Bioresource Technology**, 47, 1–18, 1994. DOI: 10.1016/0960-8524(94)90022-1.

RODA, A.; MICHELINI, E.; ZANGHERI, M.; DI FUSCO, M.; CALABRIA, D.; SIMONI, P. Smartphone-based biosensors: A critical review and perspectives. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 79, 317–325, 2016. DOI: 10.1016/j.trac.2015.10.019.

SCHEFFER, E. W. de O. Dinâmica e comportamento do cobre em ambientes aquáticos urbanos: influência de fatores geoquímicos e de sulfetos solúveis. 2006. Tese (Doutorado em Química) – Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR, 2006.

SCHEFFER, E. W.; SODRÉ, F. F.; GRASSI, M. T. Fatores que governam a especiação do cobre em ambientes aquáticos urbanos: evidências da contribuição de sulfetos solúveis. **Quim. Nova**, 30(2), 332-338, 2007. DOI: 10.1590/S0100-40422007000200018.

SCHUBERT, E. F. **Light-Emitting Diodes**. 1<sup>o</sup> ed. Cambridge University, Cambridge 2003.

SEGURA, D. F.; PETRUCI, J. F. da S.; CARDOSO, A. A.; FREM, R. C. G.; NETTO, A. V. de G.; CHAMPNESS, N. R. A new luminescent silver-based probe for on/off sulfide determination. **Inorganic Chemistry Communications**, 63, 93–95, 2016. DOI: 10.1016/j.inoche.2015.11.019.

SILVA NETO, G. F.; FONSECA, A.; BRAGA, J. W. B. Classificação de águas minerais baseada em imagens digitais obtidas por smartphones. **Quim. Nova**, 39(7), 876-881, 2016. DOI: 10.5935/0100-4042.20160088.

SILVA, C. R.; BARROS, V. A. F.; BASSO, L. C.; ZAGATTO, E. A. G. Spectrophotometric flow injection monitoring of sulfide during sugar fermentation. **Talanta**, 85, 1703-1705, 2011. DOI: 10.1016/j.talanta.2011.07.004.

SILVA, D. S. Desenvolvimento de procedimento para determinação fotométrica de etanol em bebidas destiladas sem uso de reagentes explorando o efeito Schlieren 2015. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2015.

SOUZA, F. R. de; DUARTE JUNIOR, G. F.; GARCIA, P. de T.; COLTRO, W. K. T. Avaliação de dispositivos de captura de imagens digitais para detecção colorimétrica em microzonas impressas. **Química Nova**, 37(7), 1171-1176, 2014. DOI: 10.5935/0100-4042.20140189.

TODA, K.; EBISU, Y.; HIROTA, K.; OHIRA, S. -I. Membrane-based microchannel device for continuous quantitative extraction of dissolved free sulfide from water and from oil. **Analytica Chimica Acta**. 741, 38–46, 2012. DOI: 10.1016/j.aca.2012.06.036.

TODA, K.; KUWAHARA, H.; OHIRA, S. -I. On-Site Measurement of Trace-Level Sulfide in Natural Waters by Vapor Generation and Microchannel Collection. **Environmental Science & Technology**, 45(13), 5622–5628, 2011. DOI: 10.1021/es2006226.

TODA, K.; OHIRA, S. I.; TANAKA, T.; NISHIMURA, T.; DASGUPTA, P. K. Field Instrument for Simultaneous Large Dynamic Range Measurement of Atmospheric Hydrogen Sulfide, Methanethiol, and Sulfur Dioxide. **Environmental science & technology**. 38, 1529–1536, 2004. DOI: 10.1021/es034450d.

TROJANOWICZ, M.; SZPUNAR-LOBINSKA, J.; MICHALSKI, Z. Multicomponent analysis with a computerized flow injection system using LED photometric detection. **Mikrochim. Acta**. 1, 159–169, 1991. DOI: 10.1007/BF01309022.

VALEUR, B.; BERBERAN-SANTOS, M. N. **Molecular Fluorescence: Principles and Applications**. 2nd ed. Wiley-VCH; Weinheim, Germany: 2012.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade da água e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. 3. Ed. 452p. 2005.

WANG, B.; LI, P.; YU, F.; CHEN, J.; QU, Z.; HAN, K. A near-infrared reversible and ratiometric fluorescent probe based on Se-BODIPY for the redox cycle mediated by hypobromous acid and hydrogen sulfide in living cells. **Chemical Communications**, 49(51), 5790-5792, 2013. DOI: 10.1039/C3CC42313A.

WANG, X. D.; WOLFBEIS O. S. Fiber-optic chemical sensors and biosensors (2008-2012). **Analytical chemistry**, 85(2) 487-508, 2012. DOI: 10.1021/ac303159b

WARDENCKI, W. Problems with the determination of environmental sulphur compounds by gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, 793(1), 1-19, 1998. DOI: 10.1016/S0021-9673(97)00997-7.

WEF - **Water Environment Federation**. Odor Control in Wastewater treatment Plants: Manual of practice nº 2. ASCE Manuals and Reports on Engineering Practice, New York, 282 p. 1995.

YANG, Q.; LI, J.; WANG, X.; PENG, H.; XIONG, H.; CHEN, L. Strategies of molecular imprinting-based fluorescence sensors for chemical and biological analysis. **Biosensors and Bioelectronics**, 112, 54–71, 2018. DOI: 10.1016/j.bios.2018.04.028.

YANG, X.-F.; WANG, L.; XU, H.; ZHAO, M. A fluorescein-based fluorogenic and chromogenic chemodosimeter for the sensitive detection of sulfide anion in aqueous solution., **Analytica Chimica Acta**. 631, 91–95, 2009. DOI: 10.1016/j.aca.2008.10.037.

YU, F.; HAN, X.; CHEN, L. Fluorescent probes for hydrogen sulfide detection and bioimaging. **Chemical Communications**, 50, 12234 - 12249, 2014. DOI: 10.1039/C4CC03312D.

ZIMER, A. M. Estudo da corrosão do aço ao carbono em meio de sulfeto. 2009. Tese (Doutorado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.