

Artigo

Determinação da Constante de Equilíbrio Utilizando Imagens Digitais

Ledesma, C. M.; Gelinski, J. M. L. N.; Borges, E. M.*

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (3), 555-572. Data de publicação na Web: 9 de abril de 2019

<http://rvq.sbj.org.br>

Equilibrium Constant Determination Using Digital Images

Abstract: Herein, analytical chemistry students determine the $[Fe(H_2O)_6]^{3+} + CSN^- \rightleftharpoons [Fe(H_2O)_5(SCN)]^{2+} + H_2O$ reaction equilibrium constants. $[Fe(H_2O)_6]^{3+}$ has a slight yellow color, CSN^- is colorless and $[Fe(H_2O)_5(SCN)]^{2+}$ are deep blood-red ($\lambda_{max} = 447$ nm). Thus, the reaction is easily observed. Equilibrium constants were calculated using eight $[Fe(H_2O)_6]^{3+}$ (0.002 mol L⁻¹) and SCN^- (0.002 mol L⁻¹) mixtures, $[Fe(H_2O)_5(SCN)]^{2+}$ concentrations were determinate using absorbance measured at 447 nm and RGB values extracted from digital images, which were obtained with a flatbed scanner. The paired t test showed that equilibrium constants determine using absorbance and digital images were statistically equivalent, at 95 % confidence interval. Additionally, students evaluated how well a calibration curve follows a straight-line using correlation coefficient, analysis of variance (ANOVA) and residual plots. A Microsoft Excel spreadsheet was provided in Google Drive, this Table organize data, provides calibration plots and determine equilibrium constants in the eight Fe^{3+} and SCN^- mixtures. This laboratory practice was carried out with 14 chemical engineering students working in pairs in Universidade Regional de Blumenau, it takes over 120-150 minutes. Extraction of RGB values from digital images and data analysis was carried out in a separate 50 minutes class.

Keywords: ImageJ; equilibrium constant; Iron thiocyanate; digital image.

Resumo

Este experimento proporciona aos alunos a oportunidade de determinar a constante de equilíbrio da reação $[Fe(H_2O)_6]^{3+} + CSN^- \rightleftharpoons [Fe(H_2O)_5(SCN)]^{2+}$, o $[Fe(H_2O)_6]^{3+}$ tem coloração amarela pálida, o CSN^- é incolor, enquanto o $[Fe(H_2O)_5(SCN)]^{2+}$ tem coloração vermelha intensa ($\lambda_{max} = 447$ nm). Portanto, a reação é facilmente observada. A constante de equilíbrio foi calculada utilizando oito misturas de Fe^{3+} (0,002 mol L⁻¹) e SCN^- (0,002 mol L⁻¹). A concentração do complexo $[Fe(H_2O)_5(SCN)]^{2+}$ foi determinada utilizando a absorbância mensurada a 447 nm e os valores de RGB extraídos de imagens digitais obtidas com um scanner de mesa. O teste t para duas amostras em par para a média mostra que as constantes de equilíbrio determinadas com a absorbância e com os valores de RGB são estatisticamente equivalentes em um intervalo de confiança de 95 %. Adicionalmente, os alunos tiveram a oportunidade de verificar a relevância do modelo linear da curva analítica utilizando coeficientes de correlação, análise de variância (ANOVA) e gráficos de resíduos. Uma planilha do Microsoft Excel é disponibilizada no Google Drive para organizar os dados gerar a curvas analíticas e determinar a constante de equilíbrio nas oito misturas de Fe^{3+} e SCN^- . Este experimento foi realizado com alunos do curso de Engenharia Química da Universidade Regional de Blumenau, o tempo de execução desta prática foi entre 120-150 minutos. A extração dos valores de RGB e a análise dos dados foram feitas em uma aula separada de aproximadamente 50 minutos.

Palavras-chave: ImageJ; constante de equilíbrio; tiocianato de ferro; imagem digital.

* Universidade Regional de Blumenau, Campus 1, Departamento de Química, Rua Antônio da Veiga, 140, Victor Konder, CEP 89012-900, Blumenau-SC, Brasil.

 marcelborgesb@gmail.com

DOI: [10.21577/1984-6835.20190043](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190043)

Determinação da Constante de Equilíbrio Utilizando Imagens Digitais

Cláudia Martins Ledesma,^{a,b} Jane Mary Lafayette Neves Gelinski,^c Endler Marcel Borges^{a,c,*}

^a Universidade Regional de Blumenau, Campus 1, Departamento de Química, Rua Antônio da Veiga, 140, Victor Konder, CEP 89012-900, Blumenau-SC, Brasil.

^b Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí, Rua Guilherme Guemballa 13 Jardim América, CEP 89160-000, Rio do Sul-SC, Brasil.

^c Universidade do Oeste de Santa Catarina, Núcleo Biotecnológico, Rua Paese 198, Bairro Universitário-Bloco K, CEP 89560-000, Videira-SC, Brasil

* marcelborgesb@gmail.com

Recebido em 6 de fevereiro de 2018. Aceito para publicação em 12 de fevereiro de 2019

1. Introdução

2. Parte Experimental

2.1. Materiais e reagentes

2.2. Equipamentos

2.3. Preparação das Soluções de Fe³⁺

2.4. Preparo da solução de KSCN

2.5. Preparo da curva analítica

2.6. Determinação da constante de equilíbrio

2.7. Determinação da constante de equilíbrio utilizando imagens digitais

3. Resultados e Discussão

3.1. Obtenção das curvas analíticas

3.2. Cálculo das constantes de equilíbrio através da concentração de [Fe(H₂O)₅(SCN)]²⁺

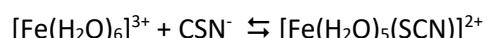
3.3. Comparaçao entre as constantes de equilíbrio determinadas com a absorbância mensurada a 447 nm e com os valores normalizados B

4. Conclusão

1. Introdução

propomos um experimento, no qual os alunos podem estimar a constante de equilíbrio da reação:

O equilíbrio químico é um dos conceitos fundamentais da química. Portanto, nós

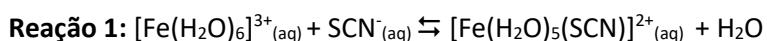


Diversos conceitos são apresentados no decorrer deste experimento, como, por exemplo, a quantificação de um analito utilizando uma curva analítica, a espectroscopia de absorção molecular, na região do visível, a determinação de uma constante de equilíbrio e a utilização de planilhas eletrônicas para realizar cálculos.

A reação escolhida para este estudo foi a reação entre o $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ e o tiocianato (SCN^-), porquê o $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ tem uma coloração amarela pálida e o tiocianato é

incolor, quando ocorre reação entre os íons, um produto de coloração vermelho-sangue se forma, $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$.

Existem inúmeros experimentos didáticos que estudam a constante de equilíbrio da Reação 1.¹⁻⁶ A reação é facilmente observada devido a coloração vermelho sangue do $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$. A simplicidade da reação permite que a concentração dos reagentes no equilíbrio seja facilmente calculada, desde que, a concentração do complexo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ seja conhecida.



A técnica utilizada neste trabalho para determinar a concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$, no equilíbrio, é a espectrofotometria de absorção molecular. A

Eq. 1, na qual A_λ é absorbância em um comprimento de onda específico, b_λ é coeficiente de absorvidade em um

relação entre a absorbância de uma solução e a quantidade de espécie absorvente, em um dado comprimento de onda é dada pela

comprimento de onda específico, a é o caminho óptico e C é concentração da espécie absorvente.¹

$$\text{Eq. 1: } A_\lambda = ab_\lambda C$$

A Eq.1 é conhecida como lei de Lambert-Beer e propõe uma dependência linear entre a absorbância e a concentração das espécies presentes em uma solução. Por exemplo, um feixe de luz passa por uma cubeta contendo apenas água e $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ e chega ao detector com uma intensidade I_0 , enquanto um feixe de luz de mesma intensidade passa através de uma cubeta contendo água e o complexo vermelho, $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$, chegando ao detector com uma intensidade I (Eq. 2).

O olho humano só é capaz de observar a luz na região de 400 e 800 nm, toda substância que absorve luz nesta região é “colorida” para os olhos humanos. Quando a espectroscopia de absorção envolve a absorção de radiação na região do visível está também é chamada de colorimetria.

As metodologias analíticas que utilizam colorimetria para fins quantitativos são as mais usadas, devido a sua simplicidade e baixo custo.⁷ Portanto, a utilização desta técnica em aulas experimentais, durante a graduação, é de suma importância.^{8,9}

$$\text{Eq. 2: } -\log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right) = -\log_{10}(T) = A = ab_\lambda C$$

O desenvolvimento de métodos quantitativos utilizando imagens digitais é cada vez mais utilizada para fins educativos e

científicos.¹⁰⁻¹⁹ Neste experimento, a concentração do complexo vermelho $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ é determinada através da

absorbância, mensurada em 447 nm, e dos valores de RGB extraídos de imagens digitais, obtidos com um scanner de mesa.

Uma imagem digital é uma representação gráfica em duas dimensões de uma figura e é formada por um conjunto finito de unidades básicas denominadas “pixels”, que contêm informações de localização espacial e intensidade luminosa, armazenadas na forma de uma matriz numérica.²⁰ O modelo RGB é o modelo mais utilizado em imagens digitais, neste modelo as cores são compostas por combinações lineares das cores primárias, vermelho (Red), verde (Green) e azul (Blue), portanto, neste sistema toda cor pode ser definida como um vetor com três coordenadas (R, G, B) e os valores podem variar de 0 a 255, ou seja, são possíveis mais de 16,77 milhões (255^3) de combinações diferentes de cores.²⁰

Imagens digitais obtidas com scanners e *smartphones* são utilizadas em substituição a absorbância mensurada com um espectrofotômetro,¹⁹ como, por exemplo, determinar a concentração de vitamina C em suplementos alimentares,¹⁰ determinação da constante de equilíbrio,¹³ determinação da concentração de proteínas,¹⁵ atividade da amilase,¹⁶ concentração de cobre na cachaça,²¹ diagnóstico de dengue,²² classificação de águas minerais,²³ quantificação de manganês em pilhas,²⁴ quantificação de fosfato em refrigerante,²⁵ dureza e alcalinidade da água,²⁶ acidez de vinho tinto,²⁷ determinação da concentração de ferro em água e em alimentos,^{28,29} quantificação de estreptomicina em medicamentos,³⁰ determinação da percentagem etanol em bebidas,³¹ quantificação do corante (*sunset yellow*) em alimentos,³² quantificação de ácido salicílico³³ e adulteração do álcool combustível.³⁴

2. Parte Experimental

2.1. Materiais e reagentes

Ácido nítrico 65 % da Synth, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (404 g mol⁻¹) e KSCN 99 % (97,18 g mol⁻¹) da Sigma-Aldrich.

2.2. Equipamentos

As medidas de absorbância foram obtidas em um espectrofotômetro Shimadzu modelo 1800 em 475 nm e as imagens digitais foram obtidas utilizando um scanner Canon LIDE 120.

2.3. Preparação das Soluções de Fe^{3+}

Nesta aula experimental foi utilizada uma solução estoque 0,2 mol L⁻¹ de Fe^{3+} preparada em ácido nítrico 10 %.

A solução de trabalho 0,002 mol L⁻¹ é preparada pela dissolução de 10 mL da solução de estoque em um balão de 1 L. A concentração da solução estoque é calculada pela

Eq. 3, e a concentração da solução de trabalho é calculada através da Eq. 4. Na Eq. 3, m é a massa medida em g, MM é a massa molar do $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (404 g mol⁻¹) e V é o volume em L. Na Eq. 4, C_T é a concentração da solução de trabalho, em mol L⁻¹, V_T é o volume da solução de trabalho em mL, V_E é o volume da solução estoque em mL, e C_E é a concentração da solução estoque, em mol L⁻¹.

Neste caso, a solução estoque (0,2 mol L⁻¹) é utilizada para fazer a curva de calibração, enquanto a solução de trabalho (0,002 mol L⁻¹) é utilizada para preparar as misturas de Fe^{3+} e tiocianato, onde a constante de equilíbrio será determinada.

$$\mathbf{Eq.~3:} \quad C_E = \frac{m}{PM \times V}$$

$$\mathbf{Eq.~4:} \quad C_T = \frac{C_E \times V_E}{V_T}$$

2.4. Preparo da solução de KSCN

Neste experimento, foi utilizada uma solução estoque de KSCN 0,2 mol L⁻¹.

A solução estoque de tiocianato foi utilizada para preparar duas soluções diluídas de tiocianato, com concentrações de 0,002 mol L⁻¹ e 0,0005 mol L⁻¹. A solução 0,002 mol L⁻¹ é preparada pela dissolução de 10 mL da solução de estoque em um balão de 1 L. A solução 0,0005 mol L⁻¹ é preparada pela dissolução de 25 mL de solução 0,002 mol L⁻¹ em um balão de 100 mL.

2.5. Preparo da curva analítica

A solução de KSCN 0,0005 mol L⁻¹ é colocada em uma bureta e volumes de 0, 1, 2, 3, 4, 5, mL são adicionados a tubos de ensaio contendo 5 mL de Fe³⁺ 0,2 mol L⁻¹, posteriormente, o volume é completado para 10 mL utilizando uma bureta com água deionizada. A Tabela 1 mostra os volumes e as concentrações das soluções que devem ser misturadas para preparar a curva analítica. Observe que a concentração de [Fe(H₂O)₆]³⁺ é 0,2/0,005 = 400 vezes maior que a concentração de KSCN, garantido que, todo o SCN⁻ seja convertido no complexo [Fe(H₂O)₅(SCN)]²⁺.³⁴

Tabela 1. Volumes de Fe³⁺ 0,2 mol L⁻¹, KSCN 0,0005 mol L⁻¹ e água deionizada utilizados para preparar as curvas de calibração

solução	KSCN; mL	Fe ³⁺ ; mL	Água deionizada; mL
0	0	5	5
1	1	5	4
2	2	5	3
3	3	5	2
4	4	5	1
5	5	5	0

As concentrações das soluções utilizadas para preparar a curva analítica podem ser calculadas utilizando as Eq. 3 e Eq. 4 como é mostrado abaixo. Presumindo que foram

medidos exatamente 1,94 mg de KSCN em um balão de 100 mL, a concentração da solução de trabalho de acordo com a Eq. 3 é:

$$C_E = \frac{m}{PM \times V} = \frac{1,94 \text{ g}}{97,18 \text{ g mol}^{-1} \times 0,1 \text{ L}} = 0,20 \text{ mol L}^{-1}$$

Supondo que a solução estoque tenha concentração 0,20 mol L⁻¹ e utilizando a Eq. 4,

a concentração da solução de trabalho é:

$$C_{T;0,002} = \frac{C_E x V_E}{V_T} = \frac{0,20 \text{ mol L}^{-1} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 0,002 \text{ mol L}^{-1}$$

Para preparar a solução $0,0005 \text{ mol L}^{-1}$ é necessário diluir 25 mL da solução $0,002 \text{ mol L}^{-1}$ em um balão de 100 mL.

$$C_{T;0,0005} = \frac{0,002 \text{ mol L}^{-1} \times 25 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 0,0005 \text{ mol L}^{-1}$$

A solução 1 (Tabela 1) terá concentração de $0,0005 \text{ mol L}^{-1}$ (Eq. 4). As absorbâncias das soluções 1 a 5 foram mensuradas, utilizando a solução 0 como branco.

Neste roteiro, está disponível como um link do Google Drive,³⁵ uma planilha do Microsoft Excel que calcula automaticamente a concentração das soluções de trabalho e de estoque, das soluções utilizadas para preparar a curva analítica e os coeficientes da curva analítica.

A Figura 1 mostra a planilha disponível como link do Google Drive para auxiliar nos cálculos. Por exemplo, a concentração da solução de estoque de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ poderá ser calculada utilizando esta planilha eletrônica, na célula B19 está a massa medida de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, na célula B20 está a MM do $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, na célula B21 está o volume da solução que será preparado (0,25 L), a concentração da solução de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ é calculado na célula C16 utilizando a Eq. 3.

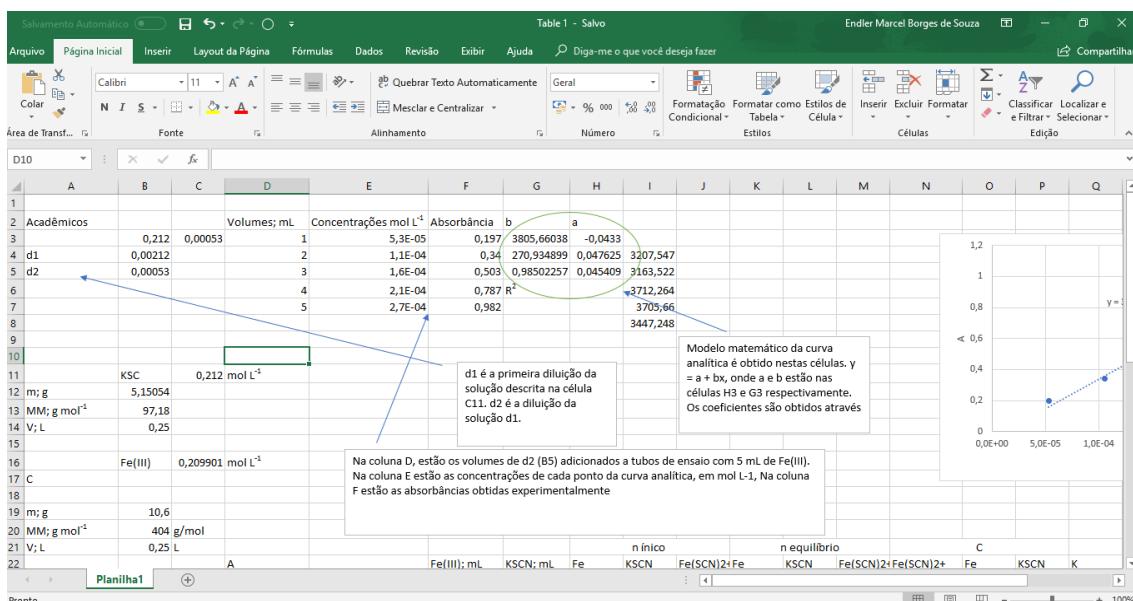


Figura 1. Planilha do Microsoft Excel disponível como um link do Google Drive para determinar a concentração do complexo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ em cada uma das misturas

Por sua vez, a concentração da solução de estoque de KSCN poderá ser calculada da mesma forma, onde a massa medida de KSCN está na célula B12, o MM do KSCN está na célula B13 ($97,18 \text{ g mol}^{-1}$) e o volume da

solução que será preparada está na célula B14. A concentração da solução de estoque de KSCN é calculada na célula C11.

As concentrações das soluções diluídas de KSCN são calculadas nas células B4 e B5 conforme a Eq. 4. A concentração de KSCN em cada uma das soluções da curva de calibração são calculadas nas células E3:E7, as absorbâncias mensuradas para cada uma destas soluções são inseridas nas células F3:F7 e a equação da curva analítica é calculada utilizando a função proj.lin, (valores de y; valores de x; verdadeiro; verdadeiro).

2.6. Determinação da constante de equilíbrio

Para determinar a constante de equilíbrio foram preparadas diversas misturas de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ e SCN^- , onde a concentração inicial dos reagentes era conhecida (Tabela 2).

Para determinar a constante de equilíbrio em cada uma das soluções a Planilha do Microsoft Excel mostrada na Figura 1 poderá ser utilizada.³⁷

2.7. Determinação da constante de equilíbrio utilizando imagens digitais

As imagens foram obtidas colocando as placas de 96 micro-poços em um scanner Canon LIDE 120. As imagens foram obtidas com 600 dpi no formato *Joint Photographic Experts Group* (JPEG). As opções de correção automática da imagem pelo software foram desabilitadas e o software do scanner era o *Canon IJ Scan Utility*.

Os valores de RGB foram extraídos das imagens utilizando o software ImageJ, este software poderá ser obtido gratuitamente na Web Page <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>. Os valores de cada canal (RGB) de todos os poços da microplaca podem ser extraídos simultaneamente utilizando o plugin “ReadPlate” do ImageJ, disponível na Web Page <https://imagej.nih.gov/ij/plugins/readplate/index.html>

Tanto o ImageJ quanto o ReadPlate são *freewares*, isto significa que ambos são softwares de uso livre.

Uma descrição detalhada de como extrair os valores de RGB poderá ser obtida em Colzani et al.²⁴

Tabela 2. Misturas de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ 0,002 mol L⁻¹ e SCN^- 0,002 mol L⁻¹

mistura	Fe^{3+} ; mL	KSCN; mL
1	4	1
2	4	1,5
3	4	2
4	4	2,5
5	1	4
6	1,5	4
7	2	4
8	2,5	4

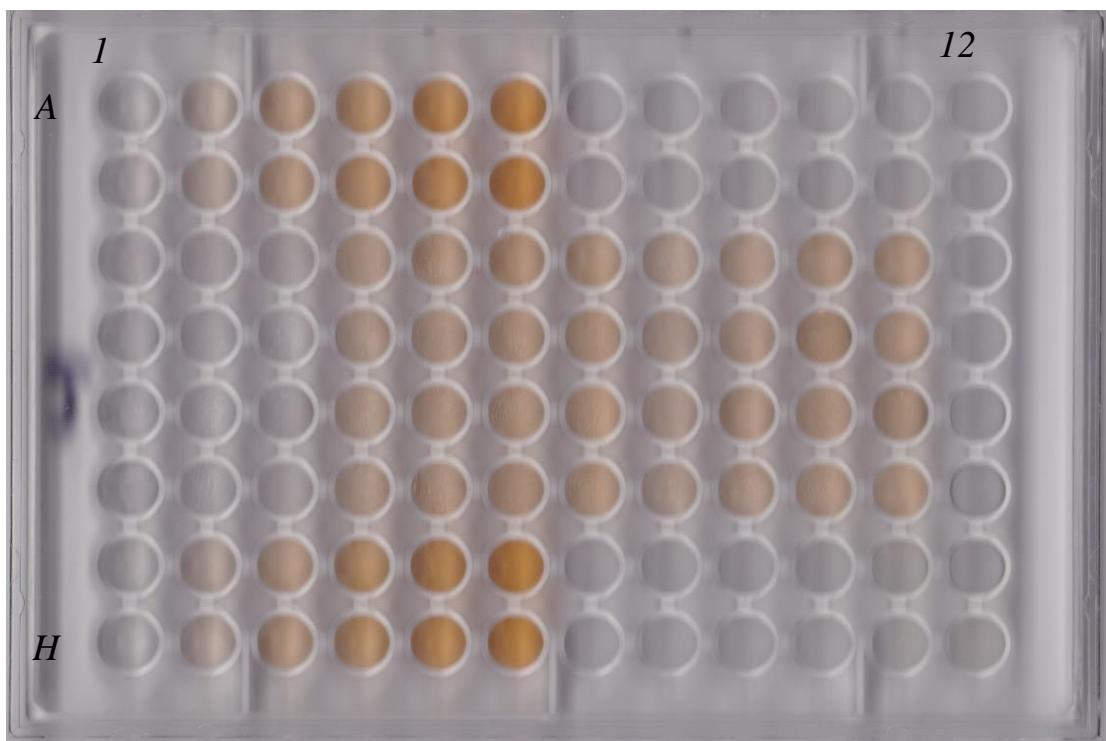


Figura 2. Ilustração de uma placa de 96 micro-poços utilizada neste experimento para determinar a constante de equilíbrio da Reação 1

A soluções da curva de calibração são colocadas nas laterais da placa. A solução 0 (Tabela 1) é colocada nos poços A1, B1, G1 e H1, a solução 1 é colocada nos poços A2, B2, G2 e H2 e assim sucessivamente.

As misturas, nas quais as constantes de equilíbrio foram determinadas, foram colocadas nos poços no centro da placa. Por exemplo, a mistura 1 (Tabela 2) é colocada nos poços C4, D4, E4 e F4.

Neste experimento é disponibilizada uma planilha do Microsoft Excel que organiza os dados extraídos com o plugin ReadPlate do ImageJ de maneira a construir as curvas analíticas e determinar as concentrações e as constantes de equilíbrio em cada mistura

descrita na Tabela 2 (veja a planilha do Microsoft Excel disponível como link do Google Drive).^{35,36}

A função de cada célula na planilha está explicada como caixas de texto. Nesta planilha os valores de R, G e B são normalizados e a absorbância é calculada.

A Tabela disponível no Google Drive para organizar os valores de RGB extraídos das imagens digitais têm três abas R, G e B, onde os valores de RGB devem ser importados do ImageJ. Em plan4 são feitos os cálculos para determinar a concentração dos produtos da reação no equilíbrio como é mostrado na Figura 3.

Table 2 - Excel											
Salvamento Automático											
Arquivo Página Inicial Inserir Layout da Página Fórmulas Dados Revisão Exibir Diga-me o que você deseja fazer Entrar Compartilhar											
1	AT	AU	AV	AW	AX	AY	AZ	BA	BB	BC	BD
2	Fe	KSCN	Fe	KSCN	Fe(SCN)2+ Fe	Before			Equilibrium		
3	1	4	1	0.008483	0.00212	8.07E-03	1.71E-03	4.08E-04	8.17E-05	1.61E-03	0.000342
4	2	4	1.5	0.008483	0.00318	7.90E-03	2.60E-03	5.82E-04	1.06E-04	1.44E-03	0.000472
5	3	4	2	0.008483	0.00424	7.75E-03	3.51E-03	7.28E-04	1.21E-04	1.29E-03	0.000585
6	4	4	2.5	0.008483	0.0053	7.73E-03	4.55E-03	7.51E-04	1.16E-04	1.19E-03	0.0007
7	5	1	4	0.002121	0.00848	1.79E-03	8.15E-03	3.30E-04	6.60E-05	3.58E-04	0.00163
8	6	1.5	4	0.003181	0.00848	2.70E-03	8.00E-03	4.79E-04	8.71E-05	4.91E-04	0.001455
9	7	2	4	0.004241	0.00848	3.69E-03	7.92E-03	5.55E-04	9.26E-05	6.14E-04	0.001321
10	8	2.5	4	0.005302	0.00848	4.62E-03	7.80E-03	6.83E-04	1.05E-04	7.11E-04	0.0012
11											123.2221
12											134.39883
13											18.87905
14						Before			Equilibrium		
15	Fe	KSCN	Fe	KSCN	Fe(SCN)2+ Fe	KSCN	Fe(SCN)2+	Fe(SCN)2+Fe	KSCN	K	C
16	1	4	1	0.008483	0.00212	7.99E-03	1.63E-03	4.88E-04	9.76E-05	1.60E-03	0.000326
17	2	4	1.5	0.008483	0.00318	7.83E-03	2.53E-03	6.55E-04	1.19E-04	1.42E-03	0.000459
18											182.21600

Figura 3. Planilha do Microsoft Excel utilizada para organizar os dados extraídos das imagens digitais com o ImageJ

Os valores de R, G e B extraídos da Figura 2 com o plugin ReadPlate foram normalizados utilizando a Eq. 5, Eq. 6 e Eq. 7, respectivamente. Posteriormente os valores

normalizados de R, G e B foram convertidos em resposta analítica através das equações Eq. 8, Eq. 9 e Eq. 10, respectivamente.

$$\text{Eq. 5: } \bar{R} = \frac{R}{\sqrt{R^2+G^2+B^2}}$$

$$\text{Eq. 6: } \bar{G} = \frac{G}{\sqrt{R^2+G^2+B^2}}$$

$$\text{Eq. 7: } \bar{B} = \frac{B}{\sqrt{R^2+G^2+B^2}}$$

$$\text{Eq. 8: } A = -\log_{10}(\bar{R}/\bar{R}_0)$$

$$\text{Eq. 9: } A = -\log_{10}(\bar{G}/\bar{G}_0)$$

$$\text{Eq. 10: } A = -\log_{10}(\bar{B}/\bar{B}_0)$$

Por exemplo, na Figura 2, o valor normalizado do azul no branco (\bar{B}_0) é $151/\sqrt{(153^2 + 148^2 + 151^2)} = 0,579$ (Eq. 7), de maneira análoga \bar{B} no poço A2 é 0,552. Desta forma, a resposta analítica obtida para o valore normalizado do azul (\bar{B}) no poço A2, de acordo com a Eq. 10, é $A = -\log_{10}(0,552/0,579) = 0,022$.

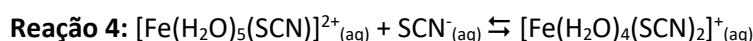
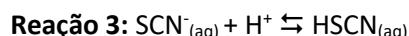
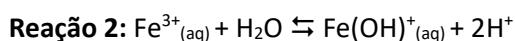
3. Resultados e Discussão

Os valores reportados na literatura para a constante de equilíbrio para a Reação 1 variam devido a uma série de fatores como, a força iônica.³⁷ Nós podemos observar que a constante de equilíbrio mensurada varia em função do sal de Fe(III) utilizado devido a força iônica. Neste ponto, devemos destacar que

nesta experimento se utiliza apenas a concentração e não a atividade.

Este experimento deve ser realizado em pH 1, para evitar a hidrolise do Fe^{3+} , conforme a Reação 2,³⁷ na qual o volume do ácido utilizado afetará a força iônica e a

concentração de SCN^- (Reação 3). O tempo que se espera para fazer a determinação do complexo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ também influencia o valor da constante de equilíbrio, devido a formação do complexo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{SCN})_2]^+$ (Reação 4).³⁷



Este experimento foi dividido em três partes. Na primeira parte, as curvas analíticas foram obtidas e a qualidade dos modelos lineares propostos para as curvas analíticas foram testadas. Na segunda parte, as concentrações de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ foram determinadas através da curva analítica e as constantes de equilíbrio foram determinadas. Na terceira parte, as constantes de equilíbrio obtidas através da absorbância mensurada a 447 nm foram comparados com as constantes de equilíbrio obtidas através dos valores de RGB extraídos das imagens digitais.

3.1. Obtenção das curvas analíticas

Para determinar a concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ nas misturas de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$ e SCN^- são preparadas soluções de concentração conhecidas de SCN^- e a absorbância é mensurada a 447 nm para que se obtenha uma relação linear entre a concentração e absorbância, este gráfico é mostrado na Figura 4. A concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ vs absorbância pode ser expressa através de um modelo linear (Eq. 11),

na qual y é a absorbância, x é a concentração do complexo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ em $\mu\text{mol L}^{-1}$, a é o coeficiente linear e b é o coeficiente angular. A equação da curva analítica é rearranjada para determinar a concentração do analito (Eq. 12). Por exemplo, em uma mistura, $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$ e SCN^- que apresenta uma absorbância de 0,347 a concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ é $(0,347 + 0,0433)/3805,7 = 1,03 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Neste caso é necessário que todo o tiocianato seja convertido no complexo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$, ou seja, que o equilíbrio na Reação 1 seja deslocado para a direita. Para deslocar o equilíbrio para direita basta utilizar uma concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$ da ordem de 100 a 400 vezes maior que a concentração de tiocianato e todo o tiocianato é convertido em $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$. Por esta razão, soluções de tiocianato com concentrações da ordem de 0,0005 mol L^{-1} a 0,002 mol L^{-1} são misturadas com soluções de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$ 0,2 mol L^{-1} .

A concentração do complexo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ foi determinada utilizando a absorção do complexo em 447 nm, porque os reagentes não absorvem neste comprimento de onda.³⁸

$$\text{Eq. 11: } y = a + bx$$

$$\text{Eq. 12: } x = (y - a)/b$$

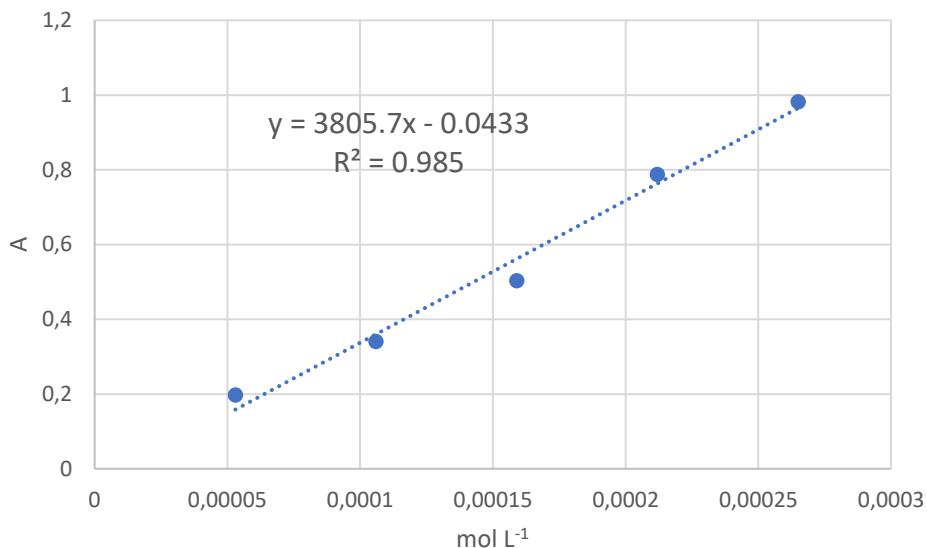


Figura 4. Curva analítica obtida com a absorbância mensurada a 447 nm com um espectrofotômetro

A curva analítica também pode ser obtida através dos valores de RGB extraídos das imagens digitais. A Figura 5 mostra as curvas analíticas obtidas com os valores normalizados de RGB extraídos dos poços da imagem digital da placa de 96 micro-poços. Neste ponto, o aluno pergunta “Qual destas três curvas analíticas é a mais adequada para determinar a concentração de

$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ nas misturas de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ e SCN^- ”. Observando a Figura 5 fica evidente que a curva analítica obtida a Eq. 10, apresenta um coeficiente angular maior que as curvas analíticas obtidas Eq. 8 e Eq. 9, portanto é a mais adequada para determinar as concentrações, pois quanto maior o coeficiente angular menor o erro associado à concentração.³⁹

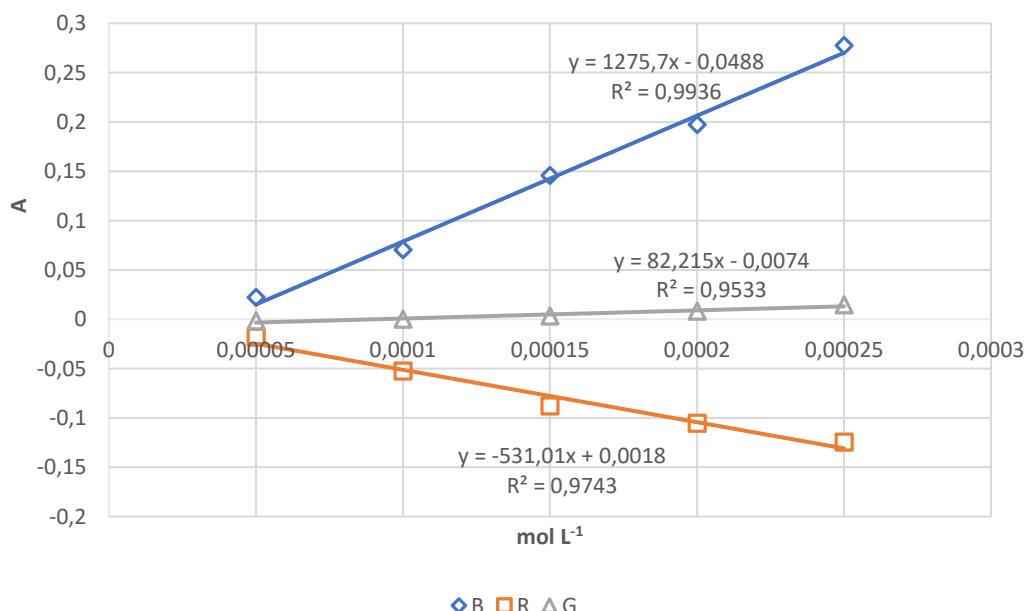


Figura 5. Curvas analíticas obtidas com a Eq. 8, Eq. 9 e Eq. 10

Quanto aos modelos lineares mostrados na Figura 4. e Figura 5, como podemos avaliar a qualidade destes modelos? Uma maneira de verificar a linearidade das curvas analíticas é o coeficiente de regressão,³⁹ R^2 . O R^2 é dado pelo Microsoft Excel, quando se utilizada a opção “Adicionar linha de tendência”. O valor de R^2 também é obtido pela função proj.lin do Excel.

O INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia) recomenda um valor R^2 maior que 0,90.⁴⁰ Como na Figura 4. e Figura 5 as curvas analíticas apresentam R^2 maior que 0,9, podemos concluir que os modelos lineares propostos para as curvas analíticas são lineares.

Na Figura 5, o maior valor de R^2 é obtido para a curva analítica obtida com a Eq. 10, isto indica que dentre os valores normalizados de RGB, os valores de \bar{B} fornecem uma curva analítica melhor que as curvas analíticas obtidas com a Eq. 8 e Eq. 9.

O INMETRO recomenda que a qualidade do modelo linear proposto para a curva analítica seja testado por outro método além do valor de R^2 , outra opção para verificar adequação do modelo linear proposto para a curva analítica é o valor F-Snedecor na análise da variância (ANOVA) da regressão, onde quanto maior o valor de F mais preciso o modelo proposto.⁴⁰

O teste F na análise da variância (ANOVA) da regressão podem ser feitos rapidamente utilizando a ferramenta regressão do Microsoft Excel, esta ferramenta está no menu “análise de dados”, para acessa-la basta clicar em dados e no ícone “análise de dados” localizado no canto a direita da aba. Uma descrição completa de como se faz ANOVA de uma regressão pode ser encontrada no trabalho de Pimentel e Neto⁴¹.

O valores de F obtido utilizando a absorbância mensurada em 447 nm (Figura 4) é de 197, enquanto os valores de F para as curvas analíticas obtidas com as Eq. 8, Eq. 9 e Eq. 10 (Figura 5) foram 114, 61 e 462, respectivamente. O maior valor de F obtido com a Eq. 10 mostra que esta apresenta maior linearidade que as curva analíticas obtidas com a Eq. 8 e Eq. 9. Por esta razão, a concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$, nas oito misturas de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ e tiocianato, foi determinada utilizando a Eq. 10.

A análise do gráfico dos resíduos permitirá detectar problemas no ajuste da curva como, por exemplo, desvios da linearidade, presença de amostras atípicas (quando resíduo para um ponto da curva analítica é maior que os demais), heterocedastidade (quando os resíduos aumentam ou diminuem ao longo da curva analítica) e dependência entre os erros (quando os resíduos apresentam tendência). Uma curva bem ajustada deverá apresentar resíduos com distribuição uniforme, homocedastidade, e ausência de amostras atípicas.⁴²

As Figura 6a e 6b exibem as distribuição dos resíduos para as curvas analíticas obtidas com a absorbância mensurada a 447 nm e com a Eq. 10, respectivamente. Estes gráficos apresentam distribuição uniforme, homocedastidade, e ausência de amostras atípicas.

As Figura 6b e 6c exibem a distribuição dos resíduos das curvas analíticas obtidas pelas Eq. 8 e Eq. 9, respectivamente. Estes gráficos apresentam desvio da linearidade, cabe ressaltar, que estas curvas analíticas apresentam valores de R^2 e F-Snedecor aceitáveis, mas somente através dos gráficos de resíduos podemos observar o desvio da linearidade que ocorre com a Eq. 8 e Eq. 9.

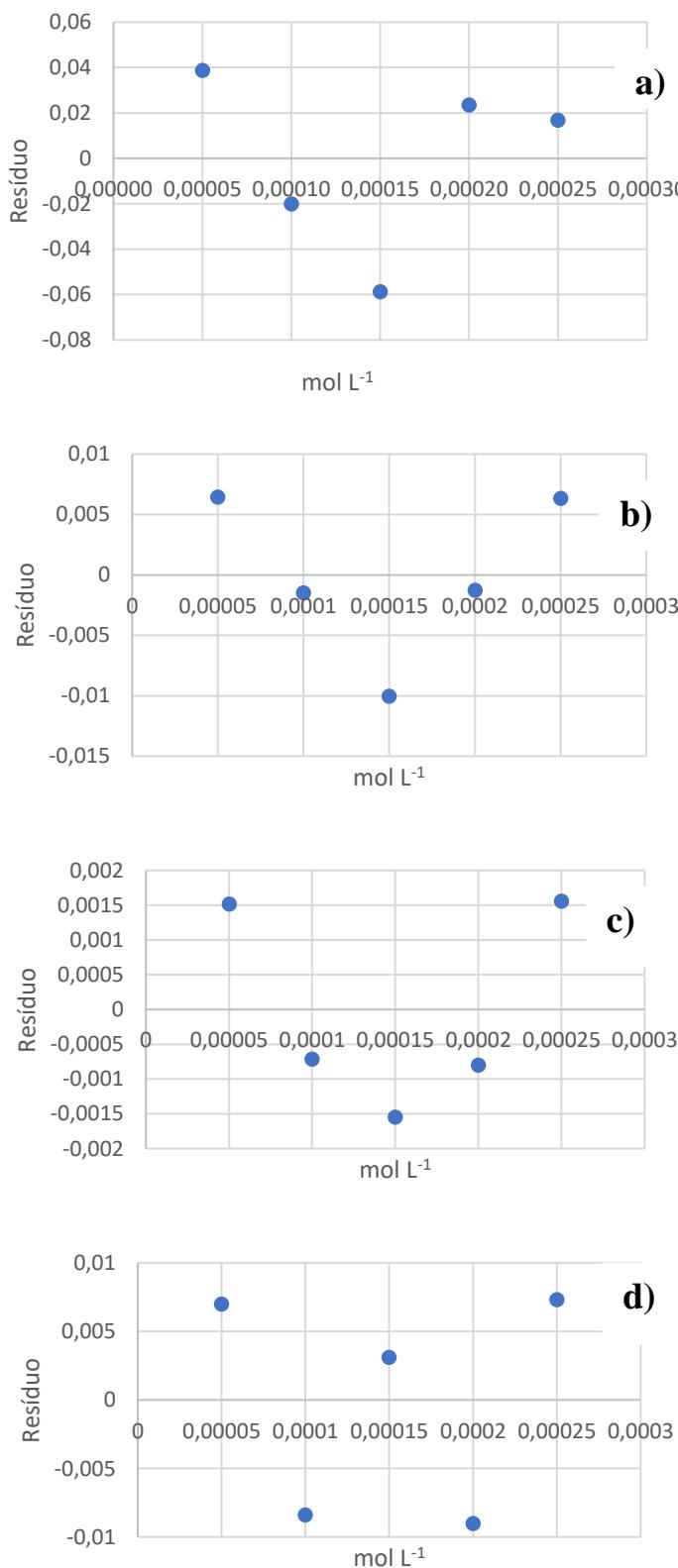


Figura 6. Gráficos dos Resíduos para a curva analíticas obtida com: a) a absorbância mensurada em 447 nm b) Eq. 8 c) Eq. 9 e d) Eq. 10

3.2. Cálculo das constantes de equilíbrio através da concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$

Uma vez que as curvas analíticas foram obtidas a concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$, poderá ser determinada. Por exemplo, na Figura 2, nos poços C5, D5, E5 e F5 que contém a mistura de 4 mL de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ e 2,5 mL de SCN^- (ambas as soluções $2,12 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), a Eq. 10 fornece um valor $A = 0,08$, utilizando a curva analítica ($y = 1275,7x - 0,0488$, na Figura 5) a concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ é determinada utilizando a Eq. 12, $(0,08 - 0,0488)/1275,7 = 1,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Para ilustrar como a constante de equilíbrio pode ser calculada, são apresentados os cálculos para a mistura $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ e SCN^- , descrita no parágrafo anterior. O volume final da mistura é 6,5 mL (4 + 2,5 mL), como a concentração de

$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ é $1,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, o número de mol de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ provenientes da Reação 1 foi determinado como $1,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \times 6,5 \times 10^{-3} \text{ L} = 6,63 \times 10^{-7} \text{ mol}$. O número de mol inicial de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ presentes antes da reação ocorrer era $(12 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}) \times (4 \times 10^{-3} \text{ L}) = 84,8 \times 10^{-7} \text{ mol}$, por analogia, o número de mol de SCN^- presentes antes da reação acontecer era $53 \times 10^{-7} \text{ mol}$. Desta forma, no equilíbrio, o número de mol de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ é $(84,8 \times 10^{-7}) - (6,63 \times 10^{-7} \text{ mol}) = 78,2 \times 10^{-7} \text{ mol}$, por analogia, o número de mol de SCN^- , no equilíbrio, era $46,4 \times 10^{-7} \text{ mol}$. No equilíbrio, a concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ é determinada como $C = n/V$, $8,48 \times 10^{-6} \text{ mol} / 6,5 \times 10^{-3} \text{ L} = 12 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, por analogia a concentração de SCN^- , no equilíbrio, é $7,13 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Por fim, a constante de equilíbrio foi calculada utilizando a Eq. 13: $1,02 \times 10^{-4} / (12 \times 10^{-4} \times 7,13 \times 10^{-4}) = 119$.

$$\text{Eq. 13: } K = \frac{[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}}{[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}[\text{SCN}^-]}$$

Observe que o cálculo das constantes de equilíbrio poderá ser realizado de uma maneira simples e descomplicada através das planilhas do Microsoft Excel que estão disponíveis como links do Google drive.^{35,36}

3.3. Comparação entre as constantes de equilíbrio determinadas com a absorbância mensurada a 447 nm e com os valores normalizados B

No início, o objetivo deste trabalho, era determinar a concentração de $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6(\text{SCN})]^{2+}$ nas soluções utilizando imagens digitais obtidas com um smartphone.^{11,29} No entanto, a influência da luz ambiente não proporcionou resultados estatisticamente equivalentes aos resultados obtidos utilizando um espectrofotômetro,^{24,25}

por esta razão, a comparação das constantes de equilíbrio, obtidas através da absorbância mensurada a 447 nm e com os valores normalizados de B (Eq. 10), através de testes estatísticos é importante.

O teste t, para duas amostras em par para a média, é o método utilizado para comparar métodos, por exemplo, comparar as constantes de equilíbrio utilizando a absorbância e a Eq. 10.

A comparação entre os resultados foi feita através do teste t, para duas amostras em par para a média, de acordo com a Eq. 14, onde Δm é a média das diferenças dos resultados. n é o número de observações e Δs é o desvio padrão das diferenças. Este teste pode ser realizado utilizando o Microsoft Excel clicando em “Dados” e em “teste t para duas em par para a média”.

$$\text{Eq. 14: } t = (\Delta m \times \sqrt{n}) / \Delta s$$

A Tabela 3 mostra as constantes de equilíbrio determinadas utilizando a absorbância mensurados a 447 nm e a Eq 10. O valor de t calculado com a Eq. 14 utilizando os valores mostrados na Tabela 3 é $t_{calculado} = 0,16$, como o valor de $t_{crítico\ uni-caudal}$ é 1,89 (para

um intervalo de confiança de 95 %, com 7 graus de liberdade), temos $t_{calculado} < t_{crítico\ uni-caudal}$. Portanto, podemos concluir que as constantes de equilíbrio obtidas com ambos os métodos são estatisticamente equivalentes, em um intervalo de confiança de 95 %.

Tabela 3. Constantes de equilíbrio para a Reação 1 utilizando a absorbância mensurada a 447 nm e com a Eq. 10

solução	K UV 447 nm	K	\bar{B}	Δ
1	141		120	21
2	133		120	13
3	135		119	16
4	119		120	-1
5	120		134	-15
6	113		120	-8
7	103		121	-18
8	107		122	-15
Δm				-0.88
Δs				15.54

Adicionalmente, os valores das constantes de equilíbrio mostrados na Tabela 3 são próximos dos valores reportados na literatura.¹⁻⁶

4. Conclusão

Este experimento poderá ser realizado em qualquer escola, em virtude do baixo custo e toxicidade dos reagentes utilizados.⁴³

O uso de imagens digitais em análises químicas é uma alternativa para a quantificação de substâncias coloridas. Neste trabalho, a constante de equilíbrio da Reação 1 foi determinada através da absorbância mensurada a 447 nm e da Eq. 10, as constantes de equilíbrio obtidas com ambos os métodos se mostraram equivalentes em um intervalo de confiança de 95 %.

Os alunos se mostraram interessados em desenvolver um método calorímetro utilizando imagens digitais, bem como, calcular as constantes de equilíbrio utilizando planilhas do Microsoft Excel.

Agradecimentos

Os autores agradecem as bolsas e auxílio financeiro da FAPESC (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Santa Catarina), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) projeto 402226/2016-0 e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Referências Bibliográficas

¹ Clark, C. R. A stopped-flow kinetics experiment for advanced undergraduate laboratories: formation of iron (III) thiocyanate. *Journal of Chemical Education* **1997**, *4*, 1214. [\[CrossRef\]](#)

² Hoag, C. M. Simple and Inexpensive Computer Interface to a Durrum Stopped-Flow Apparatus Tested Using the Iron (III)–Thiocyanate Reaction. *Journal of Chemical Education* **2004**, *82*, 1823. [\[CrossRef\]](#)

³ Prigodich, R. V. A Stopped-Flow Kinetics Experiment for the Physical Chemistry Laboratory Using Noncorrosive Reagents. *Journal of Chemical Education* **2014**, *91*, 2200. [\[CrossRef\]](#)

⁴ Simoni, D. D. A.; Andrade, J. C. D.; Simoni, J. D. A. Montagem de uma disciplina experimental: contribuição para a química geral. *Química Nova* **2011**, *34*, 1818. [\[CrossRef\]](#)

⁵ Cobb, C. L.; Love, G. A. Iron (III) Thiocyanate Revisited: A Physical Chemistry Equilibrium Lab Incorporating Ionic Strength Effects. *Journal of Chemical Education* **1998**, *75*, 90. [\[CrossRef\]](#)

⁶ Nyasulu, F.; Barlag, R. Colorimetric Determination of the Iron (III)–Thiocyanate Reaction Equilibrium Constant with Calibration and Equilibrium Solutions Prepared in a Cuvette by Sequential Additions of One Reagent to the Other. *Journal of Chemical Education* **2011**, *88*, 313. [\[CrossRef\]](#)

⁷ Kılıç, V.; Alankus, G.; Horzum, N.; Mutlu, A. Y.; Bayram, A.; Solmaz, M. E. Single-Image-Referenced Colorimetric Water Quality Detection Using a Smartphone. *ACS Omega* **2018**, *3*, 5531. [\[CrossRef\]](#)

⁸ González-Jiménez, M.; Arenas-Valgañón, J.; Céspedes-Camacho, I. F.; García-Prieto, J. C.; Calle, E.; Casado, J. Detection of Nitrite in Water Using Minoxidil as a Reagent. *Journal of Chemical Education* **2013**, *90*, 1053. [\[CrossRef\]](#)

⁹ Shaver, L. A.; Leung, S. H.; Puderbaugh, A.; Angel, S. A. Two Methods of Determining Total Phenolic Content of Foods and Juices in a General, Organic, and Biological (GOB) Chemistry Lab. *Journal of Chemical Education* **2011**, *88*, 492. [\[CrossRef\]](#)

¹⁰ Gomes, M. S.; Trevizan, L. C.; Nóbrega, J. A.; Kamogawa, M. Y. Uso de scanner em espectrofotometria de absorção molecular: aplicação em experimento didático enfocando

- a determinação de ácido ascórbico. *Química Nova* **2008**, 31, 1577. [\[CrossRef\]](#)
- ¹¹ Montangero, M. Determining the amount of copper (II) ions in a solution using a smartphone. *Journal of Chemical Education* **2015**, 92, 1759. [\[CrossRef\]](#)
- ¹² Asheim, J.; Kvittingen, E. V.; Kvittingen, L.; Verley, R. A simple, small-scale Lego colorimeter with a light-emitting diode (LED) used as detector. *Journal of Chemical Education* **2014**, 91, 1037. [\[CrossRef\]](#)
- ¹³ de Morais, C. D. L.; Silva, S. R.; Vieira, D. S.; Lima, K. M. Integrating a Smartphone and Molecular Modeling for Determining the Binding Constant and Stoichiometry Ratio of the Iron (II)-Phenanthroline Complex: An Activity for Analytical and Physical Chemistry Laboratories. *Journal of Chemical Education* **2016**, 93, 1760. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁴ Kuntzleman, T. S.; Jacobson, E. C. Teaching Beer's law and absorption spectrophotometry with a smart phone: a substantially simplified protocol. *Journal of Chemical Education* **2016**, 93, 1249. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁵ Gee, C. T.; Kehoe, E.; Pomerantz, W. C.; Penn, R. L. Quantifying Protein Concentrations Using Smartphone Colorimetry: A New Method for an Established Test. *Journal of Chemical Education* **2017**, 94, 941. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁶ Dangkulwanich, M., Kongnithigarn, K., & Aurnoppakhun, N. (2018). Colorimetric Measurements of Amylase Activity: Improved Accuracy and Efficiency with a Smartphone. *Journal of Chemical Education* **2018**, 95, 141. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁷ Kehoe, E.; Penn, R. L. Introducing colorimetric analysis with camera phones and digital cameras: an activity for high school or general chemistry. *Journal of Chemical Education* **2013**, 90, 1191. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁸ Taha, S.; Rafat, G.; Aboshosha, F.; Mansour, F. R. A simple homemade spectrophotometer. *Journal of Analytical Chemistry* **2017**, 72, 239. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁹ Capitán-Vallvey, L. F.; Lopez-Ruiz, N.; Martínez-Olmos, A.; Erenas, M. M.; Palma, A. J. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review. *Analytica Chimica Acta* **2015**, 899, 23. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁰ Santiago, J. V. B.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2018. [\[Link\]](#)
- ²¹ Pessoa, K. D.; Suarez, W. T.; dos Reis, M. F.; Franco, M. D. O. K.; Moreira, R. P. L.; dos Santos, V. B. A digital image method of spot tests for determination of copper in sugar cane spirits. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2017**, 185, 310. [\[CrossRef\]](#)
- ²² Oliveira, K. A., Damasceno, D., de Oliveira, C. R., da Silveira, L. A., de Oliveira, A. E., & Coltro, W. K. Dengue diagnosis on laser printed microzones using smartphone-based detection and multivariate image analysis. *Analytical Methods* **2016**, 8, 6506. [\[CrossRef\]](#)
- ²³ Neto, G. F. S.; Fonseca, A.; Braga, J. W. Classificação de Águas Minerais Baseada Em Imagens Digitais Obtidas Por Smartphones. *Quim. Nova* **2016**, 39, 876. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁴ Colzani, H.; Rodrigues, Q. E. A. G.; Fogaça, C.; Gelinski, J. M. L. N.; Pereira-Filho, E. R.; Borges, E. M. Phosphate Colorimetric Analysis using a desktop Scanner and automated digital image: A didactical example to teach colorimetric analysis. *Química Nova* **2017**, 40, 833. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁵ Colzani, H.; Scolaro, A.; Scolaro, A. M. T.; Gelinski, J. M. L. N.; Borges, E. Determinação de Manganês em Pilhas Utilizando um Scanner. *Revista Virtual de Química* **2017**, 9, 1672. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁶ Damasceno, D.; Toledo, T. G.; da Silva Soares, A.; de Oliveira, S. B.; de Oliveira, A. E. CompVis: a novel method for drinking water alkalinity and total hardness analyses. *Analytical Methods*, **2016**, 8, 7832. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁷ Volmer, D. A.; Curbani, L.; Parker, T. A.; Garcia, J., Schultz, L. D.; Borges, E. M. Determination of Titratable Acidity in Wine Using Potentiometric, Conductometric, and Photometric Methods. *Journal of Chemical Education* **2017**, 94, 1296. [\[CrossRef\]](#)

- ²⁸ Peng, B.; Chen, G.; Li, K.; Zhou, M.; Zhang, J.; Zhao, S. Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with digital image colorimetric analysis for detection of total iron in water and food samples. *Food Chemistry* **2017**, *230*, 667. [CrossRef]
- ²⁹ Helfer, G. A.; Magnus, V. S.; Böck, F. C.; Teichmann, A.; Ferrão, M. F.; Costa, A. B. D. Photometrix: An application for univariate calibration and principal components analysis using colorimetry on mobile devices. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2017**, *28*, 328. [CrossRef]
- ³⁰ Lin, B.; Yu, Y.; Cao, Y.; Guo, M.; Zhu, D.; Dai, J.; Zheng, M. Point-of-care testing for streptomycin based on aptamer recognizing and digital image colorimetry by smartphone. *Biosensors and Bioelectronics* **2018**, *100*, 482. [CrossRef]
- ³¹ Benedetti, L. P. S.; dos Santos V. B.; Silva T. A.; Benedetti Filho E.; Martins V. L.; Fatibello-Filho, O. A digital image-based method employing a spot-test for quantification of ethanol in drinks. *Analytical Methods* **2015**, *7*, 4138. [CrossRef]
- ³² Botelho B. G.; Assis L. P.; Sena M. M; Development and analytical validation of a simple multivariate calibration method using digital scanner images for sunset yellow determination in soft beverages. *Food Chemistry* **2014**, *159*, 175. [CrossRef]
- ³³ Oskolok, K. V.; Shults, E. V.; Monogarova, O. V.; Chaplenko, A. A. Optical molecular analysis using office flatbed photo scanner: New approaches and solutions. *Talanta* **2018**, *178*, 377. [CrossRef]
- ³⁴ Dantas, H. V.; Barbosa, M. F.; Pereira, A.; Pontes, M. J.; Moreira, P. N.; Araújo, M. C. An inexpensive NIR LED Webcam photometer for detection of adulterations in hydrated ethyl alcohol fuel. *Microchemical Journal* **2017**, *135*, 148. [CrossRef] Hovinen, J.; Lahti, M.; Vilpo, J. Spectrophotometric determination of thiocyanate in human saliva. *Journal of Chemical Education* **1999**, *76*, 1281. [CrossRef]
- ³⁵ Arquivo disponibilizado no Google Drive. Disponível em: <<https://drive.google.com/open?id=1PsuICYgfkntSSlaVqW2LPJRh5kt5uGo>>. Acessada em 11 setembro 2018.
- ³⁶ Arquivo disponibilizado no Google Drive. Disponível em: <https://drive.google.com/open?id=1gZHDshVbnODc6VH2o_5_pqe51RFaiSIhttps://drive.google.com/open?id=1VgWdkzPf8PRloBp23iul9YkgQQztD4XT>. Acessada em: 16 setembro 2018.
- ³⁷ de Berg, K.; Maeder, M.; Clifford, S. A new approach to the equilibrium study of iron (III) thiocyanates which accounts for the kinetic instability of the complexes particularly observable under high thiocyanate concentrations. *Inorganica Chimica Acta* **2016**, *445*, 155. [CrossRef]
- ³⁸ Hovinen, J.; Lahti, M.; Vilpo, J. Spectrophotometric determination of thiocyanate in human saliva. *Journal of Chemical Education* **1999**, *76*, 1281. [CrossRef]
- ³⁹ Miller, J.; Miller, J. C.; *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*, 6a. Ed, Pearson education: Gosport, 2010
- ⁴⁰ Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos, DOQ-CGC-RE-008, 2003
- ⁴¹ Pimentel, M. F.; Neto, B. B. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. *Química Nova* **1996**, *19*, 268. [CrossRef]
- ⁴² Ribeiro, F. A. D. L.; Ferreira, M. M. C.; Morano, S. C.; Silva, L. R. D.; Schneider, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova* **2008**, *31*, 164. [CrossRef]
- ⁴³ Couto, A. B.; Ramos, L. A.; Cavalheiro, E.T.G. Aplicação de pigmentos de flores no ensino de química. *Química Nova* **1998**, *21*, 221. [CrossRef]