

**INSTITUTO FEDERAL
DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA**
Ceará

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
TELECOMUNICAÇÕES - PPGET
MESTRADO ACADÊMICO EM ENGENHARIA DE TELECOMUNICAÇÕES**

JOÃO ISAAC SILVA MIRANDA

**PROTÓTIPO DE SENSOR ÓPTICO PARA MEDIÇÃO DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO
EM ÁGUA USANDO UMA TÉCNICA VERDE**

FORTALEZA

2019

JOÃO ISAAC SILVA MIRANDA

PROTÓTIPO DE SENSOR ÓPTICO PARA MEDIÇÃO DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO EM
ÁGUA USANDO UMA TÉCNICA VERDE

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Engenharia de Telecomunicações do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Telecomunicações - PPGET do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, como requisito final para obtenção do título de mestre em Engenharia de Telecomunicações.

Área de Concentração: Sistemas de Telecomunicações

Orientador: Prof. Dr. Glendo de Freitas Guimaraes

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal do Ceará - IFCE
Sistema de Bibliotecas - SIBI
Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S586p Silva Miranda, João Isaac.
Protótipo de Sensor Óptico de Oxigênio Dissolvido em Água / João Isaac Silva Miranda. - 2019.
56 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Engenharia de Telecomunicações, Campus Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Glendo de Freitas Guimarães.
1. Sensor óptico. 2. Sensor de OD. 3. Complexo organometálico verde. 4. Filme fino. I. Título. CDD
621.382
-



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
TELECOMUNICAÇÕES

JOÃO ISAAC SILVA MIRANDA

Esta Dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Telecomunicações, sendo aprovada pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Telecomunicações do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará e pela banca examinadora:

Participação por videoconferência *AB*
Dr. Glendó Freitas Guimarães (orientador)
Instituto Federal do Ceará - IFCE

Dr. Marcos Erick Rodrigues da Silva
Dr. Marcos Erick Rodrigues da Silva
Instituto Federal do Ceará - IFCE

Dr. Júlio César Martins Ximenes
Dr. Júlio César Martins Ximenes
Piscis Indústria e Comércio

Dr. Francisco José Alves de Aquino
Dr. Francisco José Alves de Aquino
Instituto Federal do Ceará - IFCE

AB
Prof. Dr. Francisco José Alves de Aquino
Coordenador do PPGT
IFCE - Campus Fortaleza

“Se a nossa vida é a única coisa que podemos experimentar, então é a única coisa que importa. Se o universo não tem princípios, então os únicos princípios relevantes são aqueles que escolhemos.”

(Kurzgesagt)

Àqueles que veem na educação o caminho para
um mundo melhor.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Joaquim Valentim de Miranda Neto e Francisca Edvania Silva Miranda por todo o amor e sacrifícios realizados em prol da criação e educação dos seus filhos.

Aos meus irmãos, Italo José Silva Miranda e Maria Tais Silva Miranda por todo afeto e ajuda ao longo desses anos.

A Maria Elza Silva Miranda, minha tia pelos inúmeros conselhos, conversas e história que ajudaram a formar meu caráter e conhecimentos.

A Monique Domingos Rocha, por toda paciência, amor, resiliência, pelas aulas de humanidade e pela dedicação posta em nossa jornada.

Ao Prof. Dr. Glendo de Freitas Guimarães, pela amizade, pelas oportunidades dadas e pelo exemplo a ser seguido.

Aos amigos do Laboratório Fotônica, que me ensinaram o valor das amizades na construção de uma vida profissional.

Aos colegas do grupo de pesquisa sobre qualidade de água do Laboratório Fotônica. Sem os quais, o desenvolvimento dos trabalhos não seria possível.

RESUMO

O Oxigênio é um gás fundamental para manutenção da vida aquática e terrestre. Mensurar os níveis de Oxigênio Dissolvido (OD) em reservatórios de água é de grande interesse para o desenvolvimento de atividades econômicas como a agricultura e a piscicultura. O crescente aumento da preocupação com o meio ambiente faz necessário o desenvolvimento de tecnologias de sensoriamento ecológicas e que sejam sustentáveis. Tendo em mente essa motivação, foi desenvolvido o protótipo de um sensor óptico de alta sensibilidade para medição de oxigênio dissolvido em água baseado em filmes finos de um elemento sensor de origem natural. Para o desenvolvimento do elemento sensor, um complexo organometálico foi sintetizado a partir da molécula “Clorofila A”, extraída da planta *Brassica oleracea L.*, com inserção de íons de zinco (Zn^{+2}) substituindo os íons de magnésio (Mg^{+2}). Na investigação, foi avaliada a supressão de fluorescência do complexo organometálico de zinco para amostras com diferentes concentrações de OD, produzidas pelos métodos de aeração por agitação e por bombeamento de fluxo de ar. O complexo apresentou duas regiões de absorção, 350-475 nm e 600-700 nm. Foi observado a supressão de fluorescência do complexo, quando excitado a 440 nm e analisado a 635 nm. As curvas de supressão de fluorescência apresentaram um decaimento exponencial com boa correlação, resultando em $R^2 = 0,98282$ e $R^2 = 0,83849$ para os métodos de agitação e de fluxo de bomba de ar, respectivamente. Para validar a metodologia, foi desenvolvido um protótipo de um sensor óptico de bancada. Para a relação entre a intensidade de fluorescência e a concentração de oxigênio dissolvido, foi obtida uma curva de razão com $R^2 = 0,9809$. A metodologia e protótipo desenvolvido neste trabalho são apresentados como um novo método óptico para a medição de OD.

Palavras-chave: Sensor óptico, Sensor de OD, Complexo organometálico verde, Filme fino.

ABSTRACT

Oxygen is a fundamental gas for maintaining aquatic and terrestrial life. Measuring Dissolved Oxygen (DO) levels in water reservoirs is of great interest for the involvement of economic activities such as agriculture and fish farming. The increasing attention to the environment makes essential the development of ecological sensing technologies that are sustainable. With this motivation in mind, to developed the prototype of an optical sensor of high frequency to oxygen dissolved in water using a fine elements of a sensor element from natural source. For the development of the sensor element, an organometallic complex was synthesized from the “chlorophyll A” molecule, extracted from the plant *Brassica oleracea L.*, with zinc ions insertion (Zn^{+2}) replacing the magnesium (Mg^{+2}) ions. In the investigation, were evaluated the fluorescence suppression of the organometallic zinc complex for samples with different concentrations of DO, produced by using the spinning oxygenation and air pump flow methods. The complex has shown two absorption regions, 350–475 nm and 600–700 nm. Were observed the fluorescence suppression of the complex, when excited at 440 nm and analyzed at 635 nm. The fluorescence suppression curves presented an exponential decay with good correlation, resulting in $R^2 = 0,98282$ and $R^2 = 0,83849$ for the spinning and air pump flow methods, respectively. To validate the methodology, were developed a prototype of a bench sensor. For the relation between the fluorescence intensity and the dissolved oxygen concentration, were obtained a ratio curve with $R^2 = 0,9809$. The methodology and prototype sensor developed in this work are presented as a new optical method for the measurement of DO.

Keywords: Optical sensor, DO sensor, Green organometallic complex, Thin film.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas de fabricação de um filme fino.	24
Figura 2 – Princípio de funcionamento da supressão de fluorescência	26
Figura 3 – Etapas de desenvolvimento da pesquisa.	28
Figura 4 – (a) Folha de Brassica oleracea L. utilizada na síntese do complexo, (b) 225 g de folhas, e (c) a solução obtida após processo de trituração e diluição em água e metano.	29
Figura 5 – Processo de extração do íon de magnésio	30
Figura 6 – Processo de inserção do íon de zinco	31
Figura 7 – Complexo de clorofila-zinco sintetizado em uma cubeta de vidro.	31
Figura 8 – Solução final do sol-gel sob agitação.	33
Figura 9 – Projeto do protótipo do sensor para validação do modelo.	34
Figura 10 – Filtro utilizado. (a) Thorlabs FB 630-10, (b) Espectro de transmissão.	35
Figura 11 – Fotodiodo utilizado. (a) Thorlabs SM05PD1A, (b) Espectro de responsividade.	35
Figura 12 – LED utilizado. (a) Thorlabs LED470L, (b) Espectro de emissão.	36
Figura 13 – Suporte de LED utilizado.	37
Figura 14 – Representação esquemática do processo de medição realizado pelo protótipo. (1) Suporte do filtro óptico, (2) Filtro óptico, (3) Fotodiodo, (4) Lâmina com filme fino, (5) Suporte da lâmina, (6) Corpo do protótipo, (7) LED de excitação.	38
Figura 15 – Efeito da concentração do complexo clorofila-zinco no espectro de absorbância na região visível.	41
Figura 16 – Efeito da concentração do complexo clorofila-zinco no espectro de fluorescência das amostras aerado por 4 minutos e excitadas em 440 nm.	42
Figura 17 – Efeito da concentração do complexo clorofila-zinco na fluorescência analisada em 635 nm de amostras aeradas durante 4 min e excitadas a 440 nm.	43
Figura 18 – (a) Intensidade de fluorescência em função do tempo de oxigenação usando o método de agitação. (b) Intensidade de fluorescência em função de tempo de oxigenação usando o método de fluxo da bomba de ar.	44
Figura 19 – Tensão no fotodiodo em função do OD concentração obtida protótipo do sensor óptico.	45
Figura 20 – Testes do circuito eletrônico de aquisição de dados.	54

Figura 21 – Primeiro modelo da estrutura mecânica do protótipo.	55
Figura 22 – Versão final do protótipo em ambiente de testes.	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Os Doze princípios de Namiesnik.	21
Tabela 2 – Custos de fabricação do protótipo	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LED	Diodo Emissor de Luz (Light Emitting Diode)
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio
TEOS	Tetraetoxisilano

LISTA DE SÍMBOLOS

$^{\circ}C$	Grau Celsius
C_2H_6O	Etanol
CH_3OH	Metanol
C_3H_6O	Acetona
$CH_3(CH_2)_4CH_3$	Hexano
$(CH_3COO)_2Zn$	Acetato de Zinco
$CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$	Dodecil sulfato de sódio
$C_{55}H_{72}ZnN_4O_5$	Complexo de Zinco
CO_2	Dióxido de Carbono
HCl	Ácido Clorídrico
HNO_3	Ácido Nítrico
λ	Comprimento de onda
$Si(OC_2H_5)_4$	Tetraetoxisilano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Justificativa	17
1.2	Objetivos	18
1.2.1	<i>Objetivo geral</i>	18
1.2.2	<i>Objetivos específicos</i>	18
1.2.3	<i>Estrutura do trabalho</i>	18
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1	Sensoriamento da qualidade da água	20
2.2	Química analítica verde	21
2.3	Oxigênio Dissolvido	22
2.4	Sensoriamento Óptico	22
2.5	Filmes finos baseados em matrizes sol-gel	23
2.6	Complexos organometálicos	25
2.7	Supressão de fluorescência	25
2.8	Conclusão	27
3	METODOLOGIA	28
3.1	Materiais	29
3.2	Síntese do complexo de zinco	29
3.3	Determinação da concentração do Complexo de Clorofila-Zinco	32
3.4	Caracterização do efeito do oxigênio dissolvido na supressão da fluorescência do Complexo de Clorofila-Zinco	32
3.5	Preparação do filme fino	32
3.6	Protótipo do sensor óptico	33
3.6.1	<i>Suporte para filtro óptico</i>	34
3.6.2	<i>Filtro óptico FB630-10, da Thorlabs</i>	34
3.6.3	<i>Fotodiodo SM05PD1A, da Thorlabs</i>	35
3.6.4	<i>Lâmina de vidro revestida com o filme fino do elemento sensor de OD</i>	35
3.6.5	<i>Base da estrutura mecânica para adaptação de o suporte da lâmina</i>	36
3.6.6	<i>Estrutura mecânica para a instalação de componentes ópticos</i>	36
3.6.7	<i>LED modelo LED470L, da Thorlabs</i>	36

3.6.8	<i>Suporte de LED S05LEDM da Thorlabs</i>	36
3.7	Testes experimentais	37
3.7.1	<i>Validação da metodologia</i>	38
3.7.2	<i>Instrumentação eletrônica</i>	39
3.8	Conclusão	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	40
4.1	Análise de espectrofotometria	40
4.2	Protótipo	45
4.2.1	<i>Resposta do sensor</i>	45
4.3	Conclusão	46
5	CONCLUSÕES	47
5.1	Perspectiva de trabalhos futuros	47
	REFERÊNCIAS	49
	APÊNDICES	52
	APÊNDICE A – Esquemático do protótipo do sensor	52
	APÊNDICE B – Publicações científicas	53
B.1	Publicações científicas relacionadas a dissertação	53
B.1.1	<i>Artigos publicados em revistas</i>	53
B.2	Publicações científicas não relacionadas a dissertação	53
B.2.1	<i>Artigos publicados em revistas</i>	53
B.2.2	<i>Resumos publicados em eventos</i>	53
	APÊNDICE C – Estrutura e custos de fabricação do protótipo	54

1 INTRODUÇÃO

Os ecossistemas de áreas costeiras, dos rios e de corpos lacustres são ambientes consideravelmente sensíveis a intervenções humanas. Mudanças nesses ecossistemas, acarretam riscos aos habitats de organismos aquáticos. De maneira similar, os reservatórios utilizados para o abastecimento de atividades humanas, necessitam de supervisão contínua para garantir o controle da qualidade da água disponibilizada (DEKKER *et al.*, 1996).

Atividades como a agricultura, a pecuária, a indústria e o consumo humano exigem diferentes níveis de qualidade de água em seus reservatórios e que haja monitoramento de parâmetros como oxigênio dissolvido, pH, alcalinidade, concentração de compostos nitrogenados (nitrito, nitrato, amônia), entre outros (BRASIL, 2011). Tal relevância, faz com que o sensoriamento da qualidade da água, para os seus diversos fins, seja uma tarefa importante e que a determinação da concentração de químicos e de efluentes seja realizada com maior controle e precisão (GHOLIZADEH *et al.*, 2016).

É importante ressaltar que a medição da qualidade de água torna-se difícil em regiões interioranas onde a água é extraída diretamente de lençóis freáticos ou de aquíferos, sem que seja realizado alguma análise laboratorial dos parâmetros anteriormente citados.

Um aspecto importante é a metodologia atualmente utilizada para a medição de OD em água, a qual necessita de um tempo maior para a aquisição dos resultados, fator crucial para os ecossistemas aquáticos na área da piscicultura, onde é necessário o monitoramento com frequência dos parâmetros para poder, deste modo, maximizar a produção e crescimento dos peixes, além de minimizar a sua mortalidade devido a baixa qualidade de água.

O uso do método sol-gel para síntese de filmes finos fixadores de indicadores sensíveis a OD, em lâminas de vidro é bastante recomendado devido sua facilidade, versatilidade, e propriedades ópticas aceitáveis, configurando um método óptico consistente na modificação da intensidade do feixe de luz, por absorção ou luminescência, que passa pela matriz com o reagente indiciador (LORENZEN, 1967).

A química analítica verde, surgiu como uma nova tendência em como conduzir as análises químicas, com o intuito de reduzir o impacto ambiental das mesmas. As práticas de química analítica verde tem se destacado como metodologia científica básica para a proteção da saúde humana e do meio ambiente (ANASTAS, 1999). O uso de estratégias para reduzir ou eliminar o uso de substâncias tóxicas e a geração de resíduos dos processos de análise química no ambiente vem se destacando no meio acadêmico (NAMIESNIK, 2000).

Atualmente, há uma crescente busca por reagentes obtidos a partir de fontes naturais que possam ser utilizados em análises químicas. Com objetivo de reduzir o uso de indicadores sintéticos para espectrofotometria aplicada a biossensores, este trabalho descreve a síntese de um complexo organometálico a partir de moléculas de clorofila-A extraídas de um exemplar de couve manteiga (*Brassica oleracea* L.). O complexo foi realizado com a inserção de zinco (Zn^{+2}) em substituição ao magnésio (Mg^{+2}) presente na molécula, com a finalidade de medir o OD em amostras de água. Para validar a método proposto, foi desenvolvido um protótipo de um sensor de oxigênio dissolvido de bancada capaz de medir OD em amostras de água. Os valores obtidos por meio do protótipo do sensor foram correlacionados com os valores de um sensor de oxigênio dissolvido comercial, modelo DM-4P, da marca Digimed.

1.1 Justificativa

O uso de técnicas de química analítica verde permite o desenvolvimento de aplicações com reduzidos impactos ambientais gerados pelas ações de análise. Bem como a redução dos lançamentos de efluentes por meio da eliminação do uso de reagentes tóxicos, da redução o uso de reagentes e da energia consumida durante as operações.

Ao realizar o monitoramento de reservatórios, é possível verificar como a qualidade da água é afetada pela ação humana. O uso de técnicas ópticas para medição de oxigênio dissolvido em água traz benefícios como: maior sensibilidade que os sensores convencionais, reduzida susceptibilidade a interferência eletromagnética, ampla faixa dinâmica, capacidade de multiplexação da medida de diversos parâmetros em um único meio, maior estabilidade das medidas entre outros. Os sensores de OD disponíveis no mercado se baseiam predominantemente em polarografia com a utilização de eletrodos, apesar de medirem com precisão, são de difícil manuseio, necessitam de calibração constante e de pessoal qualificado para sua operação. Dessa forma, os sensores ópticos, considerando suas propriedades, são apropriados para uso em situações que os requisitos dos sensores convencionais não podem ser atendidos (CHOI; XIAO, 2000).

Apesar dos recentes avanços no barateamento das implementações de tecnologias ópticas, para produção de sensores, no mercado de instrumentos de medição de qualidade de água existem poucos exemplares de sensores ópticos de oxigênio dissolvido. Dados levantados durante o desenvolvimento do trabalho apontam que no mercado brasileiro não existem empresas que produzam sensores ópticos para medição de OD.

1.2 Objetivos

1.2.1 *Objetivo geral*

Esse trabalho tem como objetivo realizar o desenvolvimento de um protótipo de sensor óptico capaz de realizar a medição de oxigênio dissolvido em amostras de água, baseado na medição da intensidade de fluorescência de um elemento sensor de origem natural.

1.2.2 *Objetivos específicos*

- produzir um complexo organometálico verde sensível a OD;
- desenvolver filmes finos pelo método sol-gel utilizando o complexo de clorofila-zinco como indicador químico fotossensível de origem natural;
- analisar os espectros de emissão de fluorescência dos filmes finos para caracterizar seus comportamentos mediante a presença de oxigênio dissolvido;
- avaliar o desempenho do elemento sensor produzido na medição óptica de oxigênio dissolvido em amostras água.
- caracterizar a faixa dinâmica, sensibilidade e resolução do protótipo de sensor desenvolvido.

1.2.3 *Estrutura do trabalho*

O restante do trabalho é organizado como segue.

No segundo capítulo, inicia-se a revisão bibliográfica sobre a importância do sensoriamento da qualidade da água, em seguida é fundamentado o tópico de química analítica verde. São abordadas a teoria sobre a medição de oxigênio dissolvido, técnicas de sensoriamento óptico, as aplicações dos filmes finos e por fim são discutidas os complexos organometálicos e suas propriedades de supressão de fluorescência.

No terceiro capítulo, a metodologia é descrita por meio dos procedimentos e materiais utilizados. Iniciando pela síntese do complexo de zinco, seguida de determinação da concentração do complexo, da caracterização do efeito do oxigênio dissolvido na supressão da fluorescência do complexo de zinco, da preparação dos filmes finos, finalizando com a descrição do protótipo de sensor óptico.

No quarto capítulo são apresentados os resultados e discussões. O quinto capítulo

apresenta as conclusões do estudo, o resumo dos resultados e recomendações para trabalhos posteriores.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Foi realizada uma revisão bibliográfica de trabalhos relativos ao desenvolvimento de sensores de qualidade de água baseados em técnicas de medições ópticas e de artigos sobre o desenvolvimento de moléculas biossensoras fotossensíveis utilizadas para a medição de parâmetros de qualidade de água. Também foram estudados trabalhos que utilizaram indicadores e reagentes imobilizados em matrizes sol-gel. Por fim, esses trabalhos foram elencados nas seções seguintes.

2.1 Sensoriamento da qualidade da água

A água potável é um recurso crítico para a saúde e bem-estar dos seres humanos. Mais de 40% da população mundial vive em regiões costeiras, margens de rios ou lagos e esta proporção está aumentando (DEKKER *et al.*, 1996). A área costeira dos rios e outros corpos de água são ambientes sensíveis. Quaisquer mudanças nesses ecossistemas devido a atividades humanas podem acarretar em alterações nos habitats dos peixes e outros organismos aquáticos. Um fator importante na degradação da qualidade da água em córregos e rios tem sido a aplicação de defensivos agrícolas pesados e fertilizantes comumente usados para aumentar o rendimento das culturas agropecuárias. A qualidade da água é afetada pelo uso da terra, da mesma forma a saúde humana que é dependente de água limpa. Isto torna a avaliação da condição dos recursos aquáticos uma das áreas mais importantes da pesquisa ambiental (GRIFFITH, 2002).

A implantação de sensores de qualidade de água é considerada uma abordagem promissora para detectar incidentes de contaminação em sistemas de distribuição de água potável (HU *et al.*, 2018). Levando em consideração o alto custo de aquisição, instalação e manutenção de sistemas sensores disponíveis no mercado, é perceptível que há uma lacuna a ser preenchida com o desenvolvimento de tecnologias capazes de aferir a qualidade dos recursos hídricos de maneira econômica, simplificada e eficaz.

Dessa forma, a necessidade de manter suprimentos de água urbana requer o monitoramento contínuo da qualidade dos recursos hídricos disponíveis existentes, bem como das bacia hidrográficas (GHOLIZADEH *et al.*, 2016).

2.2 Química analítica verde

Nas últimas décadas, surgiu na comunidade acadêmica a preocupação em reduzir o impacto ambiental gerado durante a condução de análises químicas. A química analítica verde (*Green chemistry*) é definida como o desenvolvimento de produtos e processos químicos com reduzido ou não uso/geração de substâncias nocivas ao ambiente.

No trabalho desenvolvido por Namiesnik (2000), são descritos doze princípios que norteiam as práticas “verdes” nas análises, estes são listados na Tabela 1.

Tabela 1 – Os Doze princípios de Namiesnik.

12 princípios de Namiesnik
Técnicas analíticas diretas devem ser aplicadas para evitar o tratamento da amostra.
O tamanho mínimo da amostra e o número mínimo de amostras devem ser objetivos.
Medições in situ devem ser realizadas.
A integração de processos e operações analíticas economiza energia e reduz o uso de reagentes.
Métodos automatizados e miniaturizados devem ser priorizados.
Derivatização deve ser evitada.
A geração de um grande volume de resíduos analíticos deve ser evitada e adequada a gestão de resíduos analíticos deve ser fornecida.
Métodos multi-analitos ou multi-parâmetros são preferidos versus métodos usando um analito por vez.
O uso de energia deve ser minimizado.
Reagentes obtidos a partir de fontes renováveis devem ser preferidos.
Os reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos.
A segurança do operador deve ser priorizada.

As diretrizes da química analítica verde buscam promover melhorias às técnicas convencionais, por meio da eliminação do uso de reagentes tóxicos, reduzindo o uso de reagentes e de energia durante as operações, e aumentando segurança do operador. Para implementar integralmente os princípios da química analítica verde são necessárias revisões em todas as etapas dos processos analíticos. Desde a etapa da amostragem até o tratamento de resíduos analíticos. Essas mudanças podem ser atingidas com a ajuda de diferentes estratégias, incluindo:

- O uso de quimometria e estatística para a redução do número de amostras.
- O uso de sistemas analíticos integrados para melhoria da eficiência analítica.
- A redução do uso de reagente.
- A aplicação de reagentes menos tóxicos, de preferência naturais.
- A miniaturização de métodos para diminuir o risco para o operador e o risco ambiental.

Aplicando tais estratégias, os pesquisadores e analistas contribuem para a criação de laboratórios analíticos mais verdes. Considerando a diversidade de métodos analíticos, formular princípios que seriam universais para todas as aplicações é uma tarefa árdua. Porém todo esforço no desenvolvimento de métodos ambientalmente seguros é fundamental para a manutenção do

meio em que vivemos (ANASTAS, 1999).

2.3 Oxigênio Dissolvido

O oxigênio é um gás pouco solúvel em água e a sua solubilidade depende da pressão, temperatura e sais dissolvidos na água. Normalmente a concentração de saturação está em torno de 8 mg/L a 25°C, entre 0 e 1.000 metros de altitude (FIORUCCI; BENEDETTI, 2005).

A quantidade de oxigênio dissolvido na água é uma indicação da qualidade da mesma. O controle cuidadoso dos níveis de oxigênio é importante na gestão de águas residuais, nos processos de fermentação, na química analítica, na biomedicina, na engenharia de pesca e na proteção ambiental (MCDONAGH *et al.*, 2001).

Os métodos tradicionais para aferir a concentração de OD em água são: o método eletroquímico de Clark, que usa eletrodos baseados em membranas permeáveis a gases (CLARK *et al.*, 1953), e o método de titulação de Winkler (CARPENTER, 1965).

Técnicas ópticas para aferição de OD tem atraído bastante atenção devido a sua eficiência nos processos de medição e de calibração (DEEPA; GANESH, 2015). Os métodos ópticos medem a concentração do gás a partir da relação entre a quantidade de oxigênio em uma amostra e a supressão de fluorescência de uma dada molécula sensível a OD (CHOI; XIAO, 2000) ou usando a diferença de fase entre a emissão da molécula e um sinal de referência (MCDONAGH *et al.*, 2001).

2.4 Sensoriamento Óptico

Sensores baseados em tecnologias ópticas possuem vantagens em relação aos sensores convencionais, que incluem a imunidade à interferência eletromagnética, pequeno tamanho, alta sensibilidade, grande largura de banda e facilidade na implementação de sensores multiplexados ou distribuídos (LEE, 2003).

Segundo Lee (2003), tensão, temperatura e pressão são parâmetros amplamente estudados no campo do sensoriamento óptico. Porém uma área que cada vez mais atrai pesquisadores: o campo de biossensores ópticos. Biossensores são ferramentas para detecção e análise com diversas aplicações em pesquisa biomédica, saúde, produtos farmacêuticos, monitoramento ambiental, segurança e no campo de batalha (FAN *et al.*, 2008). Esses sensores são utilizados para medição de parâmetros como pH, concentração de Oxigênio Dissolvido, níveis

de proteínas, identificação de vírus e bactérias e quantificação de moléculas de DNA (BORISOV; WOLFBEIS, 2008).

Segundo Fan *et al.* (2008), duas metodologias de detecção implementadas majoritariamente no campo dos biossensores ópticos são: a detecção baseada na fluorescência de indicadores e a detecção livre de indicadores. Na detecção baseada em fluorescência, as moléculas-alvo são marcadas com indicadores fluorescentes, como corantes. A intensidade da fluorescência medida na amostra indica a presença das moléculas-alvo e a força da interação entre as moléculas e o meio. A detecção baseada em fluorescência de indicadores é extremamente sensível, com o limite de detecção de moléculas únicas (MOERNER, 2007). Porém esse método pode interferir na função de uma biomolécula, uma vez que esta também estará reagindo com o corante durante o processo de medição.

Em contrapartida, na detecção livre de indicadores, as moléculas alvo não são expostas a indicadores, e são detectados em suas formas naturais. Este tipo de detecção é relativamente mais fácil e barata de se realizar, e permite a análise quantitativa das moléculas. Este método explora as alterações que podem ocorrer nas propriedades ópticas da molécula-alvo, em função da sua interação com a luz. Tais mudanças podem ocorrer na absorbância, na emissão de fluorescência, na polarização ou no decaimento do tempo de luminescência.

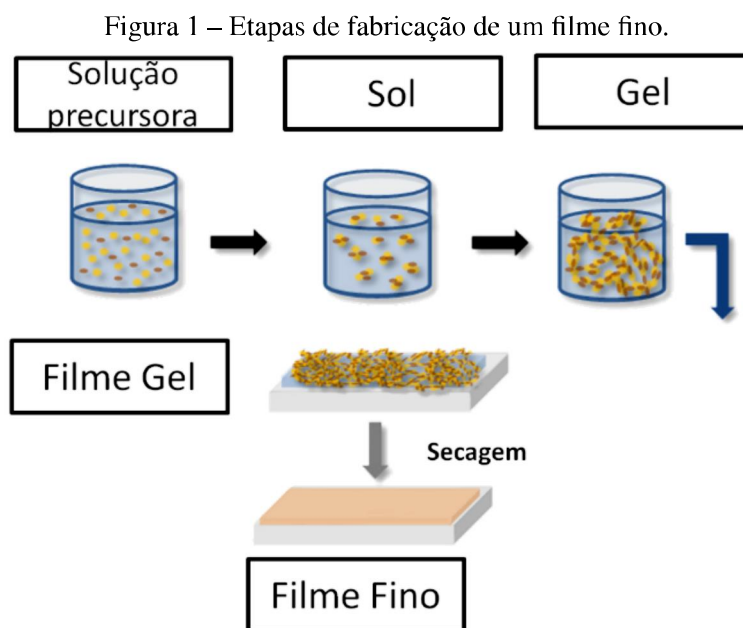
Segundo Borisov e Wolfbeis (2008), esses sensores não são numerosos porque suas sensibilidades tendem a ser baixas, e porque muitos efeitos ocorrem na faixa do ultravioleta do espectro eletromagnético, onde é difícil de implementar técnicas de medição em amostras ambientais ou clínicas.

2.5 Filmes finos baseados em matrizes sol-gel

A produção de filmes finos baseados no método sol-gel são de grande utilidade para tarefas onde se busca imobilizar, aprisionar e encapsular compostos orgânicos e inorgânicos e moléculas biossensores (KLEIN, 1988).

Hench e West (1990), em seu trabalho, investigou diferentes metodologias para produção de matrizes sol-gel utilizadas para imobilização de diferentes moléculas. Nos seus estudos, foram revisados diversos parâmetros determinantes para a produção dessas matrizes, incluindo a concentração de surfactantes, de indicadores, a temperatura de condicionamento, o número de camadas a serem aplicadas no substrato de fixação, o tempo de resposta e o tempo de vida das matrizes.

Para a produção de um filme fino, forma-se um Sol, uma solução coloidal que evolui gradualmente para a formação de um sistema semelhante a um gel contendo uma fase líquida e uma fase sólida. A remoção da fase líquida pode ser realizada por meio de um processo de secagem. A velocidade de remoção da fase líquida influencia diretamente em aspectos físicos como porosidade e resistência mecânica do filme fino (HENCH; WEST, 1990). A figura 1 apresenta as etapas de fabricação de filmes finos.



Fonte: autor.

O sol precursor pode ser depositado em um substrato para formar um filme. A abordagem sol-gel é uma técnica barata e de fácil execução, muito utilizada para dispersão uniforme de elementos sensores em superfícies para a realização de análises.

No trabalho de El-Nahhal *et al.* (2001), foi levantado que os compostos base mais utilizados para preparação de matrizes sol-gel inorgânicas de silicato vítreo em aplicações de sensoriamento óptico são tetrametoxissilano (TMOS) e tetraetoxissilano (TEOS) que são o material base para produção dos filmes finos. Os autores também relatam que a estabilidade do filme em manter repetibilidade das medidas por um período de 6 meses e nenhuma variação na estabilidade dos filmes finos foi observada.

2.6 Complexos organometálicos

Complexos organometálicos são moléculas bastante conhecidas e abundantes na natureza. A formação dessas moléculas ocorre pela interação entre moléculas orgânicas e íons metálicos. Íons metálicos são facilmente encontrados em amostras de água natural (MANTOURA, 1981). Técnicas de imobilização de moléculas orgânicas e organometálicas em filmes finos, compósitos e nanomateriais (JAHAN *et al.*, 2012; BOUAZIZI *et al.*, 2016) têm sido discutidas em estudos envolvendo a remoção de pigmentos orgânicos em soluções aquosas (TIMIN *et al.*, 2015; ARSHADI *et al.*, 2013).

Nos últimos anos, a síntese de complexos organometálicos luminescentes, compostos por metais de transição, receberam atenção devido às suas interessantes propriedades eletro-ópticas, o que os tornam bons candidatos para aplicações em dispositivos optoeletrônicos como Diodos emissores de luz(LEDs), células solares (KUSAMA *et al.*, 2016), sensores e na biomedicina, mais especificamente em terapias fotodinâmicas (MALINA *et al.*, 2016). Geralmente, estes complexos sensores são imobilizados em filmes finos, onde as moléculas de complexos organometálicos interagem com a amostra, sem se desprender da estrutura.

Um complexo de cobre foi reportado como uma molécula luminescente na região verde do espectro visível e como altamente sensível à presença de OD (COITIO *et al.*, 2014). O complexo organometálico hexafluorofosfato de tris (2,2'-bipiridina) rutênio (II) é amplamente utilizado em filmes finos produzido a partir do método sol-gel para produção de complexos sensores de oxigênio dissolvido (CUMMINS, 2011).

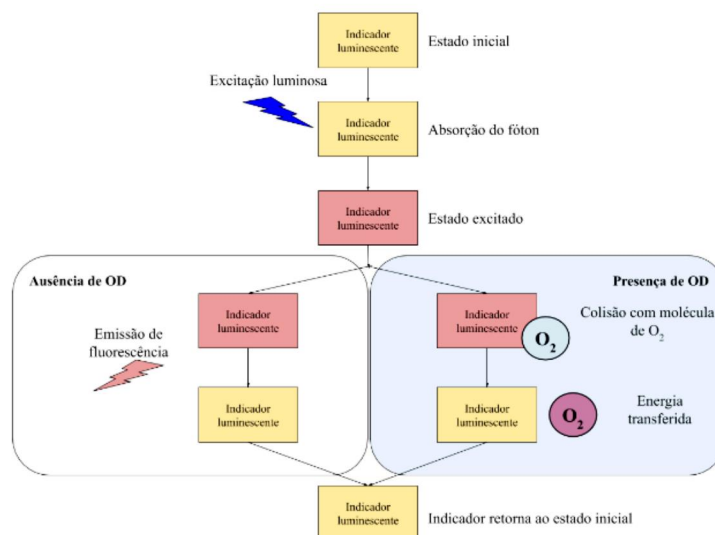
Sensores ópticos baseados em fluorescência, nos quais complexos fluoróforos, orgânicos e poliméricos fixados sobre diferentes superfícies, foram aplicados para a medição de alterações de pH e O_2 em amostras aquosas (NAGL; WOLFBEIS, 2007; TIMBÓ *et al.*, 2016). Foi relatado um sensor óptico para a medição do OD, usando uma matriz sol-gel dopada com tetraquis (pentafluorofenil) porfirina de paládio como material sensível ao oxigênio (CHU; CHUANG, 2015).

2.7 Supressão de fluorescência

Particularmente, no regime de absorção máxima, complexos organometálicos exibem uma longa vida útil do seu estado excitado e geralmente emitem radiação nas regiões vermelhas e no infravermelho próximo (WILD *et al.*, 2011). O estado excitado de um com-

plexo organometálico luminescente pode ser suprimido através um mecanismo de transferência de energia como resultado de colisão com moléculas de oxigênio presentes no meio em que se encontra. Como resultado desse evento, a intensidade da luminescência é reduzida juntamente com o tempo de vida do estado excitado. A figura 2 ilustra o processo descrito:

Figura 2 – Princípio de funcionamento da supressão de fluorescência



Fonte: autor.

A intensidade da supressão dessa luminescência é proporcional a concentração de oxigênio da amostra e pode ser caracterizado pela equação (2.1) de Stern-Volmer (RAMAMORTHY *et al.*, 2003)(MILLS, 1998):

$$\frac{I}{I_0} = 1 + K_{sv}PO_2 \quad (2.1)$$

Na qual I_0 e I são as intensidades relativas de fluorescência do complexo na ausência e presença do supressor, respectivamente. K_{sv} é a constante Stern-Volmer e PO_2 é a concentração da molécula supressora. Este comportamento, observado da supressão de fluorescência foi explorado nos trabalhos de Nagl e Wolfbeis (2007) e Chu e Chuang (2015), para o desenvolvimento de sensores ópticos para medição de múltiplos parâmetros.

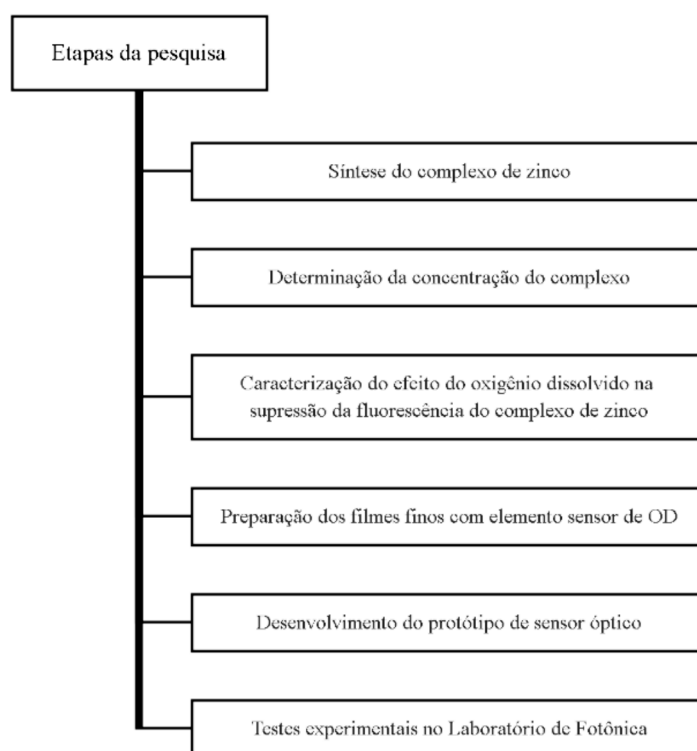
2.8 Conclusão

Este capítulo expõe os trabalhos explorados durante o desenvolvimento desta dissertação. Foi realizado um trabalho de fundamentação teórica sobre o desenvolvimento de complexos organometálicos para uso conjunto a técnica de imobilização de elementos sensores em filmes finos. Trabalhos que utilizaram essas ferramentas foram expostos e utilizados como referência no desenvolvimento das ações listadas no capítulo de metodologia.

3 METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada seguindo as etapas de síntese de complexo de zinco, baseado em moléculas orgânicas de clorofila-A, extraídas de exemplares de couve manteiga (*Brassica oleracea L.*). Seguida da etapas de determinação da concentração do complexo e caracterização do efeito do oxigênio dissolvido na supressão da fluorescência do complexo. Foi executada a preparação dos filmes finos com o complexo de zinco. Em seguida, foi desenvolvido um protótipo de sensor óptico para medição de OD em amostras de água, acompanhado de testes experimentais para validação do funcionamento do mesmo. Como apresentado na figura 3.

Figura 3 – Etapas de desenvolvimento da pesquisa.



Fonte: autor.

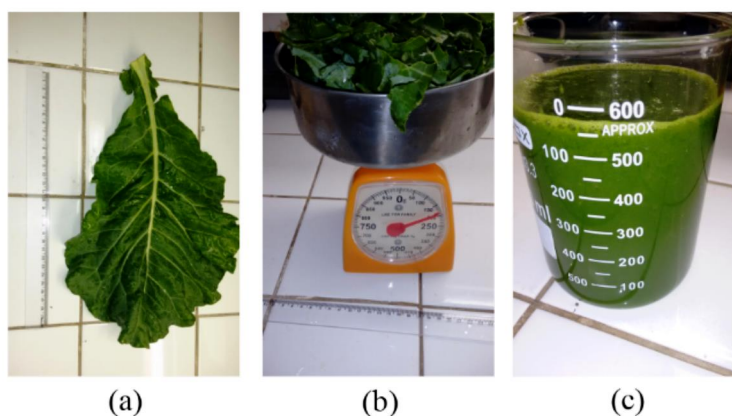
3.1 Materiais

Neste trabalho, foram utilizados os seguintes reagentes: Etanol (C_2H_6O), Metanol (CH_3OH), Ácido clorídrico (HCl), Ácido Nítrico (HNO_3), Acetona (C_3H_6O), Hexano ($CH_3(CH_2)_4CH_3$) e Acetato de Zinco ($(CH_3COO)_2Zn$), fornecidos pela Vetec[®]. Ortosilicato de tetraetilo ($Si(OEt)_4$) (Tetraetoxisilano (TEOS)) and Dodecil sulfato de sódio ($CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$) (Dodecil Sulfato de Sódio (SDS)) fornecidos pela Sigma-Aldrich[®]. Todos os produtos foram utilizados conforme foram recebidos, sem outros tratamentos.

3.2 Síntese do complexo de zinco

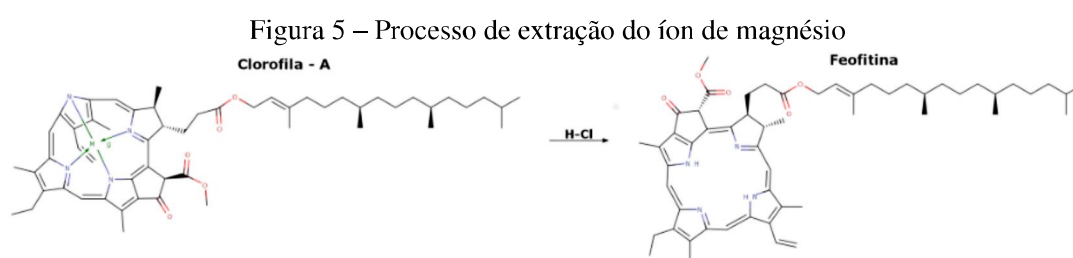
Neste trabalho, foi desenvolvido um indicador de oxigênio dissolvido, utilizando como base uma molécula organometálica baseada na estrutura de uma molécula de clorofila com a ausência de seu íon de magnésio. O complexo de clorofila-zinco é um pó cristalino de cor esverdeada, solúvel em etanol, acetona, benzeno, éter e clorofórmio, mas insolúvel em água. O complexo pode ser representado pela fórmula molecular $C_{55}H_{72}ZnN_4O_5$ e contém peso molecular de 934,6 g/mol. As ações de análise e operações de reagente químicos seguiram as normas de uso, armazenamento, manipulação, transporte e descarte de substâncias químicas. E foram supervisionadas pelos responsáveis técnicos dos laboratórios de química com o objetivo de minimizar o risco geral de acidentes.

Figura 4 – (a) Folha de Brassica oleracea L. utilizada na síntese do complexo, (b) 225 g de folhas, e (c) a solução obtida após processo de trituração e diluição em água e metano.



Fonte: autor.

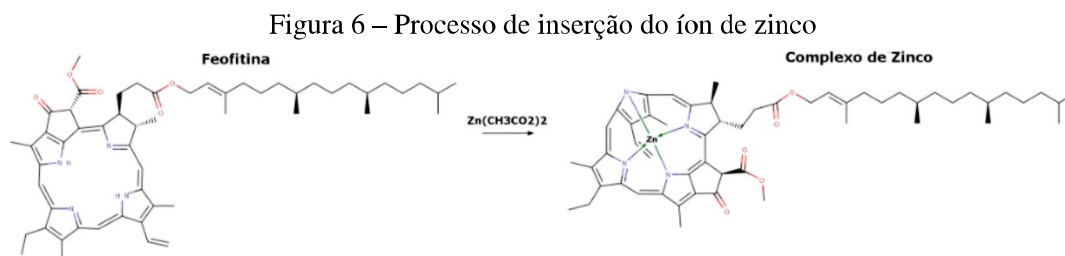
Para síntese do complexo clorofila-zinco foi utilizado um maço de folhas de couve-manteiga (*Brassica oleracea L.*) como fonte de clorofila (Figura 4a), seguindo a receita proposta por Lorenzen (1967). A couve-manteiga foi escolhida como matriz das moléculas de clorofila por ser facilmente encontrada no mercado local, podendo ser substituída por outros exemplos de folhas de cor verde intensa. As folhas foram lavadas com água corrente e os caules (porção branca da folha) foram removidos. Aproximadamente 225 gramas de couve (Figura 4b), foram trituradas junto a 150 mL de água destilada e 150 mL de metanol durante aproximadamente 5 minutos com o intuito de produzir uma solução de clorofila (Figura 4c). A solução produzida apresentava uma composição heterogênea, formada por uma fase líquida e por uma fase sólida que continha a porção fibrosa da couve manteiga. Para separar a mistura, a porção fibrosa do material triturado foi filtrado através de um filtro de algodão, e reservado em um béquer com uma proporção de 400 mL de metanol para cada 100 g de material fibroso. Esta fração filtrada apresentava um cor verde intensa. Após 24 horas mergulhado em metanol, o material fibroso liberou clorofila no recipiente. A solução foi novamente filtrada com o objetivo de separar a porção sólida da fase líquida e mais uma vez a porção sólida foi posta em imersão com metanol na mesmas proporções e tempo da etapa anterior, para extração da clorofila residual do material. Posteriormente, as fases líquidas das soluções de clorofila anteriores foram reservadas em recipiente e foram adicionadas de uma solução de 25 mL de ácido clorídrico (HCl) e de 50 mL de água destilada. A solução foi mantida em repouso por 1 h com o objetivo de completar a reação entre clorofila e HCl. O HCl extrai o átomo de magnésio da molécula de clorofila, transformando-a em feofitina (Figura 5), substância que é insolúvel em água e apresenta uma coloração castanha.



Fonte: autor.

Em seguida, foram adicionados 15 mL de hexano a solução, com objetivo de completar a remoção da feofitina, separando a fração de clorofila não reagida com o ácido, como proposto por Lorenzen (1967). A feofitina, separada da solução de clorofila, foi retirada do bé-

quer original e armazenada em outro recipiente. O material separado foi seco a 60°C e depois foi adicionado a uma solução composta de 10 mL de metanol, 10 mL de acetona e 10 mL de água destilada. Esta solução foi agitada por 20 minutos e posteriormente foram adicionados 10 g de acetato de zinco.



Fonte: autor.

A solução final foi agitada por 30 minutos. Foi observado que o material começou a regenerar a cor verde inicial, que se intensificou com o tempo, indicando a inserção de íons de zinco na estrutura do molécula de feofitina, preenchendo a lacuna do átomo de magnésio extraído da clorofila pelas etapas anteriores (Figura 6). A solução foi aquecida a 40°C para que o processo de e inserção dos íons de zinco nas moléculas de feofitina fosse acelerado, como mostrada na figura 7.

Figura 7 – Complexo de clorofila-zinco sintetizado em uma cubeta de vidro.



Fonte: autor.

3.3 Determinação da concentração do Complexo de Clorofila-Zinco

Uma recipiente de vidro vazia foi pesada para obtenção do peso real da tara. Em seguida, foi adicionado 1 mL da solução do complexo de zinco obtida no recipiente que foi posto em um forno a temperatura de 60°C. Depois de completamente seca, foi comparada a diferença de peso entre a massa da cubeta vazia e a massa da cubeta após o processo de secagem, a qual possuía uma camada de sedimentos provenientes da solução do complexo de clorofila-zinco. Foi observada uma massa de 0,15 g. Assim, usando a massa teórica da feofitina e do complexo de zinco, foi calculado que a solução possuía uma concentração molar de 0,16 mol/L de complexo.

3.4 Caracterização do efeito do oxigênio dissolvido na supressão da fluorescência do Complexo de Clorofila-Zinco

Para analisar a relação entre a intensidade de fluorescência do complexo e a quantidade de OD na água, foram utilizadas amostras de água aeradas usando um misturador de tubos tipo Vortex. Foram produzidas amostras com diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. Para suprimir o oxigênio das amostras, elas foram inicialmente aquecidas em seguida, as amostras foram arejadas durante intervalos de 0, 30, 60, 120 e 240 segundos em agitação contínua no misturador de tubos. Foi realizada a análise da intensidade de fluorescência do complexo de zinco em reação com as amostras de água utilizando o espectrofluorímetro Synergy MX, da marca BioTek. Foram obtidos espectros de fluorescências relativos às reações do complexo de zinco com diferentes concentrações de oxigênio dissolvido nas amostras, na faixa de 350 a 750 nm. Estes espectros foram avaliados em função do comportamento dos picos de fluorescência em relação a faixa de comprimentos de onda.

Os dados obtidos a partir dos espectros de absorção e fluorescência foram analisados utilizando o software *Origin[®] Pro 8*, nele foi possível plotar gráficos, gerar curvas de correlação e calcular o índice de determinação das curvas de calibração do sensor óptico.

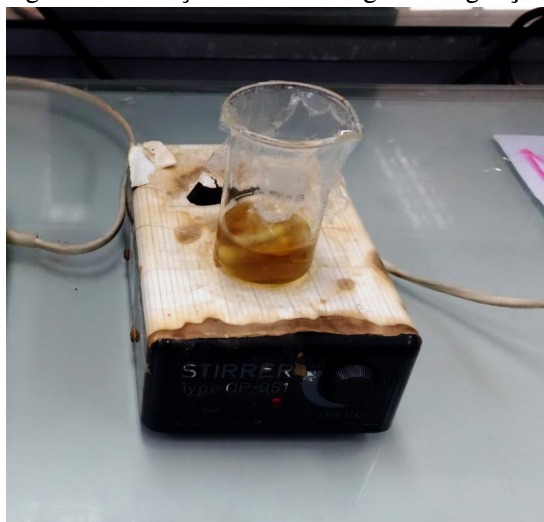
3.5 Preparação do filme fino

Para a produção dos filmes finos utilizados no protótipo, foi utilizado o método sol-gel descrito por (TIMBÓ *et al.*, 2016). Inicialmente, 5 mL de TEOS foram hidrolisados sob condições ácidas com 2,5 mL de metanol e 2,5 mL de ácido clorídrico, por 1 h sob agitação

contínua à temperatura ambiente de 25° C.

Em seguida, 0,043 g do complexo de clorofila-zinco foi diluído em 5 mL de etanol e adicionado de 0,028 g de SDS. Esta segunda solução foi adicionada a solução de TEOS hidrolisado e deixada sob agitação contínua à temperatura ambiente durante 24 horas. A Figura 8 representa a solução final sob o processo de agitação.

Figura 8 – Solução final do sol-gel sob agitação.



Fonte: autor.

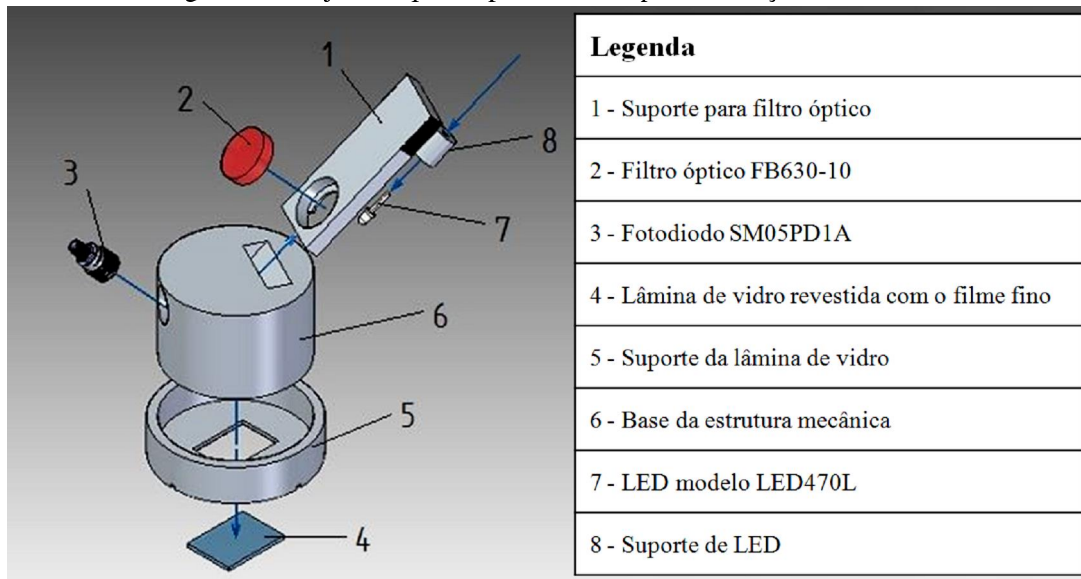
Por 2 horas, lâminas de microscopia foram mergulhadas em ácido nítrico concentrado para o ataque do substrato de sílica, gerando micro corrosão na superfície. Etapa realizada com o objetivo de para garantir a limpeza das placas e aumentar a superfície de contato para aplicação do filme fino. Na etapa seguinte, as lâminas foram lavadas com água deionizada e etanol e depois foram secas, em estufa, durante 2 horas a 120°C. Os filmes finos foram produzidos com a aplicação de 100 μ L da solução sobre cada lâmina, utilizando o método de *spin coating*. O processo de revestimento foi realizado utilizando uma ventoinha com velocidade de rotação a 1900 RPM durante 25 segundos. Os substratos revestidos com as camadas do sol-gel úmidos, foram secos à temperatura ambiente por 48 horas.

3.6 Protótipo do sensor óptico

Para validação do modelo proposto, foi desenvolvido um protótipo de sensor de bancada para medição de OD. Na Figura 9, é apresentado o modelo experimental do aparelho

sensor. Os componentes utilizados no protótipo são detalhados nas subseções a seguir.

Figura 9 – Projeto do protótipo do sensor para validação do modelo.



Fonte: autor.

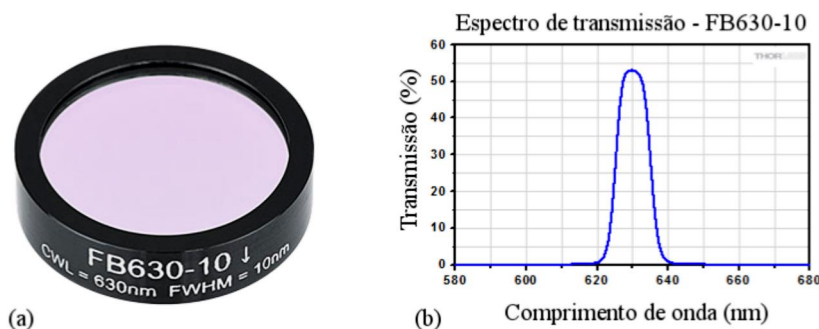
3.6.1 Suporte para filtro óptico

Esta peça foi produzida por meio de impressão 3D, com objetivo de manter o filtro óptico fixo a estrutura mecânica em um ângulo de 45 graus em relação a superfície de fixação do filme fino.

3.6.2 Filtro óptico FB630-10, da Thorlabs

Dispositivo que possui características especiais de reflexão e transmissão de luz. Permite bloquear ou transmitir determinadas faixas do espectro luminoso. Foi utilizado para modificar a transmissão de luz através do sistema óptico na faixa do espectro óptico de 620 a 640 nm (Figura 10).

Figura 10 – Filtro utilizado. (a) Thorlabs FB 630-10, (b) Espectro de transmissão.

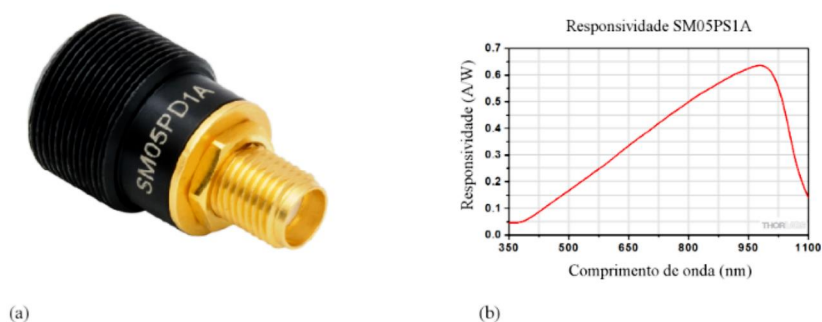


Fonte: (THORLABS, 2019a)

3.6.3 Fotodiodo SM05PD1A, da Thorlabs

Foi utilizado para leitura da fluorescência dos filmes finos e conversão da energia óptica em uma corrente elétrica. A corrente é gerada quando os fótons são absorvidos no fotodiodo. O fotodiodo SM05PD1A atua na faixa de 350 a 1100 nm (Figura 11).

Figura 11 – Fotodiodo utilizado. (a) Thorlabs SM05PD1A, (b) Espectro de responsividade.



Fonte: (THORLABS, 2019d)

3.6.4 Lâmina de vidro revestida com o filme fino do elemento sensor de OD

A lâmina para microscopia de vidro transparente, permite a fixação do sol-gel com elemento sensor em sua superfície. De modo que o sol-gel fique em contato com as amostras de água, isolando os componentes eletrônicos do protótipo e permitindo a passagem do feixe de luz responsável pela excitação do elemento sensor.

3.6.5 Base da estrutura mecânica para adaptação de o suporte da lâmina

Esta peça foi produzida com o objetivo de suportar a lâminas de vidro aplicadas com o filme fino do elemento sensor de OD.

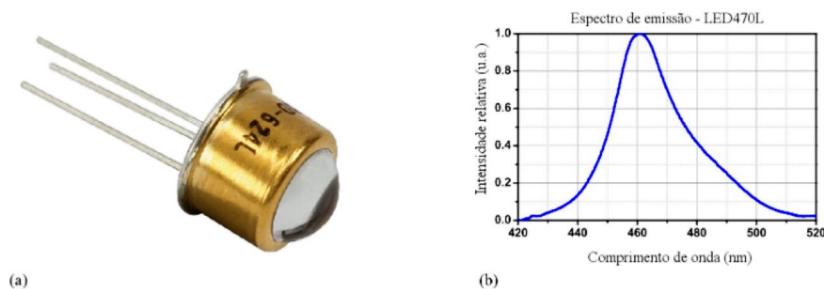
3.6.6 Estrutura mecânica para a instalação de componentes ópticos

Esta peça foi produzida para suportar e posicionar os dispositivos ópticos. A estrutura mantém o LED e o Fotodiodo a um ângulo de 90° entre si e os mantém a 45° graus em relação a superfície de fixação do filme fino.

3.6.7 LED modelo LED470L, da Thorlabs

Neste trabalho, foi utilizado como fonte luminosa com pico de emissão 460 nm, largura espectral entre 420 e 500 nm, largura a meia de 22 nm e comprimento de onda central de 470 nm. Na figura 12 é apresentado o dispositivo e seu espectro de emissão.

Figura 12 – LED utilizado. (a) Thorlabs LED470L, (b) Espectro de emissão.



Fonte: (THORLABS, 2019b)

3.6.8 Suporte de LED S05LEDM da Thorlabs

Foi utilizado para realizar o encaixe do Diodo Emissor de Luz (Light Emitting Diode) (LED) a estrutura de suporte do protótipo (Figura 13).

Figura 13 – Suporte de LED utilizado.

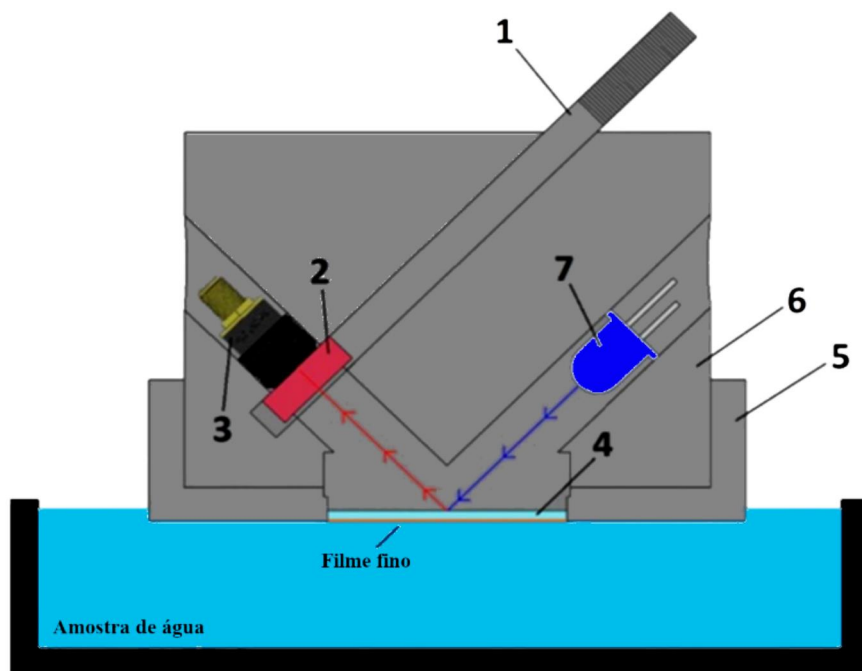


Fonte: (THORLABS, 2019c)

3.7 Testes experimentais

Para a estrutura do sensor mostrado nas figuras 9 e 14, não há variação do caminho óptico, pois a amostra de água está em contato com a face externa na placa de filme fino. O protótipo utiliza o filtro óptico (14-2), para filtrar os comprimentos de onda fora da faixa de interesse para a análise. A figura 14 descreve a representação esquemática das medições realizada pelo protótipo para validação da metodologia. Durante as medições, o corpo do protótipo de sensor é parcialmente imerso na amostra de água. Para obter medições usando o protótipo, a luz emitida pelo LED (14-7) é absorvida pelo filme fino depositado na placa (14-4). A fluorescência emitida pelo filme fino é detectado pelo fotodiodo (14-3), que retorna um valor de tensão equivalente a intensidade de fluorescência emitida pelo filme fino.

Figura 14 – Representação esquemática do processo de medição realizado pelo protótipo. (1) Suporte do filtro óptico, (2) Filtro óptico, (3) Fotodiodo, (4) Lâmina com filme fino, (5) Suporte da lâmina, (6) Corpo do protótipo, (7) LED de excitação.



Fonte: autor.

Foram utilizadas amostras de água com diferentes concentrações de oxigênio, os valores das concentrações foram obtidos com uso de um oxímetro digital modelo DM-4P, da Digimed. Os valores aferidos com o modelo comercial de oxímetro foram utilizados para realizar a correlação com os valores obtidos pelo protótipo.

3.7.1 Validação da metodologia

Para validar a metodologia de medição, foi desenvolvido um protótipo de sensor de óptico de bancada, mostrado nas Figuras 9 e 14. Os componentes ópticos utilizados para desenvolver o protótipo de bancada são descritos no segundo capítulo, onde os comprimentos de onda de excitação e a emissão foram definidos a partir dos espectros obtidos no desenvolvimento da caracterização espectrofluorimétrica do sol-gel.

As amostras de água foram oxigenadas utilizando um bomba de ar modelo -3000, da marca Chang. As medições obtidas no protótipo foram correlacionados com um sensor de OD comercial Modelo DM-4P, da marca Digimed.

3.7.2 Instrumentação eletrônica

Para disponibilizar ao usuário do protótipo os valores medidos de maneira intuitiva, foi desenvolvido um sistema eletrônico micro controlado para a realizar a conversão analógica/digital dos sinais provenientes do fotodiodo, realizar o controle do acendimento do LED e exibir o valores lidos formatados em um *display*.

Para o acionamento do LED, foi utilizado um circuito integrado específico para controle de LED's de potência. Os valores de tensão sobre o LED e de corrente passante, devem ser constantes para a garantir que a intensidade luminosa do mesmo seja estável.

Para a polarização do fotodiodo, foi utilizado o circuito recomendado em sua ficha técnica que consiste em uma fonte de alimentação, para polarização inversa do fotodiodo; um filtro passa-baixa, para filtrar ruídos; e uma resistência de carga, para analisar a corrente gerada pelo fotodetector indiretamente em forma de tensão.

O valor da resposta do circuito de polarização do fotodiodo, em forma de tensão, lida no resistor de carga do circuito é diretamente proporcional a intensidade de fluorescência emitida pelo sol-gel. O sinal elétrico obtido pelo circuito, é convertido utilizando um conversor analógico/digital que possui uma precisão de $4,89\text{ mV}$ para uma faixa de referência de 0 a 5 Volts com 10 bits de resolução, a uma taxa de amostragem de 8,6 mil amostras por segundo. Os valores convertidos são disponibilizados em um *display* LCD 16x2 e em uma porta serial, onde podem ser lidos com o uso de um computador. No apêndice A é apresentado o esquemático do circuito eletrônico do protótipo do sensor.

3.8 Conclusão

Neste capítulo foram detalhadas as ações desenvolvidos durante o trabalho. Foram citados o processo de preparação do complexo sensor e dos filme finos. Também foi exposto como comportamento do elemento sensor na presença de OD foi caracterizado. Por fim, foram detalhados os componentes utilizados para o desenvolvimento do protótipo do sensor de bancada e como as amostras foram preparadas e analisadas com o protótipo do sensor óptico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram realizados estudos dos espectros de absorção e de fluorescência do complexo de zinco desenvolvido, na faixa de 350 a 750 nm. Este estudo teve como objetivo de identificar as regiões de interesse para análise do comportamento do elemento sensor em relação a amostras de água com diferentes concentrações de oxigênio dissolvido.

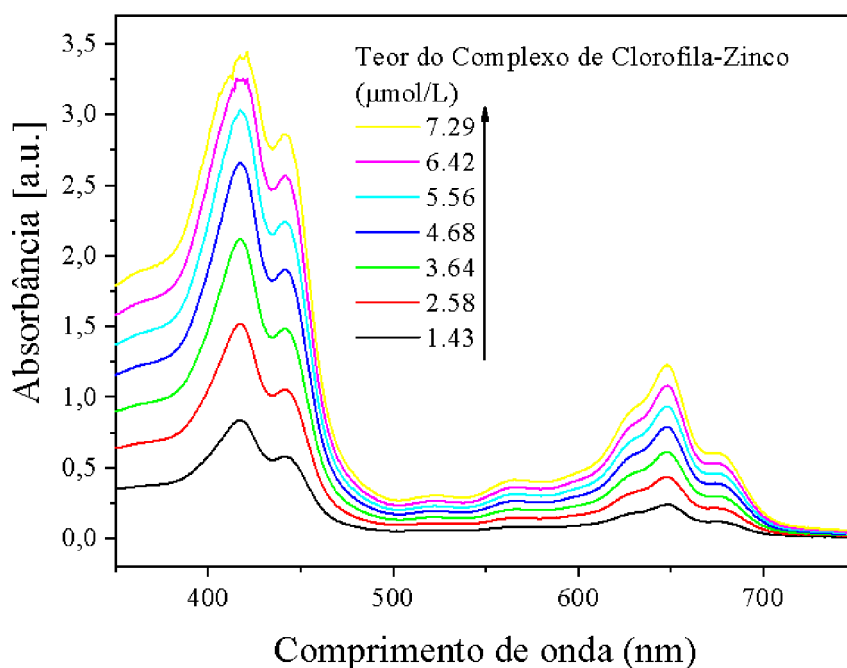
A caracterização do elemento sensor foi utilizada para definir a forma e os requisitos necessários para se realizar a aquisição dos sinais ópticos, para selecionar a fonte luminosa de excitação do material, o fotodetector adequado para faixa de emissão e o filtro óptico ótimo para realizar a filtragem do sinal.

4.1 Análise de espectrofotometria

A Figura 15 mostra o espectro de absorbância do complexo de zinco em função do comprimento de onda na faixa de 350 a 750 nm, utilizando o espectrofluorímetro Synergy MX, da marca BioTek, para diferentes concentrações de clorofila-zinco, especificamente: 1,43, 2,58, 3,64, 4,68, 5,56, 6,42 e 7,29 $\mu\text{mol/L}$. As concentrações do complexo variaram proporcionalmente ao volume da solução de clorofila-zinco aplicadas na composição das amostras.

Foram utilizadas soluções com diversas concentrações do complexo de zinco a fim de se determinar qual delas apresentava melhor resposta em termos de intensidade de absorção de sinal luminoso.

Figura 15 – Efeito da concentração do complexo clorofila-zinco no espectro de absorbância na região visível.

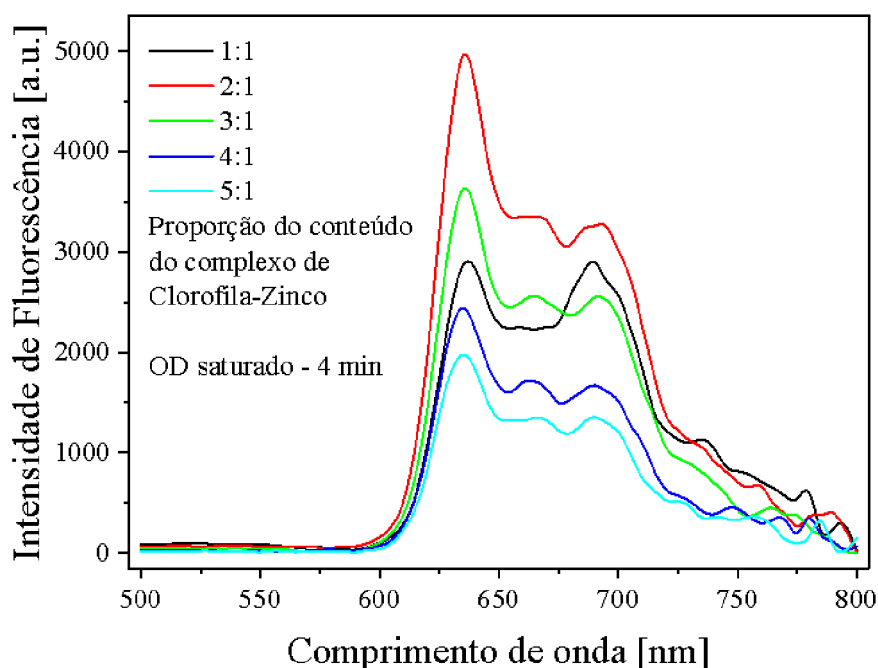


Fonte: autor.

Inicialmente, foram observadas duas regiões de absorção do complexo, uma na faixa entre 350 e 475 nm e a outra na região entre 600 e 700 nm. Estes resultados são consistentes com o espectro de absorção da clorofila-a obtida por (LORENZEN, 1967). Foi possível notar que a absorbância aumentou proporcionalmente à concentração do complexo nos picos de 420, 440 e 650 nm. O comprimento de onda de 440 nm foi escolhido para realizar a excitação do complexo de clorofila-zinco, dados a sua intensidade, comportamento e a disponibilidade de uma fonte luminosa nessa faixa para o desenvolvimento de um protótipo.

Foi realizada uma investigação sobre o efeito da concentração do complexo de clorofila-zinco no espectro de fluorescência de amostras aeradas por 4 minutos. As amostras foram aeradas pelo período de 4 minutos com o objetivo de saturar as concentrações de OD (FIORUCCI; BENEDETTI, 2005). Foi utilizado o comprimento de onda de excitação de 440 nm para uma análise da fluorescência em função da quantidade de OD em amostras de água (Figura 16).

Figura 16 – Efeito da concentração do complexo clorofila-zinco no espectro de fluorescência das amostras aerado por 4 minutos e excitadas em 440 nm.



Fonte: autor.

Amostras com diferentes proporções de complexo de zinco e solvente (Etanol) em sua composição foram preparadas, especificamente: 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 e 5:1. Dos espectros de fluorescência mostrados na Figura 16, foi possível notar, para todas as concentrações testadas, dois picos de emissão característicos obtidos em 635 e 680 nm.

Especificamente para o comprimento de onda de 635 nm, há um aumento na intensidade de fluorescência com o aumento da concentração de complexo na amostra nos intervalos de proporção de 1:1 e de 2:1. As amostras com proporções de 2:1 e de 3:1 apresentaram as maiores intensidades de fluorescência. Porém, para concentrações do complexo nos intervalos de proporção de 3:1, de 4:1 e de 5:1, a intensidade de fluorescência diminuiu continuamente, como descrito na Figura 16.

Na faixa de emissão em 680 nm, as amostras de proporção de 1:1 e de 2:1, apresentaram maiores intensidade de fluorescência enquanto as de proporção de 3:1, 4:1 e 5:1 continuaram com o perfil de redução de intensidade de emissão.

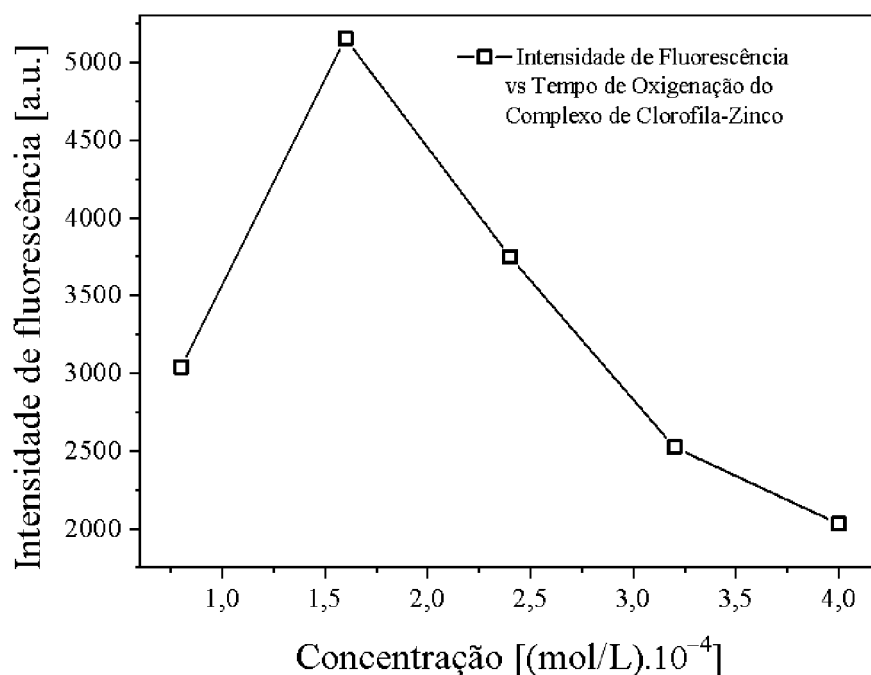
É possível atribuir o aumento em fluorescência a 635 nm nas primeiras faixas de

concentração (1:1, 2:1) a maior concentração do teor do complexo de clorofila-zinco na solução, caracterizando sua sensibilidade e potencial de aplicação para sensoriamento.

Em relação à redução da fluorescência para maiores concentrações de complexo, sugere-se que tenha ocorrido devido à redução da relação entre a intensidade luminosa transmitida e concentração do complexo de zinco, já que para altas concentrações de complexo, a fluorescência é absorvida pelas moléculas não excitadas do complexo. Esta hipótese é reforçada pelo fato de que o complexo de clorofila-zinco apresenta uma faixa de absorção na região entre 600 e 700 nm, como mostrado na Figura 16. Devido a sua intensidade e sua definição, o comprimento de onda de 635 nm foi escolhido para analisar a fluorescência de complexo de clorofila-zinco.

Na Figura 17, a intensidade da fluorescência é mostrada em função da concentração do complexo clorofila-zinco. Para esse gráfico, foi utilizado o comprimento de onda de excitação de 440 nm e realizada a análise de emissão de fluorescência em 635 nm.

Figura 17 – Efeito da concentração do complexo clorofila-zinco na fluorescência analisada em 635 nm de amostras aeradas durante 4 min e excitadas a 440 nm.

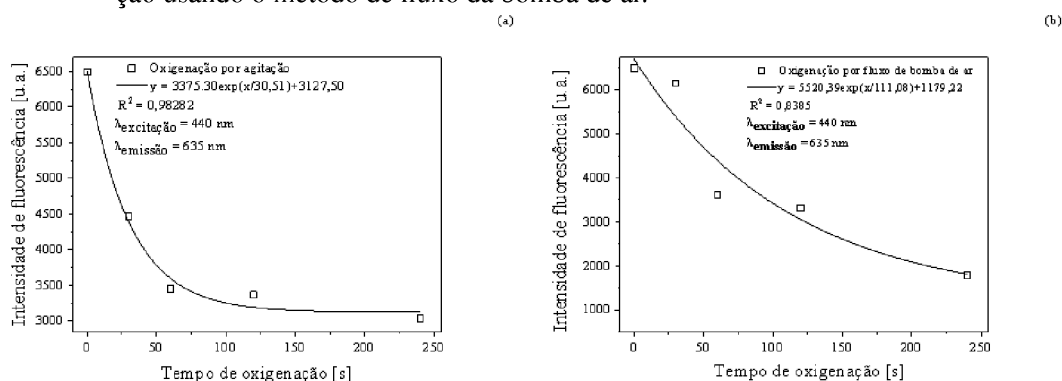


Fonte: autor.

Foi possível observar que a intensidade de fluorescência aumenta com o acréscimo da concentração do complexo, com o pico de fluorescência ocorrendo na concentração de $1,6 \times 10^{-4}$ mol / L, e com verificação da saturação em concentrações mais altas. Estes resultados indicaram a relação de 2:1 como a mais promissora para detecção de OD, devido a maior intensidade de fluorescência e, portanto, maior sensibilidade.

As Figuras 18(a) e 18(b) mostram, respectivamente, a intensidade de fluorescência obtida usando métodos de oxigenação das amostras por agitação e por fluxo da bomba de ar. Podemos ver que para ambos os métodos de oxigenação, a supressão de fluorescência ocorre devido ao aumento da quantidade de OD nas amostras.

Figura 18 – (a) Intensidade de fluorescência em função do tempo de oxigenação usando o método de agitação. (b) Intensidade de fluorescência em função de tempo de oxigenação usando o método de fluxo da bomba de ar.



Fonte: autor.

Durante os primeiros 60 segundos, a diminuição da fluorescência é mais intensa devido ao aumento da quantidade de oxigênio. No entanto, a partir desse valor, a quantidade de oxigênio dissolvido começa a saturar na amostra. Estes resultados estão de acordo com a respostas obtidas por Chu e Chuang (2015).

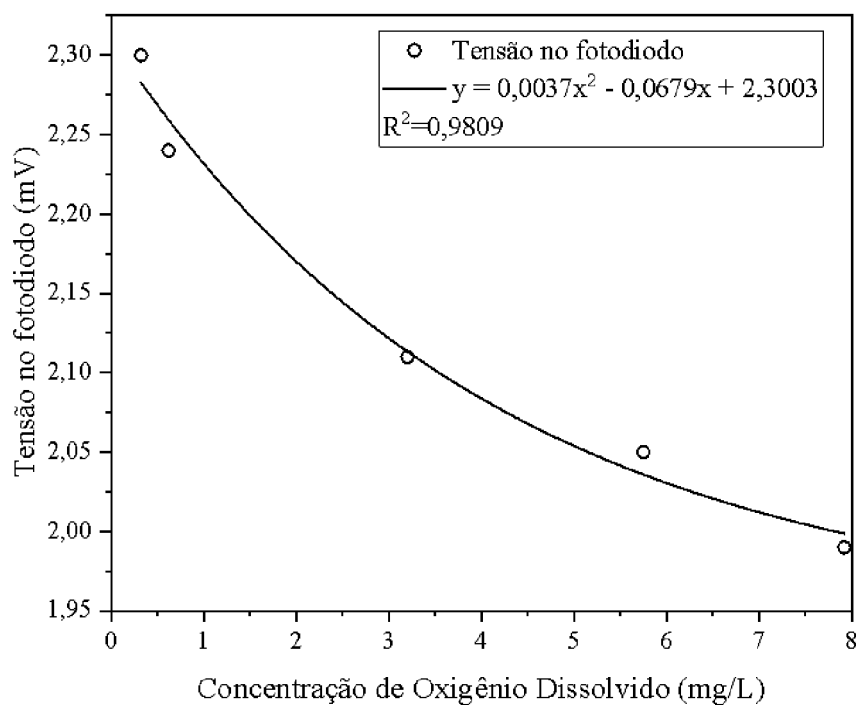
A diminuição da intensidade de fluorescência está de acordo com um decaimento exponencial, assim, podemos ver um bom ajuste entre o pontos obtidos e a curva de decaimento com boa correlação de, $R^2 = 0,98282$ e $R^2 = 0,83849$ para o métodos de agitação e de fluxo da bomba de ar, respectivamente. O método de agitação apresenta um desempenho melhor do que o método de fluxo da bomba de ar, pois é um método de aeração mais homogêneo, uma vez que as amostras são agitadas por completo enquanto na aeração por fluxo de bomba de ar, o ponto de inserção de Oxigênio na amostra é pontual (NAGL; WOLFBEIS, 2007).

4.2 Protótipo

4.2.1 Resposta do sensor

Na Figura 19, é apresentada a resposta do sensor óptico com a tensões medidas no fotodiodo e em função da concentração de OD nas amostra. Foi possível notar a redução na intensidade de luz da fluorescência com o aumento da concentração de OD. Devido a supressão da fluorescência causada pela presença de oxigênio dissolvido seguindo o comportamento das análises de espectrofluorimetria e corroborando com as observações realizadas por Chu e Chuang (2015).

Figura 19 – Tensão no fotodiodo em função do OD concentração obtida protótipo do sensor óptico.



Fonte: autor.

Para a relação entre a intensidade de fluorescência medida e a concentração de oxigênio dissolvido das amostras, foi obtida uma curva de calibração de razão $y = 0,0037x^2 - 0,0679x + 2,3003$, com um $R^2 = 0,9809$, por meio dos valores das tensões obtidas no fotodi-

odo do protótipo aplicadas a uma regressão linear simples.

Foi possível observar uma variação de 310 *mV* para uma faixa dinâmica de de medição entre 0 e 7,6 *mg/L* de OD. O protótipo apresentou uma sensibilidade de $40,78 \frac{mV}{mg/L}$ de OD, valor obtido por meio da relação entre o valor da variação de tensão observada pelo protótipo (310 *mV*) e a faixa dinâmica de medição de OD (0 e 7,6 *mg/L*). Também foi observada uma resolução de 0.119 *mg/L* para medição de OD, relacionando a faixa de variação de tensão obtida pelo protótipo e a resolução do conversor analógico / digital utilizado. Onde esse valores de leitura são equivalentes aos dispositivos convencionais oferecidos no mercado, durante o período de desenvolvimento deste trabalho. No apêndice C, estão listados os custos para o desenvolvimento do protótipo e as imagens de sua estrutura montada.

4.3 Conclusão

Neste capítulo foram apresentados o resultados obtidos durante a pesquisa. O elemento sensor organometálico, sintetizado a partir de moléculas de clorofila A, apresentou absorção intervalos nas faixas 400–450 nm e 630–660 nm e picos de emissão em 640 e 680 nm. Foi observada a supressão de fluorescência do elemento sensor para amostras com diferentes concentrações de OD. As curvas de supressão de fluorescência mostraram decaimento exponencial com boa correlação, de $R^2 = 0,98282$ e $R^2 = 0,83849$ para métodos de oxigenação por agitação e por fluxo de bomba de ar, respectivamente. Desenvolveu-se o protótipo de um sensor de bancada, utilizando um LED como fonte de luz, centrado em 460 nm e com emissão na faixa de 420 - 480 nm para a excitação do elemento sensor; em conjunto com um filtro óptico na faixa de 620 - 640 nm para filtragem do sinal analisado pelo fotodetector. A relação entre a intensidade da fluorescência e a concentração de oxigênio dissolvido, medidos através da tensão do fotodiodo, gerou uma curva de calibração do sensor com o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9809$.

5 CONCLUSÕES

No presente trabalho, foi desenvolvido uma nova técnica óptica de medição de oxigênio dissolvido em água utilizando espectro fluorimetria e um indicador químico verde.

Foi desenvolvido um elemento sensor organometálico, sintetizado a partir de moléculas de clorofila-A, extraída da planta *Brassica oleracea L.* por meio da inserção de íons de zinco (Zn^{+2}) em substituição ao íons magnésio (Mg^{+2}). O elemento sensor apresentou absorção intervalos nas faixas 400–450 nm e 630–660 nm e picos de emissão a 640 e 680 nm. O complexo de zinco, atende aos princípios da química analítica verde, por ser de origem natural e apresentar mínimos impactos ambientais em seu processo de fabricação. Foi utilizado o método sol-gel para preparação de filmes finos com o complexo fotossensível, o complexo de clorofila-zinco, depositados sobre placas de sílica. Estas placas apresentaram sensibilidade elevada à presença de OD em amostras de água.

Análises laboratoriais foram utilizadas para compreender o mecanismo de supressão de fluorescência do elemento sensor para amostras com diferentes concentrações de OD. As curvas de supressão de fluorescência mostraram decaimento exponencial com boa correlação, de $R^2 = 0,98282$ e $R^2 = 0,83849$ para diferentes métodos de oxigenação.

Desenvolveu-se o protótipo de um sensor de bancada, utilizando um LED como fonte de luz, centrado em 460 nm e com emissão na faixa de 420 - 480 nm para a excitação do elemento sensor; em conjunto com um filtro óptico na faixa de 620 - 640 nm para filtragem do sinal analisado pelo fotodetector. A relação entre a intensidade da fluorescência e a concentração de oxigênio dissolvido, medidos através da tensão do fotodiodo, gerou uma curva de calibração do sensor com o coeficiente de determinação $R^2 = 0,9809$. O protótipo se mostrou confiável e preciso para faixas de OD entre 0 a 7,6 mg/L. Através do método de regressão, o sensor é calibrado e os valores de amostras são inseridas como entrada para a determinação do Oxigênio Dissolvido.

Desta forma, comprovou-se a eficácia da técnica óptica de medida de OD por detecção da supressão de fluorescência de um indicado luminescente verde. Assim, a metodologia desenvolvida neste trabalho é apresentada como um novo método óptico para medição de OD.

5.1 Perspectiva de trabalhos futuros

Como perspectivas para trabalhos futuros, apresentamos as seguintes propostas:

- Efetuar medidas de OD em diferentes materiais como sangue, efluentes e compostos sólidos.
- Aperfeiçoar o processo de produção e fixação dos filmes finos.
- Realizar um estudo de adequação do protótipo às normas técnicas e legais com objetivo de torná-lo um produto comercializável.
- Desenvolvimento de um sistema que possibilite a coleta de amostras e a realização de medidas de maneira autônoma em reservatórios convencionais.

REFERÊNCIAS

- ANASTAS, P. T. Green Chemistry and the role of analytical methodology development. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 167–175, 1999.
- ARSHADI, M.; VAHID, F. S.; SALVACION, J. W. L.; SOLEYMANZADEH, M. A practical organometallic decorated nano-size SiO_2 - Al_2O_3 mixed-oxides for methyl orange removal from aqueous solution. **Applied Surface Science**, v. 280, p. 726–736, 2013.
- BORISOV, S. M.; WOLFBEIS, O. S. Optical biosensors. **Chemical reviews**, ACS Publications, v. 108, n. 2, p. 423–461, 2008.
- BOUAZIZI, N.; AJALA, F.; BETTAIBI, A.; KHELIL, M.; BENGHNIA, A.; BARGOUGUI, R.; LOUHICHI, S.; LABIADH, L.; SLAMA, R. B.; CHAOUACHI, B.; KHIROUNI, K.; HOUAS, A.; AZZOUZ, A. Metal-organo-zinc oxide materials: Investigation on the structural, optical and electrical properties. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 656, p. 146–153, 2016.
- BRASIL, M. d. S. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, n. 12, 2011.
- CARPENTER, J. H. The accuracy of the winkler method for dissolved oxygen analysis 1. **Limnology and Oceanography**, Wiley Online Library, v. 10, n. 1, p. 135–140, 1965.
- CHOI, M. M. F.; XIAO, D. Single standard calibration for an optical oxygen sensor based on luminescence quenching of a ruthenium complex. **Analytica Chimica Acta**, v. 403, n. 1-2, p. 57–65, 2000.
- CHU, C. ; CHUANG, C. . Ratiometric optical fiber sensor for dual sensing of copper ion and dissolved oxygen. **Applied Optics**, v. 54, n. 36, p. 10659–10665, 2015.
- CLARK, L. C.; WOLF, R.; GRANGER, D.; TAYLOR, Z. Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography. **Journal of applied physiology**, v. 6, n. 3, p. 189–193, 1953.
- COITIO, E. L.; MELLA, A.; CRDENAS-JIRN, G. I. Theoretical assessment of the photosensitization mechanisms of porphyrin-ruthenium(II) complexes for the formation of reactive oxygen species. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 294, p. 68–74, 2014.
- CUMMINS, K. E. Quenching of the fluorescence of tris (2 2-bipyridine) ruthenium (ii)[ru (bipy) 3] 2+ by a dimeric copper (ii) complex. 2011.
- DEEPA, N.; GANESH, A. B. Sol–gel based portable optical sensor for simultaneous and minimal invasive measurement of ph and dissolved oxygen. **Measurement**, Elsevier, v. 59, p. 337–343, 2015.
- DEKKER, A.; ZAMUROVIĆ-NENAD, Ž.; HOOGENBOOM, H.; PETERS, S. Remote sensing, ecological water quality modelling and in situ measurements: a case study in shallow lakes. **Hydrological Sciences Journal**, Taylor & Francis, v. 41, n. 4, p. 531–547, 1996.
- EL-NAHHAL, I. M.; ZOURAB, S. M.; EL-ASHGAR, N. M. Encapsulation of phenolphthalein pH-indicator into a sol-gel matrix. **Journal of dispersion science and technology**, Taylor & Francis, v. 22, n. 6, p. 583–590, 2001.

FAN, X.; WHITE, I. M.; SHOPOVA, S. I.; ZHU, H.; SUTER, J. D.; SUN, Y. Sensitive optical biosensors for unlabeled targets: A review. **Analytica Chimica Acta**, Elsevier, v. 620, n. 1-2, p. 8–26, 2008.

FIORUCCI, A. R.; BENEDETTI, E. A importância do oxigênio dissolvido em ecossistemas aquáticos. **Química nova na escola**, v. 22, p. 10–16, 2005.

GHOLIZADEH, M. H.; MELESSE, A. M.; REDDI, L. **A comprehensive review on water quality parameters estimation using remote sensing techniques**. 2016.

GRIFFITH, J. A. Geographic techniques and recent applications of remote sensing to landscape-water quality studies. **Water, Air, and Soil Pollution**, Springer, v. 138, n. 1-4, p. 181–197, 2002.

HENCH, L. L.; WEST, J. K. The sol-gel process. **Chemical reviews**, ACS Publications, v. 90, n. 1, p. 33–72, 1990.

HU, C.; LI, M.; ZENG, D.; GUO, S. A survey on sensor placement for contamination detection in water distribution systems. **Wireless Networks**, Springer, v. 24, n. 2, p. 647–661, 2018.

JAHAN, M.; BAO, Q.; LOH, K. P. Electrocatalytically active graphene-porphyrin MOF composite for oxygen reduction reaction. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 15, p. 6707–6713, 2012.

KLEIN, L. C. **Sol-gel technology for thin films, fibers, preforms, electronics, and specialty shapes**. [S.l.]: William Andrew Publishing, 1988.

KUSAMA, H.; FUNAKI, T.; SAYAMA, K. A computational study on Ru complexes with bidentate carboxylate ligands: Insights into the photocurrents of dye-sensitized solar cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 314, p. 171–177, 2016.

LEE, B. Review of the present status of optical fiber sensors. **Optical fiber technology**, Elsevier, v. 9, n. 2, p. 57–79, 2003.

LORENZEN, C. J. Determination of Chlorophyll and pheopigments.pdf. **Notes and Comment**, v. 12, n. 2, p. 343–346, 1967.

MALINA, L.; TOMANKOVA, K. B.; MALOHLAVA, J.; JIRAVOVA, J.; MANISOVA, B.; ZAPLETALOVA, J.; KOLAROVA, H. The in vitro cytotoxicity of metal-complexes of porphyrin sensitizer intended for photodynamic therapy. **Toxicology in Vitro**, v. 34, p. 246–256, 2016.

MANTOURA, R. F. Organo-metallic interactions in natural waters. **Elsevier Oceanography Series**, v. 31, n. C, p. 179–223, 1981. ISSN 04229894.

MCDONAGH, C.; KOLLE, C.; MCEVOY, A. K.; DOWLING, D. L.; CAFOLLA, A. A.; CULLEN, S. J.; MACCRAITH, B. D. Phase fluorometric dissolved oxygen sensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 74, n. 1-3, p. 124–130, 2001.

MILLS, A. Controlling the sensitivity of optical oxygen sensors. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 51, n. 1-3, p. 60–68, 1998.

MOERNER, W. New directions in single-molecule imaging and analysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, National Acad Sciences, v. 104, n. 31, p. 12596–12602, 2007.

NAGL, S.; WOLFBEIS, O. S. **Optical multiple chemical sensing: Status and current challenges**. 2007. 507–511 p.

NAMIESNIK, J. Trends in environmental analytics and monitoring. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 2-3, p. 221–269, 2000.

RAMAMOORTHY, R.; DUTTA, P. K.; AKBAR, S. A. Oxygen sensors: Materials, methods, designs and applications. **Journal of Materials Science**, v. 38, n. 21, p. 4271–4282, 2003.

THORLABS. **FB630-10 - Filtro Passa Banda, CWL = 630, FWHM = 10**. 2019. Disponível em: <<https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=FB630-10>>. Acesso em: 2019-07-01.

THORLABS. **LED470L - LED com lente de vidro para 469nm; potência 170mW; pacote TO-39**. 2019. Disponível em: <<https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=LED470L>>. Acesso em: 2019-07-01.

THORLABS. **S05LEDM - Suporte tipo SM05 para montagem de diodos emissores de luz**. 2019. Disponível em: <<https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=S05LEDM>>. Acesso em: 2019-07-01.

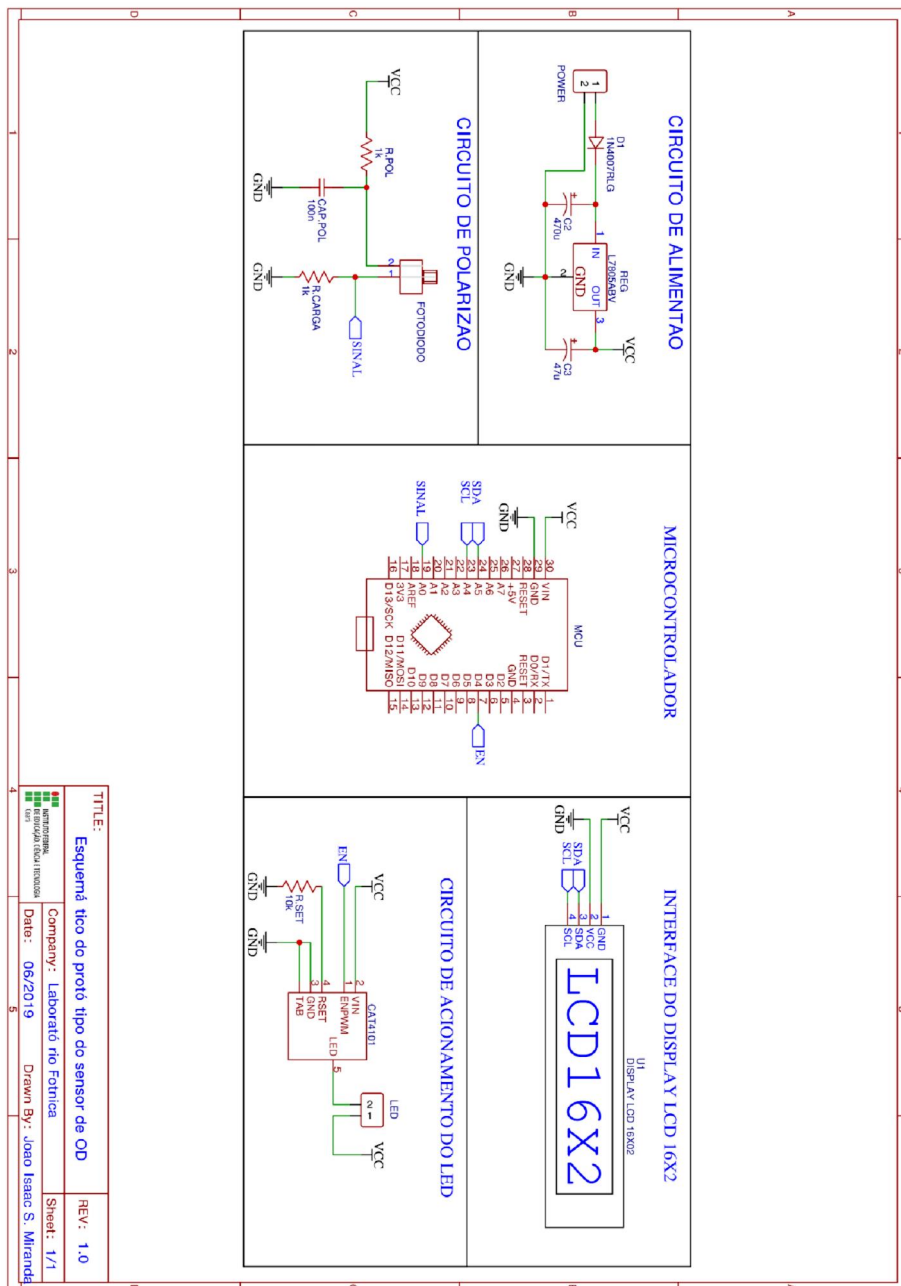
THORLABS. **SM05PD1A - Fotodiodo de Si montado em SM05 para 350-1100nm**. 2019. Disponível em: <<https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=SM05PD1A>>. Acesso em: 2019-07-01.

TIMBÓ, P.; PINTO, P. V. F.; PINHO, H. A.; MOURA, L. P. D.; CHRETIEN, J. B.; VIANA, F. W.; FILHO, R. G. D.; SILVA, E. B. D.; SILVA, M. E. R. D.; MENEZES, J. W. M.; GUIMARÃES, G. D. F.; FRAGA, W. B. PH optical sensor based on thin films of sol-gel with bromocresol purple. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 223, p. 406–410, 2016. ISSN 09254005.

TIMIN, A. S.; RUMYANTSEV, E. V.; SOLOMONOV, A. V.; MUSABIROV, I. I.; SERGEEV, S. N.; IVANOV, S. P.; BERLIER, G.; BALANTSEVA, E. Preparation and characterization of organo-functionalized silicas for bilirubin removal. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 464, p. 65–77, 2015.

WILD, J. D.; MEIJERINK, A.; RATH, J.; SARK, W. V.; SCHROPP, R. Upconverter solar cells: materials and applications. **Energy & Environmental Science**, Royal Society of Chemistry, v. 4, n. 12, p. 4835–4848, 2011.

APÊNDICE A – ESQUEMÁTICO DO PROTÓTIPO DO SENSOR



APÊNDICE B – PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

B.1 Publicações científicas relacionadas a dissertação

B.1.1 Artigos publicados em revistas

SILVA, Erandir Brasil et al. Green optical dissolved oxygen sensor based on a chlorophyll–zinc complex extracted from the plant *Brassica oleracea* L. **Applied Optics**, v. 56, n. 36, p. 9951-9956, 2017.

B.2 Publicações científicas não relacionadas a dissertação

B.2.1 Artigos publicados em revistas

DE MOURA, Lucas Pinheiro et al. Development of an alternating electrical current meter mobile for low and high voltage: polarimetric analysis, mathematical model, design, and field tests. **Optical Engineering**, v. 57, n. 10, p. 104105, 2018.

CAVALCANTE, D. N. S. et al. Experimental AND and OR Logic Gates With MZI and SOA Using PAM Modulation. **IEEE Photonics Technology Letters**, v. 31, n. 1, p. 11-14, 2019.

B.2.2 Resumos publicados em eventos

MIRANDA, J. I. S. et al. Protótipo de fonte de luz de cor sintonizável. **XIII Simpósio de Lasers e Suas Aplicações**, 2018.

APÊNDICE C – ESTRUTURA E CUSTOS DE FABRICAÇÃO DO PROTÓTIPO

Na tabela 2 são listados os custos relacionados a produção de um exemplar do protótipo de sensor óptico de OD.

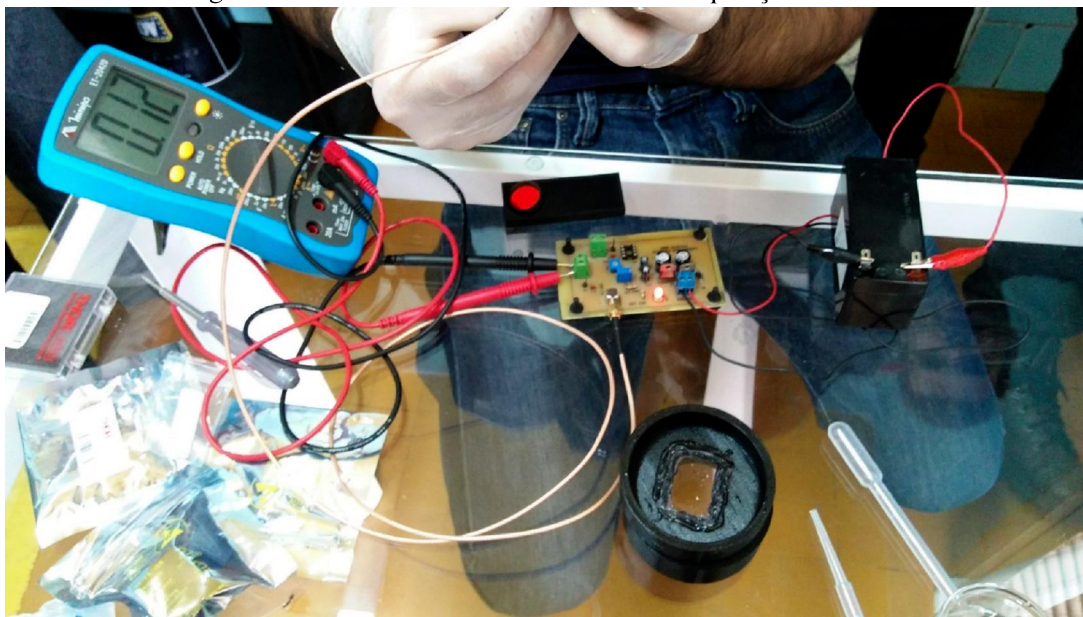
Tabela 2 – Custos de fabricação do protótipo

Componente	Preço	Quantidade	Valor
LED 470L	R\$ 52,48	1	R\$ 52,48
Fotodiodo SM05PD1A	R\$ 59,45	1	R\$ 59,45
Microcontrolador	R\$ 22,00	1	R\$ 22,00
Componentes eletrônicos diversos	R\$ 30,00	1	R\$ 30,00
Componentes mecânicos diversos	R\$ 50,00	1	R\$ 50,00
Valor total (R\$)			R\$ 213,93

Fonte: autor

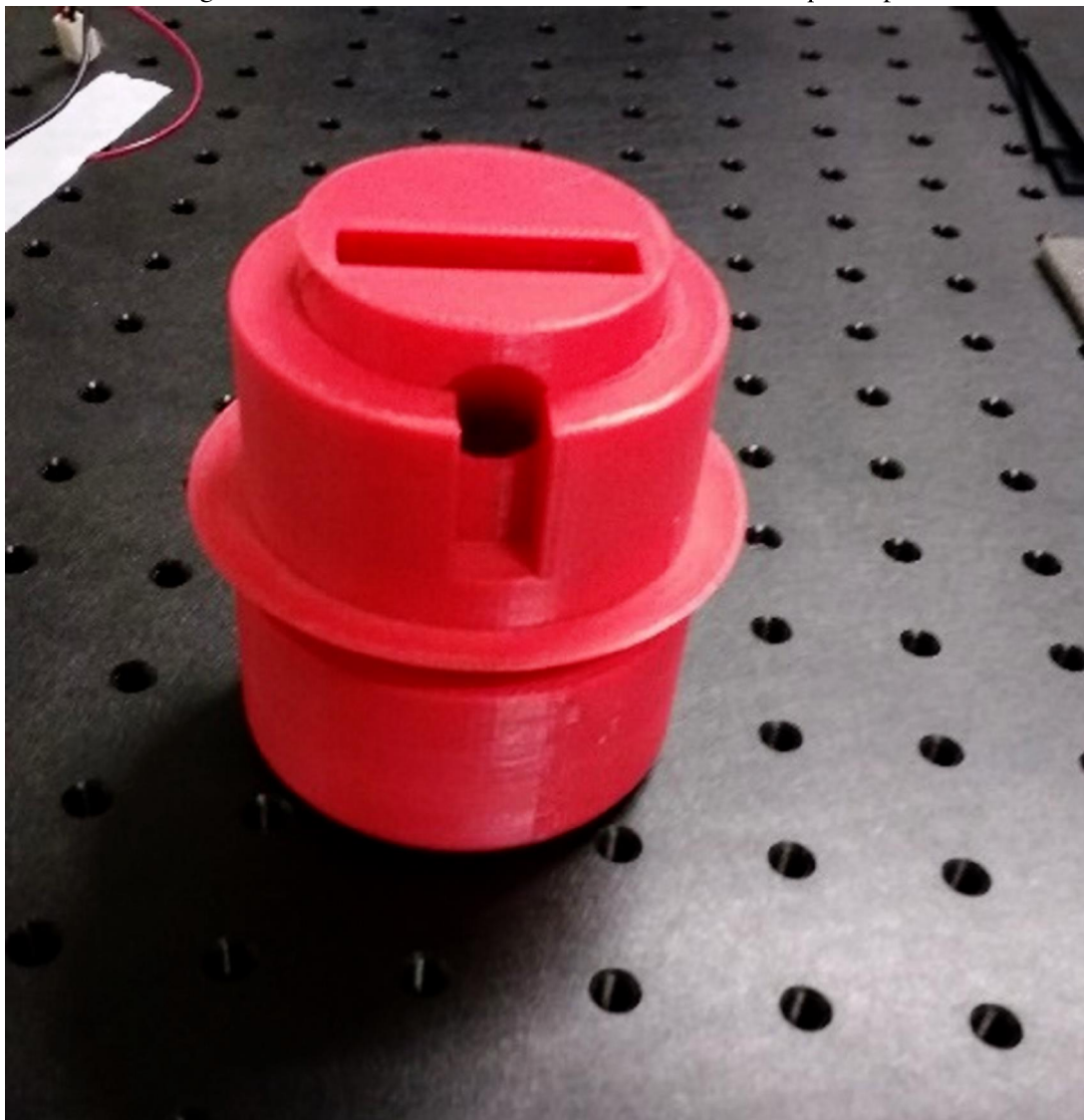
Nas imagens a seguir são mostradas as etapas de testes do circuito eletrônico do sensor (Figura 20), a primeira versão da estrutura mecânica impressa (Figura 21) e a versão final do protótipo em ambiente de testes (Figura 22).

Figura 20 – Testes do circuito eletrônico de aquisição de dados.



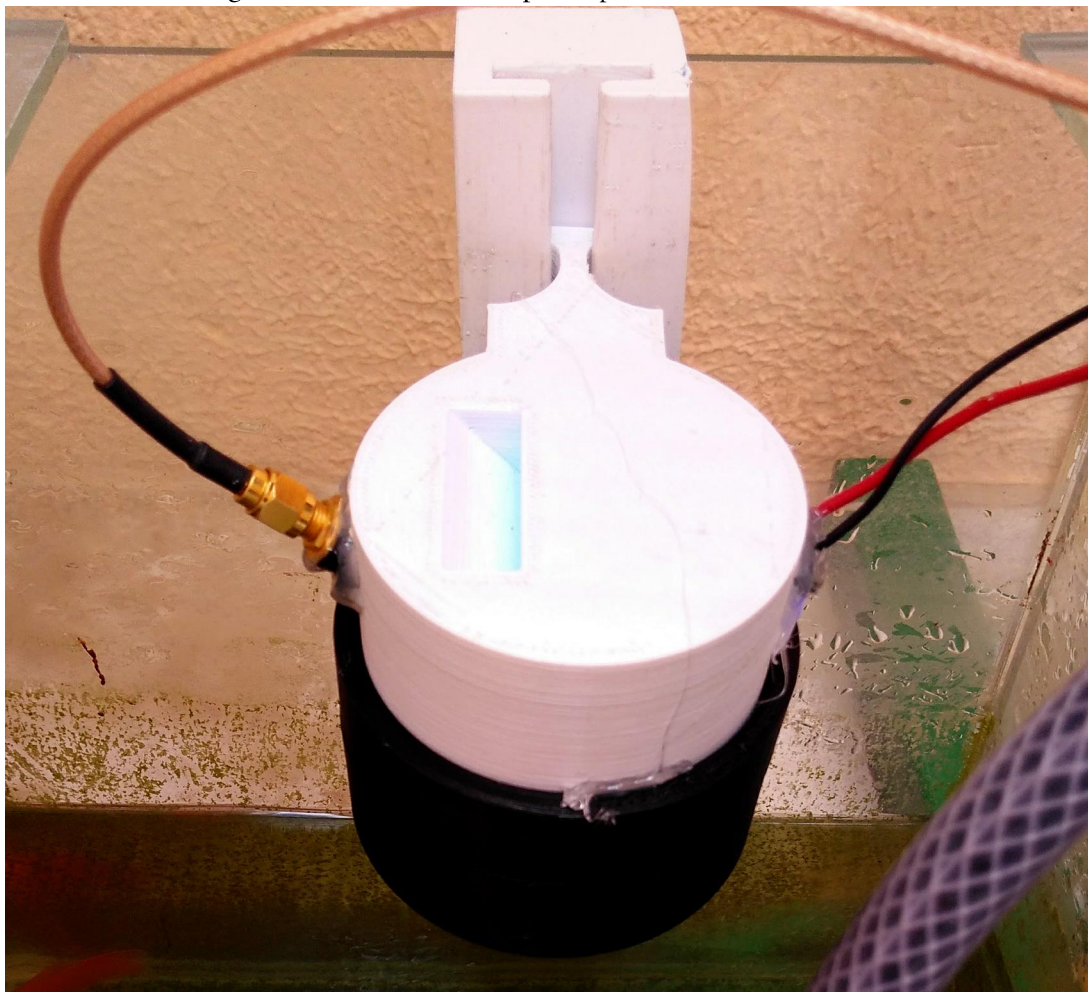
Fonte: autor.

Figura 21 – Primeiro modelo da estrutura mecânica do protótipo.



Fonte: autor.

Figura 22 – Versão final do protótipo em ambiente de testes.



Fonte: autor.