

## 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.sbq.org.br>

### Equilibrium Constant Determination Using Digital Images

**Abstract:** Herein, analytical chemistry students determine the  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} + \text{SCN}^- \rightleftharpoons [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+} + \text{H}_2\text{O}$  reaction equilibrium constants.  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  has a slight yellow color,  $\text{SCN}^-$  is colorless and  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$  are deep blood-red ( $\lambda_{\text{max}} = 447 \text{ nm}$ ). Thus, the reaction is easily observed. Equilibrium constants were calculated using eight  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  ( $0.002 \text{ mol L}^{-1}$ ) and  $\text{SCN}^-$  ( $0.002 \text{ mol L}^{-1}$ ) mixtures,  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$  concentrations were determined 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 determined 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 organizes data, provides calibration plots and determines equilibrium constants in the eight  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{SCN}^-$  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  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} + \text{SCN}^- \rightleftharpoons [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$ , o  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  tem coloração amarela pálida, o  $\text{SCN}^-$  é incolor, enquanto o  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$  tem coloração vermelha intensa ( $\lambda_{\text{max}} = 447 \text{ nm}$ ). Portanto, a reação é facilmente observada. A constante de equilíbrio foi calculada utilizando oito misturas de  $\text{Fe}^{3+}$  ( $0,002 \text{ mol L}^{-1}$ ) e  $\text{SCN}^-$  ( $0,002 \text{ mol L}^{-1}$ ). A concentração do complexo  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$  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  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{SCN}^-$ . 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](mailto: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,<sup>a,b</sup> Jane Mary Lafayette Neves Gelinski,<sup>c</sup> Endler Marcel Borges<sup>a,c,\*</sup>

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

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

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

\* [marcelborgesb@gmail.com](mailto: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 Fe<sup>3+</sup>

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(H<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>(SCN)]<sup>2+</sup>

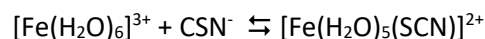
3.3. Comparação entre as constantes de equilíbrio determinadas com a absorbância mensurada a 447 nm e com os valores normalizados B

### 4. Conclusão

#### 1. Introdução

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

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

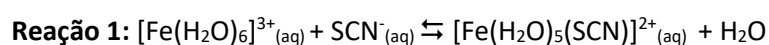


Diversos conceitos são apresentados no decorrer deste experimento, como, por exemplo, a quantificação de um analito utilizando uma curva analítica, a espectroscopia de absorção molecular, na região do visível, a determinação de uma constante de equilíbrio e a utilização de planilhas eletrônicas para 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 ( $\text{SCN}^-$ ), porque 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.<sup>1-6</sup> 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  $A_\lambda$  é absorvância em um comprimento de onda específico,  $b_\lambda$  é coeficiente de absorvância em um

relação entre a absorvância 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.<sup>1</sup>

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

A Eq.1 é conhecida como lei de Lambert-Beer e propõe uma dependência linear entre a absorvância 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.<sup>7</sup> Portanto, a utilização desta técnica em aulas experimentais, durante a graduação, é de suma importância.<sup>8,9</sup>

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

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

científicos.<sup>10-19</sup> 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.<sup>20</sup> 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.<sup>20</sup>

Imagens digitais obtidas com scanners e *smartphones* são utilizadas em substituição a absorbância mensurada com um espectrofotômetro,<sup>19</sup> como, por exemplo, determinar a concentração de vitamina C em suplementos alimentares,<sup>10</sup> determinação da constante de equilíbrio,<sup>13</sup> determinação da concentração de proteínas,<sup>15</sup> atividade da amilase,<sup>16</sup> concentração de cobre na cachaça,<sup>21</sup> diagnóstico de dengue,<sup>22</sup> classificação de águas minerais,<sup>23</sup> quantificação de manganês em pilhas,<sup>24</sup> quantificação de fosfato em refrigerante,<sup>25</sup> dureza e alcalinidade da água,<sup>26</sup> acidez de vinho tinto,<sup>27</sup> determinação da concentração de ferro em água e em alimentos,<sup>28,29</sup> quantificação de estreptomicina em medicamentos,<sup>30</sup> determinação da porcentagem etanol em bebidas,<sup>31</sup> quantificação do corante (*sunset yellow*) em alimentos,<sup>32</sup> quantificação de ácido salicílico<sup>33</sup> e adulteração do álcool combustível.<sup>34</sup>

## 2. Parte Experimental

### 2.1. Materiais e reagentes

Ácido nítrico 65 % da Synth,  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  ( $404 \text{ g mol}^{-1}$ ) e KSCN 99 % ( $97,18 \text{ g mol}^{-1}$ ) 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 $\text{Fe}^{3+}$

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

A solução de trabalho  $0,002 \text{ mol L}^{-1}$  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  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  ( $404 \text{ g mol}^{-1}$ ) e  $V$  é o volume em L. Na Eq. 4,  $C_T$  é a concentração da solução de trabalho, em  $\text{mol L}^{-1}$ ,  $V_T$  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  $\text{mol L}^{-1}$ .

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

$$\text{Eq. 3: } C_E = \frac{m}{PM \times V}$$

$$\text{Eq. 4: } C_T = \frac{C_E \times V_E}{V_T}$$

#### 2.4. Preparo da solução de KSCN

Neste experimento, foi utilizada uma solução estoque de KSCN 0,2 mol L<sup>-1</sup>.

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

#### 2.5. Preparo da curva analítica

A solução de KSCN 0,0005 mol L<sup>-1</sup> 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 Fe<sup>3+</sup> 0,2 mol L<sup>-1</sup>, 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(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> é 0,2/0,005 = 400 vezes maior que a concentração de KSCN, garantido que, todo o SCN<sup>-</sup> seja convertido no complexo [Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>(SCN)]<sup>2+</sup>.<sup>34</sup>

**Tabela 1.** Volumes de Fe<sup>3+</sup> 0,2 mol L<sup>-1</sup>, KSCN 0,0005 mol L<sup>-1</sup> e água deionizada utilizados para preparar as curvas de calibração

solução	KSCN; mL	Fe <sup>3+</sup> ; 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<sup>-1</sup> e utilizando a Eq. 4,

a concentração da solução de trabalho é:

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

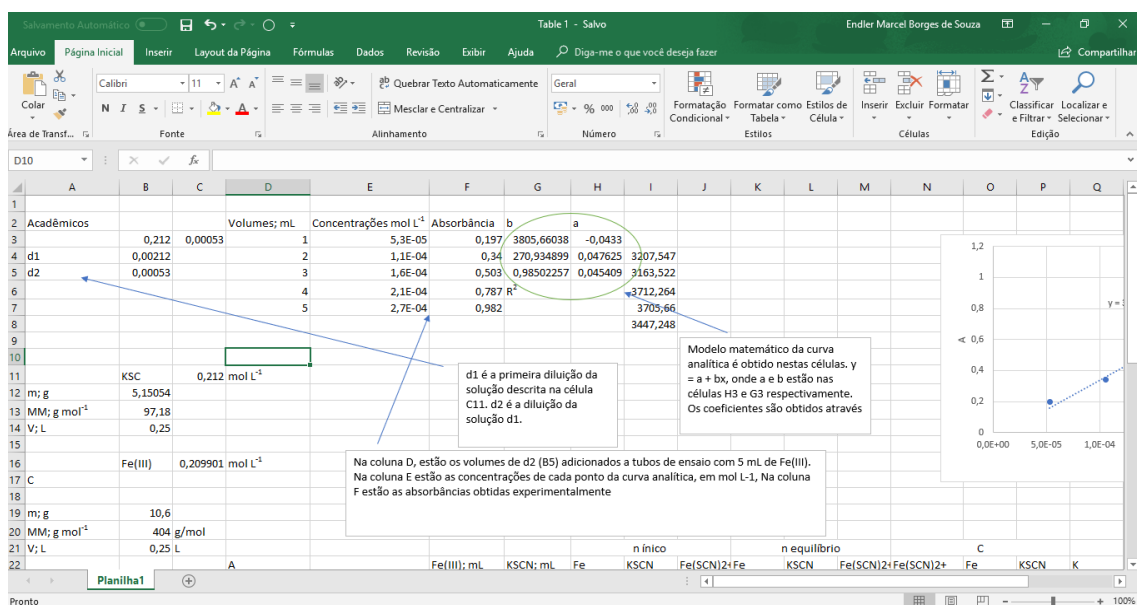
Para preparar a solução  $0,0005 \text{ mol L}^{-1}$  é necessário diluir 25 mL da solução  $0,002 \text{ mol L}^{-1}$  em um balão de 100 mL.

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

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

Neste roteiro, está disponível como um link do Google Drive,<sup>35</sup> 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 absorvâncias 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  $\text{SCN}^-$ , onde a concentração inicial dos reagentes era conhecida (Tabela2).

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

## 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 Photographics 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 <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 <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.*<sup>24</sup>

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

mistura	Fe <sup>3+</sup> ; 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).<sup>35,36</sup>

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.



	AT	AU	AV	AW	AX	AY	AZ	BA	BB	BC	BD	BE	BF
1					Before			Equilibrium		C			C
2		Fe	KSCN	Fe	KSCN	Fe(SCN)2+ Fe	KSCN	Fe(SCN)2+	Fe(SCN)2+ Fe	KSCN	K		
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	147.78817
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	156.09657
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	160.34232
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	138.79011
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	112.9829
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	121.86213
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	114.1061
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	123.2221
11													134.39883
12		0.002121	0.00212										18.87905
13													
14													
15					Before			Equilibrium		C			C
16		Fe	KSCN	Fe	KSCN	Fe(SCN)2+ Fe	KSCN	Fe(SCN)2+	Fe(SCN)2+ Fe	KSCN	K		
17	1	4	1	0.008483	0.00212		7.99E-03	1.63E-03	4.88E-04	9.76E-05	1.60E-03	0.000326	187.00429
18	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	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 valor normalizado do azul ( $\bar{B}$ ) no poço A2, de acordo com a Eq. 10, é  $A = -\log_{10}(0,552/0,579) = 0,022$ .

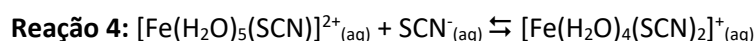
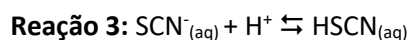
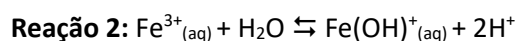
### 3. Resultados e Discussão

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.<sup>37</sup> 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

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

Este experimento deve ser realizado em pH 1, para evitar a hidrólise do  $\text{Fe}^{3+}$ , conforme a Reação 2,<sup>37</sup> na qual o volume do ácido utilizado afetará a força iônica e a

concentração de  $\text{SCN}^-$  (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).<sup>37</sup>



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

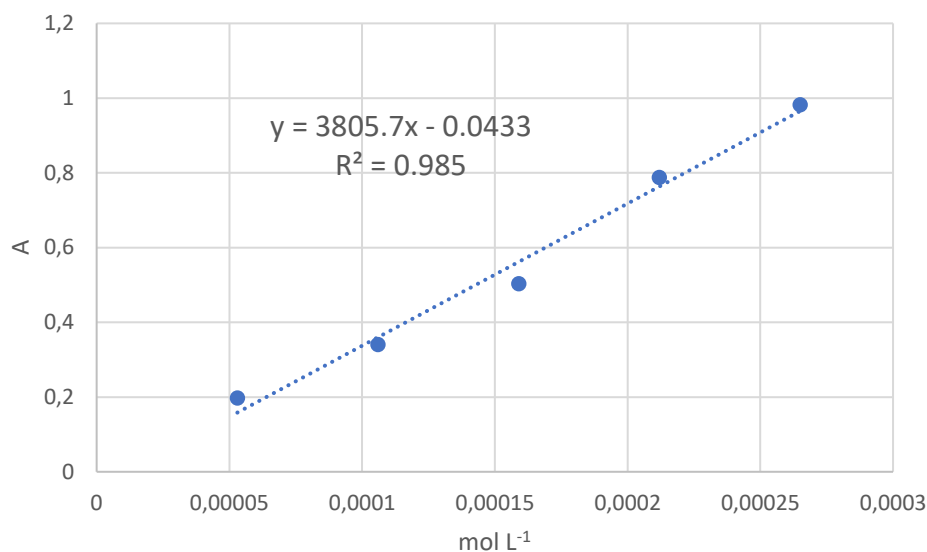
na qual  $y$  é a absorvância,  $x$  é a concentração do complexo  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$  em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $a$  é o coeficiente linear e  $b$  é o coeficiente angular. A equação da curva analítica é rearranjada para determinar a concentração do analito (Eq. 12). Por exemplo, em uma mistura,  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$  e  $\text{SCN}^-$  que apresenta uma absorvância 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  $0,0005 \text{ mol L}^{-1}$  a  $0,002 \text{ mol L}^{-1}$  são misturadas com soluções de  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$   $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ .

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.<sup>38</sup>

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

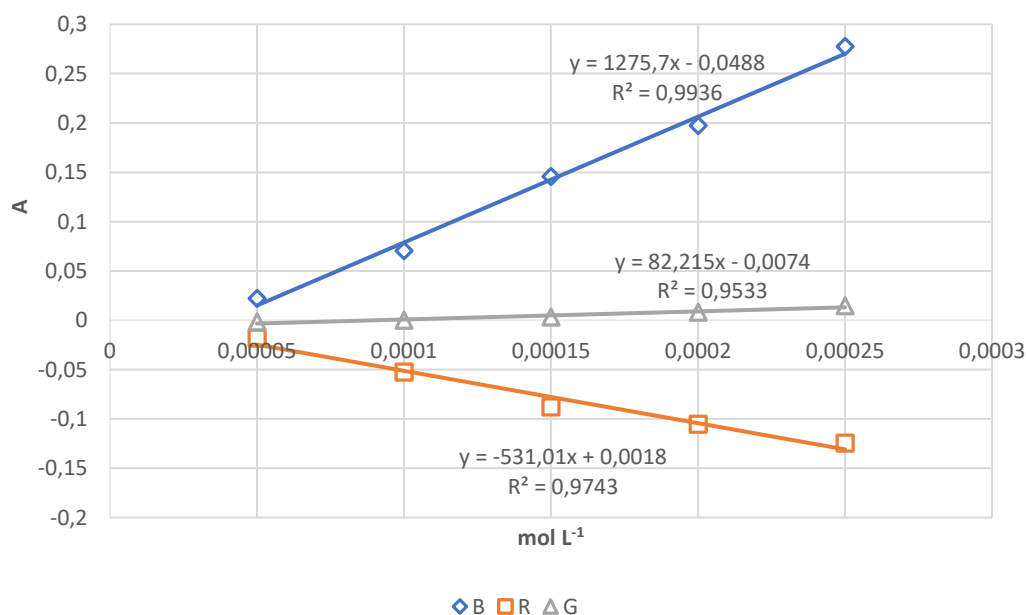
$$\text{Eq. 12: } x = (y - a)/b$$



**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 apropriada 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  $\text{SCN}^-$ ”. 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 indicada para determinar as concentrações, pois quanto maior o coeficiente angular menor o erro associado à concentração.<sup>39</sup>



**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,<sup>39</sup>  $R^2$ . 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.<sup>40</sup> 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.<sup>40</sup>

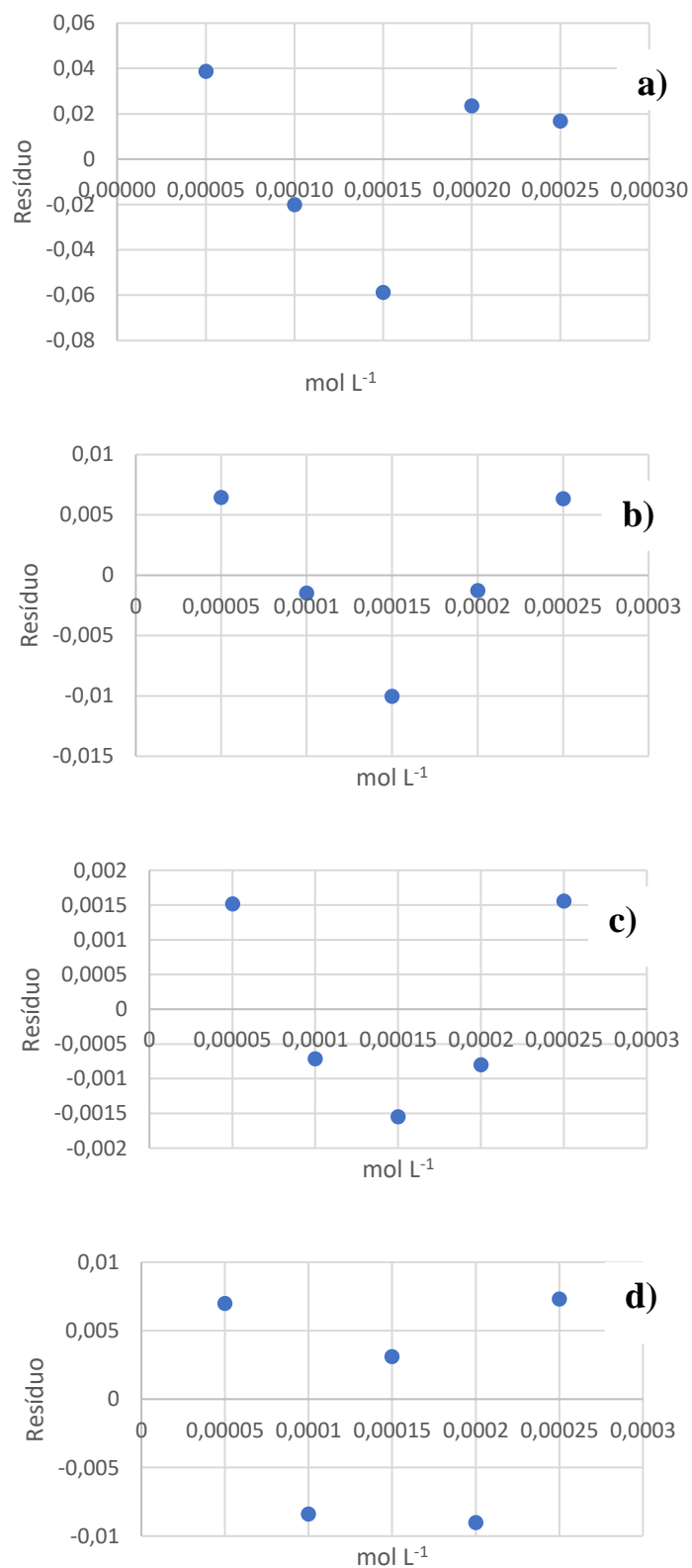
O teste F na análise da variância (ANOVA) da regressão podem ser feitos rapidamente utilizando a ferramenta regressão do Microsoft Excel, esta ferramenta está no menu “análise de dados”, para acessá-la basta clicar em dados e no ícone “análise de dados” localizado no canto a direita da aba. Uma descrição completa de como se faz ANOVA de uma regressão pode ser encontrada no trabalho de Pimentel e Neto<sup>41</sup>.

O valores de F obtido utilizando a absorvância 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.<sup>42</sup>

As Figura 6a e 6b exibem as distribuição dos resíduos para as curvas analíticas obtidas com a absorvância 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 absorvância 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  $\text{SCN}^-$  (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  $\text{SCN}^-$ , 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  $\text{SCN}^-$  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  $\text{SCN}^-$ , 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  $\text{SCN}^-$ , 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.<sup>35,36</sup>

### 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  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{SCN})]^{2+}$  nas soluções utilizando imagens digitais obtidas com um smartphone.<sup>11,29</sup> No entanto, a influência da luz ambiente não proporcionou resultados estatisticamente equivalentes aos resultados obtidos utilizando um espectrofotômetro,<sup>24,25</sup>

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  $\Delta m$  é a média das diferenças dos resultados.  $n$  é o número de observações e  $\Delta s$  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  $t_{\text{calculado}} = 0,16$ , como o valor de  $t_{\text{crítico uni-caudal}}$  é 1,89 (para

um intervalo de confiança de 95 %, com 7 graus de liberdade), temos  $t_{\text{calculado}} < t_{\text{crítico uni-caudal}}$ . 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 $\bar{B}$	$\Delta$
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
$\Delta m$			-0.88
$\Delta s$			15.54

Adicionalmente, os valores das constantes de equilíbrio mostrados na Tabela 3 são próximos dos valores reportados na literatura.<sup>1-6</sup>

#### 4. Conclusão

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

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 a 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

- <sup>1</sup> 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]
- <sup>2</sup> 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]
- <sup>3</sup> Prigodich, R. V. A Stopped-Flow Kinetics Experiment for the Physical Chemistry Laboratory Using Noncorrosive Reagents. *Journal of Chemical Education* **2014**, *91*, 2200. [CrossRef]
- <sup>4</sup> 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]
- <sup>5</sup> 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]
- <sup>6</sup> 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]
- <sup>7</sup> 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]
- <sup>8</sup> 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]
- <sup>9</sup> 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]
- <sup>10</sup> 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](#)]
- <sup>11</sup> Montangero, M. Determining the amount of copper (II) ions in a solution using a smartphone. *Journal of Chemical Education* **2015**, *92*, 1759. [[CrossRef](#)]
- <sup>12</sup> 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](#)]
- <sup>13</sup> de Moraes, 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](#)]
- <sup>14</sup> 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](#)]
- <sup>15</sup> 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](#)]
- <sup>16</sup> 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](#)]
- <sup>17</sup> 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](#)]
- <sup>18</sup> Taha, S.; Rafat, G.; Aboshosha, F.; Mansour, F. R. A simple homemade spectrophotometer. *Journal of Analytical Chemistry* **2017**, *72*, 239. [[CrossRef](#)]
- <sup>19</sup> 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](#)]
- <sup>20</sup> Santiago, J. V. B.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2018. [[Link](#)]
- <sup>21</sup> 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](#)]
- <sup>22</sup> 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](#)]
- <sup>23</sup> 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](#)]
- <sup>24</sup> 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](#)]
- <sup>25</sup> 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](#)]
- <sup>26</sup> 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](#)]
- <sup>27</sup> 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](#)]

- <sup>28</sup> 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]
- <sup>29</sup> 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]
- <sup>30</sup> 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]
- <sup>31</sup> 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]
- <sup>32</sup> 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]
- <sup>33</sup> 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]
- <sup>34</sup> 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]
- <sup>35</sup> Arquivo disponibilizado no Google Drive. Disponível em: <<https://drive.google.com/open?id=1-PsulCYgfkntSSlaVqW2LPJRh5kt5uGo>>. Acessada em 11 setembro 2018.
- <sup>36</sup> Arquivo disponibilizado no Google Drive. Disponível em: <[https://drive.google.com/open?id=1gZHDshVbnODc6VH2o\\_5\\_pqej51RFaiSIhttps://drive.google.com/open?id=1VgWdkzPf8PRloBp23iul9YkgQQztD4XT](https://drive.google.com/open?id=1gZHDshVbnODc6VH2o_5_pqej51RFaiSIhttps://drive.google.com/open?id=1VgWdkzPf8PRloBp23iul9YkgQQztD4XT)>. Acessada em: 16 setembro 2018.
- <sup>37</sup> 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]
- <sup>38</sup> Hovinen, J.; Lahti, M.; Vilpo, J. Spectrophotometric determination of thiocyanate in human saliva. *Journal of Chemical Education* **1999**, *76*, 1281. [CrossRef]
- <sup>39</sup> Miller, J.; Miller, J. C.; *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*, 6a. Ed, Pearson education: Gosport, 2010
- <sup>40</sup> Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, 2003
- <sup>41</sup> Pimentel, M. F.; Neto, B. B. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. *Química Nova* **1996**, *19*, 268. [CrossRef]
- <sup>42</sup> 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]
- <sup>43</sup> 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]