

Planejamento e Otimização de Metodologia Analítica para Determinação de Íons Fosfato em Amostras Aquosas Utilizando Análise de Imagem Digital

Planning and Optimization of Analytical Methodology for the Determination of Phosphate Ions in Aqueous Samples Using Digital Image Analysis

Wallace Henrique C. Peres, James M. Silva & Vanessa N. Alves

Uma metodologia para análise de íons fosfato em amostras aquosas foi desenvolvida utilizando processamento de imagem digital, por meio do complexo molibdato fosfato pentavalente. Um aparato para aquisição das imagens foi construído e os dados dos canais RGB convertidos em sinais analíticos. O método apresenta boa linearidade ($R^2 = 0,9942$) para concentrações de 0,25 a 10 mg L⁻¹. A precisão interdia e intradia foi inferior a 6,8% e 4,5%, respectivamente, ambas em termos de RSD. LOD e LOQ foram de 0,5 e 1,6 mg L⁻¹, respectivamente. A exatidão foi avaliada em termos de recuperação em amostras de água natural, com resultados entre 88,5% e 107%.

Palavras-chave: *fosfato; análise de imagem digital; ImageJ.*

A methodology for analyzing phosphate ions in aqueous samples was developed using digital image processing, by the pentavalent molybdate phosphate complex. An apparatus for image acquisition was built and the data from the RGB channels were converted into analytical signals. The method presents good linearity ($R^2 = 0.9942$) for concentrations of 0.25 to 10 mg L⁻¹. Interday and intraday precision were less than 6.8% and 4.5%, respectively, both in terms of RSD. LOD and LOQ were 0.5 and 1.6 mg L⁻¹, respectively. Accuracy was assessed in terms of recovery in natural water samples, with results between 88.5% and 107%.

Keywords: *phosphate; digital image analysis; ImageJ.*

Introdução

O fósforo (P) e seus análogos são de extrema importância em uma variedade de processos, tanto nos ciclos ambientais quanto nos processos fisiológicos.¹ Ele é essencial na composição de diversas moléculas de grande relevância para os organismos da maioria dos seres vivos.² Um dos seus análogos mais importantes é o fosfato (PO_4^{3-}). Este, por sua vez, desempenha um papel fundamental na formação de moléculas como o DNA, ATP e RNA, que são essenciais para a sobrevivência, reprodução e metabolismo de todos os seres vivos.^{3,4} Além disso, o fosfato exerce um papel vital na filtragem natural da água e no ciclo dos nutrientes, influenciando diretamente a qualidade da água, a produtividade dos ecossistemas aquáticos e a saúde das plantas terrestres.⁵ A importância do fosfato é evidente em escalas que vão desde o nível molecular até o nível do ecossistema, desempenhando um papel crucial na manutenção da vida e na preservação do equilíbrio ambiental.

A análise de fosfato oferece diversas abordagens, cada uma com vantagens e aplicações singulares. A espectrofotometria UV-Vis é uma técnica amplamente adotada, baseada na absorção de luz por compostos que contêm fosfato, notadamente o complexo de molibdato de amônio, o que possibilita uma quantificação precisa desse íon.^{6,7} Por sua vez, a espectrometria de emissão atômica de plasma (ICP-OES) envolve a excitação de espécies químicas, incluindo o fósforo, para análise de elementos em uma amostra,^{8,9} enquanto a cromatografia de troca iônica isola íons de fosfato com base em suas cargas.^{10,11} A espectrometria de massa, por outro lado, é crucial para a identificação precisa e quantificação de íons de fosfato, enquanto abordagens colorimétricas e de fluorescência exploram reações químicas específicas.^{12,13}

Uma alternativa às análises convencionais já mencionadas é a técnica de análise por imagens digitais. Por meio desta metodologia, é possível extrair dados multidimensionais a partir de imagens de maneira precisa e objetiva. Isso envolve a implementação de algoritmos de processamento de imagem e técnicas de aprendizado

de máquina para avaliar parâmetros como geometria, intensidade, dimensões e textura.¹⁴ Apesar da complexidade intrínseca ao tratamento e processamento de imagens digitais, hoje, existem softwares como o *ImageJ* (*Digital Image Analysis*, DIA) e soluções baseadas em *Python* que simplificam significativamente a extração de dados dessas imagens.¹⁵⁻¹⁷ Essas ferramentas tornam essa técnica acessível e versátil, estabelecendo-se como um excelente recurso em diversos campos, incluindo a pesquisa científica, indústria e medicina.

Neste tipo de metodologia é essencial que os dados utilizados compreendam modelos como o *RGB* (*Red, Green e Blue*) e outros análogos, como o *CMYK* (*Cyan, Magenta, Yellow e Black*), obtidos digitalmente por meio de uma escala de *bits* (*bitmap*). Pois ao incorporar esses modelos de cor, a pesquisa beneficia-se da capacidade de representar uma vasta gama de tonalidades e detalhes. Dessa forma, a escolha criteriosa desses modelos não apenas amplia a riqueza de informações extraídas, mas também contribui para a confiabilidade e precisão da análise, promovendo resultados mais robustos.^{18,19}

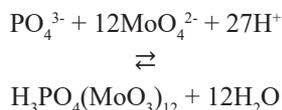
Metodologia

Para realização deste trabalho as vidrarias e materiais (como pipeta Pasteur, frascos plásticos, placas e demais materiais) foram lavados com detergente, permaneceram em água destilada por 24 horas, e posteriormente em solução de ácido nítrico 10% v/v por 24 horas. Após esse procedimento, foram enxaguados com água Milli-Q e secos à temperatura ambiente.

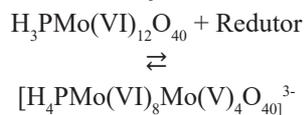
Ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), 99%, ácido sulfúrico (H_2SO_4) 98%, molibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$) 81% e fosfato monopotássico (KH_2PO_4) 99% produzidos pela LABSYNTH (São Paulo, Brasil), além do padrão de antimônio (Sb) 1000 mg L⁻¹ produzido pela SpecSol (São Paulo, Brasil) foram utilizados. O fosfato foi determinado através do método azul de molibdênio. A formação do complexo consiste em duas etapas (Equação 1 e 2), primeiro o ânion fosfato reage com uma espécie de molibdato em meio ácido, formando um complexo fosfato

molibdênio hexavalente, que é incolor. Em seguida, o ácido ascórbico provoca a redução do complexo para a forma pentavalente, que apresenta uma coloração azul. O antimônio é utilizado como catalisador nessas reações.^{20,21}

Reação 1:



Reação 2:



Para a formação do complexo, foram preparadas soluções com as seguintes concentrações: ácido ascórbico 0,1 mol L⁻¹, ácido sulfúrico 2,8 mol L⁻¹ e molibdato de amônio 10,31 mmol L⁻¹. A curva de calibração foi construída com concentrações de fosfato na faixa de 0,25 a 10 mgL⁻¹. Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura, obtida pelo processador MilliQ.

A formação do complexo envolveu a mistura de 100 µL da solução mista, composta por ácido ascórbico, ácido sulfúrico e molibdato de amônio na proporção de 1:1:1, com 400 µL da amostra contendo fosfato e 30 µL do padrão de antimônio como catalisador.²¹ Após 15 minutos, 230 µL do complexo foram transferidos para uma microplaca de poços para a obtenção das imagens.

As imagens foram capturadas através de um smartphone Samsung Galaxy S22 Ultra utilizando a câmera principal com resolução de 12000 x 9000 *pixels* com tamanho de 1/1,33", abertura de f/1.8 e campo de visão de 85 graus. Na Figura 1 é apresentado um esquema do aparato construído em MDF para captura das imagens em condições constantes. O sistema possui dimensões de 22 cm X 15 cm X 10 cm, com abertura na parte superior para a captura das imagens e é equipado na parte inferior com uma fita de LEDs de cor branca com potência de 12V.



Figura 1. Aparato construído em MDF para captura das imagens em ambiente controlado. Na base, LEDs para iluminação; na parte superior, a microplaca de poços contendo as soluções a serem analisadas.

Para a obtenção e tratamento dos dados RGB contidos nas imagens capturadas, foi utilizado o software de processamento de imagens *ImageJ* versão 1.54d. No *software*, as regiões de interesse (*Region of Interest*, ROI) de cada solução foram manualmente selecionadas e seus histogramas foram então obtidos para análise.²²

Existem diversas formas de se expressar e tratar os dados extraídos a partir das imagens obtidas. No estudo em questão, os valores RGB foram aplicados a fórmula $S = -\log(P/P_b)$ derivada da lei de Beer. Na fórmula, S é o sinal analítico, P é o valor de R, G ou B da solução contendo o analito e P_b é o valor de R, G ou B para o branco.²²

A partir da escolha do melhor canal RGB para obtenção do sinal analítico, foram realizados experimentos de otimização, a fim de garantir que todas as variáveis fossem mantidas em suas condições ideais para obtenção das imagens. As variáveis avaliadas foram a distância da câmera até as soluções, a quantidade de LEDs presentes na caixa e a sensibilidade do sensor a luz (ISO) do *smartphone*. Todas as variáveis foram avaliadas no modo univariado.

A fim de avaliar a reprodutibilidade do método proposto, após as otimizações, a metodologia foi aplicada utilizando outros dois *smartphones*, um pertencente a marca *APPLE*, modelo iPhone 11 e outro aparelho da

XIAOMI, modelo *Redmi Note 12S*. Em ambos os casos as imagens foram obtidas pelo aplicativo de câmera nativo dos aparelhos nas configurações padrões, alterando apenas o ISO quando necessário.

Como forma de avaliar a exatidão do método desenvolvido, foram realizados testes de recuperação em amostras de água natural, provenientes de represas da cidade Catalão - GO e amostras de água da torneira, coletada nas dependências da Universidade Federal de Catalão.

Por fim, o método proposto foi comparado com métodos espectrofotométricos já estabelecidos na literatura. Para a comparação, as soluções padrões foram transferidas para cubetas de vidro e os sinais de absorbância em 650 nm foram registrados utilizando um espectrofotômetro UV-Vis da Biospectro, modelo SP-22.

Resultados e Discussões

Inicialmente, foram realizadas análises para a escolha do canal RGB responsável por gerar o sinal analítico correlacionado com concentração, de acordo com a Lei de Beer. Na Figura 2, são apresentadas as curvas de calibração obtidas após as informações das imagens capturadas serem avaliadas nos canais *Red*, *Green*, *Blue* e *RGB* (soma destes três) construídas pelo método de regressão linear.

O complexo fosfato molibdênio pentavalente apresenta coloração azul, resultando em baixas variações no canal *Blue*, altos desvios no sinal analítico, baixa sensibilidade e curvas de calibração sem nenhuma linearidade. Os canais *Green* e *RGB* apresentaram sensibilidade semelhantes e valores de R^2 de 0,8950 e 0,8964 respectivamente. Dos quatro canais analisados, no canal *Red*, foi determinada uma maior linearidade, com valor de R^2 de 0,9836 e um coeficiente angular de 0,01706, tendo sido assim este canal selecionado para as medidas subsequentes.

O sistema para captura das imagens foi otimizado avaliando-se a quantidade de LEDs, altura da microplaca em relação a câmera e uso da correção ISO ao capturar as imagens. Na Tabela 1, são apresentados valores de R^2 e coeficiente angular para diferentes curvas de calibração construídas alterando a quantidade de LEDs responsável

pela iluminação do sistema. Ao controlar esses parâmetros com o objetivo de reduzir a quantidade de luz, foram capturadas imagens mais homogêneas, com maior nível de nitidez e menos ruídos.²³

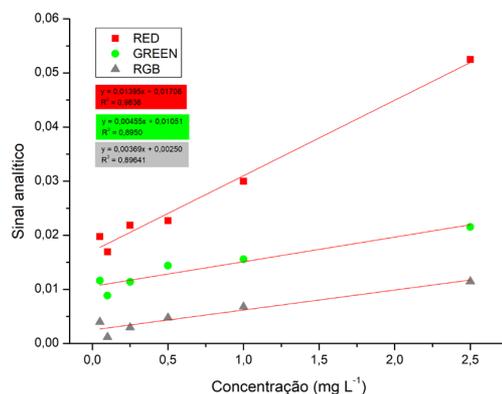


Figura 2. Curvas de calibração construídas a partir do processamento das imagens obtidas em diferentes canais.

Tabela 1. Variação do quantitativo de LEDs responsável pela iluminação do sistema.

LEDs	R^2	Coefficiente Angular
15	0,9868	0,0171
9	0,9636	0,0290
7	0,9948	0,0331
5	0,9955	0,0347
3	0,9926	0,0399
2	0,9900	0,0429
1	0,9317	0,0468

Para o complexo analisado, determinou-se uma distância de 5 cm entre a microplaca e o *smartphone*, iluminação composta por uma fita com 2 LEDs brancos de intensidade 12V e ISO 40 durante a captura das imagens. As curvas de calibração foram construídas com treze soluções padrão de fosfato em uma faixa de concentração de 0,25 a 10,0 mg L⁻¹, e após as otimizações, apresentaram aumento no sinal analítico, no coeficiente angular e na linearidade, além de uma maior faixa de trabalho. A Figura 3 apresenta os resultados após as otimizações realizadas.

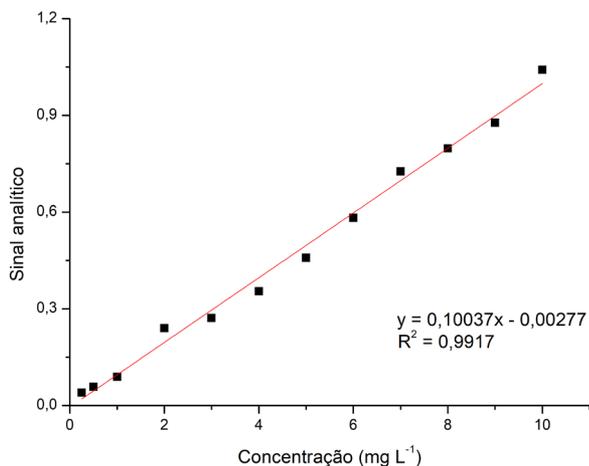


Figura 3. Curva de calibração construída após otimização das variáveis que influenciam na captura das imagens.

Seis imagens foram capturadas no mesmo dia em horários diferentes para a avaliação intradiária, e outras seis imagens, em dias diferentes, para repetibilidade interdiária. Os sinais analíticos das concentrações de 3,0, 5,0 e 8,0 mg L⁻¹ foram selecionados para avaliação da precisão e os resultados expressos em termos de desvio padrão relativo (DPR). Para 3,0 mg L⁻¹ foram obtidos 4,8 % intradia e 6,8% interdia. A solução padrão 5,0 mg L⁻¹ apresentou 3,7% intradia e 6,1% de interdia. Para a concentração de 8,0 mg L⁻¹ os valores de DPR foram 2,1% e 4,5% para precisão intradia e interdia, respectivamente. Os valores de DPR intradia e interdia são aceitáveis segundo parâmetros determinados pela ANVISA.²⁴

Imagens para a construção de uma curva de calibração foram obtidas a partir de outras marcas e modelos de *smartphones* a fim de avaliar se o dispositivo de captura apresenta influência significativa no método. Na Tabela 2, são apresentadas as curvas de calibração construídas a partir das imagens obtidas pelos aparelhos em termos de sinal analítico. A tabela mostra que os valores de coeficiente angular, R² e sinal analítico assemelham-se entre os dispositivos, evidenciando que as diferentes características dos sensores e resoluções das câmeras não impactaram de

maneira significativa no método, ao contrário das variações de iluminação realizadas. Assim, o método apresentou reprodutibilidade utilizando outros smartphones.

Tabela 2. Curvas de calibração construídas com imagens capturadas por diferentes aparelhos. (a) Galaxy S22 Ultra, (b) Iphone 11 e (c) Redmi Note 12S.

mg L ⁻¹	Galaxy S22 Ultra (S)	Iphone 11 (S)	Redmi Note 12S (S)
0,25	0,0400	0,0369	0,0153
0,5	0,0583	0,0472	0,0278
1	0,0894	0,0833	0,0557
2	0,2397	0,1670	0,1061
3	0,2716	0,2028	0,1899
4	0,3545	0,2868	0,2619
5	0,4585	0,3657	0,3011
6	0,5822	0,4683	0,3805
7	0,7266	0,5475	0,4709
8	0,7977	0,5716	0,5686
9	0,8770	0,6608	0,6540
10	1,0414	0,7789	0,7409
Curva analítica	y = 0,1004x - 0,0049	y = 0,0744x + 0,0058	y = 0,0737x - 0,0278
R ²	0,9924	0,9942	0,9918

O limite de detecção (LOD) é definido como a menor concentração detectada do analito, e o limite de quantificação (LOQ) é a menor concentração quantificada, ambas devendo ser diferenciadas dos ruídos e devendo ser determinadas com razoável certeza.²⁵ LOD e LOQ normalmente são calculados a partir do desvio padrão do branco, sendo LOQ = 10 . σ / IC; e LOD = 3,3 . σ / IC. Na fórmula, σ é o desvio padrão do branco e IC a inclinação da curva. No entanto, na DIA, os sinais analíticos do branco são minimizados e/ou misturados com o fundo da imagem.²⁶ Assim, neste trabalho estes parâmetros foram determinados por dois métodos: utilizando o desvio padrão do intercepto com o eixo Y e o método visual.²⁴ Desta forma, o limite de detecção do método

proposto pelo método visual foi de 0,1 mg L⁻¹, enquanto o limite de quantificação foi de 0,25 mg L⁻¹. Pelo segundo método, o LOD calculado é cerca de quatro vezes maior e o LOQ aproximadamente seis vezes maior se comparados ao método visual, sendo 0,5 e 1,6 mg L⁻¹, respectivamente. Na prática, é possível determinar concentrações superiores a 0,25 mg L⁻¹ utilizando a metodologia proposta, porém, os limites de detecção e quantificação calculados através do segundo método são mais confiáveis e estão expressos como figuras de mérito. Os valores são próximos à trabalhos presentes na literatura. A Tabela 3 apresenta uma comparação da faixa linear, R² e LOD com diferentes métodos para determinação de íons fosfato.

Tabela 3. Comparação de faixa linear, R² e limite de detecção em métodos para determinação de fosfato.

Método	Amostras	Faixa linear (mg L ⁻¹)	R ²	LOD (mg L ⁻¹)	Ref.
Análise de imagem digital com Smartphone	Amostras aquosas	1,5 – 10,0	0,9917	0,5	Este trabalho
Sensor eletroquímico	Amostras aquosas	0,9 – 9,5.10 ³	-	0,18	[26]
Análise de imagem digital com Smartphone	Colírio	0,47 – 2,8	0,9962	0,17	[27]
Luminescência	Amostras aquosas	0,47 – 71,2	-	0,28	[28]
Análise de fluxo multicomutado baseada em fluorescência	Soro humano	1,1 – 5,7	-	0,34	[29]
Espectrofotométrica por injeção sequencial	Amostras aquosas	0,2 – 2,0	0,9998	0,10	[30]
Cromatografia de íons	Alimento	-	0,9999	0,01 – 0,91	[31]

Para comparação dos resultados obtidos utilizando-se a metodologia proposta, curvas de calibração foram construídas utilizando a metodologia de análise de processamento de imagens e a técnica de espectroscopia de absorção molecular

na região do UV-Vis. Os resultados estão expressos na Figura 4. Os valores de coeficiente angular e a linearidade das curvas de calibração construídas nos dois métodos foram próximos. Os valores de LOD e LOQ referentes a técnica de espectroscopia de absorção molecular na região visível foram calculados com base no desvio padrão do intercepto com o eixo Y, foi de 0,47 mg L⁻¹ e 1,42 mg L⁻¹, respectivamente. Ambos os valores bem próximos aos limites do método proposto neste trabalho. No entanto, a curva de calibração no UV-visível apresenta desvios de linearidade a partir da concentração de 8 mg L⁻¹, com absorbância superior a 1 na concentração de 10 mg L⁻¹. Isso torna inadequada a aplicação da lei de Beer nestas últimas concentrações, resultando em uma faixa de trabalho menor em relação a DIA. Portanto, o método proposto apresenta parâmetros analíticos muito próximos em comparação a técnica espectroscópica e vantagens como maior faixa de trabalho, baixo volume de amostra, maior frequência analítica e menor custo.

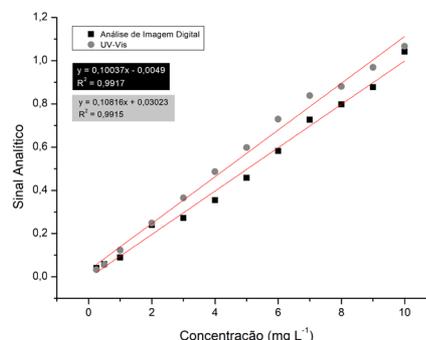


Figura 4. Comparativo de curvas de calibração entre o método proposto e espectrofotômetro. (A) Curva de calibração construída utilizando a técnica DIA; (B) Curva de calibração construída utilizando espectroscopia de absorção molecular na região do UV-Vis.

O teste de recuperação foi realizado para avaliar a exatidão do método. Cinco amostras de água foram coletadas em locais distintos da cidade de Catalão e fortificadas com concentrações de fosfato de 1,0, 4,0 e 8,0 mg L⁻¹. Foram obtidas recuperações de 88,5% a 107% nas amostras. Os valores apresentados na Tabela 4 evidenciam que a metodologia proposta está dentro da faixa aceitável de 80 – 120%,³² evidenciando que o efeito matriz não causa problemas no método proposto.

Tabela 4. Resultados obtidos para os ensaios de recuperação aplicados a amostras de água natural.

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5
Sem adição de PO_4^{3-}	< LD				
Adição de 1,0 mg L^{-1}	0,92	0,93	1,1	0,95	1,0
Recuperado (%)	91,9	93,1	106,0	94,8	103,0
Adição de 4,0 mg L^{-1}	3,7	3,7	3,9	3,5	4,2
Recuperado (%)	92,6	92,5	97,1	88,5	105,8
Adição de 8,0 mg L^{-1}	7,2	7,3	8,7	7,6	8,0
Recuperado (%)	90,5	91,8	107,0	94,9	100,3

Conclusão

O método proposto por meio da análise digital de imagens (DIA) provou ser uma opção viável para determinação de fosfato em água. A DIA é uma técnica já estabelecida na literatura e apresenta diversas vantagens em comparação com métodos de referência. A técnica é acessível, possui custos relativamente baixos, requer pequeno volume para as análises e reduz a geração de resíduos.

O método apresentou características analíticas satisfatórias, como boa reprodutibilidade e precisão, além de possuir LOD, LOQ e exatidão adequados. As figuras de mérito obtidas são semelhantes ao método de referência UV-Visível; no entanto, o método proposto apresenta uma faixa de trabalho maior, necessita de menor volume de amostra e possibilita determinações mais rápidas, além de incorporar as características da química verde.

Referências

- LIU, W.; ZHANG, Y.; Yu, M.; Du, H.; ZHANG, R.; Wu, D.; Xie. *Sci. Total Environ.* **2023**, 881, 163463.
- ZHENG, L.; WANG, R.; ZHOU, P.; PAN, Y.; SHEN, R.; LAN, P. J. *Proteomics.* **2023**, 280, 104894.
- YANG, Q.; LIANG, H.; MAULU, S.; GE, X.; REN, M.; XIE, J.; XI, B. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2021**, 274, 114896.
- ZAHED, M. A.; SALEHI, S.; TABARI, Y.; FARRAJI, H.; ATAEI-KACHOOEI, S.; ZINATIZADEH, A. K.; NIMA, K.; MAHJOURI, M. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2022**, 29, 58561.
- SMIL, V. ANNU. *Rev. Energy.* **2000**, 25, 53.
- CHANG, Y.-J.; CHEN, Y.-C.; CHIEN, Y.-C. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2022**, 17, 2212100.
- RABELO, L. S.; MENDONÇA, A. S.; PEREIRA, S. G.; MELO, H. C. S. *Rev. Proc. Quím.* **2020**, 14, 15.
- DE JESUS, R. M.; SILVA, L. O. B.; CASTRO, J. T.; DE AZEVEDO N. A. D.; DE JESUS, R. M.; FERREIRA, S. L. C. *Talanta.* **2013**, 106, 293.
- YE, Y.; WANG, H.; WANG, X.; ZHAI, L.; WU, C.; ZHANG, S. *Palaeoecology* **2020**, 538, 109459.
- SILVEIRA, E. L. C.; DE CALAND, L. B.; TUBINO, M. *Fuel.* **2014**, 124, 97.
- TEIXEIRA, B.; MENDES, R. *Food Chem.* **2022**, 124, 97.
- GUTBROD, K.; ROMER, J.; DORMANN, P. *Methods Enzymol.* **2023**, 683, 171.
- LI, P.; SU.; MIN.; CHATTERJEE, M.; Lämmerhofer, M. *Anal. Chim. Acta.* **2022**, 1221, 340099.
- DOUGHERTY, E. R.; *Digital Image Processing Methods*, 1st ed., Boca Raton: Flórida, **1994**.
- SCHROEDER, A. B.; DOBSON, E. T. A.; RUEDEN, C. T.; TOMANCAK, P.; Jug, F.; ELICEIRI, K. W. *IEEE Trans. Educ.* **2010**, 30, 234.
- SIGUT, J.; CASTRO, M.; ARNAY, R.; Sigut, M. *IEEE Trans. Educ.* **2020**, 63, 328.
- SINGH, H.; *Practical Machine Learning and Image Processing*. Berkeley: Califórnia, **2019**.
- NAYAK, S.R.; MISHRA, J.; KHANDUAL, A.; PALAI, G.; *Optic.* **2018**, 196, 205.
- FAN, Y.; GUO, y.; XIE, L.; ZHANG, G. *Measurement.* **2021**, 171, 108829.
- NAGUL, E. A.; MCKELVIE, I. D.; WORSFOLD, P.; Kolev, S. D. *Anal. Chim. Acta.* **2015**, 890, 60.
- COLZANI, H.; RODRIGES, Q. E. A. G.; FOGAÇA, C.; GELINSKI, J. M. L. N.; PEREIRA-FILHO, E. R.; BORGES, E. M. *Quím. Nova.* **2017**, 40, 833.
- SOLDAT, D. J.; BARAK, P.; LEPORÉ, B. J.; *J. Chem. Educ.* **2009**, 86, 617.

23. HE, L. Color Perception: Physiology, Processes and Analysis. **2010**, 203.
24. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução nº 166, de 24 de julho de 2017. Acesso em: 25 out. **2023**.
25. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). McNaught, A. D.; Wilkinson, A.; ed.; Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1997**.
26. SANTOS DE SOUZA, V.; SILVA, S. M. S.; MAIA, L. C.; MONTEIRO, D. S.; SOUZA, A. L. V. Chemom. Intell. Lab. Syst. **2023**, 240, 104929.
27. LI, Y.; JIANG, T.; YU, X.; Yang, H. J. Electrochem. Soc. **2016**, 163, B479.
28. BERASARTE, I.; BORDAGARAY, A.; GARCIA-ARRONA, R.; OSTRÁ, M.; VIDAL, M. MICROCHEM. J. **2010**, 162, 105854.
29. DUERKOP, A.; LOBNIK, A.; TUREL, M. Anal. Chim. Acta. **2006**, 555, 292.
30. FIEDORUK-POGBRENIÁK, M.; KONCKI, R. T. **2015**, 144, 184.
31. GALHARDO, C. Anal. Chim. Acta. **2000**, 417, 191.
32. SONG, M.; PARK, J.; LEE, J.; Suh, H.; LEE, H.; RYU, D.; Lee, Chan. Foods. **2020**, 9, 248.
33. ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, Recommendations for the definition, estimation, and use of limit detection. Analyst, 1987, **122**, 199. V.

Wallace Henrique C. Peres^{1*}, James M. Silva¹ & Vanessa N. Alves¹

¹Universidade Federal de Catalão, Instituto de Química, Av. Dr. Lamartine Pinto de Avelar, 1120, Setor Universitário, Catalão, Goiás, Brasil.

*E-mail: wallace.henrique@discente.ufcat.edu.br