

4

Resultado e discussão.**4.1 Fita indicadora da Merck®.**

O estudo qualitativo realizado com a fita indicadora de ferro da Merck, serviu para fazer uma avaliação preliminar da eficiência da camada protetora de carbox metil celulose. Esta fita foi escolhida por estar estabelecida no mercado como indicadora de Fe^{+2} e por ter em sua fabricação o indicador 2,2 dipiridina que é solúvel em água podendo ser usada para testar a hipótese de proteção dos originais.

Na aplicação da fita, em documentos originais contendo tinta ferrogálica, deve-se umedecer o indicador com água deionizada e, em seguida, pressionar a fita contra a área de interesse por 30 segundos. Entretanto devido à solubilidade do indicador, 5,5 g/L a 22°C, parte dele é transportada para o original pela água, onde reage com o Fe^{+2} livre da tinta, causando o surgimento das manchas vermelhas. O recobrimento do indicador com CMC pode impedir o aparecimento das manchas, mas também, dificulta a indicação do analito.

Para acompanhar o recobrimento nas diversas concentrações de CMC usadas no ensaio, usou-se o método indicado no item 3.1. A tabela 8 apresenta a razão entre a massa da camada de CMC depositada na região identificadora da fita e a massa da própria região. Sendo assim sua unidade será g de CMC recoberta / g da região indicadora. Foram usadas 10 fitas para cada concentração.

Tabela 9: Massa da camada de CMC depositada na região identificadora da fita

Concentração (%)	Média (gCMC/g)	Desvio padrão (gCMC/g)	Coefficiente de Variação. (%)
1,00	0,0021	0,0012	57
2,00	0,0042	0,0021	50
3,00	0,0093	0,0039	41
4,00	0,0119	0,0048	40
5,00	0,0142	0,0062	44
6,00	0,0174	0,0072	41

A tabela 10 apresenta os resultados obtidos, em termos de coloração devido ao Fe^{+2} , com a fita comercial da Merck®, com aplicação da camada de CMC.

Tabela 10: Indicação visual da fita comercial n=10.

Concentração de CMC (%)	Indicação visual	Legenda	Surgimento de manchas vermelhas nas amostras
1,0		+++	Positivo
2,0		++	Negativo
3,0		+	Negativo
4,0		-	Negativo
5,0		-	Negativo
6,0		-	Negativo

As fitas com a camada de proteção com a concentração de 1% mostraram-se problemáticas porque permitiram o surgimento de manchas. Todavia, como a solubilidade em água da batofenantrolina é menor que a da 2,2 dipiridina o aparecimento das manchas deve ser confirmado com usando a batofenantrolina como indicador. Por isso, a fita a concentração 1% de CMC foi utilizada em outros ensaios do estudo.

As fitas com a concentração de 2 e 3 % apresentaram um resultado satisfatório, impedindo o surgimento de manchas e permitindo a indicação do analito. Sendo assim, foram nos ensaios seguintes. Já as fitas que usaram as soluções de 4 ; 5 e 6 % impediram não só o aparecimento de manchas, como também a indicação do analito. Por esta razão não foram usadas no testes posteriores. Outro problema apresentado com as fitas recobertas com essas concentrações foi à aderência nas amostras. A adesão ocorria de tal forma que algumas amostras se rasgaram na tentativa de separação.

4.2 Fita Comercial.

Como citado no item 3.2, fez-se necessário estabelecer padrões para os testes que seriam realizados no desenvolvimento da fita. O primeiro padrão foi a área de contato, pois a mesma é usada como base para definir a quantidade de água e a pressão utilizada no ensaio. Esta área foi definida anteriormente em $1,0 \text{ cm}^2$. Esta dimensão foi escolhida pela apresentação da fita comercial, tiras de papel de 1,0 cm por 7,5 cm. Normalmente, na aplicação em documento históricos corta-se a fita em forma de triângulos e só uma das pontas é colocada em contato com a região testada. Entretanto, como a área definida para o teste é maior que a área efetiva de uso da fita,

a transferência de massa do indicador é favorecida. Por esta razão, a possibilidade de acontecer uma mancha ou um outro problema que, normalmente, passaria despercebido na área de uso fica mais evidente na área de teste.

Uma vez definida a área de teste podemos limitar uma massa de papel para a fita comercial e para o papel Whatman® n°1 que serão usados na padronização da quantidade de água usada no teste. Estas massas estão na tabela 11 abaixo.

Tabela 11: Massa de 1cm² do papel testado n=10.

	Fita comercial (g)	Whatman n°1 (g)
Média	0,0092	0,0104
Desvio padrão	0,0007	0,0005
Coefficiente de Variação.	0,07	0,05

A quantidade de água deve ser suficiente para garantir uma mobilidade iônica entre as amostras e a fita identificadora. Entretanto, esse fator, também influencia a possibilidade de aparecimento de manchas como foi mostrado por (Neevel,2005). Logo estas duas possibilidades devem ser avaliadas em conjunto; com grande excesso de água ocorre uma maior transferência de ferro para a fita de teste, mas coloca o ensaio em condições muito distantes do uso diário nos arquivos e bibliotecas. Por outro lado, uma quantidade de água insuficiente prejudica a indicação do analito, mas reduz a possibilidade de manchas.

Como a fita em desenvolvimento dispõe de uma camada de CMC que reduz a possibilidade de manchas e dificulta a transferência iônica optou-se por utilizar água em excesso. Dessa maneira, como as massas de papéis em questão são da ordem de 0,0104 g, optou-se pelo uso de 500 µL de água para os testes.

Outra justificativa importante para a quantidade de água é quando há diferença de papéis usados entre a fita comercial e a desenvolvida. Uma vez usada uma quantidade razoável de água, permite-se que se atinja uma mobilidade iônica máxima independente do tipo de papel usado tornando as condições do teste mais uniformes.

Um outro fator que precisou ser controlado com cuidado foi a pressão exercida durante o teste. Depois de alguns ensaios ficou claro que uma pressão pequena prejudicaria a indicação do analito. Entretanto, com uma pressão elevada ocorreram dois problemas. Na fita desenvolvida, a camada de CMC aderiu à superfície da amostra de tinta e muitas vezes houve perda de parte da superfície do papel com a tinta. Já na fita comercial, parte da tinta ferrogálica da amostra era transferida para a superfície da fita causando uma mancha negra na mesma. Por essa razão,

determinou-se um meio termo onde a indicação fosse a melhor possível sem que ocorressem estes inconvenientes. A pressão usada nos testes foi estabelecida em 200 Pa.

O tempo de contato de trinta segundos foi o único parâmetro estabelecido a partir de dados da literatura. (Neevel,2005).

4.3 Desenvolvimento da Fita.

4.3.1 Escolha do Papel.

Para selecionar o tipo de papel usado na manufatura das fitas identificadoras foram usados dois critérios:

- Reatividade do papel ao indicador.
- Dispersão superficial do indicador.

O teste de reatividade serve para avaliar a presença de ferro que venha a contaminar o papel. Esta contaminação poder vir do processo de fabricação ou do armazenamento. Como o indicador, batofenantrolina, é capaz de mostrar quantidades muito pequenas de ferro, ele foi aplicado diretamente na amostra de papel para mostrar a presença desse metal. O ensaio usou 1,0 mL de uma solução do indicador 10,0 g/L (Neevel, 2005) em uma área de 2,5 cm² em quatro amostras de cada tipo de papel. Os papéis testados foram: papel filtro Wahtman® n°1 e papel cromatográfico 3MM do mesmo fabricante. Nestas condições, a solução indicadora não mostrou a presença de ferro em concentração que causasse problemas à fabricação da fita.

A dispersão superficial da batofenantrolina foi avaliada por meio de dois ensaios. O primeiro foi o exame sob microscópio com um aumento de quarenta vezes. Neste exame, buscou-se a presença de cristais de batofenantrolina deixados durante a evaporação do solvente.

Cada amostra de papel seguiu o método apresentado no item 3.3.1 até o terceiro item. Em nenhuma das oito amostras, quatro para cada papel, verificou-se a presença de cristais.

O segundo ensaio foi usado para avaliar qualitativamente como os diferentes tipos de papeis interagem com o indicador. Usando a amostra de tinta impregnada nas condições estabelecidas pode-se saber, pela comparação com um padrão da cor vermelha, qual a resposta do papel banhado pela batofenantrolina.

A tabela 12 a seguir apresenta o resultado deste ensaio. A tinta usada foi a receita com excesso de ferro (razão de 5,5/1) por ser historicamente mais representativa.

Tabela 12: Indicação de ferro em diferentes papeis.

Tipo de Papel	Indicação visual	Legenda	RGB
Cromatográfico		++	255,230,226
Filtro		++++	255,170,156

O resultado do papel cromatográfico pode ser explicado pela forma como é fabricado. Dado seu uso específico, sua principal característica é ter uma absorção uniforme em toda a sua espessura. Por esta razão, a distribuição do indicador ocorre em maior escala no interior das fibras do papel, reduzindo assim a indicação do analito na superfície das fitas. Já o papel filtro mostrou uma indicação melhor, sendo portando a melhor escolha para a fabricação da fita.

4.3.2 Solução indicadora.

Para se estabelecer a concentração da solução indicadora usada na impregnação do papel filtro deve se levar em consideração tanto a concentração em si, quanto a distribuição superficial no final do processo. Esses fatores são chave para determinar a massa do indicado depositada no papel durante a impregnação e sua distribuição na folha.

O ensaio para avaliar a massa do indicador retida no papel foi realizado com soluções na concentração de 3,00 g/L e 10,0 g/L com vinte amostras para cada concentração. Esta etapa seguiu os 3 primeiros passos do método descrito no item 3.3.2. Na tabela 13 são apresentadas as massas, mg de batofenantrolina por grama de papel, das impregnações.

Tabela 13: Massa de batofenantrolina impregnada no papel filtro (n=40).

Concentração da solução indicadora	Média (mg/g)	Desvio padrão (mg/g)	Coefficiente de Variação. (%)
3,00 g/L	13,2	2,4	18
10,0 g/L	45,0	14,0	31

A análise da distribuição superficial foi feita sob microscópio com uma ampliação de 40 vezes com os seguintes resultados. Nas amostras que receberam a

solução de 10,0 g/L, 70% mostraram formação de cristal. Isto explica o elevado coeficiente de variação encontrado na massa retida no papel. Nas amostras das soluções de 3,00 g/L não houve formação de cristais.

Usando a distribuição t-Student podemos calcular o intervalo de confiança para 98% para a concentração de 3,00 g/L. Os valores máximo e mínimo para este intervalo são, respectivamente, 11,9 mg/g e 14,6 mg/g. Comparando com a fita comercial que tem 1,00 g/m² preparada com uma solução de 1,6 g/L do mesmo indicador (Neevel, 2005) a fita desenvolvida tem 1,16 g/m² usando uma solução de 3,00 g/L. Essa diferença na absorção se deve ao papel usado. Na fita comercial usou-se o papel filtro 589/2 070mm Schleicher & Schuel® enquanto na desenvolvida usou-se o Whatman® n° 1.

Uma outra maneira de se obter uma maior quantidade de indicador na fita seria aumentar o número de banhos na etapa de impregnação do indicador. Para avaliar o efeito que o número de impregnações teria sobre a concentração de indicador retido na fita, foram testadas três formas de impregnação, com 1, 2 e 10 banhos de batofenantrolina. O método usado aparece no item 3.3.2. A secagem entre cada banho foi realizada na estufa a 80° C durante 20 minutos para evaporar o solvente. Neste ensaio usou-se 20 amostras para cada tipo de impregnação.

Tabela 14: Massa de batofenantrolina depositada em diferente números de banhos.

Número de banhos da solução indicadora	Média (mg/g)	Desvio padrão (mg/g)	Coeficiente de Variação (%)
1	13,2	2,4	18
2	17,3	3,5	20
10	30	16	52

As amostras que foram produzidas com 10 banhos apresentam a formação bastante evidente de cristais na superfície do papel o que explica o maior desvio padrão do grupo.

Complementando este ensaio, realizou-se uma avaliação visual da resposta de cada tipo de impregnação em contato com a amostra de tinta de linhas com excesso de ferro nas condições padronizadas. Nesse estudo, usou-se o mesmo padrão de cor vermelha que nos testes anteriores, sendo que esta comparação foi realizada por três observadores diferentes.

Tabela 15: Indicação de ferro com diferentes números de banhos

Numero de banhos	Legenda	Indicação visual	RGB
1	+++++		255,137,118
2	++++		255,170,156
10	++++		255,170,156

A amostra da fita que sofreu dois banhos não apresentou um resultado superior à da amostra com um banho. As amostras obtidas com 10 banhos não só tiveram praticamente o mesmo resultado que as demais, pode ser notado na tabela 15, como também mancharam de vermelho as amostras de tinta..

Para decidir entre um ou dois banhos na etapa de impregnação levou-se, em consideração ambos os experimentos. A massa retida com um banho foi 13,2 mg/g enquanto que a massa retida com dois banhos foi 17,3 mg/g. Este aumento de 30% não correspondeu a uma melhora na indicação visual da fita que indicasse a necessidade desse segundo banho. Outro aspecto considerado foi a possibilidade de contaminação da fita durante esse segundo banho e mais um processo de secagem. Dessa maneira optou-se pelo emprego de um banho para a aplicação da batofenantrolina.

4.3.3 Solução ácida

Para avaliar a melhoria devido a adição do ácido no meio reacional da fita identificadora, usou-se dois ácidos (ácido nítrico e ácido clorídrico) em duas concentrações (0,1 mol/L e 0,5mol/L). Uma concentração mais elevada foi descartada por deixar o papel filtro demasiado frágil para a aplicação da camada protetora. Os resultados alcançados, com dez amostras de cada grupo, são apresentados na tabela 16 a seguir.

Tabela 16: Indicação de ferro em diferentes ácidos.

Concentração da solução ácida (mol/L)	Legenda	Indicação visual	RGB
0,5 de ácido nítrico	+++		255,118,213
0,5 de ácido clorídrico	++		255,230,226
0,1 de ácido nítrico	++		255,230,226
0,1 de ácido clorídrico	+		255,243,240

Os melhores resultados foram obtidos com o ácido nítrico 0,5mol/L. Esta concentração foi suficiente para garantir uma maior concentração dos íons de ferro transportado dos originais no estado Fe^{+2} fazendo com que a indicação fosse mais visível.

4.3.4 Camada protetora

A aplicação do carbox metil celulose para formar a camada protetora na fita é o aspecto determinante para a repetibilidade do resultado final da fita identificadora. Uma variação da espessura da película causa uma resposta diferente, visto que a resistência à transferência dos íons de ferro será diferente. Por outro lado, esta camada permite a aplicação do ácido forte no papel filtro sem que as amostras fiquem expostas a este ambiente agressivo.

O experimento foi realizado nas fitas impregnadas com indicador e depois da aplicação da solução ácida como indicado no item 3.3.4. Para uma melhor interpretação usou-se os dois padrões de tinta. Com o padrão de linha verificava-se a possibilidade de manchar a amostra de tinta e com o fita e como padrão impregnado avalia-se a resposta da fita quando exposta a tinta.

A resposta obtida por cada concentração de solução de CMC aplicada é uma média de dez amostras.

Tabela 17: Indicação de ferro em diferentes concentrações de CMC n=10.

Concentração de CMC em (% P/P)	Legenda	Indicação visual	RGB
1	++++		255,170,156
2	+++		255,218,213
3	++		255,230,226

As amostras com 1% apresentaram uma resposta positiva da identificação, todavia, ocorreram manchas nas amostras. Nas fitas de 3% estimou-se um resultado positivo, mas ocorreu a aderência na fita em 40% das amostras. O resultado mais satisfatório foi alcançado com a fita de 2% . Esta não teve uma indicação tão boa como a fita de 1% mas não apresentou nenhum dos problemas descritos.

Dessa maneira apos todos os resultados pode-se compila um método aprimorado de produção da fita identificadora, como mostrado a seguir.

1. Preparo da solução de batofenantrolina 3,0 g/L em álcool etílico PA
2. Impregnação da solução indicadora por 30 segundo por meio de banho.
3. Secagem na estufa a 80°C por 20 minutos.
4. Preparo da solução de ácido nítrico 0,5mol/L.
5. Impregnação da solução ácida por 30 segundo por meio de banho.
6. Secagem na estufa a 80°C por 20 minutos.
7. Aplicação da camada protetora de CMC a 2% P/P.
8. Secagem na estufa a 80°C por 20 minutos

4.4 Estudo da interferência de cobre existente na tinta.

Inicialmente, foi realizada uma varredura, entre os comprimentos de onda 500nm e 600nm, nos padrões de ferro com batofenantrolina, sem a adição de cobre para se verificar o pico de 532nm descrito na literatura (Smith,1960) figura11. Posteriormente, foram construídas duas curvas de calibração, Abs vs concentração de ferro com e sem adição de cobre. Os resultados são encontrados na figura 12. Pode-se perceber tanto pelo coeficiente angular, como pelo coeficiente linear que não há interferência na presença da cobre na resposta da fita (tabela 18).

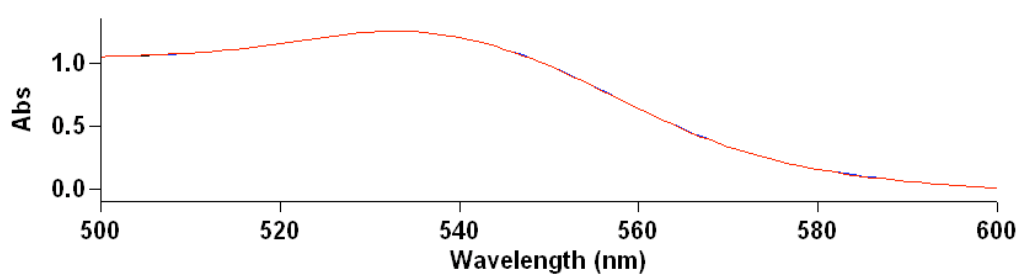


Figura11: Varredura da solução de batofenantrolina.

Estudo de interferência do cobre.

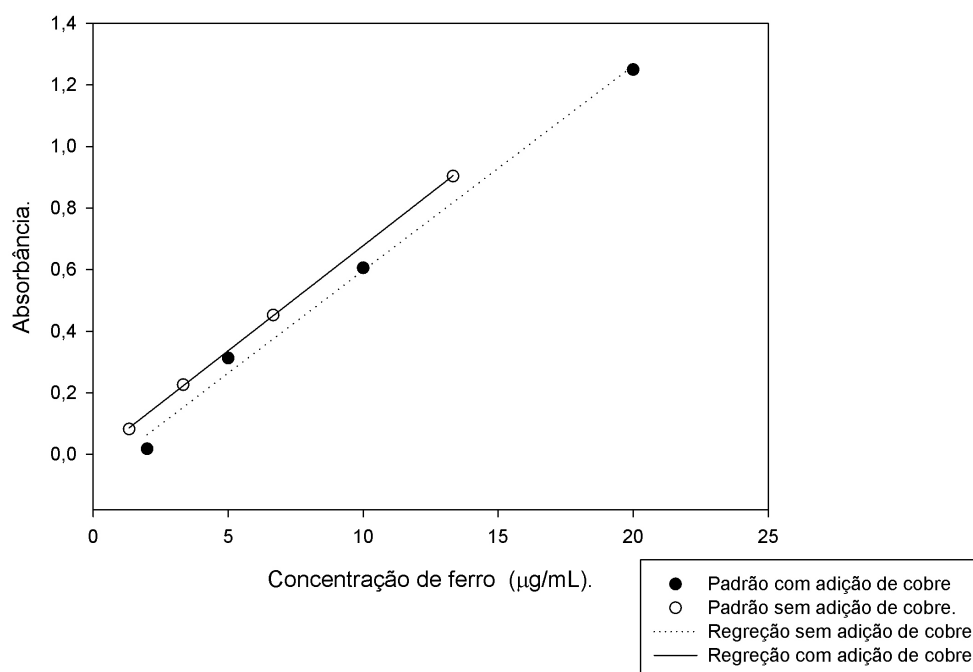


Figura 12: Curvar analítica com e sem a adição de cobre.

Utilizando a regressão pelo método de mínimos quadrados nos valores apresentados, obtemos os valores apresentados na tabela 17.

Tabela 18: Parâmetros da regressão de mínimos quadrados recalcular.

Valores obtidos	Ferro	Ferro + Cobre
Coeficiente angular	0,0666	0,0682
Coeficiente linear	-0,0688	-0,0045
Desvio do coeficiente angular	0.0036	0.0004
Desvio do coeficiente linear	0.0412	0.0035
Coeficiente de correlação	0.9942	0.9999
Desvio padrão da regressão	0,0489	0,0041

Para a comparação entre os valores do coeficiente angular e coeficiente linear, aplicou-se o teste T com oito graus de liberdade e com 95% de confiabilidade, obtendo para esses critério o valor tabelado para F crítico de 1,86. Os valores de F calculados para os coeficiente estão apresentado na tabela 19.

Tabela 19: Valores de F calculados para os coeficientes angular da reta.

Parâmetros da reta	F calculado
Coefficiente angular	1,84

Como o valor de F crítico é maior que os valor calculado, aceita-se H_0 o que verifica que ambas as médias pertencem à mesma população, não havendo portando interferência.

4.5 Digitalização e quantificação da amostras da fita.

Na primeira tentativa de comparação usou-se o modelo RGB. Entretanto como o canal vermelho, nas amostras, era muito intenso não adicionando informações úteis para a quantificação, a intensidade passou então a depender dos canais azul e verde. Contudo a variação nesses canais não foi coerente com os dados esperados. Dessa maneira foram realizadas medições no modelo em tons de cinza e HLS que apresentam um resultado mais coerente.



Figura 13: Digitalização da fita da Comercial.



Figura 14: Digitalização da fita desenvolvida.

O segundo processamento realizado em tons de cinza obteve resultados mais coerentes. Os resultados foram melhores em tons de cinza por que o cinza é uma media da intensidade dos canais de cor.

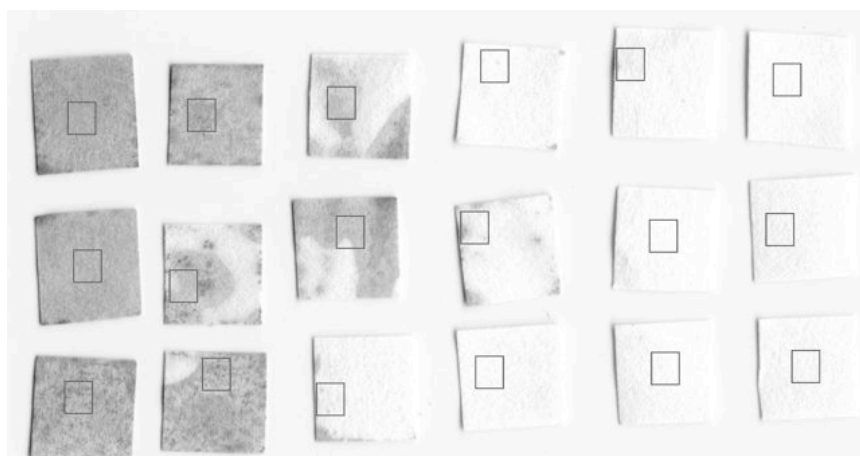


Figura 15: Imagem em tons de cinza da fita da comercial.

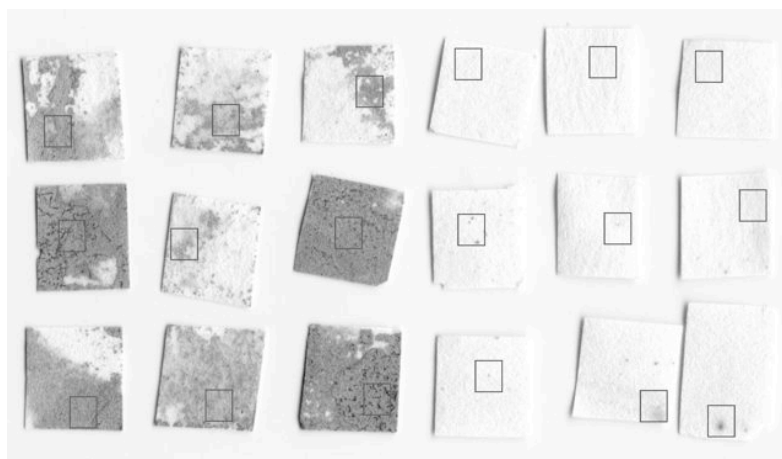


Figura 16: Imagem em tons de cinza da fita desenvolvida.

Como os valores adquiridos pela digitalização em tons de cinza, pode-se montar um gráfico entre a intensidade do pixel e a razão ferro / ácido galotânico usadas nas amostras de tinta para cada uma das fitas identificadoras.

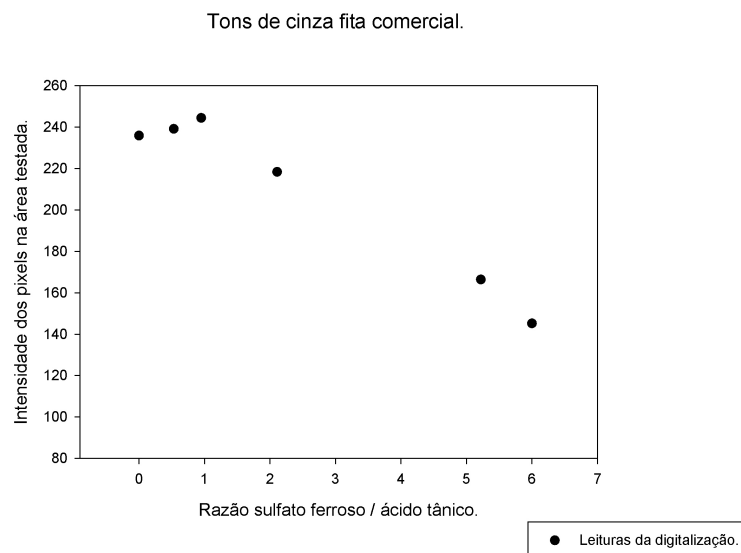


Figura 17: Respostas da fita comercial em tons de cinza.

Fazendo a mesma operação com a fita desenvolvida obtemos o seguinte gráfico.

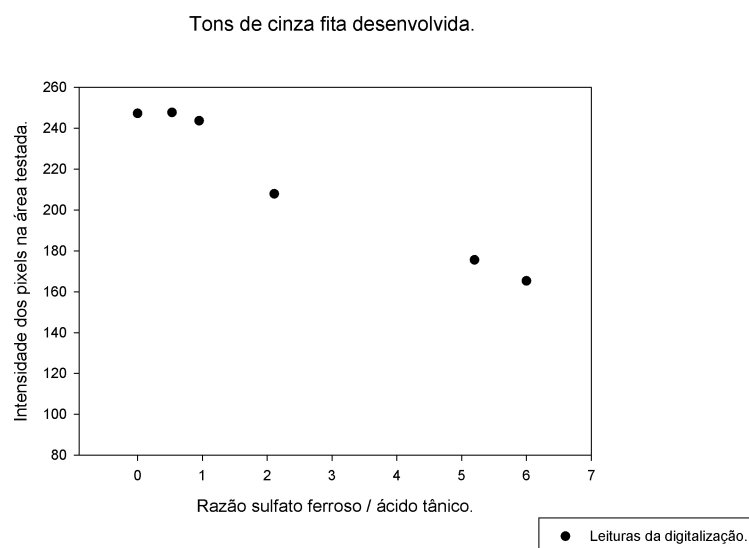


Figura 18: Respostas da fita desenvolvida.

Comparando os coeficientes de linearidade vemos que a resposta da fita desenvolvida é mais linear que a comercial. O coeficiente angular mostra que a fita

desenvolvida que é mais sensível do que a fita comercial devido a adição da camada protetora que causa resistência a transferência ao transporte do ferro.

Tabela 20: Coeficientes das retas de resposta obtidas com processamento por tons de cinza.

	Fita comercial	Fita desenvolvida
Coeficiente angular	-14,48	-16,22
Coeficiente linear	257,3	248,3
R^2	0.967	0.960

Também foi realizado um processamento com o modelo HLS, matriz saturação e brilho. Neste modelo pode-se observar a diferença entre a intensidade da resposta da fita comercial e desenvolvida nas diferentes razões sulfato ferroso ácido tânico. Os resultados obtidos por esse modelo são apresentados nas figuras 19 e 20.

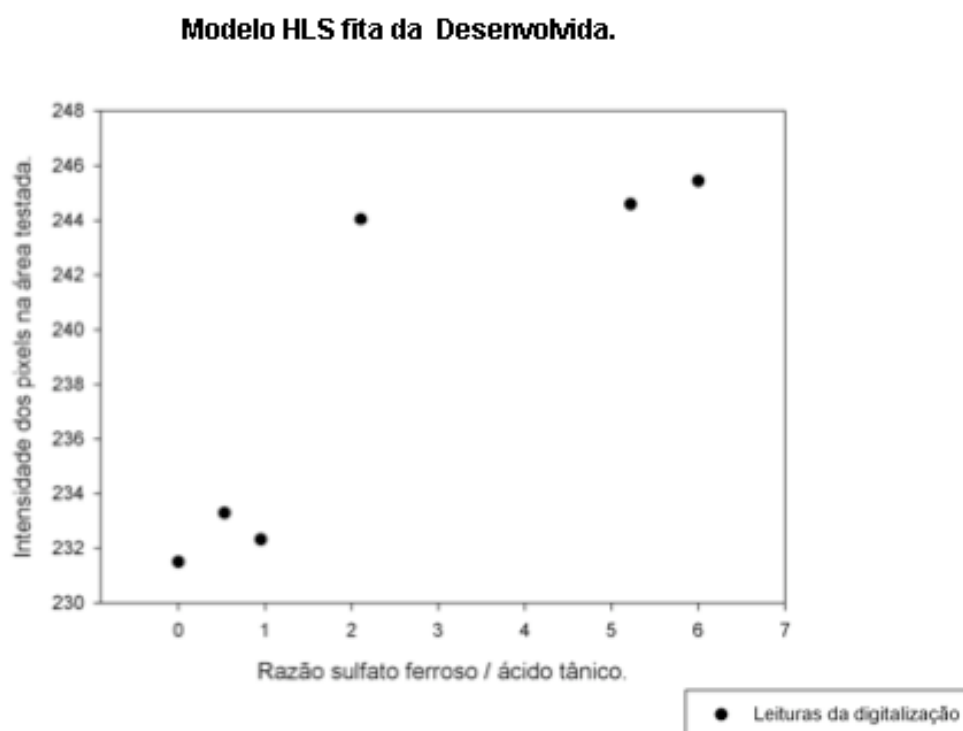


Figura 19: Resposta da fita desenvolvida no modelo HLS.

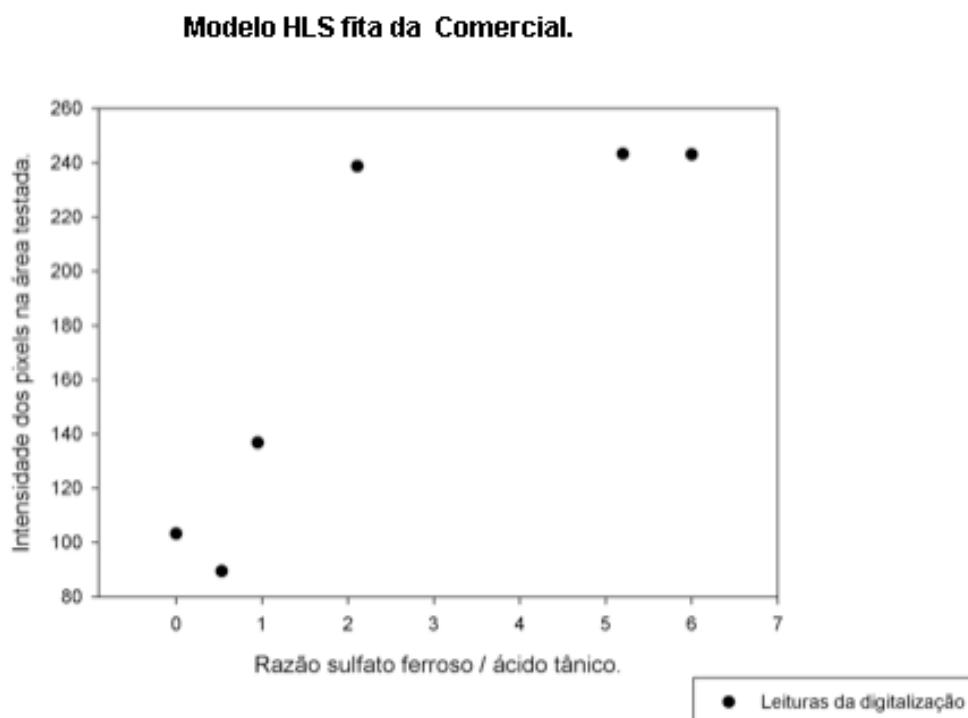


Figura 20: Resposta da fita comercial no modelo HLS.

A fita desenvolvida apresenta maior capacidade de indicar elevadas razões de sulfato ferroso / ácido tânico devido a presença da camada protetora e da região ácida permitindo uma melhor comparação da tintas com essa características. A fita comercial mostra uma maior resposta em baixas razão sulfato ferroso / ácido tânico devido a sua menor resistência ao transporte do íon Fe^{+2} .

Comparando os resultados obtidos de melhor linearidade e melhor desempenho nas razoes, sulfato ferroso / ácido tânico acima de 5,5, que é a razão encontrada nas tintas histórica (Neevel,1995), pode-se concluir que a fita desenvolvida teve um melhor desempenho que a fita comercial.