



Desenvolvimento de um Sensor de Oxigénio Dissolvido
para Meio Aquático

Uminho | 2021

Camila Maria Ramos Aires Moreira Penso



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Camila Maria Ramos Aires Moreira Penso

Desenvolvimento de um Sensor de Oxigénio
Dissolvido para Meio Aquático

Julho de 2021



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Camila Maria Ramos Aires Moreira Penso
Desenvolvimento de um Sensor de Oxigénio
Dissolvido para Meio Aquático

Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Eletrónica
Industrial e de Computadores

Trabalho efetuado sob a orientação de
Professor Doutor Luís Miguel Valente Gonçalves
Professora Doutora Maria Manuela Silva Pires Silva

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos. Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada. Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações
CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Universidade do Minho, 1 de julho de 2021

Assinatura: *Camila Leiria e Boeira Lima*

Este trabalho foi cofinanciado por fundos nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e Tecnologia, I.P. pelo Programa Operacional Regional do Norte (NORTE2020), por meio do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), Projeto NORTE-01-0145-FEDER-000032 - NextSea.



AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Luís Gonçalves por ter aceitado orientar a minha dissertação de mestrado, à sua confiança no meu trabalho e constante apoio. Aos seus conselhos e sugestões, à motivação que sempre soube transmitir assim como as oportunidades que me facultou. À Professora Dra. Maria Manuela Silva por ter aceitado coorientar a minha dissertação, às suas palavras carinhosas de apoio, preocupação e disponibilidade. Ao doutor Paulo Sousa e à doutora Vânia Pinto pelo constante apoio, sugestões científicas, interesse e preocupação no desenvolvimento do trabalho laboratorial assim como à disponibilidade para me ajudarem nas mais diversas temáticas. À doutora Susana Catarino que me mostrou sempre grande disponibilidade no empréstimo de material experimental. Ao Sr. Carlos Torres e ao Sr. Paulo Silva que ao longo destes últimos anos me deram sempre uma palavra amiga, me facultaram material e me ensinaram os mais diversos conteúdos práticos.

Ao CATIM (Centro de Apoio Tecnológico Indústria Metalomecânica) em especial ao Engenheiro Luís Rocha por me ter facilitado sempre a sua enorme disponibilidade ao facultar os serviços de impressão 3D, cujos moldes revelaram grande precisão e qualidade.

Ao meu querido companheiro de vida João Luís Rocha por ter sido o meu braço direito e ao seu incentivo na minha vida profissional e pessoal. Ao meu colega de laboratório Batista por me ter incentivado a ingressar na temática desta dissertação pela sua incrível ajuda, e por me ajudar a compreender, o que de início parecia um percurso complexo. À minha mãe, a toda a força e energia que me dedicou todos estes anos, ao seu apoio incondicional as suas palavras meigas, á sua preocupação constante e ao exemplo de força que me deu a vida toda.

À Universidade do Minho por ter sido uma excelente academia e lar, por me ter facultado o melhor apadrinhamento que uma instituição pode dar e a todos os meios que facultou para o desenvolvimento da minha dissertação.

Ao programa *Next-Sea* por me ter facultado não só a oportunidade de realizar este trabalho, mas também ao apoio financeiro que me cedeu para a realização deste projeto.

E por fim a todos aqueles que sabendo ou não contribuíram para esta dissertação estimulando-me intelectualmente dando-me uma palavra de incentivo e simpatia.

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração. Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Universidade do Minho, 1 de julho de 2021

Assinatura:

A handwritten signature in blue ink, reading "Camila Leiria e Sousa Lima". The signature is written in a cursive style with a large initial 'C'.

RESUMO

Apesar do planeta Terra ser conhecido como planeta azul, em virtude das enormes massas de água que sustenta (cerca de 70%), apenas 3% deste volume é água doce e desta pequena parcela somente 0,06% está disponível para consumo humano. Dessa forma, ao longo da última década, os avanços científicos têm vindo a acentuar a elevada relevância de conservação, proteção e monitorização das massas de água disponíveis de forma a viabilizar a vida na Terra de uma forma sustentável. No entanto, os meios aquáticos não são estáticos e imutáveis, as suas características biológicas, químicas e físicas alteram-se não só pela ação antrópica (descargas, poluição atmosférica, agricultura, desflorestamento) mas também pelo curso natural das condições que influenciam o ciclo da água (erosão, solubilidade de minerais e químicos naturalmente presentes nas formações rochosas).

Nos últimos anos tem-se tornado evidente uma crescente procura por meios eficientes e autónomos de monitorização de qualidade da água, nomeadamente, plataformas de gestão de recursos hídricos rigorosas e precisas que permitam avaliar as diversas propriedades de um determinado volume de água de forma a criar bases estatísticas e meios de prevenção com o objetivo de corrigir eventuais anomalias. Todavia, os desafios políticos, económicos e sociais constituem ainda um obstáculo aos avanços tecnológicos. Esta é uma área que envolve diversas adversidades eletrónicas, tais como desenvolvimento de sistemas *real time*, com baixo consumo elétrico, exigência de elevada precisão e exatidão, mas também dificuldades relacionadas com *biofouling*, interveniência de espécies químicas nas medições, entre outras. Em suma é uma temática que desafia a área da engenharia eletrónica e informática, química, biologia e física (hidráulica).

O oxigénio dissolvido (OD) é um dos principais parâmetros de análise de qualidade de água, o seu estudo permite deduzir a taxa fotossintética aquática, a taxa de stress animal em tanques de aquacultura, processos aeróbicos e anaeróbicos, taxas DBO (demanda bioquímica de oxigénio) e DQO (demanda química de oxigénio) e consequentemente possíveis descargas.

Ambos os sensores óticos e eletroquímicos foram propostos anteriormente, mas várias limitações ainda existem, principalmente na manutenção de uma estabilidade de longo prazo devido à degradação do sensor, bio-incrustação e custo.

Filmes de polidimetilsiloxano (PDMS), dopado com Platina octaetilporfirina (PtOEP) são propostos nesta dissertação para a fabricação de um sensor ótico de oxigênio dissolvido. O PDMS tem ampla utilização na fabricação de dispositivos *lab-on-chip* e aplicações médicas. Possui um processo de fabricação simples, resultando em moldes confiáveis e facilmente replicáveis, utilizando técnicas de baixo custo. As suas excelentes propriedades mecânicas e químicas (alta permeabilidade ao oxigênio, características *antibiofouling*) resultam em membranas com sensibilidade superior em comparação com outros materiais de matriz. A PtOEP é amplamente utilizada em diversas aplicações tanto como sensor de oxigênio quanto como sensor de pressão, assim, o PtOEP é facilmente encontrado já sintetizado, sem a necessidade de procedimentos complicados. O fabrico nas membranas consiste na mistura de PtOEP num solvente adequado e posterior incorporação em PDMS resultando na formação de membranas luminescentes sensíveis ao oxigênio.

É apresentada a influência da espessura do filme PDMS (0,1 – 2,5 mm) e da concentração (181, 363, 545, 727 ppm) nas propriedades luminescentes. No sensor proposto, a membrana é excitada por luz LED ultravioleta modulada de 385 nm, e a luminescência capturada por um fotodiodo filtrado de 647 nm e posteriormente processada por um amplificador de transimpedância. Dessa forma, é possível atingir baixos níveis de detecção, nomeadamente em meio gasoso é possível analisar numa gama de 0,5 – 20% de concentração e em meio líquido de 0,5 – 3,3 mg / L a 1 atm, 25 °C. O presente documento propõe um sistema simples e de baixo custo baseado num sistema fotodiodo/LED para detetar baixas concentrações de oxigênio em aplicações *situ*.

Palavras-Chave: monitorização marítima, oxigênio dissolvido, PDMS, PtOEP, sensor ótico.

ABSTRACT

Planet Earth is known as the Blue Planet, due to the huge bodies of water it supports (about 70%), 3% of this volume is freshwater but only 0.06% of this small portion is available for human consumption. Over the last decade, scientific advances have been emphasizing the high relevance of conservation, protection, and monitoring of available water bodies to make life sustainable on Earth. Aquatic ecosystems are not static and immutable, their biological, chemical, and physical characteristics are altered not only by anthropic action (discharges, air pollution, agriculture, deforestation) but also by the natural conditions that influence the water cycle (erosion, minerals solubility, and chemicals naturally present in rock formations).

In recent years, increasing demand for efficient and autonomous ways to monitor water quality has become evident, and precise water resource management platforms that allow the evaluation of the different properties of a volume of water to create statistical bases and means of prevention to correct any anomalies. However, political, economic, and social challenges are still an obstacle to technological advances. This is an area that involves several electronic adversities, such as the development of real-time systems, with low electrical consumption, high precision, and accuracy, but also difficulties related to biofouling, intervening of chemical species in measurements, among others. In short, it is a theme that challenges the area of electronic and computer engineering, chemistry, biology, and physics (hydraulics).

Dissolved oxygen (DO) is one of the main parameters of water quality analysis, its study allows to deduce the aquatic photosynthetic rate [4], the animal stress rate in aquaculture tanks, aerobic and anaerobic processes, biochemical oxygen demand (BOD) rates, and dissolved oxygen concentration (DOC) and consequently possible discharges.

Both optical and electrochemical sensors have been proposed previously, but several limitations still exist, mainly in maintaining long-term stability due to sensor degradation, biofouling, and cost.

Platinum octaethylporphyrin (PtOEP) doped polydimethylsiloxane (PDMS) films are proposed here for the manufacture of an optical DO sensor. PDMS is used in the manufacture of lab-on-chip devices and medical applications.

It has a simple manufacturing process, it takes place in qualified and easily replicable molds, using low-cost techniques. As its excellent mechanical and composite properties (high oxygen permeability, anti-biofouling characteristics) result in membranes with superior sensitivity compared to other matrix materials.

A PtOEP is used in several applications both as an oxygen sensor and as a pressure sensor, thus, the PtOEP is easily found already synthesized, without the need for complicated procedures. The manufacture in the membranes consists of the mixture of PtOEP in a suitable solvent and later incorporation in PDMS obtaining in the formation of luminescent membranes sensitive to oxygen.

The entry of the thickness of the PDMS film (0.1-2.5 mm) and the concentration (181,363,545,727 ppm) in the luminescent properties. In the proposed sensor, the membrane is excited by 385 nm ultraviolet modulated LED light, and the luminescence captured by a filtered photodiode of 647 nm and later processed by a transimpedance amplifier. Thus, it is possible to achieve low levels of detection, namely in a gaseous medium, it is possible to analyze the range of 0.5-20% concentration and in liquid medium of 0.5 -3.3 mg / L at 1 atm, 25 °C. This document proposes a simple and low-cost system based on a photodiode / LED system to detect application losses in situ applications.

Keywords: dissolved oxygen, marine monitoring, optical sensor, PDMS, PtOEP.

“Everybody is a Genius.

But If You Judge a Fish by Its Ability to Climb a Tree, It Will Live Its
Whole Life Believing that It is Stupid.”

Albert Einstein

ÍNDICE

Agradecimentos.....	iv
Resumo	vii
Abstract	ix
Lista de Figuras.....	xvii
Lista de Tabelas	xxiii
Lista de Equações	Erro! Marcador não definido.
Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos.....	xxv
Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos (continuação)	xxvi
Nomenclatura de Variáveis Físico-Químicas	xxvii
Nomenclatura de Fórmulas Químicas.....	xxviii
1. Introdução	1
1.1 Enquadramento	1
1.2 Ramos de Aplicação	2
1.3 Motivação	4
1.4 Objetivos.....	5
1.5 Organização da Dissertação	6
2. Enquadramento Físico-Químico	7
2.1 Ciclo de Vida do Oxigénio	9
2.2 Solubilidade do Oxigénio.....	11
2.2.1 Cálculo da Concentração de Oxigénio Dissolvido	14
2.3 Vida Marinha em Hipoxia.....	16
2.4 Legislação em Portugal	19
2.5 Fundamentos Teóricos de Medição.....	20
2.6 Resumo	22
3. Introdução aos Sensores de Oxigénio.....	23
3.1 Tecnologias de Medição Via Química	24
3.2 Tecnologias de Medição Via Eletroquímica	27
3.3 Tecnologias de Medição Via Ótica.....	30
3.4 Comparação entre as Duas Principais Metodologias de Medição de Oxigénio Dissolvido	31

3.5	Resumo	35
4.	Sensores Óticos- Fundamentos	36
4.1	Luminescência	37
4.1.1	Fluorescência e Fosforescência.....	38
4.2	Linearidade Calibração- Equações Stern-Volmer	40
4.3	Sensores de intensidade.....	43
4.4	Sensores de Fluorometria de Fase.....	43
4.5	Sensores Raciométricos	45
4.6	Resumo	48
5.	Componentes do Sensor de Oxigénio.....	49
5.1	Membrana	50
5.1.1	Indicador.....	50
5.1.2	Polímeros matriz	53
5.1.3	Membrana de Isolamento	57
5.2	Sistema Ótico.....	58
5.2.1	Fonte de Excitação	58
5.2.2	Detetor	61
5.3	Amplificador Lock-in	62
5.4	Técnicas Anti-Biofouling.....	67
5.5	Resumo	70
6.	Projeto, Desenvolvimento e Implementação	71
6.1	Fabrico das Membranas Luminescentes	71
6.1.1	Materiais e Equipamentos Utilizados	71
6.1.2	Processo de Fabrico- Membranas Quitosano	73
6.1.3	Processo de Fabrico -Membranas Sol-Gel.....	75
6.1.4	Processo de Fabrico- Membranas PDMS.....	77
6.2	Desenvolvimento da Eletrónica de Excitação e Leitura.....	82
6.3	Projeto estrutural do dispositivo sensor	88
6.4	Resumo	92

7. Testes e Resultados.....	93
7.1 Métodos e Configurações de Teste	94
7.1.1 Metodologias para Variação da Concentração de Oxigénio.....	94
7.1.2 Setup de Fixação do Sensor e Controlo de Oxigénio.....	97
7.1.3 Medição de Absorção	103
7.1.4 Medições de Luminescência com Espectrofotómetro.....	106
7.1.5 Medições de Luminescência com Amplificador <i>Lock-in</i>	107
7.2 Resultados de Absorção	109
7.3 Resultados de Espectro de Luminescência.....	112
7.4 Testes em Ambiente Gasoso	115
7.4.1 Resultados com Espectrofotómetro.....	115
7.4.2 Resultados com Amplificador <i>Lock-In</i>	121
7.4.3 Resultados com Fotodíodo	124
7.5 Testes em Ambiente Líquido.....	126
7.5.1 Resultados com Espectrofotómetro.....	126
7.5.2 Resultados com o fotodíodo e Hardware/Software Desenvolvido.....	127
8. Conclusões e Trabalho Futuro	131
8.1 Limitações Práticas	133
8.2 Melhorias e Alternativas de Procedimento para Trabalho Futuro.....	134
Bibliografia.....	137
Anexo I – Equações/Conversões Utilitárias.....	146
Anexo II – Fatores de Correção de Salinidade	147
Anexo III – Variação das Constantes de Henry, para Oxigénio e Nitrogénio Gasosos em água	151
Anexo IV – Caracterização das Membranas de Tolueno	152
Membranas Fabricadas com Concentração de 181 ppm – Metodologia Peso	152
Membranas Fabricadas com Concentração de 181 ppm – Metodologia Spin-Coating	153
Membranas Fabricadas com Concentração de 363 ppm – Metodologia Peso	154
Membranas Fabricadas com Concentração de 363 ppm – Metodologia Spin-Coating	155
Membranas Fabricadas com Concentração de 545 ppm – Metodologia Peso	156
Membranas Fabricadas com Concentração de 545 ppm – Metodologia Spin coating.....	157

Membranas Fabricadas com Concentração de 727 ppm – Metodologia Peso	158
Membranas Fabricadas com Concentração de 727 ppm – Metodologia Spin-Coating	159
Anexo V – Caracterização das membranas de THF.....	160
Membranas Fabricadas com Concentração de 363 ppm – Metodologia Peso	160
Membranas Fabricadas com Concentração de 363 ppm – Metodologia Spin-Coating	161
Membranas Fabricadas com Concentração de 545 ppm – Metodologia Peso	162
Membranas Fabricadas com Concentração de 545 ppm – Metodologia Spin-Coating	163
Membranas Fabricadas com Concentração de 727 ppm – Metodologia Peso	164
Membranas Fabricadas com Concentração de 727 ppm – Metodologia Spin-Coating	165
Anexo VI – Caracterização das Membranas de Controlo.....	166
Membranas de Tolueno – Metodologia Peso	166
Membranas de Tolueno – Metodologia <i>Spin-Coating</i>	166
Membranas de THF	167
Anexo VII – Fotografias do Resultado da Cura das Membranas de THF	168
Membranas Fabricadas com 363 ppm de concentração.....	168
Membranas Fabricadas com 545 ppm de concentração.....	170
Membranas Fabricadas com 727 ppm de concentração.....	172
Anexo VII – Fotografias do Resultado da Cura das Membranas de Controlo- THF	174
Anexo VIII – Fotografias do Resultado da Cura das Membranas de TOLUENO	175
Membranas Fabricadas com 181 ppm de concentração.....	175
Membranas Fabricadas com 363 ppm de concentração.....	177
Membranas Fabricadas com 545 ppm de concentração.....	179
Membranas Fabricadas com 727 ppm de concentração.....	181
Anexo IX – Fotografias do Resultado da Cura das Membranas de Controlo- TOLUENO	183
Anexo X- Orçamento do Projeto.....	184
Orçamento Eletrónica	184
Orçamento <i>Setup</i> Medição.....	185
Anexo XI- Discriminação do Material/Equipamento Utilizado no Fabrico e Teste das Membranas....	186
Anexo XII- Projeto PCB	187
Anexo XIV- Segurança Laboratorial	188

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Junção de dois átomos de oxigênio através de uma ligação covalente dupla.	7
Figura 2.2 Perspetiva molecular da dissolução de oxigênio na água.....	7
Figura 2.3 Variação do oxigênio dissolvido em função do dia devido as taxas fotossintéticas (adaptada da referência [23]).	10
Figura 2.4 Representação da pressão parcial (setas verdes) exercida pelo oxigênio (esferas vermelhas) sobre dois líquidos.....	20
Figura 3.1 Esquema descritivo de um sensor eletroquímico.	27
Figura 3.2 Esquema de um sensor galvânico [54].	28
Figura 3.3 Esquema de um sensor polarográfico [54].	28
Figura 4.1 Esquema general de um sensor químico ótico.....	36
Figura 4.2 Diferentes topologias de luminescência classificadas consoante a fonte de excitação.	37
Figura 4.3 Fluorescência descrita segundo um diagrama de Jablonski [63].	39
Figura 4.4 Fosforescência descrita segundo um diagrama de Jablonski [63].	39
Figura 4.5 Fluorescência atrasada descrita segundo um diagrama de Jablonski [63].	40
Figura 4.6 Relação de linearidade entre a intensidade de luminescência e a concentração de supressor.	42
Figura 4.7 Desfasamento entre o sinal de excitação e o sinal de emissão.	43
Figura 4.8 Membrana Radiométrica com indicador sensível PdTCPP e indicador não sensível CdSe QDs. Adaptado de [72].	45
Figura 4.9 Esquema representativo de um sensor radiométrico baseado na medição do tempo de vida.	47
Figura 5.1 Estrutura química da PtOEP [82].	53
Figura 5.2 Representação da estrutura química do agente base e de cura e da junção de ambos na estrutura final-PDMS [111].	55
Figura 5.3 Esquemático do setup típico de um sensor de OD evidenciando a localização da membrana de isolamento ótico.	57
Figura 5.4 Esquema geral do funcionamento de um lock-in single phase demodulation.	62
Figura 5.5 Esquema geral do funcionamento de um lock-in dual phase demodulation.....	65
Figura 5.6 Escovas rotativas anti-fouling (fabricadas pela YSI).....	67

Figura 5.7 Metodologias anti-fouling de encapsulamento à base de cobre (fabricadas pela YSI).....	68
Figura 5.8 À esquerda- Resultado do biofouling num sensor subaquático ao final de 6 meses na costa de Oregon. À direita- Um sensor semelhante, exposto às mesmas condições com tecnologia UV para combater o biofouling [127]......	68
Figura 5.9 Soluções Anti-fouling através de luz UV disponibilizadas pela empresa AML Oceanographic [127]......	69
Figura 6.1 À esquerda – Estrutura química do THF. À direita- Estrutura química do tolueno.....	71
Figura 6.2 Representação da estrutura química do quitosano [132].	72
Figura 6.3 Agitador magnético com a mistura de indicador e quitosano isolado com parafilm.	73
Figura 6.4 Banho de ultrassom utilizado para homogeneização do polímero.....	74
Figura 6.5 Agitador magnético com a mistura de quitosano, THF e PtOEP com proteção de alumínio	74
Figura 6.6 Fotografia do resultado final da membrana já curada.....	74
Figura 6.7 Placa de Petri com o polímero (com PtOEP).	74
Figura 6.8 Agitador magnético com a mistura de quitosano e THF.	75
Figura 6.9 Placa de Petri com o polímero de controlo.....	75
Figura 6.10 Agitador magnético com balão com a mistura sol-gel e indicador.	76
Figura 6.11 Fotografia do resultado da decantação do sol-gel para a placa de Petri.	76
Figura 6.12 Fotografia do resultado da cura da membrana de sol-gel.	76
Figura 6.13 Fotografia do resultado da membrana de controlo de sol-gel após o processo de cura. ..	77
Figura 6.14 Representação do fabrico de PDMS.	79
Figura 6.15 Processo de vácuo com o polímero resultante da mistura dos dois agentes de PDMS.	80
Figura 6.16 Recipiente com o PDMS após o processo de vácuo.	80
Figura 6.17 Gobelé com mistura indicador e solvente, tapado com parafilm, no processo de agitação magnética.	80
Figura 6.18 À esquerda - Ultrassom no processo de homogeneização da matriz. À direita - Processo de secagem na estufa.	81
Figura 6.19 Fotografia de um exemplo da montagem laminar utilizada para a cura das membranas.	81
Figura 6.20 Circuito de excitação do LED elaborado em LTSpice.....	82
Figura 6.21 O circuito de acondicionamento de sinal, composto do amplificador de transimpedância, um filtro passa-baixo de primeira ordem e um segundo estágio de amplificador.....	84
Figura 6.22 Descrição do papel do microcontrolador no projeto do sensor.	86

Figura 6.23 Circuito de acondicionamento de sinal, composto do amplificador de transimpedância, um filtro passa-baixo de primeira ordem e um segundo estágio de amplificador utilizado com o lock-in... 87	87
Figura 6.24 Espectro de transmissão do filtro passa-banda THORLABS LASER LINEAR FILTER 647,1 nm..... 88	88
Figura 6.25 Disposição ortogonal de um setup típico para medição fotoluminescência. 88	88
Figura 6.26 À esquerda - Setup 90°.À direita - Setup 45°.As Figuras superiores representam o modelo desenhado no fusion e as Figuras inferiores o modelo impresso..... 90	90
Figura 6.27 Representação gráfica do conceito do setup LED/fotodiodo com ângulo de 45°..... 91	91
Figura 6.28 Setup de 45° para o modelo fotodiodo/LED. As Figuras superiores representam o modelo desenhado no fusion e as Figuras inferiores o modelo impresso..... 91	91
Figura 7.1 Estrutura de fixação da lâmina de vidro ao setup de amostragem para amostras livres do suporte de vidro. 97	97
Figura 7.2 Estrutura de fixação da lâmina de vidro ao setup de amostragem para amostras fixas ao suporte de vidro. 97	97
Figura 7.3 Fotografia da visão sobre o topo do recipiente de teste, com a ventoinha de homogeneização gasosa. 98	98
Figura 7.4 À esquerda – Motor Lego Power Function. À direita- Fonte de alimentação Lego..... 98	98
Figura 7.5 Fotografia das diferentes perspectivas da montagem do motor/bateria no recipiente de teste. 99	99
Figura 7.6 Setup final do recipiente isolado associado à tubagem de gás engarrafado. 99	99
Figura 7.7 À esquerda- Setup com isolamento de alumínio. À direita- Pormenor da ligação do encapsulamento de alumínio à massa 100	100
Figura 7.8 Perfil do setup do encapsulamento completo do sensor (Fusion). 101	101
Figura 7.9 Fotografia do sensor desenvolvido. 102	102
Figura 7.10 Representação do fenómeno da absorção/transumância..... 103	103
Figura 7.11 Representação da montagem utilizada para análise da absorção..... 104	104
Figura 7.12 Menu do software Spectronic 2.1.0 com os dados associados às leituras de absorção. 105	105
Figura 7.13 Setup utilizado para análise da luminescência das membranas. 106	106
Figura 7.14 Parâmetros do LabOne utilizados. 107	107
Figura 7.15 Parâmetros do LabOne utilizados (continuação). 108	108

Figura 7.16 Absorção típica da PtOEP para diferentes concentrações com espessuras semelhantes, nomeadamente 0,2mm para as membranas de 363 ppm e 545 ppm de concentração e 0,15 mm para a membrana de 727 ppm de concentração, utilizando THF como solvente.	109
Figura 7.17 Espectro de absorção das membranas com concentração de 727 ppm , igual espessura (0,65 mm) quando utilizados diferentes solventes (THF e tolueno).	110
Figura 7.18 Espectro de absorção das membranas com concentração de 727 ppm, igual espessura (0,5 mm) quando utilizados diferentes solventes (THF e tolueno).	110
Figura 7.19 Relação entre a absorção e a espessura, para membranas fabricadas utilizando o solvente tolueno, com concentrações de indicador de 181, 363, 544 e 727 ppm.	111
Figura 7.20 Relação entre a absorção e a espessura, para membranas fabricadas utilizando o solvente THF, com concentrações de indicador de 363, 544 e 727 ppm.	111
Figura 7.21 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de tolueno com concentração 545 ppm e espessura 0,15 mm (direita) e 1,4 mm (esquerda).	Erro!
Marcador não definido.	
Figura 7.22 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de tolueno com concentração 727 ppm e espessura 0,15 mm (direita) e 1,15 mm (esquerda).	Erro!
Marcador não definido.	
Figura 7.23 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de tolueno com concentração 363 ppm e espessura 0,15 mm (direita) e 1,25 mm (esquerda).	Erro!
Marcador não definido.	
Figura 7.24 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de THF com concentração 363 ppm e espessura 0,2 mm (direita) e 1,4 mm (esquerda).	113
Figura 7.25 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de THF com concentração 545 ppm e espessura 0,2 mm (direita) e 1,4 mm (esquerda).	113
Figura 7.26 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membrana de THF com concentração 727 ppm e espessura 0,15mm.	113
Figura 7.27 Intensidade luminosa das membranas fabricadas com o solvente tolueno com diferentes concentrações, nomeadamente 363, 545 e 725 ppm para a espessura semelhantes (1,25 mm para 363 ppm 1,2 mm para 545 ppm e 1,15 para 727 ppm) em função de diferentes concentrações de oxigénio.	116

Figura 7.28 Intensidade luminosa das membranas fabricadas recorrendo ao solvente tolueno com diferentes concentrações, nomeadamente 363, 545 e 727 ppm para a mesma espessura (0,15 mm) em função de diferentes concentrações de oxigénio.	116
Figura 7.29 Intensidade luminosa das membranas de THF com diferentes concentrações, nomeadamente 363, 545 e 727 ppm para a espessura semelhantes (0,2 mm para 363 ppm e 545 ppm e 0,15 mm para 727 ppm) em função de diferentes concentrações de oxigénio.	117
Figura 7.30 Intensidade luminosa das membranas de THF com diferentes concentrações, nomeadamente 363, 545 e 727 ppm para a espessura semelhantes (1,4 mm para 363 ppm e 545 ppm e 1,15 mm para 727 ppm) em função de diferentes concentrações de oxigénio.	118
Figura 7.31 Módulo do sinal sensor em função da variação de oxigénio, para a membrana de concentração 363 ppm com espessura 1,4 mm e THF em ambiente gasoso.	122
Figura 7.32 Desfasamento do sinal sensor em função da variação de oxigénio, para a membrana de concentração 363 ppm com espessura 1,4 mm e THF em ambiente gasoso.	122
Figura 7.33 Atraso da luminescência em função da concentração de oxigénio para diferentes frequências, nomeadamente 100, 500, 1k, 5k e 11k Hz, com detalhe à direita nas frequências de 1kHz e 5kHz.	123
Figura 7.34 Inverso da intensidade de corrente ao longo do incremento de concentração de oxigénio, em ambiente gasoso, para a membrana 363 ppm com espessura 1,4 mm e THF. O offset de 4,3 nA foi retirado, e o inverso da corrente apresentado.	125
Figura 7.35 Inverso da intensidade luminosa da luminescência na membrana com 363 ppm de indicador com espessura 1,4 mm fabricada com THF e na membrana com 545 ppm de indicador com espessura 1,45 mm fabricada com tolueno, para diferentes concentrações de oxigénio em ambientes líquidos	126
Figura 7.36 Inverso da corrente e da tensão lida no fotodiodo em função do oxigénio, para a membrana com 363 ppm de indicador e com 1,4 mm de espessura, fabricada com THF, em ambiente líquido. O offset de 3,85nA foi retirado, e o inverso da corrente apresentado.....	128
Figura 7.37 Valores de ADC em função da concentração de oxigénio para a membrana com 363 ppm de indicador com espessura 1,4 mm, fabricada com THF, em ambiente líquido.....	129
Figura 7.38 Variação dos valores de oxigénio dissolvido medidos (sensor desenvolvido) em função dos valores de oxigénio dissolvido de referência (medidos com o sensor comercial) para a membrana com concentração de 363 ppm com 1,4 mm e fabricada com THF.	130

LISTA DE TABELAS

Tabela 2-1 Valores de DBO associados a diversas origens de volumes de água (adaptado da referência [24]).	10
Tabela 2-2 Variação da COD (% O ₂) em água doce(0 ppm) e água salgada (35 000 ppm), temperatura e pressão (adaptada das referências [23], [26]).	12
Tabela 2-3 Valores das variáveis da equação 2.5 (adaptada da referência [31]).	15
Tabela 2-4 Discriminação de diferentes valores de OD para diversas espécies e os seus efeitos no metabolismo	18
Tabela 2-5 Caracterização dos valores máximos recomendados de %OD.	19
Tabela 3-1 Índice de sensores comerciais e as suas características técnicas.	34
Tabela 4-1 Caracterização de membranas radiométricas com diferentes indicadores de referência (adaptada da referência [72]).	46
Tabela 5-1 Resumo dos principais indicadores utilizados para sensores de oxigénio(adaptada da referência [63]).	52
Tabela 5-2 Propriedades físico-químicas dos polímeros de silicone mais comuns na literatura.	54
Tabela 5-3 Propriedades das membranas resultantes da imobilização de diversas metalo-porfirinas em PDMS.....	56
Tabela 5-4 Caracterização das diferentes fontes de luz utilizadas para excitação (Tabela adaptada da referência [105]).	60
Tabela 5-5 Caracterização de diferentes fotodetetores (adaptada da referência [123]).	61
Tabela 6-1 Espessura estimada pela massa da mistura PDMS/indicador.	78
Tabela 6-2 Nomenclatura das membranas em função da velocidade e tempo de rotação.	78
Tabela 6-3 Massas teóricos e experimentais do indicador, utilizados para os diferentes solventes.	79
Tabela 6-4 Valores dos Componentes do Circuito de alimentação do LED.....	83
Tabela 7-1 Densidades do árgon, oxigénio e nitrogénio para condições STP.....	95
Tabela 7-2 Solubilidade e difusão do árgon, oxigénio e nitrogénio para as mesmas condições de temperatura e pressão.....	96
Tabela 7-3 Análise da influência da concentração e espessura na intensidade, linearidade e gama de medição das membranas fabricadas com o solvente tolueno.....	119

Tabela 7-4 Análise da influência da concentração e espessura na intensidade, linearidade e gama de medição das membranas fabricadas com o solvente THF.	119
Tabela 7-5 Valores de Corrente (Pico-Amperímetro) para diferentes condições de teste em ambiente gasoso.	124
Tabela 7-6 Valores de Corrente (Pico-Amperímetro) para diferentes condições de teste em ambiente líquido.	127

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

ABREVIATURA	DEFINIÇÃO
3D	<i>Three Dimensional</i>
A	Absorção
ABS	<i>Acrylonitrile Butadiene Styrene</i>
AC	<i>Alternating Current</i>
ADC	<i>Analog-to-Digital Converter</i>
AmpOp	Amplificador Operacional
BNC	<i>Bayonet Neill Concelman</i>
COD	Concentração de Oxigénio Dissolvido
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigénio
DC	<i>Direct Current</i>
DQO	Demanda Química de Oxigénio
E_{NR}	Emissão Não Radioativa
E_R	Emissão Radioativa
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
MDF	<i>Medium Density Fiberboard</i>
MOSFET	<i>Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor</i>
OD	Oxigénio Dissolvido
OLED	<i>Organic light emitting diode</i>
OMZ	<i>Oxygen Minimum Zones</i>
PDMS	<i>Polydimethylsiloxane</i>
PMSP	<i>Poly(1-trimethylsilyl-1-propyne)</i>
POS	<i>Polarographic Oxygen Sensor</i>
PSS	<i>Practical Salinity Scale</i>
PSU	<i>Practical Salinity Units</i>
PTFE	Politetrafluoretileno

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS (CONTINUAÇÃO)

ABREVIATURA	DEFINIÇÃO
PTFE	Politetrafluoretileno
PVC	Policloreto de vinil
PtOEP	Platina Octaetilporfirina
rpm	Rotações Por Minuto
RV	Relaxamento Vibracional
SEM	<i>Scanning electron microscope</i>
SMD	<i>Surface Mounting Devices</i>
SNR	<i>Signal-to-noise-ratio</i>
STP	<i>Standard Conditions for Temperature and Pressure (0° C, 1 bar)</i>
T	Transmitância
THF	Tetraidrofurano
TIA	<i>Transimpedance amplifier</i>
T_{IS}	Transição Inter-Sistema
u.a.	Unidades Arbitrárias
UART	<i>Universal Asynchronous Receiver/Transmitter</i>

NOMENCLATURA DE VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS

VARIÁVEL	DEFINIÇÃO	UNIDADE
D	Difusão	$\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
F	Constante de Faraday	$\text{C} \cdot \text{mol}^{-1}$
I_0	Intensidade de luminescência na ausência de supressor	<i>counts</i>
I	Intensidade de luminescência na presença de supressor	<i>counts</i>
k_q	Constante de supressão molecular	$\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$
K_{SV}	Constante de supressão de <i>Stern-Volmer</i>	M^{-1}
P	Permeabilidade	$\text{cm}^3 \text{cm}^{-2} \text{s cm Hg}$
P_x	Pressão atmosférica	mmHg
pO_2	Pressão parcial de oxigênio	%
[Q]	Concentração de oxigênio	mg/L
S	Solubilidade	$\text{cm}^3 \text{cm}^{-3} (\text{cm Hg})^{-1}$
V_{pk}	Tensão de Pico	V
λ	Comprimento de onda	nm
λ_{em}	Comprimento de onda de emissão	nm
λ_{exc}	Comprimento de onda de excitação	nm
ρ	Densidade	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$
τ	Tempo de vida do fluoróforo na presença do supressor	<i>counts</i>
τ_0	Tempo de vida do fluoróforo na ausência do supressor	<i>counts</i>

NOMENCLATURA DE FÓRMULAS QUÍMICAS

FÓRMULA QUÍMICA	DEFINIÇÃO
CH_3COOH	Ácido Acético
$CHCl_3$	Clorofórmio
CH_2Cl_2	Diclorometano
$C_6H_{12}O_6$	Glucose
Cl^-	Anião Cloreto
$CoCl_2$	Cloreto de Cobalto
CO	Monóxido de carbono
CO_2	Dióxido de carbono
$CoCl_2$	Cloreto de Cobalto
H_2	Hidrogénio
H_2O	Água
H_2S	Sulfito de hidrogénio
H_2O_2	Peróxido de hidrogénio
KCl	Cloreto de potássio
$Mn(OH)_2$	Hidróxido manganês
$Na_2S_2O_3$	Tiosulfato de sódio
NO	Óxido nítrico
N_2O	Óxido nitroso
O_2	(Di)Oxigénio
O_3	Ozono
SO_2	Dióxido de enxofre

1. INTRODUÇÃO

Neste primeiro capítulo é discriminado o enquadramento deste projeto de dissertação de forma a contextualizar a temática da dissertação. São introduzidos conceitos fundamentais à implementação do sensor e realçados princípios essenciais à compreensão dos capítulos seguintes. Para tal é feita uma análise das diferentes áreas e ramos de aplicação onde o estudo das taxas de concentração de oxigénio dissolvido (COD) é fundamental. Posteriormente são destacados os motivos que levaram a seleção desta temática assim como os objetivos desse projeto de dissertação. Finalmente, no último subcapítulo, é sumariada toda a estrutura da dissertação.

1.1 Enquadramento

O presente documento consiste na dissertação Mestrado Integrado “Desenvolvimento de um Sensor de Oxigénio Dissolvido para meio Aquático” inserida no projeto *Next-Sea* do grupo CMEMS (*Center for MicroElectroMechanical Systems*) da Universidade do Minho. O projeto *Next-Sea* tem como objetivo proporcionar uma evolução sustentável das plataformas bio marinhas através da promoção de ferramentas capazes de efetuar a monitorização, gestão e análise dos ecossistemas marítimo-costeiros.

A proposta de trabalho de desenvolvimento de um sensor de oxigénio dissolvido visa detetar possíveis dilemáticas ambientais em grandes massas ou cursos de água, temática que vem de encontro aos objetivos do projeto *Next-Sea*.

1.2 Ramos de Aplicação

O oxigénio, apesar de representar pouco mais de um quinto do volume total da atmosfera terrestre, é um dos elementos mais importantes presentes no ar. É essencial não só a todas as formas de vida aeróbicas, mas também, a diversos processos físicos, químicos e biológicos. A sua escassez ou abundância a níveis significativamente disparem da norma implica consequências drásticas. Pelo que, nas últimas décadas, tem existido um esforço por parte da comunidade científica em desenvolver metodologias cada vez mais precisas e exatas e com sensibilidades adaptadas aos mais distintos ramos da indústria onde os sensores de oxigénio têm aplicação.

A indústria alimentar é um dos maiores consumidores de instrumentação para medição de O_2 . O rigor estabelecido não só pela legislação e segurança alimentar, mas também pelos desafios comerciais e rivalidades entre marcas, levam a que este tipo de indústrias estabeleça um acompanhamento mais assíduo do produto final. O oxigénio desempenha um papel fundamental nos processos alimentares, nomeadamente no desenrolar da fermentação, produção de alimentos com conteúdo alcoólico, embalagem ou ainda no processamento. Através da sua monitorização é possível desacelerar os processos de oxidação permitindo reduzir ou até mesmo eliminar a necessidade de incorporar conservantes ou antioxidantes. A existência de níveis indesejados de oxigénio diminuiu os valores nutricionais de centenas de alimentos promovendo o crescimento de microrganismos aeróbicos. O embalagem de determinados alimentos pode exigir o acompanhamento com a utilização de pequenas unidades de sensores capazes de analisar a porosidade do pacote, embalagem defeituoso ou até mesmo micro perfurações no invólucro [1], [2].

Para além da indústria alimentar, o estudo das taxas de oxigénio dissolvido (OD) bem do défice de OD são parâmetros frequentemente utilizados na classificação da qualidade da água. Analisando estas variáveis é possível inferir as propriedades biológicas e físico-químicas de um volume de água. A COD é utilizada como indicador de poluição visto que os seus valores se relacionam profundamente com a vida aquática, suspensão de sólidos e sedimentos ou ainda valores de amónia. Dessa forma é possível determinar por exemplo descargas em efluentes, criar projetos de proteção e conservação da vida marinha ou ainda intervir em casos extremos [3], [4].

As estações de tratamento de águas residuais (ETAR) bem como as estações de tratamento de água (ETA) necessitam de recorrer a sensores de OD para promover a otimização dos seus sistemas de aeração [5]. A incorporação de OD nos tanques de tratamento permite alimentar as bactérias que facultam a limpeza desses volumes de água possibilitando assim que os períodos cujos sistemas de agitação estão ligados sejam otimizados [6]. A falta de oxigenação dos tanques leva a que os organismos produzam sulfureto de hidrogénio (H_2S) que promove não só os maus cheiros dos tanques de tratamento, mas também a corrosão precoce das canalizações das ETAR [7].

Com o mesmo propósito, as indústrias de criação de peixe por aquacultura, utilizam as taxas de OD de forma a otimizar os ambientes de criação, visto que os valores de OD influenciam os índices de reprodução e crescimento adequados permitindo gerir de forma mais eficiente as manutenções dos tanques de criação [8], [9].

É possível assim associar aos sensores de oxigénio atividades relacionadas com a sustentabilidade, aplicações ambientais e marinhas [10], [11].

A gestão municipal das redes de água publicas envolve um controlo de qualidade e segurança que passa pela análise recorrente de amostras domésticas, superficiais e subterrâneas para controlo de reações biológicas nas canalizações. Por vezes, a incorporação de sensores de OD permite criar alarmes para determinados níveis tóxicos ou incorporação de componentes bacterianas ou virais.

No entanto, a análise de volumes de água é estendida a massas de água de maior volume nomeadamente cursos de água em concreto imediatamente antes e depois de barragens ou interrupções hidráulicas significativas (quedas de água). Nestes locais os processos de arejamento são inconstantes e substancialmente diferentes limitando a flora e fauna locais [12], [13].

No ramo da saúde, em especial na área da medicina, o OD pode ser medido de forma a avaliar a oxigenação sanguínea e dos tecidos, mas é também utilizado como sensor em ventiladores ou aparelhos de apoio a unidades de operação e maternidade. A monitorização de OD é de elevada importância pois permite melhorar técnicas de controlo de proliferação de células cancerígenas, acompanhar o desenvolvimento embrionário, auxiliar na recuperação de ferimentos e ainda monitorizar o desempenho do sistema imunitário. A área da biomedicina e farmacêutica usufrui também das inúmeras vantagens deste tipo de sensores [14][15].

1.3 Motivação

O exponencial crescimento da poluição mundial sentido nas últimas décadas gerou uma exploração desmedida dos recursos naturais despertando um sentimento de grande preocupação com a sustentabilidade do planeta terra. Os ecossistemas marinhos representam uma grande parcela dos meios em risco visto que facultam recursos alimentares, minerais e energéticos essenciais à economia atual. É necessário corrigir a sobre-exploração destes ambientes de forma a minimizar o impacto da crise ambiental que vivemos [17].

A caracterização das bacias hidrográficas, massas e correntes de água é determinante não só para a gestão sustentável dos recursos hídricos, mas também para a sua proteção e antecipação de riscos, facultando dessa forma importantes informações de diagnóstico sobre a maneira mais correta de serem geridos. O conhecimento destes ambientes permite com que sejamos capazes de usufruir corretamente, destes recursos contribuindo para uma exploração sustentável dos mesmos.

Nesta dissertação será desenvolvido um sensor de oxigénio dissolvido cujo protótipo terá como funcionalidade adquirir informações vantajosas para o mapeamento e caracterização ecossistemas marítimo-costeiros do Norte de Portugal.

1.4 Objetivos

Esta dissertação tem como objetivo desenvolver um sensor ótico de OD a utilizar no meio marinho. O projeto abrange diversas áreas, nomeadamente a química, eletrónica de instrumentação, ótica e processamento de sinal.

A primeira etapa consiste no desenvolvimento da plataforma sensor, ou seja, fabrico da membrana sensível à presença de oxigénio. Posteriormente segue-se o desenho do sistema de aquisição de sinal por parte do sistema ótico e finalmente é necessário processar o sinal lido de forma a obter um valor contextualizado.

O sistema ótico será constituído por uma fonte de excitação, nomeadamente um *light emitting diode* (LED) ultravioleta, posicionado com um ângulo definido em relação ao detetor, de forma a que a luz emitida incida sobre a membrana. A membrana emite radiação que é influenciada pela presença ou ausência do oxigénio.

O sinal de *output* do detetor é posteriormente processado de forma a reduzir o *SNR* (*signal to noise ratio*) e a corrigir o valor devido a variáveis externas. Todo o sistema será incorporado numa estrutura cujo desenho será otimizado de forma a que exista isolamento da eletrónica e não existam interferências por parte de *biofouling*.

Pretende-se dessa forma desenvolver um protótipo que permita realizar leituras fiáveis, sem ruído, com boa repetibilidade e sensibilidade adequada ao meio de amostragem (sensivelmente de 0% a 20%). O sensor deverá ter dimensões reduzidas, um desenho adaptado e um consumo energético reduzido de forma a possibilitar leituras durante longos períodos (*in-situ*).

1.5 Organização da Dissertação

O trabalho desenvolvido neste projeto de dissertação foi analisado neste documento sobre a forma de 8 capítulos.

O primeiro capítulo – *Introdução* – trata-se de um simples enquadramento no tema de uma perspetiva generalista e académica, onde é feita uma pequena síndissertação da motivação.

No segundo capítulo – *Enquadramento Físico-Químico* – é apresentada uma introdução teórica sobre uma perspetiva física, de forma a ser contextualizado o conteúdo da dissertação visando as alterações climáticas e importância da monitorização de oxigénio e OD.

Posteriormente no terceiro capítulo – *Introdução aos Sensores de Oxigénio* – são exploradas as diversas metodologias de medição sendo que o quarto capítulo – *Sensores Óticos-Fundamentos* – faculta a continuação do anterior dando especial relevância a fundamentos associados à metodologia ótica que será a tecnologia adotada.

No quinto capítulo – *Componentes do Sensor de Oxigénio* – são analisados os diferentes elementos da tecnologia ótica de forma a analisar quais os mais adaptados à amostragem marinha. No capítulo seis – *Projeto, Desenvolvimento e Implementação* – é descrita em pormenor a metodologia/estratégias adotadas. No capítulo sete – *Testes e Resultados* – são analisados os processos de fabrico das membranas e resultados obtidos na determinação de oxigénio gasoso e líquido com os diferentes métodos utilizados.

No capítulo 8 – *Conclusões e Trabalho Futuro* - são exploradas as conclusões do trabalho desenvolvido, é feita uma retrospectiva do trabalho de forma a averiguar possíveis melhorias no trabalho futuro.

Por fim são apresentados diversos anexos que complementam o corpo da dissertação.

2. ENQUADRAMENTO FÍSICO-QUÍMICO

O oxigénio (O) é um elemento químico caracterizado pelo número atómico de 8, o que significa que a sua configuração eletrónica é $1s^2 2s^2 2p^4$ com 6 eletrões na camada de valência. Para que um átomo seja estável é necessário que existam 8 eletrões na camada de valência. Dessa forma é comum, em condições normais de temperatura e pressão que dois átomos de oxigénio se juntem formando-se uma ligação covalente dupla, onde há partilha de eletrões entre os átomos, originando uma molécula de O_2 estável, conforme o demonstrado na Figura 2.1.

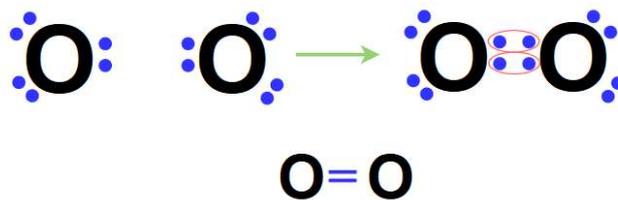


Figura 2.1 Junção de dois átomos de oxigénio através de uma ligação covalente dupla.

O oxigénio dissolve-se preenchendo os interstícios existentes entre moléculas de água, conforme a Figura 2.2. A COD traduz-se como sendo a quantidade de oxigénio molecular que se encontra num determinado solvente ou volume líquido, sendo que, a nomenclatura oxigénio molecular é relativa ao dióxigénio (O_2).

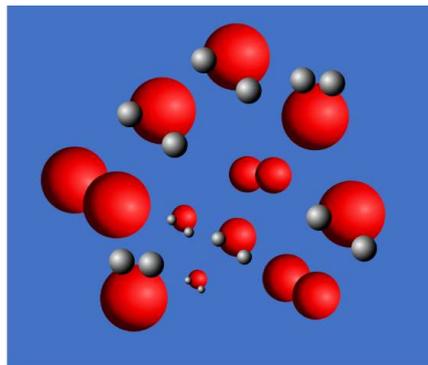


Figura 2.2 Perspetiva molecular da dissolução de oxigénio na água.

Dessa forma o valor de concentração de OD não engloba os átomos de oxigénio presentes nas moléculas de água (H_2O), nem os restantes átomos de oxigénio agregados a outras moléculas [18].

O oxigénio é um dos grandes suportes da vida no planeta terra, é essencial a todas as formas de vida aeróbicas. Circula nos ecossistemas sobre a forma gasosa, livre no ar e dissolvido em massas de água, pois é facilmente solúvel neste meio. Os seres aeróbicos consomem oxigénio e expõem dióxido de carbono que é posteriormente reutilizado por plantas e algas no processo da fotossíntese originando oxigénio.

Alguns mares e oceanos apresentam vagas temporárias de níveis de hipoxia, ou seja, períodos em que a concentração de oxigénio é inferior a 2 mg/L. Estes níveis geralmente são caracterizados por ausência de vida marinha e podem evoluir para uma forma mais severa de hipoxia -anoxia, com níveis de oxigénio inferiores a 0,5 mg/L. As causas deste fenómeno podem ser humanas (ex: aquecimento global) ou naturais (ex: proliferação de algas) [19].

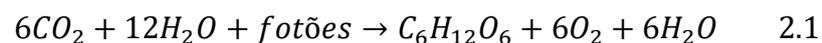
Alguns crustáceos, peixes, larvas marinhas necessitam de menores valores de OD (1 – 6 mg/L), no entanto, grande parte dos peixes que habitam zonas menos profundas necessitam de valores de OD mais elevados (4 – 15 mg/L) para manter um nível de vida normal. Dessa forma níveis mais baixos de OD pode levar a morte em massa de diversos organismos interferindo nas cadeiras alimentares afetando negativamente a biodiversidade. As baixas concentrações de OD interferem com o pH das águas o que se reflete no metabolismo das espécies marinhas. As atividades económicas sofrem com este tipo de alterações devido a escassez de matéria prima para o setor piscatório, mas também pela consequente proliferação de algas nocivas decorrente dos baixos níveis de OD.

Neste capítulo é explorado o ciclo de vida do oxigénio, são identificadas as fontes naturais de OD e analisadas as principais variantes na solubilidade do OD. Os processos de conversão entre percentagem de saturação % e mg/L podem ser consultados no subcapítulo 2.2.1.

2.1 Ciclo de Vida do Oxigénio

Uma das principais fontes de oxigénio no planeta terra é a fotossíntese aquática sendo que esta fornece cerca de $\frac{3}{4}$ do oxigénio total da atmosfera, o restante $\frac{1}{4}$ é disponibilizado por outras fontes, nomeadamente seres fotossintéticos terrestres [20]. No entanto, a fotossíntese aquática é um processo menos rentável que o semelhante em ambiente gasoso, visto que a água diminui a eficiência de penetração da luz [21]. Os processos de fotossíntese sucedem apenas perante a existência de luz – zona fótica, quanto maior a transparência do corpo de água e consoante o ângulo do sol em relação ao volume de água maior é a profundidade a que esta zona se encontra. Normalmente, esta zona, encontra-se a uma profundidade até 100 m, no entanto, em condições perfeitas, pode ir até aos 600 m. A maior concentração de vida marinha, nomeadamente, seres fotossintéticos, situa-se nesta zona [22].

Os seres autotróficos fotossintéticos marinhos, tais como algas plantas e alguns procariontes, são capazes de transformar radiação solar em energia química que lhes permite assimilar moléculas de água e dióxido de carbono originando carboidratos e oxigénio, a reação química 2.1 descreve este fenómeno.



Os seres heterotróficos executam este processo através da oxidação de matéria orgânica, pelo que por vezes é usual encontrar-se monitorizações dos valores de demanda biológica de oxigénio (DBO) num corpo de água de forma a analisar a biodegradação de matéria orgânica. O conceito de DBO é estudado de forma mais concreta nos parágrafos seguintes.

O balanço entre o período noturno, durante o qual os seres autotróficos realizam processos respiratórios, e o período diurno, onde realizam fotossíntese, resulta uma curva onde os maiores picos de OD situam-se ao final do dia (maior período de exposição solar) e os menores ao nascer do sol (menor período de exposição solar) conforme podemos observar pela Figura 2.3 adaptada da referência [23].

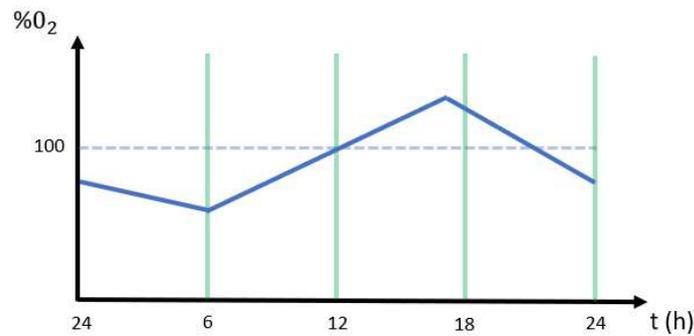


Figura 2.3 Variação do oxigênio dissolvido em função do dia devido as taxas fotossintéticas (adaptada da referência [23]).

O valor percentual de oxigênio na atmosfera pode ser considerado constante pelo que, em condições normais, as trocas contínuas entre a atmosfera e um volume de água resultam num valor de saturação de 100%. No entanto, é usual que esta taxa seja diferente representado as atividades respiratórias e processos químicos que sucedem no meio aquático.

A DBO é uma representação da quantidade de OD necessário para que os organismos anaeróbicos, presentes num determinado volume de água, decomponham a matéria orgânica presente nesse volume de água. Este critério é usualmente analisado para determinar a poluição orgânica num corpo de água. Dessa forma maiores valores de DBO significam que existe uma menor quantidade de oxigênio disponível para a vida marinha. As principais fontes de DBO são detritos de flora, fauna em decomposição, detritos resultantes da vida animal e detritos resultantes da atividade antrópica. A Tabela 2-1 adaptada da referência [24] justifica alguns dos valores associados à DBO.

Tabela 2-1 Valores de DBO associados a diversas origens de volumes de água (adaptado da referência [24]).

Origem da Água	DBO
Volume de água natural não poluída	< 5 mg/L
Água tratada com origem em esgotos (ETAR)	8 – 150 mg/L
Água resultante de esgotos não tratados	150 – 300 mg/L

No ar que respiramos a percentagem de oxigénio molecular ronda os 21%, ou seja, cerca de 5 vezes inferior ao resultado da respiração obtida por processos fotossintéticos (cujo único gás expelido é oxigénio puro). Dessa forma valores de OD superiores a 100% podem ocorrer pela presença, mais ou menos ativa, das diferentes espécies fotossintéticas ativas no momento [25]. Por outro lado, o processo de equilíbrio entre o ar e a água é lento o que permite com que surjam situações onde a mudança de temperatura ocorra rapidamente não permitindo ao fluido a homogeneização, como este ainda apresenta a taxa de OD para uma temperatura mais baixa do que a real do líquido a taxa será superior a 100%. Os processos de difusão são tanto maiores quanto maior for a diferença entre a concentração de OD e a taxa de saturação.

2.2 Solubilidade do Oxigénio

A COD depende essencialmente da temperatura, da pressão atmosférica e da concentração de sais [26],[27]. À medida que a temperatura aumenta a agitação dos átomos torna-se maior o que implica que o oxigénio tem mais dificuldade em penetrar e dissolver-se num volume de água devido ao movimento vibratório das moléculas que promove uma redução do espaço disponível para a dissolução de gases. Por conseguinte, à medida que a temperatura da água aumenta a solubilidade do oxigénio diminui resultando em maiores níveis de OD para água mais frias.

Este raciocínio aplica-se também a concentração de sais, ou seja, quanto maior for a concentração de sais num determinado volume líquido menor será o espaço para incluir novos átomos, e menor será a solubilidade do oxigénio. A pressão atmosférica (intimamente relacionada com a altitude) implica também grandes alterações na solubilidade no oxigénio, à medida que a altitude aumenta o oxigénio gasoso torna-se mais denso e a concentração de OD é menor [28][29].

A Tabela 2-2, adaptada das referências [23], [26], relaciona os valores de pressão atmosférica e temperatura com os valores de OD (estado de equilíbrio) para os valores típicos de salinidade de água doce e água salgada.

No entanto, existem vários outros fatores que influenciam a COD nomeadamente a presença de seres vivos, a influência antrópica no local de amostragem ou ainda as características hidráulicas do local.

Tabela 2-2 Variação da COD (% O_2) em água doce (0 ppm) e água salgada (35 000 ppm), temperatura e pressão (adaptada das referências [23], [26]).

	Temperatura (°C)	Pressão (bar)				Temperatura (°C)	Pressão (bar)		
		1	2	4			1	2	4
Salinidade=0 ppm	0	14,6	29,2	58,4	Salinidade = 35 000 ppm	0	11,2	22,4	44,8
	5	12,8	25,5	51,1		5	9,9	19,7	39
	10	11,3	22,6	45,1		10	8,8	17,6	35,2
	15	10,1	20,2	40,3		15	7,9	15,9	31,7
	20	9,1	18,2	36,4		20	7,2	14,4	28,8
	25	8,3	16,5	33,1		25	6,6	13,2	26,4
	30	7,6	15,2	30,3		30	6,1	12,2	24,4
	35	7,0	14,0	27,9		35	5,6	11,3	22,6
	40	6,5	12,9	25,9		40	5,3	10,5	21,1
	45	6,0	12,0	24,0		45	4,9	9,9	19,7
	50	5,6	11,3	22,7		50	4,6	9,4	18,7

As reduções das concentrações de oxigénio devem-se essencialmente à presença de fauna e flora aquática aeróbica, mas também à decomposição de matéria orgânica e à presença de gases tais como metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2). Uma vez que a principal fonte de OD é a fotossíntese por parte de seres aquáticos, a diminuição da mesma vai representar uma percentagem considerável na diminuição de O_2 . Existem inúmeros fatores que justificam a diminuição dos processos fotossintéticos, no entanto, é de destacar o efeito da turbidez, sendo que a luz é o principal elemento nas reações fotossintéticas. Grandes culturas de fitoplâncton, zooplâncton e outros seres fotossintéticos podem levar à diminuição de oxigénio num determinado volume de água. Todos os seres fotossintéticos produzem oxigénio na presença de luz, no entanto, quando esta não está disponível (dias nublados, períodos noturnos) estes seres consomem oxigénio nas reações de respiração.

A análise de oxigênio não se limita à avaliação das baixas concentrações de O_2 , elevadas COD podem ser tão prejudiciais como as primeiras, visto que elevadas COD, graças às propriedades oxidantes do oxigênio, podem levar por exemplo à oxidação precoce de canalizações metálicas. No entanto, existe pouca literatura sobre os efeitos nocivos de elevadas COD. Em suma, é necessário então efetuar medições regulares de forma a ser possível corrigir determinados valores de OD e garantir a segurança para as comunidades que dependem da amostra em questão.

A COD depende das condições químicas, físicas e biológicas do volume de água a analisar. Dessa forma um corpo de água cujo percurso envolva agitação, ondulação e turbulência irá apresentar uma COD superior comparativamente a águas estagnadas, isto pois as características hidráulicas a que o fluido está exposto permitem-lhe incorporar mais oxigênio atmosférico por processos de difusão.

O processo responsável pela maior parcela de aeração é a transferência ar-água, esta é proporcional à área de superfície exposta à atmosfera. A razão (R) expressa pela equação 2.2 é um indicador simples de OD usualmente utilizado para analisar a oxigenação em corpos de água sem agitação significativa.

$$R = \frac{\text{Área}_{\text{SUPERFÍCIE}}}{\text{Volume}_{\text{CORPO DE ÁGUA}}} \quad 2.2$$

2.2.1 Cálculo da Concentração de Oxigênio Dissolvido

Para calcular a COD existem várias alternativas, no entanto, selecionou-se as equações da referência [30] baseadas nas fórmulas de Weiss. Dessa forma segue-se a seguinte metodologia, em primeiro lugar calcula-se a concentração de oxigênio em mg/L a partir da pressão parcial e das leituras de temperatura, segundo a equação 2.3.

$$C = pO_2 \cdot [(6,906334E.10^{-2}) - (1,797779E.10^{-3} \cdot T) + (3,108257E.10^{-5} \cdot T^2) - (2,199777E.10^{-7} \cdot T^3)] \quad 2.3$$

Onde C representa a concentração de oxigênio em mg/L sem correção de salinidade, pO_2 representa a pressão parcial do oxigênio em mbar, T a temperatura da água em °C.

Desta equação resulta um valor de concentração de oxigênio para amostras sem salinidade, ou seja, com valores de condutividade inferiores a 1000 µS. Para valores superiores é necessário aplicar um fator de correção que permita corrigir a leitura. Dessa forma aplica-se a equação 2.4.

$$C' = C \cdot FC_{SALINIDADE} \quad 2.4$$

Onde C' representa a concentração de oxigênio em mg/L com correção para salinidade e $FC_{SALINIDADE}$ representa o fator de correção da salinidade. O fator $FC_{SALINIDADE}$ pode ser obtido pelas Tabelas do anexo II, obtidas da referência [30].

Para efetuar os cálculos de percentagem de saturação de oxigénio, é necessário conhecer a solubilidade do oxigénio na água, dessa forma para o calcular aplica-se a equação 2.5.

$$FC_{SOLUBILIDADE} = e^{\left[A+B \frac{100}{T+273,15} + C \cdot \ln\left(\frac{T+273,15}{100}\right) + D \cdot \frac{T+273,15}{100} + S \cdot \left(E+F \cdot \left(\frac{T+273,15}{100}\right) + G \cdot \left(\frac{T+273,15}{100}\right)^2 \right) \right]} \cdot H \cdot P_{atm} \quad 2.5$$

Onde $FC_{SOLUBILIDADE}$ significa a solubilidade do oxigénio em mg/L corrigida para a salinidade, temperatura e pressão, S a salinidade em PSS e P_{atm} a pressão atmosférica em mbar. As restantes variáveis são constantes. e podem ser consultadas na Tabela 2-3.

Tabela 2-3 Valores das variáveis da equação 2.5 (adaptada da referência [31]).

A	-173,4292
B	249,6339
C	143,3483
D	-21,8492
E	-0,033096
F	0,014259
G	-0,001700
H	0,00140934

Para efetuar a leitura em PO_2 aplica-se a seguinte equação 2.6.

$$PO_2 = \left(\frac{C'}{FC_{SOLUBILIDADE}} \right) \cdot 100 \quad 2.6$$

Onde PO_2 representa a percentagem de saturação do oxigénio (% O_2).

2.3 Vida Marinha em Hipoxia

Em dias cuja temperatura é mais baixa, a camada superior dos corpos de água estáticos, como por exemplo lagos e pequenas lagoas, fica subtilmente mais fria que as camadas inferiores. Com a diminuição da temperatura esta parcela de água permite uma maior solubilidade de oxigénio atmosférico fazendo com que o volume de água em causa fique mais denso. Como resultado das diferenças de densidade entre massas de água surgem correntes de convecção entre as duas camadas, fazendo com que a água mais fria se desloque para o fundo e a menos densa suba à superfície. Estas correntes de convecção permitem com que o fundo destas massas de água se torne mais oxigenado [24].

De todas as alterações promovidas pelas mudanças climáticas ou ação antrópica, a redução de OD no meio aquático é a que tem maior influência sobre o metabolismo das diversas espécies marinhas [32]. A manutenção de valores mínimos de OD é essencial pois tem efeitos diretos no metabolismo de todas as espécies aeróbicas marinhas, quer seja no seu desenvolvimento, crescimento, locomoção, desenvolvimento larval ou sobrevivência [33].

De uma perspetiva geral a diversidade da fauna decai drasticamente abaixo de 4 – 5 mg/L, no entanto, cada espécie tem reações diferentes a diferentes níveis de oxigénio que diferem dentro da própria espécie com a idade em que se encontram. A Tabela 2-4 sumaria algumas espécies e o resultado de diferentes concentrações de OD em indivíduos adultos.

O estudo de águas hiper-salinizadas é ainda um campo pouco investigado pela literatura. Os elevados valores de salinidade > 40 ‰ traduzem-se em valores de OD muito inferiores, pelo que as Tabelas de correção para estes valores são difíceis de encontrar [34].

O OD nos oceanos e grandes volumes de água tem vindo a diminuir drasticamente desde a década sessenta originando o que atualmente se denomina de OMZ (*oxygen minimum zones*) também conhecidas com *shadow zones*. Estas são áreas onde os valores de OD atingem picos mínimos a profundidades compreendidas entre os 200 – 600 m [35]. Apesar das OMZ serem caracterizadas como ambientes extremos de hipoxia, o valor de OD não pode ser definido de forma global pois cada ecossistema apresenta níveis de stress amplamente distintos.

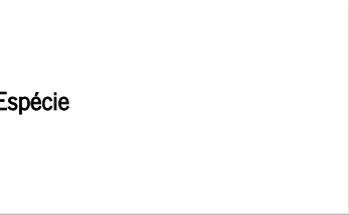
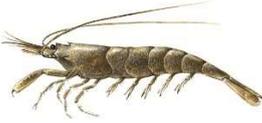
Dessa forma uma das técnicas utilizadas para definir a COD numa zona de OMZ consiste no valor de OD a partir do qual a atividade anaeróbica é dominante. A maior OMZ situa-se no Pacífico oriental, neste oceano (assim como no Índico) declara-se OMZ toda a zona submersa com valores de OD inferiores a 0,64 mg/l.

No entanto, este parâmetro não é comparável com o oceano Atlântico onde as concentrações de OD são substancialmente superiores, dessa forma foi definido como nível crítico de OD valores de oxigênio inferiores a 1,44 mg/l. Apesar de mais de 50% da vida marinha apresentar falhas vitais para COD inferiores a 2,24 mg/l, contudo, a vida marinha prevalece nestes locais [36].

É essencial compreender a dinâmica destas zonas pois apresentam uma elevada influência sobre o ciclo do nitrogênio (N_2) e sobre o ciclo de vida de diversas espécies marinhas. As metodologias de mediação de OD que se encontram comercialmente disponíveis não apresentam sensibilidades compatíveis com a gama de OD nestes locais. Um dos únicos métodos capazes de efetuar este tipo de medições é o método de Winkler que permite efetuar leituras até 0,016 mg/l, no entanto, nestas gamas perde precisão [37] em parte devido à contaminação no processo de armazenamento e leitura.

Na última década os sensores óticos e eletroquímicos têm sido amplamente estudados com o intuito de serem adaptados a gamas de medição mais baixas adaptadas a leituras *in-situ* em OMZ [38][39].

Tabela 2-4 Discriminação de diferentes valores de OD para diversas espécies e os seus efeitos no metabolismo

Espécie		Temperatura (°C)	Concentração de OD (mg/L)	Resultado	Referência
<i>Carassius auratus</i> (peixinho-dourado)		20	3,5	Redução crítica da taxa metabólica.	[40]
<i>Gambusia affinis</i> (peixe-mosquito)		20	≤3,7	Movimentos respiratórios anormais.	[40]
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (truta arco-iris)		15	1,5 - 1,6	Mortalidade de metade da população.	[41]
<i>Stizostedion vitreum</i> (picão-verde)		17	1 - 2	Movimentação anormal em águas abertas.	[40]
<i>Lepomis macrochirus</i> (nariz-nobre)		22	6,7	hiperventilação	[40]
<i>Crangon crangon</i> (camarão vulgar)		21	0,6	Mortalidade de metade da população.	[41]

2.4 Legislação em Portugal

A legislação relativa a parametrização da qualidade dos diferentes volumes de água em Portugal, é vaga e pouco atual. Sendo que o decreto mais informativo data de 1998, onde se estabelece os valores para diferentes categorias de água de consumo [42].

Este documento estabelece os limites associados aos métodos de leitura, apesar de considerar apenas dois métodos de medição, nomeadamente método de Wrinkler e método eletroquímico. As unidades de leituras legisladas para efetuar medições de controlo de qualidade são % de saturação de oxigénio, no entanto, esta é uma medida que pode ser um pouco controversa por não implicar fatores externos de correção. As características legais mínimas do sensor utilizado, sendo a norma legal 236/98, limitam o valor mínimo de deteção em $pO_2 = 5\%$, precisão de 10% e exatidão de 10%.

A Tabela 2-5 do decreto 236/98 sumaria os valores nominais máximos recomendados para diferentes tipos de água de consumo humano.

Tabela 2-5 Caracterização dos valores máximos recomendados de %OD.

	Categoria	Descrição	% OD
Águas para consumo humano	A1	Águas doces superficiais destinadas à produção de água para consumo humano	70
	A2	Águas subterrâneas destinadas à produção de água para consumo humano	50
	A3	Águas de abastecimento para consumo humano	30

Este decreto define ainda a frequência mínima de amostragem de OD em 4 vezes por ano para águas superficiais. Para amostragem e análise de águas doces superficiais para fins agrícolas, ou seja, águas piscícolas a frequência de amostragem deve ser feita mensalmente, caso existam suspeitas de variações diurnas significativas devem ser feitas duas colheitas por dia [42].

2.5 Fundamentos Teóricos de Medição

A COD, dependendo da aplicação, pode ser medida nas unidades de massa por volume, ou seja, miligramas por litro (mg/L), milimol por litro (mmol/L), micromoles por litro ($\mu\text{mol/L}$), partes por milhão (ppm), partes por bilhão (ppb), em percentagem de saturação ($\text{PO}_2\%$) ou ainda em pressão parcial de concentração de oxigénio ($p\text{O}_2$) expressa em milímetro de mercúrio (mmHg) ou em atmosferas (atm).

As unidades de massa por volume são as unidades mais relevantes visto que contemplam as correções efetuadas à salinidade, pressão atmosférica e temperatura, ao contrário das restantes unidades que apresentam unicamente valores relativos.

Uma massa de ar estável sem estratificação apresenta geralmente uma percentagem de saturação que ronda os 100%, isto significa que o fluido contém o máximo de moléculas de oxigénio que lhe é possível (Lei de Henry).

A Figura 2.4 representa dois recipientes de água onde o oxigénio, representado pelas esferas vermelhas, exerce uma pressão sobre o líquido o que faz com que parte do oxigénio se dissolva na água, esta força denomina-se de pressão parcial. Quanto maior for a concentração de oxigénio gasoso maior é a pressão parcial exercida sobre a água. Este é um processo dinâmico e constante pelo que existem trocas entre o líquido e a atmosfera continuamente, este fenómeno é denominado de equilíbrio dinâmico.

A COD é diretamente proporcional à pressão parcial do oxigénio no gás – Lei de Henry [43].

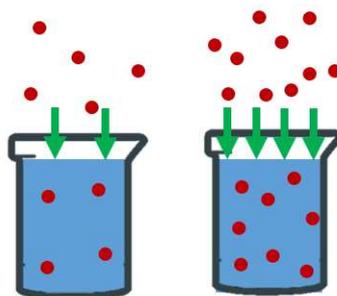


Figura 2.4 Representação da pressão parcial (setas verdes) exercida pelo oxigénio (esferas vermelhas) sobre dois líquidos.

Também denominada de lei das pressões parciais, a lei de Dalton afirma que, em condições ideais e para gases ideais, a pressão total de uma mistura de gases é igual a soma das pressões parciais dos diferentes gases que a constituem. Por outras palavras, no caso específico do ar que é constituído por aproximadamente 20,9% de oxigénio e por 78,1% de nitrogénio, para a pressão atmosférica, ou seja, 101,3 kPa, o oxigénio exerce uma pressão parcial de 21,17 kPa e o nitrogénio 79,11 kPa. É possível assim concluir que quanto maior for a concentração de um gás numa mistura de gases maior será a sua pressão parcial. Estes valores podem ser calculados pela seguinte equação 2.7.

$$P_A = X_A P_{AR} \quad 2.7$$

Onde P_A refere-se a pressão parcial de um gás A, X_A é fração molar do gás X e P_{AR} é a pressão total absoluta do ar. A fração molar pode ser traduzida pela equação 2.8.

$$X_A = \frac{n_A}{n_{TOTAL}} \quad 2.8$$

Onde n_A é o número de moles do gás A e n_{TOTAL} é o número de moles da mistura gasosa.

A Lei de Dalton esclarece questões associadas a pressão parcial do oxigénio tanto em estado gasoso como líquido [44]. Apresenta especial relevância nas leituras obtidas pelos sensores de OD, na medida em que, são necessárias correções às leituras de pressão em unidades relativas (percentagem de saturação) para que possam ser feitas leituras exatas [45].

A concentração de OD em unidades absolutas, por exemplo mg/L, depende da solubilidade do oxigénio na amostra. Dessa forma, a Lei de Henry, equação 2.9, enuncia que, num estado de equilíbrio, a pressão parcial de um gás sobre um líquido é diretamente proporcional a concentração desse gás no líquido [46].

$$C_{O_2} = k \cdot p(O_2) \quad 2.9$$

Onde C_{O_2} representa a concentração do oxigénio na água em mol/L, k é a constante de Henry em mol L⁻¹/atm e $p(O_2)$ é a pressão parcial de OD em atm. A constante de Henry depende do soluto do solvente e da temperatura do solvente, conforme se pode observar pela Tabela do anexo III.

2.6 Resumo

Neste capítulo é salientada a importância do oxigênio nos fenômenos físico-químicos do nosso planeta. São estudadas as duas principais fontes de OD: a fotossíntese em meio aquático e a dissolução de oxigênio devido a processos de difusão (Lei de Dalton). São estudados os parâmetros que influenciam a solubilidade do oxigênio, nomeadamente temperatura, pressão atmosférica e a salinidade. É dada especial importância ao setor da vida marinha, através da análise das carências genéricas de oxigênio de várias espécies. Por fim é evidenciada a importância do estudo em ambientes de hipoxia e a carência de metodologias robustas para efetuar análises *in-situ*.

3. INTRODUÇÃO AOS SENSORES DE OXIGÉNIO

A evolução e exploração de novos sensores e transdutores na última década tem apresentado um crescimento exponencial. Em parte este desenvolvimento deve-se ao facto de existir uma crescente procura por novas soluções em áreas como a medicina, indústria, lazer, mas também pelas preocupações ambientais que têm afetado a sociedade.

A microeletrónica, o desenvolvimento e a aplicação de microprocessadores impulsionou a exploração de novas vertentes de construção tornando possíveis desenho inovadores e mais pequenos. Começaram assim a surgir novos sensores que anteriormente seriam impossíveis de serem industrializados.

O avanço tecnológico tem influenciado de forma contínua os sensores de OD, permitindo desenvolver sensores mais robustos, com menor manutenção e com maior capacidade de obtenção de dados em alto mar durante longos períodos.

Neste capítulo são exploradas em profundidade as duas principais metodologias de medição de OD utilizadas na atualidade , nomeadamente os *eletrodes* (tecnologia eletroquímica) e os *optodes* (tecnologia ótica) de forma a perceber as vantagens e desvantagens de ambas.

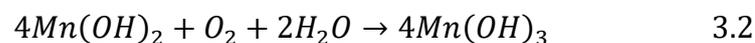
3.1 Tecnologias de Medição Via Química

Um dos primeiros métodos de medição de OD foi o método de Winkler. Este é um procedimento volumétrico (iodometria), ou seja, é um método quantitativo utilizado para determinar a concentração de um analito (substância de interesse) a partir da adição de um ou vários reagentes à amostra de interesse. Por sua vez a amostra ao reagir com o analito permite determinar a concentração de OD a partir do desaparecimento de iodo que marca o fim da titulação [47], [48].

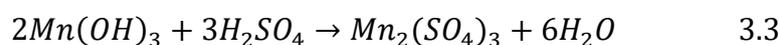
O método de Winkler inicia-se pela fixação do oxigênio na amostra, de forma a que esta não seja contaminada. Dessa forma é adicionado sulfato de manganês ($MnSO_4$) à amostra assim como uma solução alcalina de iodeto de potássio (KI), resultando num precipitado branco denominado de hidróxido de manganês ($Mn(OH)_2$) e sulfato de potássio (K_2SO_4) a reação química 3.1 representa o descrito.



Cada molécula de oxigênio da amostra oxida 4 moléculas de $Mn(OH)_2$ resultando numa molécula de hidróxido de manganês III ($Mn(OH)_3$) conforme a reação química 3.2.



É adicionado ácido sulfúrico (H_2SO_4) à amostra convertendo o $Mn(OH)_3$ em sulfato de manganês III ($Mn_2(SO_4)_3$) conforme a reação química 3.3.

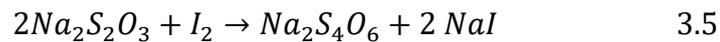


Posteriormente o iodo presente no KI é oxidado pelo sulfato de manganês III ($Mn_2(SO_4)_3$) libertando iodo livre (I_2) para a amostra de água.

A quantidade de iodo é proporcional à quantidade de oxigênio (O_2) presente na água, alterando a cor da amostra para castanho-amarelado. A reação química 3.4 sumaria os fenômenos anteriores.



Por fim a solução é titulada com a adição de tiosulfato de sódio ($Na_2S_2O_3$) que reage com o iodo resultando em iodeto de sódio (NaI) o que torna a solução transparente. A reação química 3.5 sumaria o descrito.



A solução passa de azul para transparente e a partir da quantidade utilizada de $Na_2S_2O_3$ utilizada para eliminar todo o iodo é possível calcular o valor de COD, conforme equação 3.6.

$$OD \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{V_{Na_2S_2O_3} \cdot N_{Na_2S_2O_3} \cdot 8 \cdot 1000}{V_a \cdot \frac{V_{Frasco} - 4}{V_{Frasco}}} \quad 3.6$$

Onde $V_{Na_2S_2O_3}$ é o volume de $Na_2S_2O_3$ utilizado na titulação (mL), V_a é o volume total da amostra (mL), $N_{Na_2S_2O_3}$ é a normalidade da solução de tiosulfato, V_{Frasco} é o volume do frasco (mL).

Outro método químico é a colorimetria, este é procedimento baseado na interação entre uma amostra e um reagente de onde resulta uma mudança de cor da solução resultante, esta mudança de pigmentação é proporcional a quantidade de oxigênio da amostra. Os reagentes utilizados na colometria são semelhantes aos utilizados no método de Winkler.

No entanto, estes métodos apresentam diversas limitações nomeadamente a necessidade de formação para manobrar as amostras de forma a que não seja introduzido ou retirado oxigênio.

É também importante que as amostras a analisar não contenham elementos capazes de reduzir ou oxidar o iodo, caso contrário os valores obtidos não vão ser fiáveis. Estas metodologias necessitam assim que sejam feitas deslocações ao local de amostragem e que sejam retiradas amostras com técnicas especializadas, não permitindo monitorização em modo contínuo/remoto. O tempo de resposta desta metodologia, conforme foi descrito em cima, é muito elevado. Por último a metodologia de Winkler apresenta valores pouco fiáveis para concentrações de OD inferiores a 10% [49].

Foram então sendo introduzidos no mercado sensores com capacidades adaptadas às indústrias, que permitissem que indivíduos sem formação específica fossem capazes de manusear e ler valores de OD sobre condições mais específicas e características das aplicações reais, passando dos testes de bancada para testes em campo com sensores que, utilizando pequenas baterias, fossem mais práticos de utilizar.

3.2 Tecnologias de Medição Via Eletroquímica

A metodologia eletroquímica, inicialmente introduzida pela célula de Leland Clark (1953) [14], divide-se em dois grandes grupos de sensores: os galvânicos e os polarográficos. Ambos consistem num cátodo e num ânodo fabricados em materiais distintos, geralmente de ouro, prata, zinco ou platina dependendo do eletrodo e do método adotado por cada fabricante.

Os eletrodos são imersos numa solução de cloreto de potássio (*KCl*) que facilita a formação de uma corrente entre ambos. Estes devem ser compatíveis com as reações de *redox* (troca de eletrões entre átomos entre um material redutor e um oxidante) que surgem entre eletrodos de forma a promover o caminho de espécies iónicas entre cátodo e ânodo. A estabilidade do líquido eletrolítico influencia a resposta do sensor, no entanto, este é um parâmetro de difícil controlo pois as reações de *redox* alteram as suas propriedades. O tamanho do reservatório, a distância do cátodo à membrana assim como a distância entre eletrodos influenciam a estabilidade do eletrolítico [50]. O oxigénio presente numa amostra passa por uma membrana hidrófuga permeável preferencialmente apenas ao O_2 . O material das membranas mais comum na literatura é o *Teflon*, contudo podem também ser fabricadas em borracha natural ou de silicone, PVC (policloreto de vinila) PTFE (politetrafluoretileno) ou *Mylar*. A sua espessura pode variar entre 1 – 10 μm dependendo da rapidez de resposta necessária para a aplicação do sensor (menor espessura maior velocidade de resposta). Posteriormente alcança os eletrodos e gera-se uma corrente, este fenómeno físico é facilitado pelas reações de *redox* estabelecidas no cátodo e no ânodo, Figura 3.1.

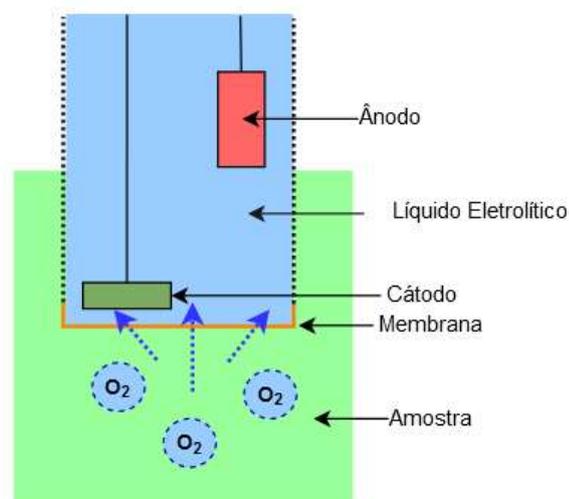


Figura 3.1 Esquema descritivo de um sensor eletroquímico.

Os POS (*Polarographic oxygen sensors*) criam uma tensão constante entre os elétrodos que funcionam como catalisador das reações de *redox*, o eletrólito, permite que os eletrões resultantes da oxidação no cátodo sejam encaminhados até ao ânodo. A corrente medida entre os elétrodos varia com a alteração da quantidade de OD presente, sendo tanto maior quanto maior for a concentração de oxigénio.

Na metodologia galvânica o cátodo e o ânodo são capazes de se auto-polarizar, sem ser por isso necessário uma tensão constante tal como no método polarográfico. À medida que o oxigénio é reduzido forma-se uma corrente que é posteriormente medida, o seu valor é diretamente proporcional a quantidade de OD presente na amostra.

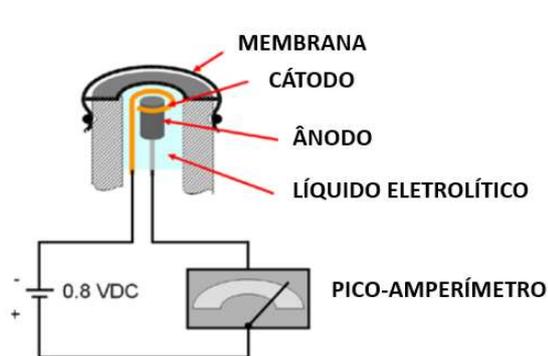


Figura 3.3 Esquema de um sensor polarográfico [54].

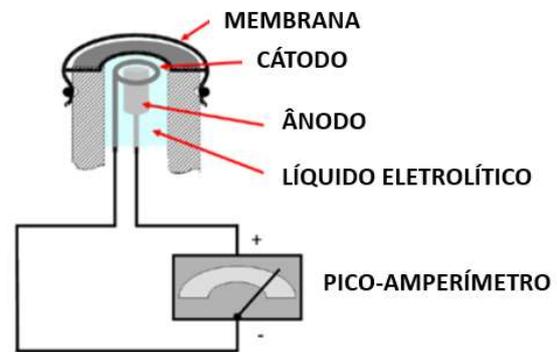


Figura 3.2 Esquema de um sensor galvânico [54].

A Figura 3.2 e a Figura 3.3, [51], demonstram as diferenças entre o funcionamento interior de um POS e um sensor de OD galvânico. Em ambos o caso a corrente medida é diretamente proporcional a pressão parcial do oxigénio $P(O_2)$ presente na amostra e a sua proporção pode ser a partir daí facilmente calculada. A equação que deduz a corrente que se estabelece entre os dois elétrodos pode ser dada pela equação 3.7.

$$I = \frac{n \cdot F \cdot Pm(t) \cdot A \cdot pO_2}{d} \quad 3.7$$

Onde I representa o *output* do sinal do sensor, n é o número de eletrões que participa na reação ($n=4$), F é a constante de Faraday ($F = 9.649 \times 10^4 C \text{ mol}^{-1}$), A é a área do cátodo, $Pm(t)$ a permeabilidade da membrana em função da temperatura, pO_2 é a pressão parcial do oxigénio e d a espessura da membrana.

A taxa de difusão do oxigénio no cátodo deve-se essencialmente a pressão parcial do OD, que depende intimamente dos materiais de que é feita a membrana, da sua espessura e permeabilidade. De uma forma genérica uma maior permeabilidade implica maior sensibilidade, porém permite a passagem de outros gases ou até mesmo de fluido causando instabilidade e afetando de forma significativa a seletividade da matriz. Quando este tipo de situações sucede, a seletividade é posta em causa. Gases como sulfureto de hidrogénio (H_2S), óxido nítrico (NO), óxido nítrico (N_2O), monóxido de carbono (CO), íão cloreto (Cl^-), dióxido de enxofre (SO_2), ozono (O_3), hidrogénio, (H_2) gases halogénios e outros solventes fortes ou ácidos podem causar medições inviáveis ou mesmo danificar de forma permanente algum dos componentes sensores.

Nem todo o oxigénio que passa na membrana chega ao cátodo, muitas vezes parte dissolve-se no corpo do sensor e mais tarde acaba por chegar ao cátodo causando leituras erradas. As propriedades da membrana devem-se manter constantes ao longo do tempo de forma a permitir que o processo de calibração seja efetivo a corrigir este tipo de erros.

As duas tecnologias, apesar de muito semelhantes, apresentam diferenças nas vantagens e desvantagens do seu funcionamento. A tecnologia galvânica é mais prática pois permite que o sensor seja utilizado sem efetuar polarização, este processo é, no entanto, requerido nos sensores polarográficos e demora cerca de 5 a 15 minutos dependendo do fabricante. Por outro lado, os sensores galvânicos encontram-se sempre em funcionamento levando a que exista uma oxidação permanente do ânodo o que implica manutenções mais frequentes devido a degradação permanente.

3.3 Tecnologias de Medição Via Ótica

A tecnologia ótica foi inicialmente descoberta por D.W.Lubbers, que conseguiu desenvolver uma técnica de medição de $p(O_2)$ e $p(CO_2)$ através da luminescência, recorrendo a um reagente ou indicador luminescente cujas características se alteram perante a existência de oxigénio [52].

Os sensores óticos são atualmente constituídos por uma membrana de isolamento ótico de poliestireno preto de carbono, uma membrana com um nível elevado de permeabilidade ao oxigénio, uma camada de vidro para isolar o sistema ótico, uma camada com uma matriz onde é incorporado um indicador luminescente (camada de fluoróforo), e um sistema ótico.

O sistema ótico consiste num LED de excitação e no correspondente fotodetector e num conjunto de filtros óticos de forma a selecionarem o comprimento de onda. Os métodos óticos analisam a fosforescência de um determinado indicador que reage na presença de oxigénio alterando as suas propriedades – *quenching* da luminescência [53], fenómeno este que resulta das trocas de energia entre o indicador fosforescente e as moléculas de oxigénio.

Podem, no entanto, dividir-se consoante as características da luminescência que analisam, caso seja feita uma análise da alteração da intensidade da luminescência ou se análise a duração do tempo de excitação [54]. Ambas estas propriedades são diretamente proporcionais a concentração de OD.

3.4 Comparação entre as Duas Principais Metodologias de Medição de Oxigênio Dissolvido

Os métodos eletroquímicos foram inicialmente desenvolvidos por Leland Clark em 1956 e posteriormente aprofundados contribuindo significativamente para os sensores eletroquímicos que conhecemos atualmente. Esta tipologia de sensor tem evoluído em diferentes caminhos e encontra-se no mercado com facilidade. Os sensores óticos baseiam-se num princípio relativamente recente e inovador pelo que, apesar de ultrapassarem algumas das maiores inconveniências dos sensores eletroquímicos, ainda não se conseguiram estabelecer em força no mercado. Este impasse associa-se muitas vezes às empresas certificadoras que ainda não adotaram esta metodologia ou ainda ao receio de diversos clientes [49].

Estas duas metodologias distinguem-se sobretudo pelas diferenças no tempo de resposta, dependência de fluxo, necessidade de proceder a um processo de polarização, frequência de calibração, interferências e contaminação das amostras, frequência de manutenção, consumo elétrico, direção de instalação, na influência da temperatura, na sensibilidade ao ruído eletromagnético e no valor de aquisição [55].

Os métodos óticos apresentam um tempo de aquisição muitíssimo inferior aos métodos eletroquímicos, podendo na ordem dos milissegundos, dependendo da membrana e da metodologia de medição utilizada. O tempo de resposta dos métodos eletroquímicos ronda os 30 a 50 segundos podendo ser diminuído para 10 a 20 segundos se utilizada uma fonte de agitação. A metodologia ótica demora em média 20 segundos.

Os sensores eletroquímicos, devido ao seu funcionamento, consomem oxigênio no seu processo de leitura, pelo que se não existir um fluxo constante de líquido, o oxigênio é totalmente consumido. Caso tal situação suceda, as leituras vão registar um valor mais baixo do que o real. Dessa forma conclui-se que os sensores eletroquímicos são dependentes do fluxo e que o fluxo de agitação da amostra deve ser o mesmo do fluxo de calibração. Os sensores óticos não consomem oxigênio nos processos de leitura pelo que não são dependentes de fluxo.

Todos os sensores eletroquímicos exigem polarização antes de serem efetuadas quaisquer determinações de OD, este processo, por ser longo (varia consoante as topologias) é uma das principais desvantagens deste tipo de sensores. Os sensores óticos não apresentam líquido eletrolítico pelo que não necessitam de processos de polarização e podem ser utilizados para medições imediatamente após a calibração.

Os sensores óticos podem durar um ano sem procedimentos de calibração, e mesmo ao longo desse ano os desvios por calibração são muito baixos ou mesmo nulos facilitando leituras muito fiáveis. No entanto, os sensores eletroquímicos necessitam de ajustes de calibração sempre que se iniciam novas medições.

Uma das principais diferenças entre as metodologias de medição de OD é a existência ou não de elétrodos. A presença de elétrodos nos métodos eletroquímicos leva a erros em leituras devido à presença de gases que interferem com as mesmas. Este dilema é ultrapassado pelos sensores óticos na medida em que estes não têm elétrodos. Dessa forma os sensores óticos permitem medições em ambientes quimicamente adversos tais como em ETAR.

Uma das maiores vantagens dos sensores óticos é a sua mínima manutenção sendo que esta se restringe praticamente à renovação do indicador luminescente (anualmente) e também à membrana. Os sensores eletroquímicos necessitam de manutenções mais regulares (a cada par de semanas) não só para renovar/limpar os elétrodos, mas também para renovar a solução eletrolítica assim como a membrana. Esta necessidade baseia-se essencialmente na formação de resíduos na solução de *KCl* devido à corrente que é formada.

Os sensores óticos consomem mais que os sensores eletroquímicos pelo que deve ser avaliada a frequência de amostragem e tida em conta a bateria do sensor, para maximizar a autonomia dos sensores alimentados a bateria.

Os sensores eletroquímicos exigem uma instalação num ângulo de 15° com a vertical enquanto os sensores óticos não apresentam este requerimento, esta particularidade relaciona-se com a formação de bolhas de ar. Quando uma bolha de ar surge na membrana, como o oxigénio é mais solúvel em ar do que em água, o indicador irá reagir a uma quantidade significativamente maior do que a que realmente envolve o fluido onde este está inserido.

Associada as questões de inovação, a tecnologia ótica por ser relativamente recente e apresentar características mais promissoras (custo de aquisição a longo prazo inferior aos sensores eletroquímicos) apresenta um valor comercial inicial mais elevado do que os sensores eletroquímicos que pode, no entanto, ser equivalente ou mesmo inferior quando avaliadas as manutenções futuras do instrumento.

A temperatura apesar de interferir com todos os métodos de mediação de OD, no caso específico dos sensores óticos interfere ainda com a intensidade da luminescência (diminuindo-a). Desta forma podemos concluir que a temperatura interfere de forma mais profunda com os sensores óticos associados é medição da intensidade da fosforescência.

Os resultados de exatidão entre os dois sensores são semelhantes, se providenciadas as condições adequadas, no entanto, os resultados são ligeiramente melhores nos sensores óticos.

Os sensores eletroquímicos, por utilizarem elétrodos, podem ser afetados pela presença de diferentes espécies gasosas influenciando as leituras obtidas. As substâncias que mais influenciam as leituras são: H_2S , SO_2 , Cl , CO , N_2O , NO , halogénios, hidrogénio, ozono e substâncias fortes tais como ácidos e soluções alcalinas. Os sensores óticos por não utilizarem elétrodos não apresentam este tipo de problemas. Os sensores óticos são também insensíveis a ruído eletromagnético. A Tabela 3-1 sumaria alguns sensores comercialmente disponíveis por diversos fabricantes, os resultados mostrados vão de encontro ao descrito neste subcapítulo, no entanto, os valores tabulados são conhecidos por serem inflacionados pelos fabricantes.

Tabela 3-1 Índice de sensores comerciais e as suas características técnicas.

SENSOR	METODOLOGIA	MEIO	RANGE	ACCURACY	RESOLUÇÃO DE MEDIÇÃO	LIMITAÇÃO DE EXATIDÃO	TEMPO DE SPOSTA	ESTABILIDADE DE ARMAZENAMENTO
OPTICAL OXYGEN SENSOR FDO2	ÓTICA	GASOSO	0 – 100% O ₂	± 0.02 % até 1% O ₂	±0.01% até 1% O ₂	0.01 %O ₂	< 2s	> 5 anos
				±0.5 % até 20% O ₂	± 0.1% até 20% O ₂			
				±2% até 100% O ₂	± 0.5% até 100% O ₂			
EXTECH 407510	POLAROGRAFICA	GASOSO LÍQUIDO	0 – 100% O ₂ 0 – 19.9 mg/L	±0.7 % O ₂	0.1 % O ₂	-----	0.8 s	-----
				±0.4 mg/L	0.1 mg/L			
EXTECH D0600	POLAROGRAFICA	GASOSO LÍQUIDO	0 – 200% O ₂ 0 – 20 mg/L	±2 % O ₂	0.1 % O ₂	-----	-----	-----
				±2 % O ₂	0.01 % O ₂			
EXTECH SDL150	POLAROGRAFICA	GASOSO LÍQUIDO	0 – 100% O ₂ 0 – 20 mg/L	±0.7 mg/L	0.1 mg/L	-----	< 1s	-----
				±0.4 mg/L	0.1 % O ₂			
PROBE OXYPROWR-ECS&WRM	ÓTICA	GASOSO	0 – 50% O ₂	-----	1 ± 0.02% O ₂	0.03% O ₂	< 10s	5 ANOS EM AMBIENTE ESCURO E SECO
				-----	20.9 ± 0.1% O ₂			
PROBE OXYPROMR-&MRM	ÓTICA	LÍQUIDO	0 – 22.5 mg/L	-----	0.4 mg/L ± 0.009mg/L	0.015 mg/L	< 40s	5 ANOS EM AMBIENTE ESCURO E SECO
				-----	4 mg/L ± 0.04 mg/L			
PROBE OXYPROTR&TRM	ÓTICA	GASOSO	0 – 10% O ₂	-----	0.007% ± 0.002% O ₂	0.007% O ₂	< 10s	5 ANOS EM AMBIENTE ESCURO E SECO
				-----	2.314% ± 0.007% O ₂			
SPOT SP-PST3-NAU	ÓTICA	LÍQUIDO	0 – 4.5 mg/L	-----	3 ppb ± 1 ppb	3 ppb	< 30s	5 ANOS EM AMBIENTE ESCURO E SECO
				-----	1000ppb ± 3ppb			
PMI-PST7	ÓTICA	GASOSO	0 – 5% O ₂	-----	0.002% ± 0.0006% O ₂	0.001% O ₂	< 10s	5 ANOS EM AMBIENTE ESCURO E SECO
				-----	0.2% ± 0.001% O ₂			
AZ8403 OXYGEN ANALYZER	ELETROQUÍMICA	LÍQUIDO	0 – 2mg/L	-----	1 ppb ± 0.3 ppb	0.5 ppb	< 30s	60 MESES EM AMBIENTE ESCURO
				-----	20 ppb ± 0.4 ppb			
AZ8403 OXYGEN ANALYZER	ELETROQUÍMICA	GASOSO	0 – 100% O ₂	±0.4% a 20.9% O ₂	±0.01 % a 0.21% O ₂	-----	< 6s	60 MESES EM AMBIENTE ESCURO
				±0.05% a 0.2% O ₂	±0.1% a 20.9% O ₂			
AZ8403 OXYGEN ANALYZER	ELETROQUÍMICA	LÍQUIDO	0 – 45 mg/L	-----	±0.004 mg/L a 0.091 mg/L	-----	< 40s	60 MESES EM AMBIENTE ESCURO
				-----	±0.04 mg/L a 9.1 mg			
AZ8403 OXYGEN ANALYZER	ELETROQUÍMICA	GASOSO	0 – 100% O ₂	±0.05% O ₂	±0.01% a 1% O ₂	0.03% O ₂	< 3s	60 MESES EM AMBIENTE ESCURO
				-----	±0.05% a 20.9% O ₂			
AZ8403 OXYGEN ANALYZER	ELETROQUÍMICA	LÍQUIDO	0 – 45 mg/L	-----	±0.005 mg/L a 0.4 mg/L	15 ppb	< 10s	60 MESES EM AMBIENTE ESCURO
				-----	±0.025 mg/L a 9.06 mg/L			
AZ8403 OXYGEN ANALYZER	ELETROQUÍMICA	GASOSO	0 – 199% O ₂	±1.5 % O ₂	0.1% O ₂	-----	-----	-----
				±1.5 ppb	0.01 ppb			

3.5 Resumo

Conforme o descrito no subcapítulo 3.4 - *Comparação entre as duas principais metodologias de medição de oxigénio dissolvido*, a tecnologia ótica apresenta diversas vantagens que a tornam mais apelativa para a aplicação em meio marítimo.

Esta tecnologia permite efetuar medições sem a alterar o meio, de forma rápida e inovadora ultrapassando as dificuldades das metodologias cimentadas no mercado. No entanto, existe ainda uma grande dificuldade na aceitação destes sensores pois devido ao seu recente desenvolvimento. a legislação portuguesa ainda não reconhece estes sensores nas suas normas de qualidade de água.

Os seguintes capítulos deste presente documento sumariam o desenho e fabrico de um protótipo de um sensor ótico baseado em luminescência. Os princípios de funcionamento ótico serão explicados em maior detalhe no capítulo 4 onde é aprofundada a temática da luminescência. Os componentes selecionados assim como a justificação para a sua escolha podem ser consultados no capítulo 5.

4. SENSORES ÓTICOS- FUNDAMENTOS

O princípio de funcionamento dos sensores óticos assenta sobre o fenómeno físico da luminescência. A luminescência é uma sequência de fenómenos físicos iniciada pela absorção e excitação das moléculas sensíveis e posterior transferência de energia e emissão. É um processo muito diversificado pois é categorizado consoante o tipo de energia absorvida pelo que existem diferentes tipos de luminescência [56].

Os sensores químicos óticos permitem a análise um analito (oxigénio) pela sua interação com o recetor (membrana luminescente), posteriormente analisam a variação de luz emitida através do sinal fornecido pelo fotodetetor. A Figura 4.1 representa um diagrama do esquema generalista de um sensor químico ótico.

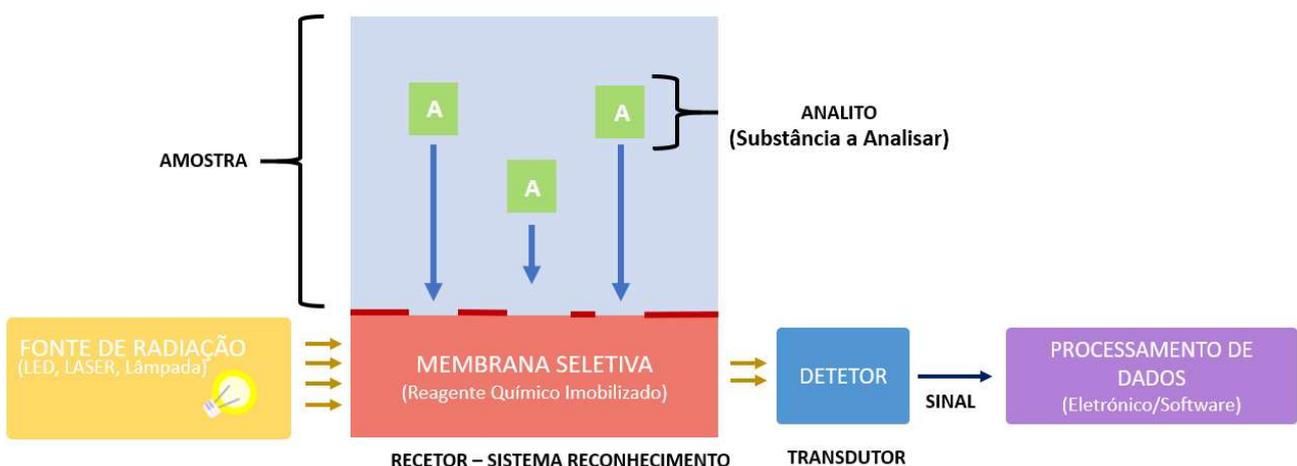


Figura 4.1 Esquema general de um sensor químico ótico.

A metodologia ótica permite duas abordagens distintas aos resultados recolhidos pelo fotodetetor nomeadamente o princípio de análise de intensidade de luminescência e o de análise de tempo de vida. Associada a estas metodologias por vezes é útil recorrer a um sinal de referência para eliminar variações indesejadas, dessa forma recorre-se a métodos ratiométricos. Ambas as técnicas apresentam características diferenciadoras que as tornam mais ou menos adequadas para determinados ambientes de amostragem.

Neste capítulo são aprofundadas as diferenças entre luminescência, fluorescência e fosforescência. São clarificadas as bases teóricas que sustentam os princípios de luminescência assim como os fundamentos matemáticos que as esclarecem.

É feita uma introdução às duas principais metodologias óticas, ou seja, sensores baseados na intensidade e sensores baseados no tempo de vida da luminescência. Ambas as tecnologias são comparadas e clarificadas. É feita uma análise dos diversos componentes que constituem um sensor ótico com especial atenção ao indicador e à matriz.

4.1 Luminescência

A luminescência é um fenômeno físico caracterizado pela emissão de fótons, ou seja, pela emissão de radiação luminosa. A luminescência pode ser diferenciada em diferentes ramos consoante a fonte de excitação, conforme pode ser observado pela Figura 4.2.



Figura 4.2 Diferentes topologias de luminescência classificadas consoante a fonte de excitação.

De entre os fenômenos de luminescência mais comuns, destacam-se a eletroluminescência, caracterizada pela emissão de fótons após a exposição a uma corrente elétrica, a quimioluminescência resultante de reações químicas, que pode posteriormente ser caracterizada como bioluminescência ou eletroquímico-luminescência ou ainda a mecanoluminescência resultante da ação da força mecânica sobre um material sólido.

A luminescência, conforme já mencionado no parágrafo superior, é diferente de incandescência, já que para que este segundo fenômeno suceda é necessário aquecer o material de forma a que exista radiação de forma espontânea. No caso da termoluminescência o material emite luz devido a um estímulo térmico, após ter absorvido radiação. Dessa forma para existir novamente emissão de radiação, o material após arrefecer, tem de ser novamente exposto a radiação para absorver fótons [57].

4.1.1 Fluorescência e Fosforescência

Tanto a fluorescência como a fosforescência são topologias de luminescência, o que significa que, quando uma substância é iluminada por uma determinada radiação, absorve os fótons incidentes e os átomos ficam excitados resultando numa emissão de fótons (radiação). A energia associada à radiação incidente é perdida no estado excitado por meio de conversões internas, resultando numa radiação de emissão cujo comprimento de onda é maior pois tem menos energia, este processo denomina-se de luminescência [58].

A fluorescência consiste na emissão de radiação durante um período igual à radiação absorvida num intervalo de tempo não superior a 10^{-8} s, caso esta cesse também o material deixa de emitir. Após a excitação, os átomos retornam ao estado fundamental [56].

Os materiais fosforescentes emitem radiação mesmo quando a fonte de radiação incidente terminar de emitir durante um tempo superior a 10^{-8} s. Após a excitação os átomos voltam a um estado fundamental de multiplicidade diferente por cruzamento intersistema promovendo o decaimento proibido durante este processo, o átomo perde energia por emissão espontânea. Dessa forma podemos dizer que só existe fosforescência graças aos estados metastáveis (transições proibidas) que facultam o maior tempo de decaimento. Tanto a fluorescência como a fosforescência emitem radiação com pouco calor.

O processo que origina a fluorescência inicia-se com uma fonte de excitação, neste caso concreto uma fonte luminosa, que emite fótons. Estes são absorvidos pelos elétrons que passam a ter energia suficiente para passarem do estado fundamental S_0 a um estado excitado ou a um dos seus estados vibracionais associados.

Quando o elétron excitado se encontra num dos estados vibracionais de um estado excitado vai para um estado excitado base através de uma conversão interna por relaxamento vibracional (RV), este fenômeno físico sucede-se segundo a Lei de Kasha [59].

Neste estado eletrônico superior, existe uma necessidade de libertar energia que existe em excesso, para tal a energia absorvida pode ser convertida em fótons.

Dessa forma os elétrons podem voltar ao estado fundamental através de duas formas, emitindo radiação (E_R) ou não (E_{NR}), quando o processo emite um fóton denomina-se de fluorescência. A Figura 4.3 descreve um diagrama de Jablonski [60] que traduz os processos envolvidos nos fenômenos físicos associados a fluorescência.

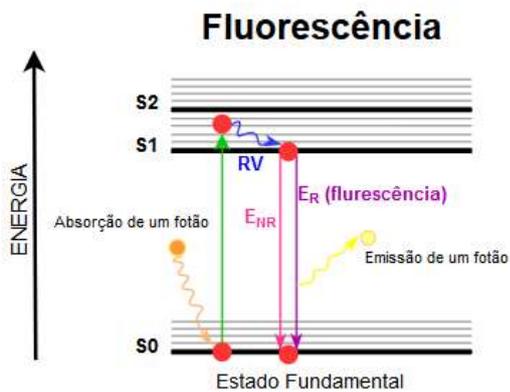


Figura 4.3 Fluorescência descrita segundo um diagrama de Jablonski [63].

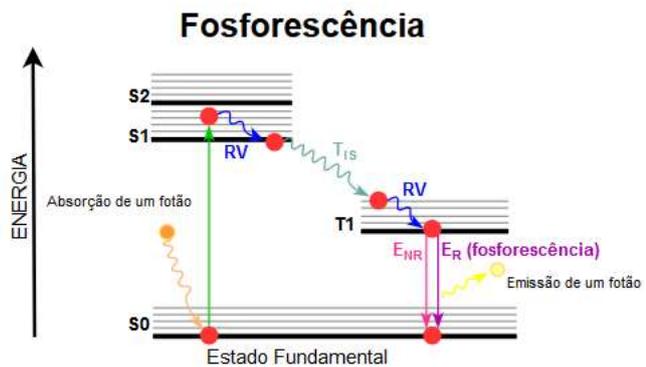


Figura 4.4 Fosforescência descrita segundo um diagrama de Jablonski [63].

No caso da fosforescência a natureza da radiação emitida é diferente da fluorescência. Quando um elétron é excitado para um nível energético superior e sofre uma transição intersistema (T_{IS}), também denominada de transição proibida, para um estado tripleto de nível energético inferior ao nível anterior. Posteriormente sofre conversões internas e finalmente pode relaxar para o estado fundamental com (E_R) ou sem emissão de radiação (E_{NR}) tal como sucede no caso da fluorescência. A Figura 4.4 traduz este fenômeno físico sobre a forma de um diagrama de Jablonski.

Um terceiro caso de fotoluminescência menos usual é a fluorescência atrasada, onde o elétron que efetuou a transição intersistema para um estado tripleto regressa novamente ao nível excitado através de um novo cruzamento intersistema voltando ao nível fundamental podendo ou não emitir radiação, conforme os fenômenos físicos anteriores. A Figura 4.5 traduz a fluorescência atrasada através de um diagrama de Jablonski.

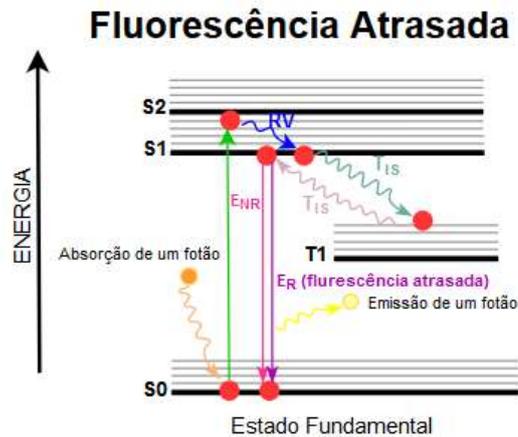


Figura 4.5 Fluorescência atrasada descrita segundo um diagrama de Jablonski [63].

Estes processos envolvem atividades vibracionais o que implica que o fóton emitido vai ter menos energia do que o absorvido. Isto traduz-se num comprimento de onda de emissão *shiftado* para um comprimento de onda maior.

4.2 Linearidade Calibração- Equações Stern-Volmer

A relação de *Stern-Volmer* permite avaliar e analisar os processos físicos envolvidos na desativação intermolecular, ou seja, permite estudar fenómenos onde a presença de uma determinada espécie química, o analito (oxigénio) leva à diminuição do tempo de vida da excitação de outra espécie química, nomeadamente o indicador. O estado excitado do indicador é suprimido/extinto por transferência de energia através das colisões com moléculas de oxigénio, resultando na diminuição simultânea da intensidade/tempo de vida da luminescência (esta é proporcional à concentração de oxigénio). A reação química 4.1 da referência [55] descreve esquematicamente o parágrafo anterior.



Onde L^* representa a molécula do indicador no estado excitado, O é a espécie química denominada de *quencher* (oxigénio), L representa o indicador no estado fundamental e O^* a molécula de oxigénio no estado excitado. O *quenching* é um fenómeno associado a diminuição/inibição de luminescência devido à presença de um inibidor (ou supressor), no caso concreto deste projeto de dissertação o inibidor é a molécula de oxigénio (*quencher*).

Este processo tem a particularidade de não ser destrutivo, no entanto, para ser utilizado como princípio base de um sensor é necessário analisar cuidadosamente o indicador a utilizar, pois é aconselhado que este seja mais sensível ao inibidor do que a qualquer outra molécula impedindo que outras espécies químicas intervenham nas leituras. O *quenching* dinâmico, representado pela equação 4.1, é um fenómeno que consiste na colisão de moléculas excitadas do indicador e do inibidor (oxigénio) resultando na diminuição da luminescência, sem, no entanto, alterar as propriedades químicas do indicador.

Para calcular a concentração de oxigénio numa matriz homogénea, ou seja, numa matriz ideal, onde o oxigénio acede a todas as moléculas do polímero de forma igual e o indicador encontra-se com uma concentração uniformizada, utiliza-se a equação de *Stern-Volmer* [61]. Esta é representada pela equação 4.2, auxiliada pela equação 4.3 e pela equação 4.4.

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{SV}[Q] \quad 4.2$$

$$K_{SV} = k_q \tau_0 \quad 4.3$$

$$k_q = \alpha D \quad 4.4$$

Onde I_0 corresponde a intensidade da luminescência na ausência do inibidor, I corresponde à intensidade na presença do inibidor (oxigénio), τ_0 corresponde ao tempo de vida do fluoróforo na ausência do inibidor, τ corresponde ao tempo de vida do fluoróforo na presença de inibidor, K_{SV} corresponde a constante de supressão *Stern-Volmer*, $[Q]$ corresponde à concentração de inibidor que pode ser medida em pO_2 , ou seja, pressão parcial de oxigénio ou em concentração molar mol L^{-1} , k_q constante biomolecular de supressão.

Por tempo de vida τ entende-se a média de tempo que o fluoróforo se encontra no estado excitado até que regresse ao estado fundamental.

A constante biomolecular de supressão permite não só avaliar a eficiência da supressão, mas também a acessibilidade do fluoróforo ao supressor. A variável α representa a constante de solubilidade e D a constante de difusão do oxigénio no polímero.

Como resultado desta equação obtém-se uma relação entre a intensidade ou tempo de vida do fluoróforo e a concentração de supressor que resulta num gráfico linear, conforme a Figura 4.6. Esta equação descreve a distribuição do indicador como homogénea e uniforme, ou seja, todas as moléculas do indicador são acessíveis de igual forma ao longo de toda a membrana.

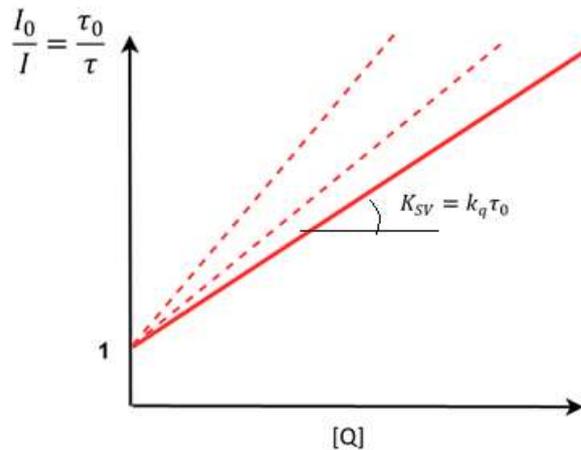


Figura 4.6 Relação de linearidade entre a intensidade de luminescência e a concentração de supressor.

Na ocorrência do fabrico da matriz ter resultado num polímero heterógeno, é necessário recorrer a equações matemáticas mais complexas [62] geralmente esta situação é resolvida por uma calibração de dois pontos que resulta numa adaptação da equação 4.2, conforme se pode observar pela equação 4.5 [63], [64].

$$\frac{I}{I_0} = \frac{f}{1 + K_{SV}^1 pO_2} + \frac{1 - f}{1 + K_{SV}^2 pO_2} \quad 4.5$$

Uma alternativa a esta opção é a distribuição logarítmica gaussiana [65].

4.3 Sensores de intensidade

O primeiro método utilizado para analisar os resultados de luminescência foi o método da intensidade, baseado no rácio entre as intensidades I e I_0 da equação 4.2. Esta metodologia apresenta algumas desvantagens em algumas aplicações. As leituras podem ser condicionadas pelas variações luminosas da fonte de excitação, sendo aconselhável compensar a variação da fonte de luz com o envelhecimento e com a temperatura. Também quando o indicador selecionado sofre fotolixiviamento, a intensidade da fosforescência do mesmo vai também ela ser variável proporcionando erros de leitura. As oscilações nas leituras podem também suceder devido a variações no posicionamento da membrana.

4.4 Sensores de Fluorometria de Fase

O método da análise do tempo de vida da fosforescência supera as desvantagens do sensor de intensidade, através da medida do desfasamento entre dois sinais óticos[66], através do rácio entre os tempos τ_0 e τ da equação 4.2.

O princípio de deteção de fase permite detetar o desfasamento (τ em segundos ou θ quando em graus) entre o sinal de referência, neste caso o sinal de alimentação do LED de excitação, e o sinal emitido pelo fotodiodo, conforme podemos observar na Figura 4.7.

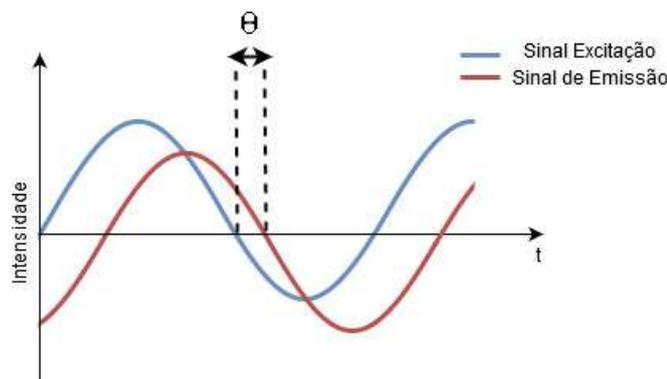


Figura 4.7 Desfasamento entre o sinal de excitação e o sinal de emissão.

Através deste desfasamento é possível determinar o tempo de vida da excitação conforme o indicado na equação 4.6.

$$\tau = \frac{\tan \theta}{2\pi f} \quad 4.6$$

Esta metodologia é especialmente interessante pois o tempo de vida da excitação de um indicador é uma característica intrínseca do mesmo, ou seja, é independente da matriz onde este é incorporado e não é afetada por flutuações da intensidade da luz LED.

A frequência de modulação ótima é aquela que permite obter uma otimização da sensibilidade do sensor (maiores desfasamentos), por norma é determinada pela diferença de fase obtida nos extremos da escala (0 -100% O_2), conforme a seguinte equação 4.7 [67], [68].

$$f_{opt} = \frac{1}{2\pi\sqrt{\tau_1\tau_2}} \quad 4.7$$

Onde f_{opt} representa a frequência ótima de modulação, τ_1 e τ_2 representam a maior e a menor tempo de vida da excitação. A principal contrapartida da análise do tempo de vida é que o SNR decrementa com o aumento da frequência de modulação, no entanto, com o aumento da frequência de modulação a sensibilidade da fase aumenta. Dessa forma é necessário um profundo estudo desta componente de forma a otimizar a frequência de modulação na perspetiva de influenciar ao mínimo as variáveis em cima mencionadas. Geralmente esta metodologia radiométrica é associada a um sistema *lock-in* para deteção de fase.

4.5 Sensores Raciométricos

A metodologia radiométrica consiste na comparação de dois valores, nomeadamente uma variável da leitura da amostra e uma variável de um valor de referência. Estas técnicas têm como propósito suprimir as dificuldades associadas a aquisição de valores influenciáveis pelas variações associadas à degradação do indicador e ao seu fotolixiviamento, às interferências por parte da luz ambiente ou ainda pela interferência associada à variação de temperatura. Existem algumas técnicas mais rudimentares para corrigir estes valores, nomeadamente o uso de barreiras de isolamento ótico, uso de filtros óticos ou ainda o uso de luz de excitação pulsada para minimizar os danos causado pelo LED na degradação do indicador. É possível encontrar na literatura atual modelos de sensores de OD capazes de funcionar até 12 meses sem problemas de *drift* baseados apenas num simples sistema LED/Fotodíodo [69], [70]. Estas técnicas podem ser consultadas nos capítulos que se seguem.

No caso dos sensores baseados na metodologia da intensidade é utilizado um indicador inerte ao oxigénio que é misturado na mesma matriz que o indicador sensível, este deve ser excitável no mesmo comprimento de onda que o anterior, mas que produza fluorescência num comprimento de onda diferente [64].

Quando a membrana é iluminada pelo LED de excitação, surgem dois sinais de fluorescência em comprimentos de onda distintos, um associado ao valor da leitura, e outro que simula o valor máximo da intensidade que o indicador teria para um ambiente nulo em oxigénio (corante referência) [71].

Na Figura 4.8 é possível observar o espectro de fluorescência de uma membrana de PdTCPP (paládio meso-tetra (4-carboxifenil) porfirina) e CdSe (seleneto de cádmio) QDs (Pontos quânticos) - indicador referência [72]. Com a degradação da membrana, a intensidade dos dois sinais é reduzida, mantendo-se a razão ente eles para uma dada concentração de oxigénio.

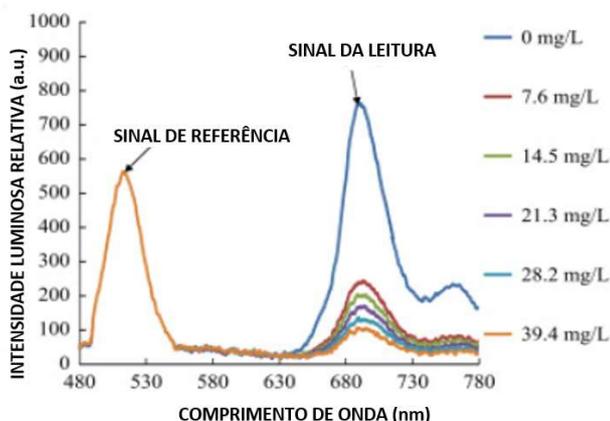


Figura 4.8 Membrana Radiométrica com indicador sensível PdTCPP e indicador não sensível CdSe QDs. Adaptado de [72].

A Tabela 4-1, adaptada da referência [72], indica os principais indicadores de referência associados aos indicadores de oxigênio mais comuns assim como a caracterização das membranas obtidas. Conforme é possível observar, para esta metodologia funcionar existe sempre uma diferença entre os comprimentos de onda de emissão de forma a ser possível analisar ambos os picos sem sobreposição. No entanto, esta é uma metodologia difícil do ponto de vista químico, já que existe uma grande dificuldade associada ao fabrico de uma membrana capaz de incorporar homogeneamente dois corantes. Esta técnica corrige fotodegradação (não a elimina), os espectros de emissão dos indicadores não deverão sofrer sobreposições.

Tabela 4-1 Caracterização de membranas radiométricas com diferentes indicadores de referência (adaptada da referência [72]).

INDICADOR SENSÍVEL	INDICADOR REFERÊNCIA	$\lambda_{emissão} (nm)$		SENSIBILIDADE (R_0/R)	REF
		SENSÍVEL	REFERÊNCIA		
PtOEP	CdSe QDs	SENSÍVEL	646	9,2	[72]
		REFERÊNCIA	515		
	Coumarin 6	SENSÍVEL	650	4,3	[73]
		REFERÊNCIA	510		
PtOEPK	OEP	SENSÍVEL	750	46	[74]
		REFERÊNCIA	620		
	CdSe/ZnS NQDs	SENSÍVEL	750	4,3	[16]
		REFERÊNCIA	590		
PtTFPP	CdSe QDs	SENSÍVEL	650	6,5	[72]
		REFERÊNCIA	515		
PdTFPP	CdSe QDs	SENSÍVEL	670	21,7	[72]
		REFERÊNCIA	515		
PdTCPP	CdSe QDs	SENSÍVEL	690	7,4	[72]
		REFERÊNCIA	515		
$[Ru - (dpp)_3]^{2+}$	Oregon green 488-dextran	SENSÍVEL	610	2,7	[75]
		REFERÊNCIA	525		
	AFC	SENSÍVEL	610	1,09	[76]
		REFERÊNCIA	490		

R_0 -Rácio da intensidade da luminescência para ambientes sem oxigênio.

R - Rácio da intensidade da luminescência para ambientes com oxigênio

Na metodologia de tempo de vida também é possível fazer uma medição ratiométrica. Nesta metodologia do tempo de vida, é medido o atraso provocado pela eletrônica. Ao tempo de vida medido é descontado o atraso da eletrônica, obtido com um LED cujo comprimento de onda seja idêntico ao da luminescência do indicador [77]–[79]. A Figura 4.9 representa o modelo geral de um sensor baseado nesta tecnologia.

Os LED deverão ser modulados na mesma frequência, sendo ligados alternadamente, de forma a que no intervalo seja possível calcular os desfasamentos de fase entre ondas. Inicialmente é feita uma análise para calcular o desfasamento de fase associado apenas à eletrônica, posteriormente este valor é subtraído a toda as leituras [80].

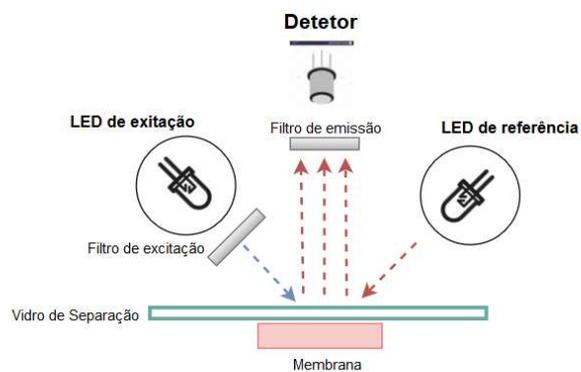


Figura 4.9 Esquema representativo de um sensor ratiométrico baseado na medição do tempo de vida.

4.6 Resumo

Neste capítulo é explicado o fenómeno físico no qual os sensores óticos se baseiam - luminescência. São estudados os fenómenos de fosforescência (emissão prolongada ao período de excitação) e fluorescência (emissão durante o período de excitação). Por vezes a distinção entre estes dois fenómenos não é clara, e ao nível da aplicação em concreto deste projeto de dissertação, pode ser ignorada, pelo que ao longo do presente documento será apenas mencionada como luminescência.

Apresentaram-se as equações matemáticas de *Stern-Volmer* utilizadas para interpretação dos valores de pressão parcial de oxigénio. É realçada a ligação destas expressões com a homogeneidade da membrana. Por vezes para concentrações pequenas de oxigénio, dado que existe menos supressão por parte do O_2 , a reta de calibração é linear nessa gama de medição, para concentrações menores e desvia-se da linearidade para concentrações maiores [79].

São clarificadas as técnicas de leitura de luminescência, nomeadamente a metodologia de intensidade e a metodologia de tempo de vida, assim como os métodos ratiométricos e as suas vantagens de utilização.

5. COMPONENTES DO SENSOR DE OXIGÊNIO

Um sensor ótico, também denominado de *optode*, é constituído primariamente por uma fonte de excitação, um fotodetector e um elemento químico sensível à presença do composto a estudar.

Apesar da relevância da escolha do fotodetector e da fonte de excitação, a membrana quimicamente sensível é a parte mais importante do sensor. A escolha do indicador, da matriz onde o indicador é imobilizado assim como dos processos experimentais que envolvem o fabrico da membrana determinam a viabilidade total do sensor assim como grande parte das suas características.

É comum associar a estes elementos, componentes acessórios capazes de auxiliar a leitura através da eliminação de ruído e interferências contribuindo para análises mais precisas. Um destes componentes são os filtros óticos, geralmente utilizados com o intuito de eliminar a presença de luz ambiente interferente com o fotodetector. No entanto, podem também ser utilizados com o propósito de filtrar a luz de excitação de forma a permitir a passagem do comprimento de onda específico da luminescência. Esta pode ser uma característica vital no funcionamento do sensor quando a diferença entre o comprimento de onda da luz de excitação e o comprimento de onda da emissão (*Stokes Shift*) do indicador é pequeno.

As lentes concavas podem ser associadas à fonte de excitação (LED) ou ao fotodetector de forma a centralizar a luz sobre um ponto evitando a dispersão luminosa. Os espelhos podem ser incorporados no setup com o mesmo propósito.

5.1 Membrana

5.1.1 Indicador

A escolha do indicador mais apropriado envolve a análise de diversas características físico-químicas que descrevem o seu comportamento.

Um dos principais parâmetros de análise são as propriedades espectrais do indicador, ou seja, os comprimentos de onda de absorção e emissão. Quanto maior for a distância entre o pico de absorção e o pico de emissão do corante mais fácil será a leitura visto que dificilmente as larguras de banda se intersejam permitindo a separação dos dois sinais óticos, permitindo a leitura da luminescência sem interferência da fonte de excitação. A diferença entre ambos denomina-se de *Stokes Shift*.

O tempo de vida da excitação relaciona-se intimamente com a sensibilidade do sensor, quanto maior for o tempo de vida da excitação maior será a sensibilidade da membrana e mais fácil será de efetuar medições baseadas no tempo de vida.

A estabilidade química assim como a compatibilidade com a matriz onde o indicador é incorporado são parâmetros relevantes na escolha do indicador, para que este se dissolva com facilidade resultando numa membrana homogénea.

De um ponto de vista mais prático e sustentável, o indicador selecionado não deve ser tóxico permitindo dessa forma a utilização do sensor em meios com vida marinha sem interferir negativamente com a mesma.

O corante selecionado deve ser foto estável de forma a que o seu armazenamento ou contacto com radiação não o deteriore facilmente evitando flutuações nas leituras. A degradação pode ser intensificada quando a densidade luminosa de excitação é muito elevada. Este problema pode ainda ser agravado pela presença de oxigénio, sendo aconselhado o armazenamento das membranas em ambientes sem oxigénio [64].

Caso o indicador apresente boa eficiência luminosa (luminescência com brilho intenso) é possível minimizar a foto degradação por radiação de excitação, visto que a intensidade de excitação pode ser diminuída sem comprometer os valores de luminescência.

Por fim convém que o corante selecionado seja economicamente viável, para facilidade de posterior reprodução, e esteja facilmente disponível a nível comercial.

Nem todos os indicadores apresentam a mesma facilidade de dissolução, pelo que é necessário avaliar as características da estrutura química de um reagente de forma a viabilizar o conjunto indicador/polímero.

Em situações em que a junção dos dois não é feita de forma correta, o indicador cristaliza no interior da matriz levando a inviabilidade das leituras [81]. Este tipo de inconvenientes deve-se a heterogeneidade da membrana, isto é, durante o processo de fabrico algumas moléculas ficam inacessíveis devido a sua localização na matriz ou por não terem sido impregnadas com o indicador.

O número de indicadores luminescentes sintetizados e explorados em sensores óticos de oxigénio aumentou amplamente à medida que investigadores começaram a reconhecer seu potencial para medir a concentração de oxigénio em diferentes campos da ciência. Uma revisão completa sobre indicadores luminescentes é encontrada na literatura. Estes podem ser classificados como policíclicos, hidrocarbonetos aromáticos, complexos polipiridil, porfirinas metálicas, complexos ciclometalados e complexos com átomos centrais raramente usados. A Tabela 5-1, adaptada da referência [63], sumaria alguns dos principais indicadores mencionados na literatura atual.

Neste trabalho, um corante indicador de metaloporfirina, Platina octaetilporfirina (PtOEP) é utilizado, devido à sua forte fosforescência à temperatura ambiente com rendimento quântico (ϕ) perto de 50% [63], uma boa separação entre os comprimentos de onda de excitação e luminescência, assim como um tempo de vida (75 μ s) [63], facilmente medido eletronicamente. A estrutura química da PtOEP pode ser observada na Figura 5.1 obtida pela referência [82].

Tabela 5-1 Resumo dos principais indicadores utilizados para sensores de oxigênio (adaptada da referência [63]).

	Indicador	$\lambda_{\text{ABSORÇÃO}}(\text{nm})$	$\lambda_{\text{EMIÇÃO}}(\text{nm})$	Solvente	Φ	$\tau(\mu\text{s})$	Ref
Metais de Transição-Complexos de Polipiridil	$[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$	450	630	EtOH-MeOH	0,089	1,15	[83]
	$[\text{Ru}(\text{dpb})_3]^{2+}$	473	635	EtOH-MeOH	0,306	1,95	[83]
	$[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$	444	596	MeOH	0,019	0,28	[84]
	$[\text{Ru}(\text{dpp})_3]^{2+}$	463	618	EtOH-MeOH	0,366	6,40	[85]
	$[\text{Os}(\text{Phen})_3]^{2+}$	432/478/660	691	CH_2Cl_2	-	0,006	[86]
	$[\text{Os}(\text{dpp})_3]^{2+}$	454/500/580/650	729	CH_2Cl_2	-	0,0046	[86]
Metaloporfirina	<i>PtOEP</i>	382/536	649	Tolueno	0,41	75	[87]
	<i>PdOEP</i>	546	670	OS	0,20	990	[11]
	<i>PtTFPP</i>	390/504/538	647/710	CH_2Cl_2	0,088	60	[88]
	<i>PdTFPP</i>	406/519/552	738	CH_2Cl_2	0,21	1650	[89]
	<i>PtTCPP</i>	402/514	675	H_2O	0,01	34	[90]
	<i>PdTCPP</i>	418/523/556	700	DMF	-	-	[91]
	<i>PtOEPK</i>	398/592	758	CHCl_3	0,12	60	[92]
<i>PdOEPK</i>	410/603	789	CHCl_3	0,01	455	[92]	
Complexos Ciclometalados de Irídio	<i>Ir(ppy)₃</i>	376	512	THF	0,90	1,5	[93]
	<i>Ir(ppy – NPh₂)₃</i>	405	527	2-MeTHF	0,70	4,3	[94]
	<i>Ir(btpy)₃</i>	292/366/408	596	CHCl_3	-	8,6	[95]

$\lambda_{\text{ABSORÇÃO}}$ – Comprimento de onda de absorção

$\lambda_{\text{EMIÇÃO}}$ – Comprimento de onda de emissão

Φ – Rendimento quântico

τ – Tempo de vida

As membranas baseadas em PtOEP têm sido amplamente utilizados como OLED (díodo orgânico emissor de luz) e foram imobilizados em várias matrizes poliméricas permeáveis ao oxigênio, tais como poliestireno [96], [97], sol-géis[98], [99] entre outros[99]–[102]. Uma desvantagem geral deste indicador é sua baixa fotoestabilidade.

A platina tetraquis (pentafluorofenil) porfirina (PtTFPP) pode substituir PtOEP para maior fotoestabilidade, no entanto exibe menor rendimento quântico (8%) [63] e menor tempo de vida (60 μ s)[63]. Maior tempo de vida pode ser alcançada com PdTFPP (1,65 ms [63]), mas, como PtTFPP, tem rendimento quântico menor (21%).

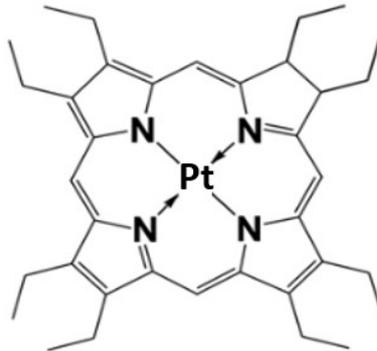


Figura 5.1 Estrutura química da PtOEP [82].

A fotodegradação da PtOEP durante os processos normais de medição é praticamente nula, pelo que pode ser ignorada [103].

5.1.2 Polímeros matriz

De forma a proteger o indicador das interações com o meio exterior e preservar a sua integridade e características óticas é usual, na literatura e em dispositivos comerciais, encontrar membranas cujos indicadores se encontram imobilizados em matrizes onde estes são dispersos. A escolha do indicador por norma vem associada também à escolha do solvente onde este é disperso, pelo que, consoante o indicador a utilizar, existem diversos polímeros para os imobilizar. O ambiente onde o indicador é disperso exerce também uma elevada influência na sensibilidade do sensor. Dessa forma é comum encontrar indicadores que imobilizados em diferentes matrizes resultam em sensores muito distintos entre si.

Alguns fatores a considerar na escolha de um polímero são a permeabilidade da matriz ao oxigénio (P), a dispersão (D) do indicador no polímero de forma homogénea, a solubilidade do oxigénio no polímero (S) [104].

Os polímeros orgânicos hidrofílicos levam a retenção de água (aumento do volume do polímero) e a alteração das propriedades óticas. Os polímeros orgânicos hidrofóbicos, por serem caracterizados por elevada temperatura de transição vítrea são normalmente quebradiços. Dessa forma é usual associar estes materiais a agentes plastificantes o que incrementa a sua permeabilidade, no entanto, condiciona a seletividade do polímero [105].

A Tabela 5-2 sumaria alguns dos polímeros à base de silicone mais utilizados no fabrico de membranas.

Tabela 5-2 Propriedades físico-químicas dos polímeros de silicone mais comuns na literatura.

Polímero	$P(x10^{13})$ $cm^3(STP) cm^{-2}s cm Hg$	$D(x10^6)$ $cm^2 s^{-1}$	$S(x10^6)$ $cm^3(STP)cm^{-3}cm Hg^{-1}$	Ref.
PDMS Poly(dimethylsiloxane)	695	40	24	[106]
PMSP Poly(1-trimethylsilyl-1-propyne)	7700	47	170	[107]
PS Polystyrene	2,63	-	-	[106]
PMMA Poly(methylmethacrylate)	9	10	8,5	[106]
PVC Poly(vinyl chloride)	0,34	1,2	2,9	[106]
PiBMA Poly(isobutylmethacrylate)	20	-	-	[106]
Poly(2,2,2-trifluoroethylmethacrylate)	32	15	0,27	[108]
EC Ethylcellulose	11	0,639	1,73	[106]
CAB Cellulose acetibutyrate	3,56	-	-	[106]
CA Celulose acetate	5,85	-	-	[106]

P-Permeabilidade do polímero **D**- Difusão **S**- Solubilidade

Consoante a aplicação pretendida para o sensor, pode ser conveniente que a matriz seja impermeável a líquidos de forma a que estes não interfiram com a eletrónica do sensor e com o objetivo de minimizar a diluição do indicador. Desta forma é também relevante selecionar um polímero que agregue bem o indicador, protegendo-o de se dissolver.

A permeabilidade da matriz ao oxigênio é dada pela equação 5.1, ou seja, a permeabilidade resulta do produto da solubilidade do gás pela difusão deste na membrana. A partir da equação 5.1 e da Tabela 5-2 podemos concluir que o PDMS, apresenta excelentes propriedades como polímero de dispersão [109][110].

$$P \approx DS$$

5.1

A permeabilidade do oxigênio (P) tem como unidade $\text{cm}^3(\text{STP}) \text{cm}^{-2} \text{s cm Hg}$, a difusão (D) tem como unidades de medida $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$, a solubilidade (S) é medida em $\text{cm}^3(\text{STP}) \text{cm}^{-3} \text{cm Hg}^{-1}$.

O PDMS é um polímero interessante na medida que para além de completar os requisitos químicos e físicos acima discutidos é facilmente sintetizado em laboratório, apresenta uma grande disponibilidade comercial a preços baixos, não é tóxico, é relativamente inerte e não inflamável, e é já amplamente utilizado em biodispositivos eletrônicos do tipo *lab-on-chip* [111]. Apesar do PMSF apresentar melhores resultados de permeabilidade, as suas propriedades tendem a variar ao longo do tempo [64]. A estrutura química do PDMS quando fabricado a partir de dois agentes pode ser observada na Figura 5.2 obtida da referência [111].

Antes do processo de cura, o PDMS é um polímero líquido que pode ser vertido para moldes com as mais variadas formas. Após o processo de cura (que pode ser otimizado por temperatura) o PDMS endurece ficando com uma textura de borracha.

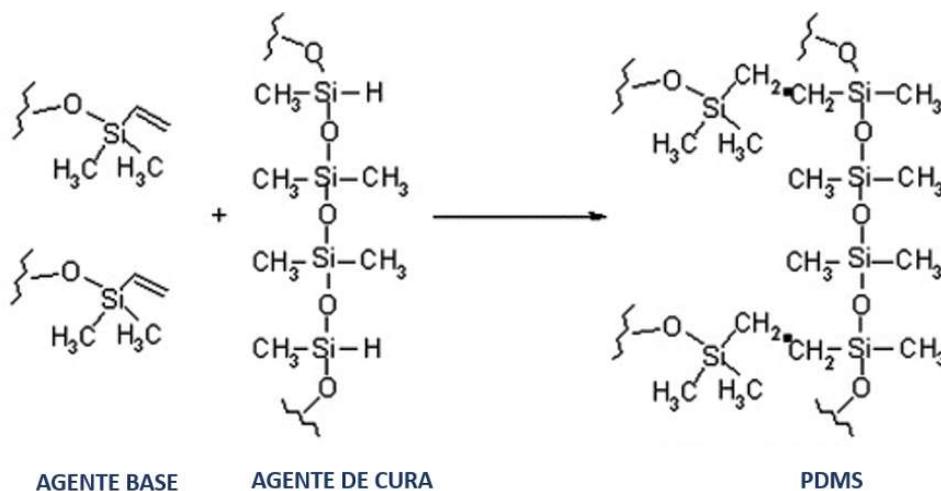


Figura 5.2 Representação da estrutura química do agente base e de cura e da junção de ambos na estrutura final-PDMS [111].

Caso a espessura do PMDS o permita, este pode ser facilmente destacado do molde. Quando é corretamente fabricado o PDMS é caracterizado como um polímero transparente, quimicamente estável, impermeável à água, flexível e resistente [36]. É um polímero facilmente disponível no mercado e a preços atrativos, não é tóxico, é relativamente inerte e não inflamável [38].

Para o mesmo polímero (PDMS) e diferentes indicadores é possível observar sensibilidades das membranas muito dispare, a Tabela 5-3 resume algumas sensibilidades observadas em metalo-porfirinas imobilizadas em PDMS.

Tabela 5-3 Propriedades das membranas resultantes da imobilização de diversas metalo-porfirinas em PDMS.

Indicador	Sensibilidade (I_0/I_{100})	Ref.
PtTFPP	1,4	[112]
[Pt₂(pop)₄](Bu₄N)₄	2,2	[113]
Pt(dtbpv)(CN)₂	5,0	[97]
PtOEP	5,5	[114]
PtCPTEE	13	[115]
PtTPP	16	[116]

I_0 – Intensidade da luminescência para ambientes sem oxigénio.

I_{100} – Intensidade da luminescência para ambientes com 100% de oxigénio.

5.1.3 Membrana de Isolamento

A luz ambiente apresenta uma elevada influência no ruído incorporado nas leituras do fotodetector. Esta interferência pode ser atenuada evitando que a luz exterior possa atingir a membrana do indicador, utilizando uma membrana de isolamento, conforme apresentado na Figura 5-3 [117]. A membrana de isolamento é fabricada geralmente em *Elastosil N189* ou em laboratório a partir de silicone onde são incorporadas micro esferas de carvão com o propósito de tornar a membrana negra, na literatura atual a espessura destas membranas encontra-se entre 10 – 30 μm [80], [118]–[121]. Também podem ser utilizadas membranas de *Teflon* (10 – 15 μm), no entanto, este material é menos permeável ao oxigénio do que o silicone [122].

A membrana de isolamento ótico é incorporada entre a membrana fotossensível e o ambiente externo, conforme a Figura 5.3, ou pode ser diretamente incorporada na membrana sensível, este último caso por norma é raro já que tem de existir compatibilidade entre todos os materiais que compõe a membrana. São diversos os documentos académicos que referenciam o uso desta técnica, no entanto, a conclusão é unanime entre todos, esta alternativa tem a desvantagem de reduzir a sensibilidade do sensor de forma drástica, seja em membranas de *Teflon* ou silicone, por reduzir a difusão do oxigénio.

A espessura da membrana é um compromisso entre a sua capacidade de bloquear a luz ambiente, mas permitir a passagem do oxigénio.

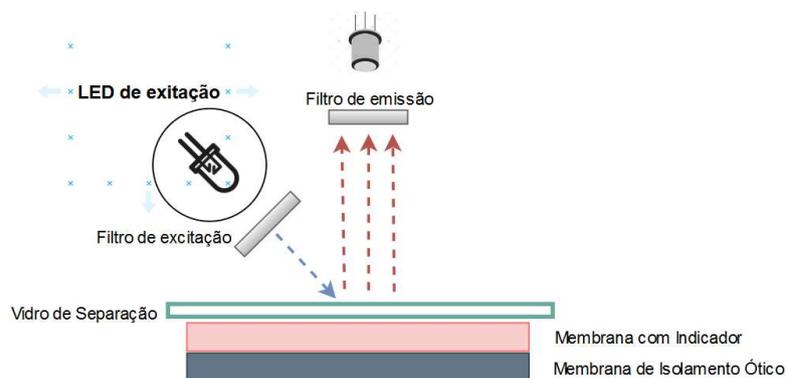


Figura 5.3 Esquemático do setup típico de um sensor de OD evidenciando a localização da membrana de isolamento ótico.

5.2 Sistema Ótico

Os componentes que constituem o sistema ótico podem ser amplamente diversos, é importante, no entanto, observar as necessidades do sistema em causa de forma a satisfazer os requisitos objetivados. Dessa forma o sistema ótico deverá ter baixo consumo e um bom rendimento, longo tempo de vida e um baixo custo. De uma forma geral um sistema ótico é constituído por uma fonte emissora de radiação, que pode ser um LED ou um *laser*, um fotodetector e um conjunto de filtros óticos. Caso a fonte de excitação apresente um pico bem definido, de modo a que a iluminação seja seletiva, não existe necessidade de filtros de emissão.

No entanto, caso não suceda, estes filtros impedem que o indicador seja exposto a comprimentos de onda adicionais que promovam a sua foto lixiviação e comprometam o correto funcionamento do sistema.

Os filtros de receção permitem que o fotodetector seja apenas sensível a um único comprimento de onda, evitando que a luz ambiente interfira nas medições ou ainda que o indicador possa emitir radiação de fundo noutros comprimentos de onda sem interesse.

5.2.1 Fonte de Excitação

Uma fonte de luz eficaz é aquela que consegue alcançar a amostra com um feixe de fótons significativo de forma a que a luminescência emitida seja relevante. Uma fonte de luz inadequada poderá resultar numa baixa eficiência luminosa da fluorescência. As fontes de radiação podem ser caracterizadas pelo seu princípio de funcionamento, coerência da luz, potência de *output*, banda de espectro, velocidade *On/Off*, tempo de vida útil, segurança ocular e pelo preço comercial. Uma análise destes parâmetros permite determinar qual a melhor tecnologia a adotar.

A Tabela 5-4 sumaria algumas das fontes de radiação mais utilizadas em sensores óticos. A miniaturização de equipamentos sensores é extremamente relevante para o desenvolvimento de análise *in-situ*, pelo que normalmente o uso de lâmpadas é descartado já que a sua miniaturização é difícil, e o acoplamento destas a fibras óticas é complexo [105].

O problema associado a miniaturização das lâmpadas afeta também os lasers, no entanto, o desenvolvimento de lasers de diodo permite solucionar este dilema e reduzir o elevado custo associado a tecnologia anterior. Outro parâmetro relevante no desenvolvimento de sensores *in-situ* é o consumo associado à eletrónica do sensor, dessa forma o consumo da fonte de luz é também um parâmetro importante no desenho do sensor.

Atualmente é comum a aplicação de LED como fonte de excitação, pois a sua vasta disponibilidade comercial em diversos comprimentos de onda e diferentes geometrias tornam esta alternativa mais apelativa que as demais. O seu funcionamento consiste na emissão espontânea de fótons, ou seja, a luz emitida é denominada de incoerente visto que os fótons se encontram em fases distintas uns dos outros.

Os LED apresentam um tempo útil de vida muito extenso e um preço muito baixo o que os torna uma boa escolha para um sistema *low cost* e com pouca manutenção. Os *lasers* distinguem-se dos LED pela emissão de fótons por emissão estimulada, ou seja, a luz emitida é coerente e os fótons encontram-se em fases idênticas, com uma largura de banda muito estreita.

Por vezes caso exista a necessidade de um espectro de emissão mais estreito pode ser vantajoso (caso o comprimento de onda não este disponível em laser ou por ser monetariamente mais acessível) utilizar um LED associado a um filtro de emissão para redução da largura do espectro de emissão.

Tabela 5-4 Caracterização das diferentes fontes de luz utilizadas para excitação (Tabela adaptada da referência [105]).

INCOERENTE	LÂMPADAS	<p>XERON</p> 	<p>Espectro de emissão vasto (UV-Visível-Infravermelho);</p> <p>Tempo de vida de aproximadamente 3000 horas;</p> <p>Intensidade forte;</p> <p>Boa estabilidade.</p>
		<p>ARCO MERCÚRIO</p> 	<p>Espectro de linhas (UVC, UVA, violeta, azul, verde e amarelo);</p> <p>Tempo de vida de 2000 horas.</p>
		<p>DEUTÉRIO</p> 	<p>Espectro de emissão no UV (200-400 nm);</p> <p>Tempo de vida de aproximadamente 1000 horas;</p> <p>Intensidade forte;</p> <p>Pouca estabilidade.</p>
		<p>TUNGSTÊNIO- HALOGÊNIO</p> 	<p>Espectro de emissão 320-2500 nm;</p> <p>Tempo de vida de aproximadamente 3000 horas;</p> <p>Baixo custo.</p>
	<p>LED</p> 	<p>Espectro de emissão estreito ($\approx 40 - 50 \text{ nm}$);</p> <p>Tempo de vida de aproximadamente 50000 horas (L50);</p> <p>Disponibilidade comercial de diversos comprimentos de onda (UV-Infravermelho);</p> <p>Baixo custo;</p> <p>Pequenas dimensões;</p> <p>Intensidade forte.</p>	
COERENTE	<p>LASER</p> 	<p>Espectro de emissão muito estreito ($\approx 5 - 10 \text{ nm}$);</p> <p>Tempo de vida de aproximadamente 6800 horas;</p> <p>Alta intensidade;</p> <p>Disponibilidade comercial de poucos comprimentos de onda.</p>	

5.2.2 Detetor

O fotodetetor é um dispositivo transdutor capaz de contabilizar o número de fótons incidentes (sinal ótico) e posteriormente converter essa contagem num sinal elétrico.

Para seleccionar a melhor tecnologia de fotodetetor, deve ser feita uma análise do seu espectro de absorção de forma a seleccionar um dispositivo com sensibilidade adaptada ao comprimento de onda de análise da fotoluminescência. Na escolha do fotodetetor deve também ser tida em conta a importância da rapidez de resposta as variações de intensidade, assim como a relação sinal ruído (SNR). A resposta elétrica deve ser proporcional ao sinal ótico recebido. Grande parte dos aparelhos foto-detetores apresenta uma pequena corrente no escuro denominada *dark current*, este valor deve ser seleccionado para ser o menor possível.

A Tabela 5-5 sumaria alguns dos fotodetetores mais comuns (adaptada da referência [123]).

Tabela 5-5 Caracterização de diferentes fotodetetores (adaptada da referência [123]).

FOTOEMISSORES	Tubos fotomultiplicadores		SNR favorável Resposta Rápida Elevada Sensibilidade UV Elevado Custo Grandes dimensões
	Fototubos		
FOTOCONDUTORES	Fotodíodos		Resposta Rápida Sensibilidade visível e UV Pequenas dimensões Resposta Linear Elevado Rendimento Quântico
	Photodiode array's		

5.3 Amplificador Lock-in

É comum o sinal de *output* de um sensor encontrar-se misturado com um sinal de ruído de grande amplitude, sendo difícil separar o sinal do sensor (que se deseja ler) do sinal obtido no *output* do sensor. Para tal, conhecendo-se a frequência do sinal que se deseja ler é comum proceder-se ao uso de um amplificador *lock-in*.

Para explicar o funcionamento de um amplificador *lock-in*, considere-se um sinal sinusoidal $S(t)$ genericamente traduzido pela equação 5.2.

$$S(t) = A \sin(\omega t + \theta) , \text{ onde } \omega = 2 \pi f \quad 5.2$$

Onde A representa a amplitude do sinal, ω a frequência angular (rad/s) e θ o desfasamento.

Conforme a Figura 5.4, os dois sinais $S_{SIG}(t)$ e $S_{REF}(t)$ são multiplicados, desta operação resulta um sinal em duas frequências diferentes, uma sendo a soma das frequências e a outra a diferença entre ambas. Posteriormente o sinal passa num filtro passa baixo removendo a soma das frequências. Como resultado, o *lock-in* tem como *output* a amplitude do sinal verdadeiro ou o desfasamento entre o sinal do sensor e o sinal de referência.

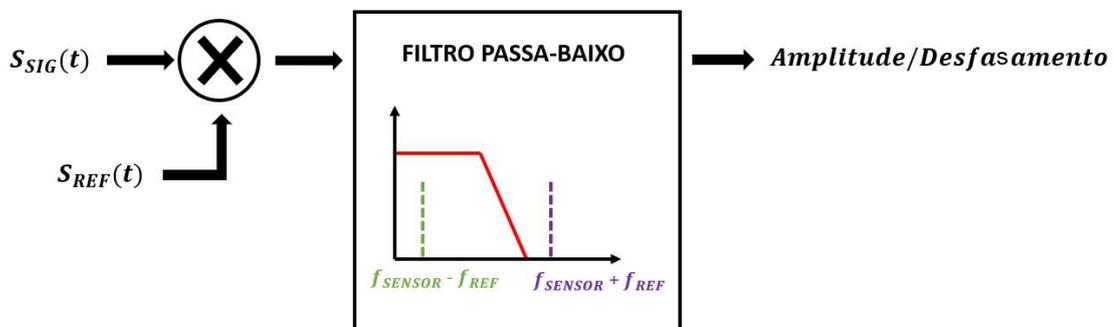


Figura 5.4 Esquema geral do funcionamento de um lock-in single phase demodulation.

No caso dos sinais não terem a mesma frequência, e considerando a inexistência de defasamento entre duas ondas sinusoidais, considere-se o sinal de *output* de um sensor (onde se encontra a leitura do sensor misturada com ruído) definido por $S_{SIG}(t)$ (equação 5.3) e o sinal de referência gerado por um oscilador $S_{REF}(t)$ (equação 5.4) (que pode ou não ser interno ao *lock-in*, dependendo do modelo utilizado).

$$S_{SIG}(t) = A_{SIG} \sin(2 \pi 250 t) \quad 5.3$$

$$S_{REF}(t) = A_{REF} \sin(2 \pi 150 t) \quad 5.4$$

A equação 5.5 descreve o comportamento deste amplificador, mostrando o resultado da multiplicação de dois sinais de frequência 150 Hz e 250 Hz, resultando uma componente de 50 Hz e outra de 450 Hz.

$$S_{SIG}(t) \cdot S_{REF}(t) = A_{SIG} \sin(2 \pi 250 t) \cdot A_{REF} \sin(2 \pi 150 t) \Leftrightarrow \quad 5.5$$

$$\sin\theta \cdot \sin\beta = \frac{1}{2} [\cos(\theta - \beta) - \cos(\theta + \beta)]$$

$$\Leftrightarrow S_{SIG}(t) \cdot S_{REF}(t) = \frac{A_{SIG} \cdot A_{REF}}{2} \cdot [\cos(2 \pi 250 t - 2 \pi 150 t) - \cos(2 \pi 250 t + 2 \pi 150 t)] \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow S_{SIG}(t) \cdot S_{REF}(t) = \frac{A_{SIG} \cdot A_{REF}}{2} \cdot [\cos(2 \pi 50 t) - \cos(2 \pi 450 t)]$$

$$\underbrace{\hspace{10em}}_{f_1 = 50 \text{ Hz}} \quad \underbrace{\hspace{10em}}_{f_2 = 450 \text{ Hz}}$$

Após o filtro passa-baixo a componente do sinal com a frequência mais elevada é eliminada. Dessa forma o *output* do *lock-in* pode ser descrito pela equação 5.6.

$$S_{OUT}(t) = \frac{A_{SIG} \cdot A_{REF}}{2} \cos(2 \pi 50 t) \quad 5.6$$

Considere-se agora os novos sinais $S_{SIG}(t)$ (equação 5.7) e $S_{REF}(t)$ (equação 5.8).

$$S_{SIG}(t) = A_{SIG} \sin(2 \pi 150 t) \quad 5.7$$

$$S_{REF}(t) = A_{REF} \sin(2 \pi 150 t) \quad 5.8$$

No caso das frequências do sinal de referência e do sinal do sensor serem iguais (150 Hz neste exemplo), segue-se a equação 5.9.

$$S_{SIG} \cdot S_{REF} = A_{SIG} \sin(2 \pi 150 t) \cdot A_{REF} \sin(2 \pi 150 t) \Leftrightarrow \#5.9$$

$$\Leftrightarrow S_{SIG} \cdot S_{REF} = \frac{A_{SIG} \cdot A_{REF}}{2} \cdot [\cos(2 \pi 150 t - 2 \pi 150 t) - \cos(2 \pi 150 t + 2 \pi 150 t)] \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow S_{SIG} \cdot S_{REF} = \frac{A_{SIG} \cdot A_{REF}}{2} \cdot [\cos(0) - \cos(2 \pi 300 t)] \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow S_{SIG} \cdot S_{REF} = \frac{A_{SIG} \cdot A_{REF}}{2} \cdot [1 - \underbrace{\cos(2 \pi 300 t)}_{f = 300\text{Hz}}] \Leftrightarrow$$

$$f = 300\text{Hz}$$

Neste caso, o sinal resultante do filtro passa-baixo é a componente DC, dessa forma o *output* pode ser descrito pela equação 5.10.

$$S_{OUT}(t) = \frac{A_{SIG} \cdot A_{REF}}{2} \quad 5.10$$

Um dos tipos de ruído mais comum de observar é o ruído de baixa frequência, este cresce de forma exponencial com a diminuição da frequência do sinal. Dessa forma, é comum modular sinais evitando maiores taxas de ruído. Este sinal é misturado então com um sinal de igual frequência (já que esta é conhecida) possibilitando a desmodulação para um sinal DC (a outra componente é eliminada com um filtro passa baixo). No caso se os sinais serem de igual frequência, conforme o caso anterior, o resultado do *output* é apenas a componente da amplitude do sinal.

No entanto por vezes os sinais estão desfasados e tentar corrigir o desfasamento leva a erros na diferença de fase causando ruído no cálculo do valor da amplitude do sinal. Para tal os *lock-in* mais modernos possuem um sistema denominado de *Dual Phase Demodulation*. Neste modelo, o sinal de é analisado quanto à amplitude e a diferença de fase, de onde resulta um *output* que poderá vir em coordenadas polares ou retangulares. A Figura 5.5 exemplifica o descrito.

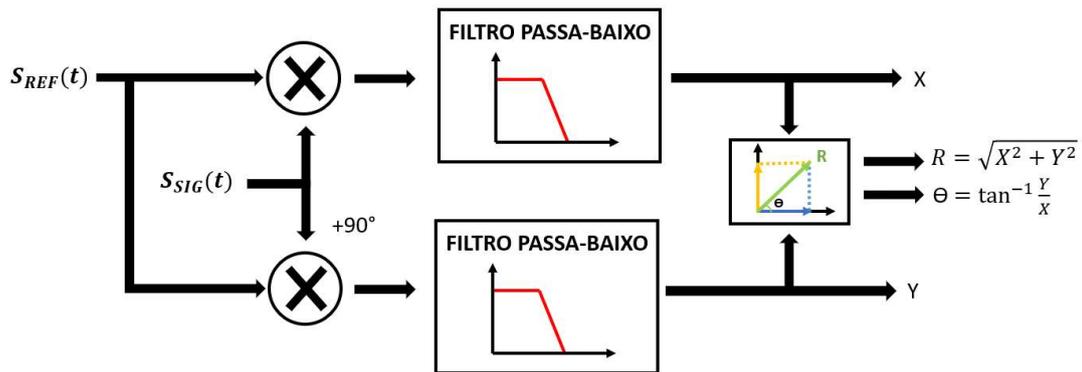


Figura 5.5 Esquema geral do funcionamento de um lock-in dual phase demodulation

Considere-se o novo conjunto de sinais, onde S_{SIG} (equação 5.11) se encontra desfasado em 50° do sinal de referência e S_{SIG}' (equação 5.12) representa S_{SIG} desfasado em 90° .

$$S_{SIG} = A_{SIG} \sin(2 \pi 150 t + 50^\circ) \quad 5.11$$

$$S_{SIG}' = A_{SIG} \sin(2 \pi 150 t + 140^\circ) \quad 5.12$$

$$S_{REF} = A_{REF} \sin(2 \pi 150 t) \quad 5.13$$

Surgem duas multiplicações distintas que originam a componente real e a componente imaginária (coordenadas retangulares) do vetor R que representa tanto a amplitude como o desfasamento do sinal contido no ruído. Este fenómeno pode ser confirmado pela equação 5.14 que se segue.

$$X = S_{REF} \cdot S_{SIG} \Leftrightarrow \quad 5.14$$

$$\begin{aligned} \Leftrightarrow X &= A_{REF} \sin(2 \pi 150 t) \cdot A_{SIG} \sin(2 \pi 150 t + 50^\circ) \Leftrightarrow \\ \Leftrightarrow X &= \frac{A_{REF} \cdot A_{SIG}}{2} [\cos(-50^\circ) - \cos(2 \pi 150 t + 50^\circ)] \Leftrightarrow \end{aligned}$$

Após o filtro passa-baixo o *output* deste ramo do amplificador pode ser descrito pela equação 5.15.

$$X = \frac{A_{REF} \cdot A_{SIG}}{2} \cos(-50^\circ) \quad 5.15$$

No segundo ramo sucede o descrito pela equação 5.16.

$$Y = S_{REF} \cdot S_{SIG}' \Leftrightarrow \quad 5.16$$

$$\begin{aligned} \Leftrightarrow Y &= A_{REF} \sin(2 \pi 150 t) \cdot A_{SIG} \sin(2 \pi 150 t + 140^\circ) \Leftrightarrow \\ \Leftrightarrow Y &= \frac{A_{REF} \cdot A_{SIG}}{2} [\cos(-140^\circ) - \cos(2 \pi 150 t + 140^\circ)] \end{aligned}$$

Após o filtro passa-baixo o *output* deste ramo do amplificador pode ser descrito pela **Erro! A origem da referência não foi encontrada..**

$$Y = \frac{A_{REF} \cdot A_{SIG}}{2} \cos(-140^\circ) \quad 5.17$$

Por vezes o *output* do *lock-in* pode vir conforme as equações da Figura 5.5, ou seja, em coordenadas polares.

5.4 Técnicas Anti-Biofouling

O biofouling traduz-se na tendência que existe, por grande parte das superfícies molhadas (cascos de barcos, equipamento médico, equipamento industrial, construção subaquática) em acumular microflora e fauna (microrganismos, plantas e algas). Esta incrustação biológica inicia-se com a formação de um biofilme podendo evoluir para casos mais extremos conforme a Figura 5.8.

O sensor irá permanecer num determinado volume de água o que implica a formação de *biofouling* [124][125]. Dessa forma, no sensor de oxigénio irá ser utilizada uma metodologia que deverá facilitar uma proteção eficiente, isto é, resista, idealmente durante várias semanas, aos efeitos do *biofouling*, que não interfira significativamente no meio envolvente e consequentemente que não seja tóxica. Isto sem que afete as características do sensor (sensibilidade, gama de medição), com pouco ou nenhum consumo elétrico (não limitar a autonomia), de fácil implementação e baixo custo. O sensor desenvolvido foi projetado para medições *in-situ* o que claramente realça a necessidade de proteger não só a película sensível, mas também o encapsulamento. Os sensores óticos podem ser influenciados pelo *biofouling* desenvolvido no encapsulamento, alterando as calibrações das suas leituras. O alojamento de comunidades orgânicas no encapsulamento altera também as propriedades biológicas e consequentes químicas rodeantes do sensor resultando em medições erradas (*drift*). No caso concreto de sensores óticos por luminescência, tanto por fluorescência como fosforescência, são influenciados pela autofluorescência de matéria orgânica.

Existem diversas tintas de aplicação *anti-fouling* via *spray*, contudo, apresentam um tempo de vida curto, podem não ser compatíveis com superfícies sensíveis/complexas e o seu uso está proibido em alguns países dada a elevada toxicidade.

O uso de escovas rotativas, Figura 5.6, nas superfícies de leitura apresenta também algumas limitações nomeadamente a necessidade de maior manutenção (partes móveis) e limitações de aplicação (geometria do sensor) [126].



Figura 5.6 Escovas rotativas anti-fouling (fabricadas pela YSI).

Podem ainda ser utilizadas metodologias de encapsulamento à base de cobre, conforme a Figura 5.7, nomeadamente guardas filamentosas ou sólidas ou ainda redes. Estes mecanismos protegem a área interior, onde geralmente se encontra o sensor.



Figura 5.7 Metodologias anti-fouling de encapsulamento à base de cobre (fabricadas pela YSI).

A tecnologia *anti-fouling* UV apresenta vantagens no combate as comunidades microbianas que se alojam nas superfícies dos sensores. É uma metodologia sem ruído, *low-cost*, sem contacto, não é tóxica para a fauna ou flora envolvente, é mecanicamente simples e aplicável às mais complexas geometrias 3D (*three dimensional*), com um consumo elétrico moderado.

A Figura 5.8, da referência [127], demonstra a diferença do uso de tecnologia UV na eliminação de *biofouling*.



Figura 5.8 À esquerda- Resultado do biofouling num sensor subaquático ao final de 6 meses na costa de Oregon. À direita- Um sensor semelhante, exposto às mesmas condições com tecnologia UV para combater o biofouling [127].

Esta é uma técnica utilizada já a nível comercial, pelo que, atualmente já é possível adquirir módulos de luz ultravioleta para esta função. No conjunto de imagens da Figura 5.9 é possível analisar algumas das soluções disponíveis no mercado pela empresa *AML Oceanographic*.



Figura 5.9 Soluções Anti-fouling através de luz UV disponibilizadas pela empresa *AML Oceanographic* [127].

É possível também a utilização de técnicas que permitam a formação de cloro, nomeadamente a metodologia descrita na referência [128]. A eletrólise da água do mar através da passagem de uma pequena corrente ($300 \mu\text{A}$) permite a formação de cloro suficiente para eliminar *biofouling*. Este processo pode ser aplicado em superfícies transparentes, em ambientes *in-situ* graças ao baixo consumo ($100 - 350 \mu\text{A}/\text{cm}^2$).

5.5 Resumo

No início deste capítulo 5 são discriminados os diferentes componentes constituintes de um sensor ótico de OD.

É dado especial destaque à membrana sensível e à sua constituição, nomeadamente ao indicador e ao polímero de matriz de suporte. São apresentados vários polímeros salientando o grupo dos silicones, onde se encontra a matriz selecionada- PDMS. É feita uma análise extensiva das suas propriedades de forma a justificar a sua escolha.

São introduzidos alguns dos possíveis indicadores sensíveis ao oxigénio. São analisadas as propriedades da PtOEP (indicador selecionado) nomeadamente o seu tempo de vida, o seu rendimento quântico, foto estabilidade e compatibilidade com o polímero selecionado. Finalmente são analisadas diferentes técnicas *anti-fouling*.

6. PROJETO, DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO

Neste capítulo serão desenvolvidas as temáticas associadas ao desenho do sensor de OD assim como os procedimentos adotados. Neste capítulo é analisado o projeto de eletrônica de suporte ao sensor, assim como o processamento de sinal associado às leituras. No subcapítulo 6.1 são descritos os processos experimentais desenvolvidos em matrizes de suporte fabricadas com diferentes materiais. É feita uma análise dos resultados obtidos nos diferentes processos de forma a eleger o mais viável.

No anexo XIV é possível encontrar algumas das regras de segurança aconselhadas a adotar no fabrico/manuseio/teste das membranas. No anexo XI é possível encontrar discriminado todo o equipamento de fabrico/teste assim como material utilizado.

6.1 Fabrico das Membranas Luminescentes

6.1.1 Materiais e Equipamentos Utilizados

No capítulo 5.1.1 é possível encontrar um breve estudo da PtOEP, indicador luminescente utilizado, e o porquê da sua escolha.

Para diluir o indicador é necessário utilizar um solvente compatível (orgânico) com a PtOEP, pois este é um composto organometálico e não se dilui em água. Os solventes utilizados foram o tetraidrofurano (THF) e o tolueno, ambos solventes incolores com fortes cheiros e tóxicos, pelo que o seu manuseio deve ser feito exclusivamente dentro da hotte. A Figura 6.1 representa a estrutura química dos dois solventes utilizados. A nível de segurança, o THF em particular apresenta riscos associados ao seu manuseio já que a sua utilização pode implicar danos cancerígenos. Por outro lado, durante o manuseio de tolueno devem ser evitadas inalações de longa duração pois exposições a este solvente levam a alucinações e problemas do sistema nervoso, já que os efeitos deste produto no corpo humano são comparáveis à cocaína [129].

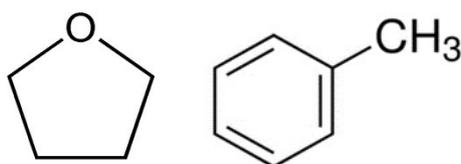


Figura 6.1 À esquerda – Estrutura química do THF. À direita- Estrutura química do tolueno.

Testaram-se três processos diferentes, o PDMS sendo o polímero de maior interesse encontra-se explicado em maior detalhe no capítulo 5.1.2.

O quitosano (ou quitosana) é um polímero natural, biodegradável, derivado da quitina, abundante no meio ambiente, com origem natural em particular em exoesqueletos de diversos insetos e crustáceos [130]. É caracterizado pela sua biocompatibilidade e baixa toxicidade [131]. Este polímero é diversas vezes usado em biossensores (biomedicina) pelo que é um excelente polímero para incorporar em meio marinho sem alterar as propriedades dos ecossistemas que o rodeiam. Dessa forma, devido as suas propriedades ecológicas e características sustentáveis, foi o primeiro polímero de estudo. [132]. A Figura 6.2, da referência [132], representa a estrutura química do composto descrito.

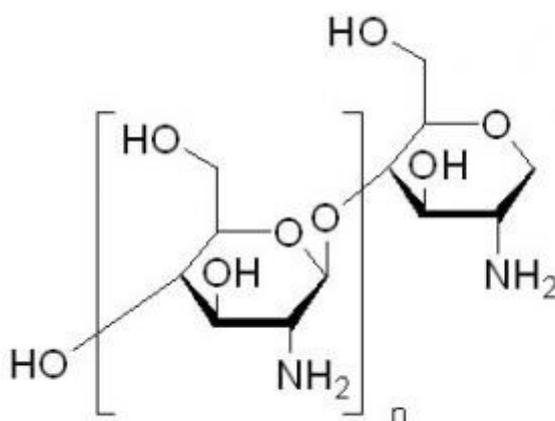


Figura 6.2 Representação da estrutura química do quitosano [132].

O processo Sol-gel é um procedimento mediante o qual existe transição do sistema sol (coloide) para o sistema gel. É um método amplamente estudado na literatura na aplicação associada a sensores químicos, pois permite um fácil fabrico para obter uma matriz versátil e flexível, sendo ainda possível manipular não só a sua textura mas também as características químicas da matriz [105].

Para além do material laboratorial tipicamente utilizado em procedimentos experimentais semelhantes (gobelés, placas de Petri, varetas, entre outros) foi também necessário utilizar alguns equipamentos. Entre eles, um agitador magnético para possibilitar agitação das soluções, uma *hotte* de forma a ter extração contínua de vapores e gases, um *spin coating*, duas *hot plates* e uma estufa para proceder à cura das membranas. Estes equipamentos encontram-se descritos no anexo XI.

6.1.2 Processo de Fabrico- Membranas Quitosano

Para o primeiro procedimento experimental de fabrico de membranas de quitosano pesou-se na balança de precisão 200,78 mg de quitosano adicionou-se 10 mL ácido acético (1%) ao gobelé e juntou-se um magneto de agitação. Cobriu-se o gobelé com *parafilm* e colocou-se no agitador magnético a 250 rot/min durante 24 horas, para dissolução completa do quitosano.

Adicionou-se o indicador PtOEP ao polímero e três gotas de THF. Deixou-se a agitar durante 48 horas (Figura 6.3). Procedeu-se à decantação da solução para uma placa de *Petri* (com diâmetro de 5,7 cm). Tapou-se o recipiente com papel de alumínio perfurado e deixou-se curar na hotte à temperatura ambiente durante 4 horas. Procedeu-se a colocação da placa de *Petri* na incubadora à temperatura ambiente (25 °C) durante 48 horas.

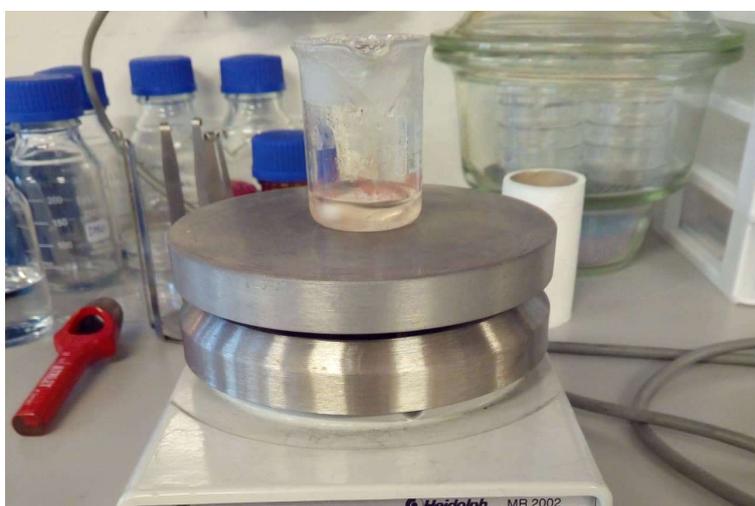


Figura 6.3 Agitador magnético com a mistura de indicador e quitosano isolado com *parafilm*.

A membrana resultante deste primeiro procedimento revelou-se fina, quebradiça e irregular, pelo que se optou por rever o procedimento experimental.

No segundo procedimento para a fabricação das membranas de quitosano mediu-se 200,15 mg de quitosano. Adicionou-se o ácido ao gobelé e um agitador magnético. Cobriu-se o gobelé com *parafilm* e colocou-se no agitador mecânico a 250 rot/min durante 24 horas. Semelhante ao que já descreveu mediu-se 2,2 mg de PtOEPe adicionou-se 5 mL de THF numa proveta. Juntou-se o magneto e levou-se ao agitador magnético sem cobrir durante aproximadamente 15 minutos cobrindo apenas as laterais com papel de alumínio.

Procedeu-se a decantação da mistura para o gobelé com o quitosano, cobriu-se com *parafilm* e as laterais assim como o topo com papel de alumínio isolando da luz e deixou-se no agitador magnético durante 24 horas (conforme a Figura 6.5).

Retirou-se o gobelé do agitador magnético, removeu-se a proteção de alumínio e levou-se a banho de ultrassom durante 5 minutos para homogeneização. (conforme a Figura 6.4).



Figura 6.5 Agitador magnético com a mistura de quitosano, THF e PtOEP com proteção de alumínio



Figura 6.4 Banho de ultrassom utilizado para homogeneização do polímero

Para tal encheu-se o banho de ultrassom com um pouco de água destilada e colocou-se o gobelé cuidadosamente no seu interior com cuidado para que não se derramasse.

Decantou-se o conteúdo do gobelé para uma placa de *Petri* de vidro (não pode ser utilizado plástico pois derrete). Cobriu-se as laterais com papel de alumínio de forma a minimizar os riscos de *photobleaching* (conforme a Figura 6.7). A Figura 6.6 apresenta uma fotografia do resultado da membrana após a cura.



Figura 6.6 Fotografia do resultado final da membrana já curada.



Figura 6.7 Placa de Petri com o polímero (com PtOEP).

Para o fabrico da membrana de controlo, executaram-se os procedimentos de fabrico e cura anteriores, sem a inclusão do indicador. A Figura 6.8 representa o processo de agitação magnética e a Figura 6.9 a membrana após a cura na estufa.



Figura 6.8 Agitador magnético com a mistura de quitosano e THF.

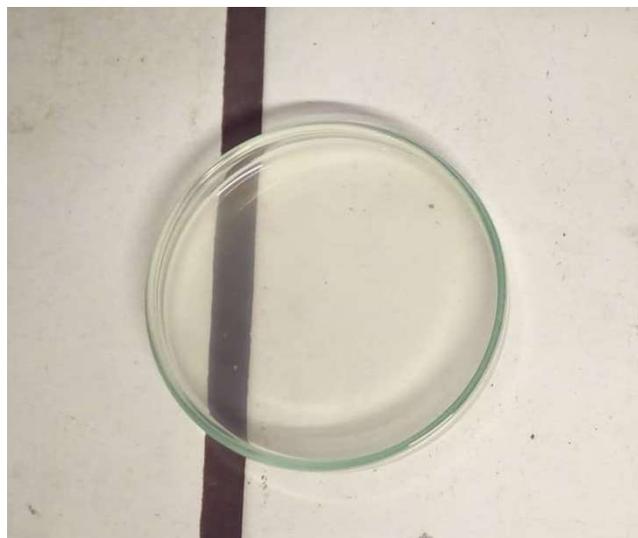


Figura 6.9 Placa de Petri com o polímero de controlo.

Conforme é possível observar na Figura 6.6, as membranas resultantes deste processo de fabrico originaram amostras com pequenas acumulações de indicador. Este fenómeno deve-se ao facto do indicador não ter dispersado de forma adequada no polímero (já que a membrana de controlo se encontra com as características usuais do processo de quitosano), pelo que estas amostras não se encontram adequadas para uso.

6.1.3 Processo de Fabrico -Membranas Sol-Gel

O primeiro procedimento com o polímero sol-gel seguiu-se pelo seguinte protocolo experimental: num balão mediram-se 2,5035 g de *poly(oxyethylene-co-oxyveopylene)*. Mediram-se 10 mL de THF e juntou-se ao balão. De seguida adicionou-se 0,625 mL de (3-isocyanatepropyltriethoxysilane (ICPTES, 95%, Aldrich)) ao balão anterior. Estes processos foram executados na hotte devido a natureza dos componentes. Colocou-se um agitador magnético, tapou-se o balão e reforçou-se o fecho com *parafilm*. Agitou-se a 250 rot/min durante 24 horas, conforme a Figura 6.10. Numa segunda etapa, mediu-se 2,30 mg de PtOEP para um gobelé. Adicionou-se 1,7 mL de THF, 0,582 mL de etanol e posteriormente 50 mL de água ultrapura. Adicionou-se esta mistura á etapa anterior e deixou-se a agitar durante 30 minutos.

Posteriormente decantou-se a solução para duas placas *Petri* de vidro, conforme as Figura 6.11, membrana por curar, e Figura 6.12, membrana após a cura.



Figura 6.10 Agitador magnético com balão com a mistura sol-gel e indicador.

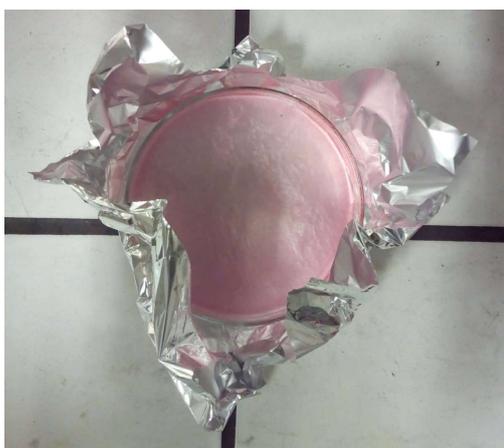


Figura 6.11 Fotografia do resultado da decantação do sol-gel para a placa de Petri.



Figura 6.12 Fotografia do resultado da cura da membrana de sol-gel.

Para o fabrico da membrana de controlo, executaram-se os procedimentos de fabrico e cura anteriores, sem a inclusão do indicador. A Figura 6.13 representa a membrana após a cura na estufa.



Figura 6.13 Fotografia do resultado da membrana de controlo de sol-gel após o processo de cura.

Conforme é possível observar o resultado das membranas (com indicador e de controlo) não foi o pretendido, a amostra não ficou homogénea, o que resultou na formação de uma malha com textura rugosa e fibrosa. A textura da membrana de controlo foi muito semelhante à textura da membrana com indicador, o que revela que possivelmente o processo sol-gel utilizado é incompatível com o solvente/indicador. Dessa forma abandonou-se este procedimento.

6.1.4 Processo de Fabrico- Membranas PDMS

Após a cuidadosa seleção dos materiais a utilizar, procedeu-se ao fabrico de membranas baseadas em PDMS. Para preparar as membranas foi tido em conta três variáveis, a espessura final da membrana, a concentração do indicador e o solvente utilizado (tolueno ou THF).

Ao longo do documento, o conceito de contração da membrana surge como sendo o valor total de soluto, ou seja, indicador (2, 4, 6, 8 mg) disperso no mesmo volume de solvente, nomeadamente 11 g de PDMS, de onde resultam as concentrações de 181, 363, 545 e 727 ppm.

Para definir a espessura das membranas procedeu-se ao uso de duas técnicas, a primeira onde se decantou a solução num molde e a segunda por *spin-coating*. Para o primeiro método selecionaram-se 10 massas diferentes de polímero (conforme a Tabela 6-1). A partir dos resultados com testes anteriores estimou-se para cada massa de polímero uma determinada espessura resultante da cura da amostra.

Foram testadas diversas espessuras das membranas pois a espessura das mesmas relaciona-se com o a permeabilidade da matriz e conseqüentemente com o a gama de medida do sensor [64].

Tabela 6-1 Espessura estimada pela massa da mistura PDMS/indicador.

Espessura estimada (mm)	MASSA (mg)	Espessura Real ¹ (mm)
0,15	270	0,15
0,22	410	0,35
0,30	540	0,45
0,47	852	0,55
0,60	1080	0,85
0,67	1213	1,00
0,88	1585	1,35

¹Média das Espessuras obtidas experimentalmente

O segundo método- processo de *spin-coating* consiste na deposição de filmes finos sobre superfícies planas. O equipamento, através de força centrípeta, é capaz de distribuir uniformemente um polímero sobre um substrato. Coloca-se o substrato selecionado, neste caso vidro, sobre o tabuleiro de sucção (vácuo) e sobre o mesmo verte-se o polímero.

No monitor de controlo seleciona-se a velocidade (rpm) e a duração do processo (30 segundos em todos os fabricos deste trabalho). Devido à natureza volátil do solvente, este evapora parcialmente durante o processo de rotação. No caso concreto do polímero fabricado é necessário forrar o *spin-coating* com papel de alumínio de forma a evitar que o derrame de solvente derreta a superfície do aparelho.

As espessuras das membranas de *spin-coating* foram controladas via velocidade/tempo de rotação, conforme a seguinte Tabela 6-2.

Tabela 6-2 Nomenclatura das membranas em função da velocidade e tempo de rotação.

VELOCIDADE (rpm)	TEMPO (s)
100	30
250	30
500	30

Para a segunda variável (concentração de indicador) realizaram-se 4 concentrações diferentes através do uso de diferentes quantidades de indicador, a massa experimental e o teórico das quantidades de PtOEP pode ser consultado na Tabela 6-3. Conforme é possível observar foram utilizados dois solventes distintos nomeadamente THF e tolueno.

Tabela 6-3 Massas teóricas e experimentais do indicador, utilizados para os diferentes solventes.

MASSA TEÓRICA (mg)	SOLVENTE	MASSA EXPERIMENTAL (mg)	SOLVENTE	MASSA EXPERIMENTAL (mg)
2	THF	2,36	Tolueno	2,05
4		3,93		4,40
6		6,58		6,35
8		8,48		8,29

Iniciou-se o fabrico com a mistura de PDMS. Esta mistura, descrita pela Figura 6.14 obtém-se conforme o seguinte procedimento pesou-se 1 g de agente líquido num gobelé, adicionando-se 10 g de agente gelatinoso. Incorporou-se a mistura misturando manualmente com uma espátula. Levou-se a mistura ao vácuo várias vezes até apresentar coloração transparente (retirando possíveis bolhas de ar no seu interior). Este processo pode ser consultado na Figura 6.15 e na Figura 6.16.

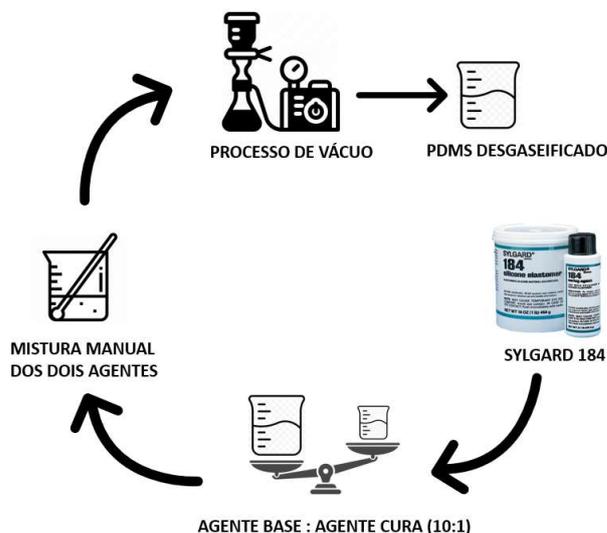


Figura 6.14 Representação do fabrico de PDMS.

Posteriormente procedeu-se à mistura do solvente com o indicador. Mediram-se 10 ml de solvente e verteu-se no recipiente que continha o indicador (conforme a Tabela 6-3). A mistura foi agitada com um agitador magnético durante 15 minutos, com o recipiente coberto com *parafilm* (Figura 6.17). Ao fim de 15 minutos destapou-se o gobelé e deixou-se o solvente evaporar enquanto permanecia com agitação durante mais 15 minutos.



Figura 6.15 Processo de vácuo com o polímero resultante da mistura dos dois agentes de PDMS.

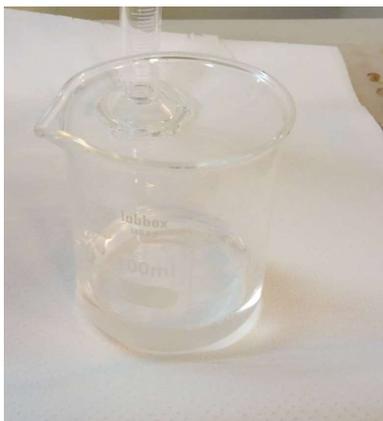


Figura 6.16 Recipiente com o PDMS após o processo de vácuo.

De seguida misturaram-se as duas misturas (PDMS e solvente com indicador) conforme o seguinte procedimento: Pesou-se 11 g de PDMS para o gobelé contendo a mistura, indicador e solvente. Misturou-se com uma espátula para iniciar o processo de homogeneização e posteriormente agitou-se com um agitador magnético, destapado durante 15 minutos. Posteriormente, tapou-se o gobelé com parafilm perfurado e levou-se ao ultrassom durante 20 minutos a uma temperatura de 26°C. Posteriormente, todas as membranas foram colocadas na estufa durante 24 h a 80°C.

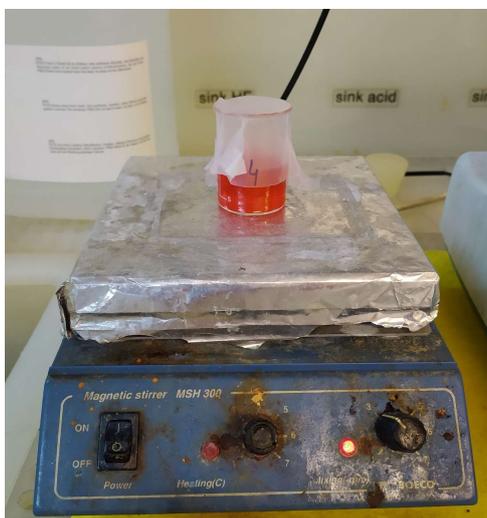


Figura 6.17 Gobelé com mistura indicador e solvente, tapado com parafilm, no processo de agitação magnética.



Figura 6.18 À esquerda - Ultrassom no processo de homogeneização da matriz. À direita - Processo de secagem na estufa.

Para as membranas baseadas no peso, fizeram-se pequenos suportes utilizando laminas cortadas de 25 mm x 25 mm ladeadas com fita adesiva de alumínio, conforme a Figura 6.19.

Para o fabrico da membrana de controlo, executaram-se os procedimentos de fabrico e cura anteriores, sem a inclusão do indicador.

Nos anexos IV ao VI podem ser consultadas as características de todas as membranas fabricadas, nos anexos VII ao IX podem ser observados os resultados fotográficos após a cura das amostras.

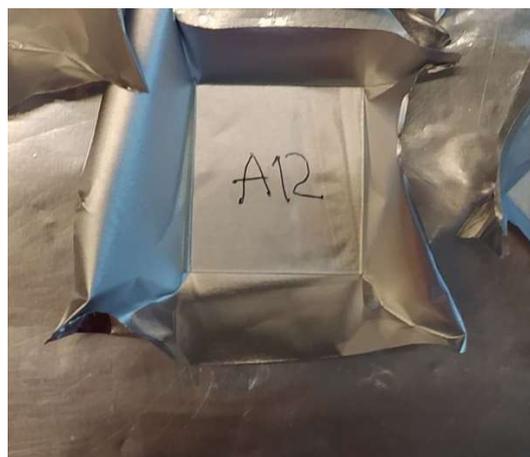


Figura 6.19 Fotografia de um exemplo da montagem laminar utilizada para a cura das membranas.

6.2 Desenvolvimento da Eletrônica de Excitação e Leitura

São necessários dois circuitos eletrônicos, um para efetuar a excitação do LED e outro para leitura do sinal ótico obtido. Ambos circuitos são alimentados a 3,3 V através do microcontrolador STM32.

Para o circuito de excitação, o LED selecionado foi UV5TZ-385-30 ($\lambda_p = 385 \text{ nm}$) por apresentar um pico de emissão num comprimento de onda próximo da máxima absorção do indicador ($\lambda_p = 381 \text{ nm}$). A corrente no LED tem de ser controlada de forma a ser constante, de forma a evitar que diferentes leituras conduzam a diferentes estados de excitação e consequentemente emitam diferentes luminescências para a mesma concentração de oxigénio. Para tal foi implementada uma fonte de corrente como no circuito descrito na Figura 6.20.

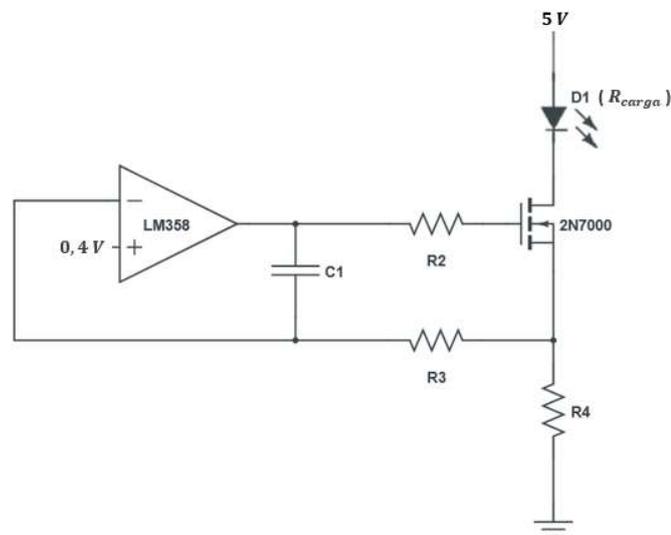


Figura 6.20 Circuito de excitação do LED elaborado em LTSpice.

A tensão em R4 é proporcional à corrente do LED, que também percorre R4. Esta tensão é comparada com uma tensão referência, na entrada positiva do *ampop*, sendo a tensão do resultado da comparação utilizado para controlar a porta do *mosfet*N, e consequentemente a corrente no LED, num ciclo em malha fechada. O *ampop* (LM358N) coloca ambas as entradas à mesma tensão, neste caso $V_{REF}(0,4 \text{ V})$, através do controlo do *mosfet* (2N7000) de forma a obter uma tensão constante em R4, logo uma corrente constante em R4 e no LED. C1 e R3 permitem compensar oscilações indesejadas do *ampop* (*loop compensation*). O valor de R3 deve ser muito maior do que R4, tipicamente esta varia entre 1 – 10 k Ω .

A constante de tempo R_3C_1 limita o *slew-rate* da comutação do LED, e deverá ser considerada conforme a velocidade de comutação pretendida. Definiu-se a máxima frequência em aproximadamente 10 kHz, com R_3 de 1,1 k Ω e C_1 de 10 nF.

Dado as duas entradas do *ampop* ficarem com o mesmo potencial (V_{IN}), a corrente na carga (LED) depende da resistência do mesmo e da tensão de referência, conforme a equação 6.1.

$$I_{CARGA} = \frac{V_{IN}}{R_4} \quad 6.1$$

Definiu-se a corrente na carga como a corrente máxima recomendada do LED selecionado UV5TZ-385-30 (20 mA). O LED apresenta uma tensão direta máxima de 3,6 V. O transistor apresenta uma resistência dreno-fonte inferior a 10 Ω quando ligado, o que representa uma queda de tensão dreno-fonte inferior a 0,2 V. Utilizando uma referência (V_{IN}) de 400 mV (NCP135BMT040TBG), a tensão de alimentação deverá ser superior a 4,2 V (3,6 + 0,2 + 0,4). Utilizando este valor de V_{IN} calculou-se R_4 .

Sempre que se pretende uma leitura, o LED liga. Os valores de cada componente podem ser consultados na Tabela 6-4.

Tabela 6-4 Valores dos Componentes do Circuito de alimentação do LED.

COMPONENTE	VALOR
C_1	10 nF
R_2	100 Ω
R_3	1,1 k Ω
R_4	20 Ω

No segundo circuito, para o recetor ótico, o fotodíodo está conectado a um circuito amplificador de transimpedância (TIA) seguido de um filtro passa-baixo e um segundo andar amplificador, conforme se pode observar pela Figura 6.21. Este circuito foi dimensionado através pelo calculador online da *analog devices* [133].

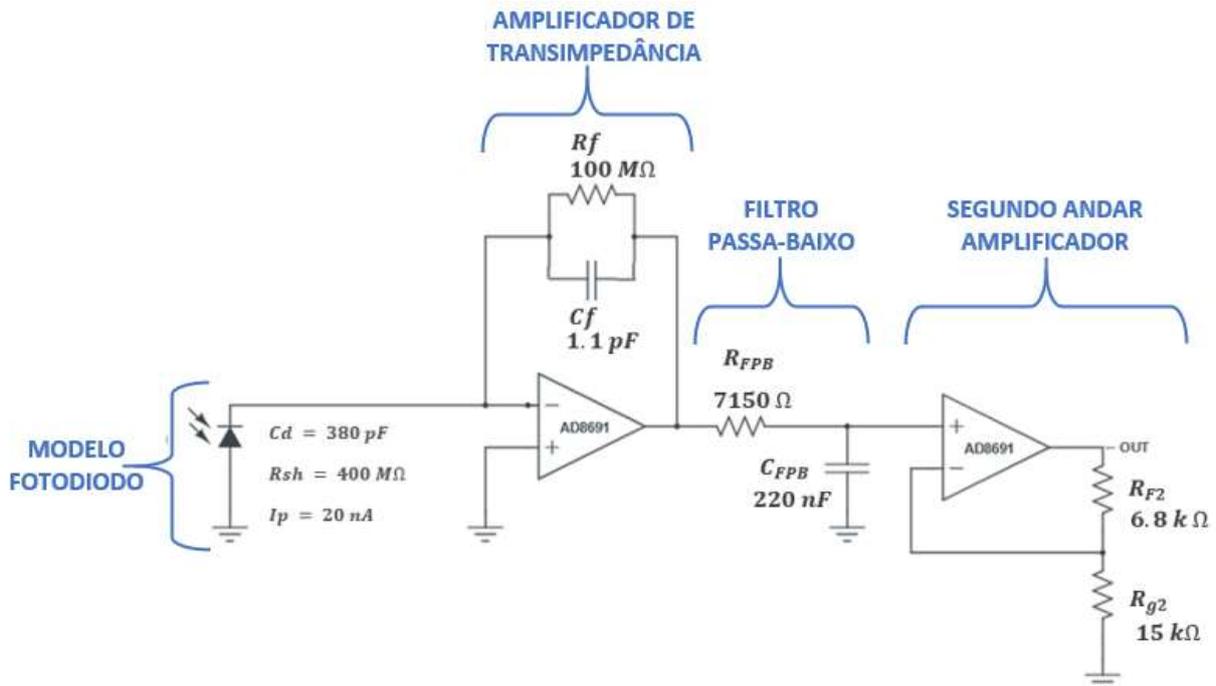


Figura 6.21 O circuito de acondicionamento de sinal, composto do amplificador de transimpedância, um filtro passa-baixo de primeira ordem e um segundo estágio de amplificador.

O fotodíodo apresenta uma pequena corrente no escuro (*dark current*) que depende do modelo de fotodíodo selecionado, este valor deve ser escolhido de forma a ser o menor possível. Assim o fotodíodo selecionado foi o *Hamamatsu S1336-8BK*, é usado em modo fotovoltaico, este fotodíodo apresenta uma grande área sensível, baixa *dark current* (100 pA), boa disponibilidade comercial e excelente relação qualidade/preço. Funciona como um transdutor, ou seja, converte de forma diretamente proporcional a luz incidente na área sensível em corrente. As suas características (capacidade, resistência em paralelo e corrente no escuro) podem ser observadas na Figura 6.21. Foi utilizado um circuito sem tensão de polarização no fotodíodo (0V) para minimizar a corrente no escuro. O sentido do fotodíodo foi selecionado de forma a obter uma tensão de saída sempre positiva, dado pretender-se utilizar uma alimentação simples com ampops *rail2rail*.

O circuito amplificador de transimpedância (TIA) é constituído por dois andares amplificadores, baseados no ampop de precisão AD8691 (apenas o primeiro estágio não permite obter o ganho desejado, dado o valor de R_f ficar demasiado elevado). Este ampop, sugerido pelo fabricante no calculador online referido, apresenta uma baixa corrente de polarização (típica de 0,2 pA) adequada à elevada impedância do circuito.

As entradas do ampop funcionam com tensões até 300mV abaixo da tensão da alimentação, permitindo assim uma alimentação simples (permite alimentações entre 2,7 V e 6 V). Possui um GBP (*gain bandwidth product*) de 10 MHz, permitindo assim ganhos elevados com frequências também elevadas. O ruído em corrente é também reduzido, de apenas 0,05 pA/ $\sqrt{\text{Hz}}$. A tensão de saída do circuito é definida pelo ganho do TIA (V/A), nomeadamente, pela resistência de feedback R_f e pelo conjunto de resistências R_{f2} e R_{g2} do segundo ampop, conforme a equação 6.2. O ganho total (V/A) pode ser definido pela relação entre a tensão de saída (V_{OUT}) e a corrente de entrada no fotodíodo (I_D).

$$V_{OUT} = I_D \times R_f \times \left(1 + \frac{R_{f2}}{R_{g2}} \right) \quad 6.2$$

Para definir o ganho é necessário conhecer o maior valor de corrente obtido no fotodíodo, ou seja, o valor de corrente lido para um ambiente saturado de argón. Foram realizadas duas configurações diferentes, em que a corrente máxima no fotodíodo possui valores máximos diferentes. Uma configuração foi utilizada com um amplificador *lock-in* comercial e a segunda com eletrónica discreta, ligada ao ADC (*Analog to Digital Converter*) de um microcontrolador. Também conforme o teste de medição e oxigénio é realizado ao ar (meio gasoso) ou em água (meio líquido), a intensidade da corrente máxima é diferente. O ganho vai ser diferente em cada uma das configurações.

Sem *lock-in*, em ambos os meios (líquido e gasoso) mediui-se uma corrente máxima no fotodíodo (na ausência de oxigénio). No meio gasoso obteve-se aproximadamente 20 nA e 7,6 nA em meio líquido. A partir desse valor calcularam-se os ganhos necessário para corresponder ao máximo da leitura do ADC (3 V), sendo 149×10^6 V/A em meio gasoso e 392×10^6 V/A em meio líquido. São necessários dois andares amplificadores em ambos os meios.

Para ambiente gasoso o primeiro permite um ganho de 100×10^6 e o segundo de $1,49 \times 10^6$, como se encontram em série, o ganho total é igual à multiplicação dos dois, pelo que o ganho total do circuito é de 149×10^6 .

Em ambiente líquido, o primeiro andar amplificador tem um ganho de 100×10^6 e o segundo $3,92$ ($R_{f2} = 12 \text{ k}\Omega$, $R_{g2} = 4,1 \text{ k}\Omega$). O filtro passa baixo sugerido está dimensionado para uma frequência de corte de 100 Hz.

Conforme foi mencionado no início deste subcapítulo, o microcontrolador STM32, fornece alimentação a todos os circuitos mencionados em cima. Por outro lado, os dados são recebidos pelo ADC através do microcontrolador STM32F767, este encontra-se configurado para 12 bits. É feita uma média de dez valores, é enviada por UART para o terminal, a cada 10 segundos. O papel do microcontrolador é sumariamente descrito pela Figura 6.22.

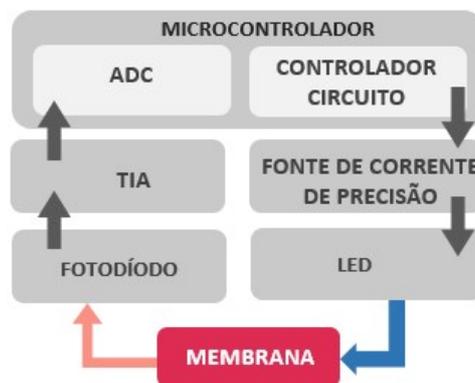


Figura 6.22 Descrição do papel do microcontrolador no projeto do sensor.

O amplificador *lock-in* apresenta uma tensão máxima da entrada de $1,6 \text{ V}$, como o setup é diferente do setup sem *lock-in*, a corrente máxima lida pelo fotodíodo é de 50 nA pelo que o circuito passa a ser o representado na Figura 6.23 (ganho $32 \times 10^6 \text{ V/A}$). O filtro passa-baixo foi agora dimensionado para 10 kHz, para permitir maior ajuste da frequência de excitação do LED através do *lock-in*. O LED não utiliza circuito de alimentação já que é alimentado diretamente pelo output (referência interna) do *lock-in*.

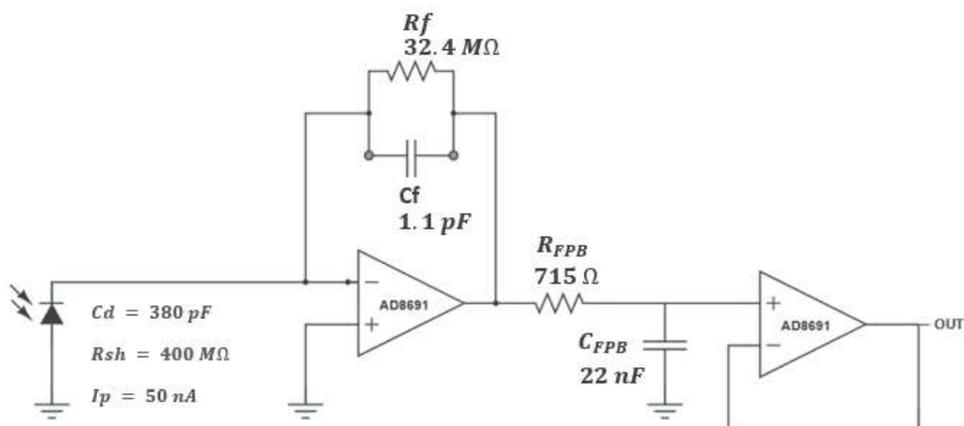


Figura 6.23 Circuito de acondicionamento de sinal, composto do amplificador de transimpedância, um filtro passa-baixo de primeira ordem e um segundo estágio de amplificador utilizado com o lock-in.

Ambos os fios de alimentação do LED e do fotodíodo devem ser blindados de forma a reduzirem interferências. Em particular o cabo do fotodíodo, dada a reduzida corrente, é sensível a interferências externas. No caso concreto deste projeto, nos testes com *lock-in* utilizou-se cabo coaxial com conectores BNC (*Bayonet Neill Concelman*) diretamente ligado entre o LED e o *output* da referência interna do *lock-in* (oscilador). O mesmo foi também aplicado no fotodíodo. Todo o sensor foi também blindado, sendo a blindagem ligada à massa. No caso dos testes com o sistema simples de detecção de intensidade luminosa utilizou-se cabo coaxial em ambos os componentes.

Para efetuar os testes com o fotodíodo é necessário utilizar um filtro ótico de forma a eliminar todos os comprimentos de onda diferentes do comprimento de onda de análise. Com o uso deste tipo de componentes é possível eliminar ruído luminoso ambiente.

Selecionou-se o filtro ótico passa-banda *THORLABS LASER LINEAR FILTER* passa banda a 647,1 nm (10 nm de largura de banda) cujo espectro de transmissão pode ser analisado na Figura 6.24 (facultada pelo fornecedor THORLABS).

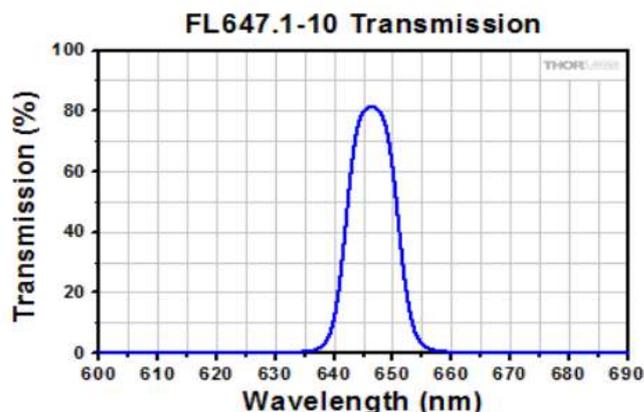


Figura 6.24 Espectro de transmissão do filtro passa-banda THORLABS LASER LINEAR FILTER 647,1 nm.

6.3 Projeto estrutural do dispositivo sensor

Neste subcapítulo são introduzidas temáticas associadas a implementação prática do sensor associadas à leitura da luminescência. A configuração de *setup* mais comum de encontrar na literatura é de 90° entre a fonte de excitação e o sensor ótico de detecção. Este *setup* impede que a luz ambiente interfira nos resultados obtidos pelo fotodetector resultando numa aquisição mais limpa de ruído. Esta disposição permite que o feixe de iluminação não atinja o fotodetector causando interferências de leitura, nomeadamente saturação do circuito de eletrônica. Este *setup* pode ser observado na Figura 6.25.

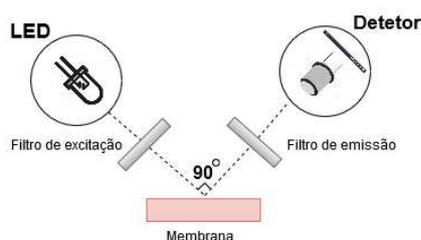


Figura 6.25 Disposição ortogonal de um *setup* típico para medição fotoluminescência.

Desenharam-se dois *setups* em ambiente *fusion* com o propósito de inquirir qual o melhor ângulo de análise, nomeadamente 90° ou 45° graus entre fonte de excitação e fotodetector. A Figura 6.26 demonstra o *setup* desenhado em *fusion* e impresso posteriormente em ABS (*Acrylonitrile Butadiene Styrene*) para diferentes ângulos. Após os testes com os *setup's* demonstrados procedeu-se ao desenho em *fusion* do *setup* para o fotodiodo e LED, que pode ser observado pela Figura 6.28.

O ABS, material muito comum na impressão 3D, apresenta excelentes propriedades mecânicas, nomeadamente facilidade de perfuração, pintura, colagem e limagem. É dessa forma possível efetuar remates finais nas peças. O rolo de impressão utilizado era branco pelo que foi necessário aplicar uma camada de *spray* acrílico negro com acabamento mate em todas as peças impressas. A escolha da cor prende-se com o facto de o preto se aproximar de um absorvedor perfeito de luz.

O mesmo se aplica ao ambiente de medição, pelo que todo o setup foi enclausurado numa fronha preta e posteriormente numa caixa de cartão pintada com *spray* preto mate de forma a não influenciar as leituras efetuadas.

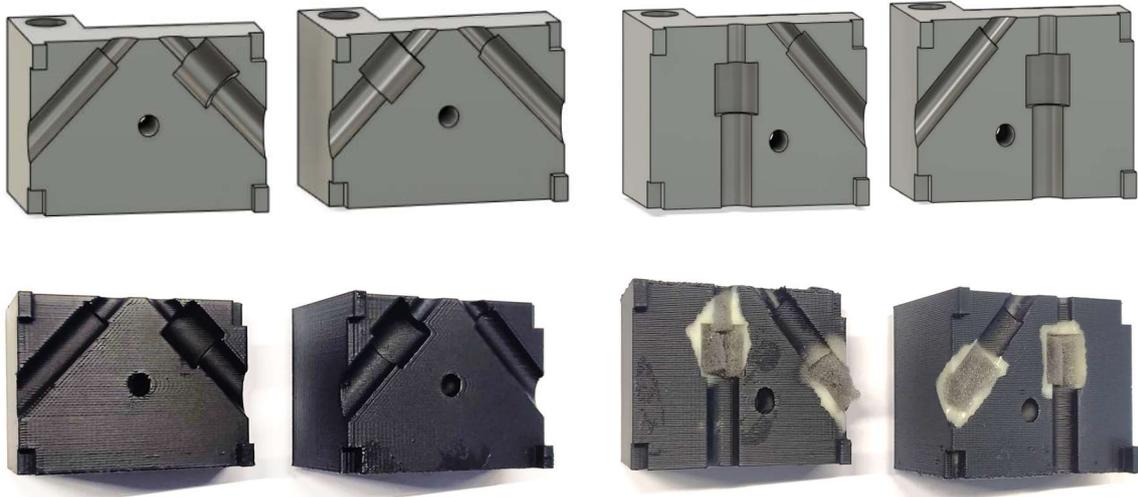


Figura 6.26 À esquerda - Setup 90°. À direita - Setup 45°. As Figuras superiores representam o modelo desenhado no fusion e as Figuras inferiores o modelo impresso.

Os testes revelaram que o setup de 90° originava correntes muito baixas no fotodíodo pois a distância do fotodíodo à membrana era superior ao modelo de 45°, este fenómeno fazia com que o sinal lido fosse muito menor ou mesmo inexistente. Dessa forma adotou-se o setup de 45°.

Para incorporação do filtro ótico no fotodíodo, projetou-se um novo *setup* de 45° para o LED/fotodíodo, conforme o esquema da Figura 6.27. Neste novo modelo a distância estabelecida entre o centro do LED e o centro do fotodíodo (d) deve ser semelhante à distância da horizontal que define o conjunto até à membrana. Isto para que a luz do LED incida sobre o ponto que se situa por cima do fotodíodo.

Os desenhos e peças fabricadas podem ser observadas na Figura 6.28. Este modelo é mais complexo pois envolve o uso de um filtro ótico de recepção que, pela sua espessura (6,3 mm), incrementa a distância do conjunto ao recipiente.

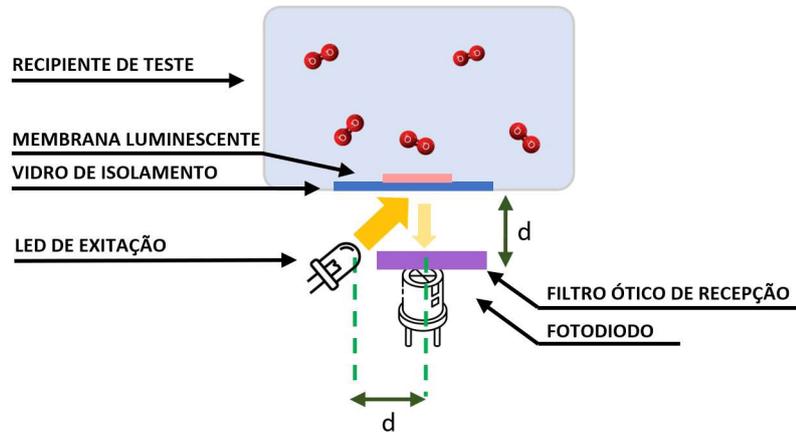


Figura 6.27 Representação gráfica do conceito do setup LED/fotodiodo com ângulo de 45°.

O posicionamento do filtro deve ser feito de forma a evitar a passagem da luz do LED para o fotodiodo, pelo que a posição do LED deve ser ligeiramente superior à horizontal que define o plano do fotodiodo.

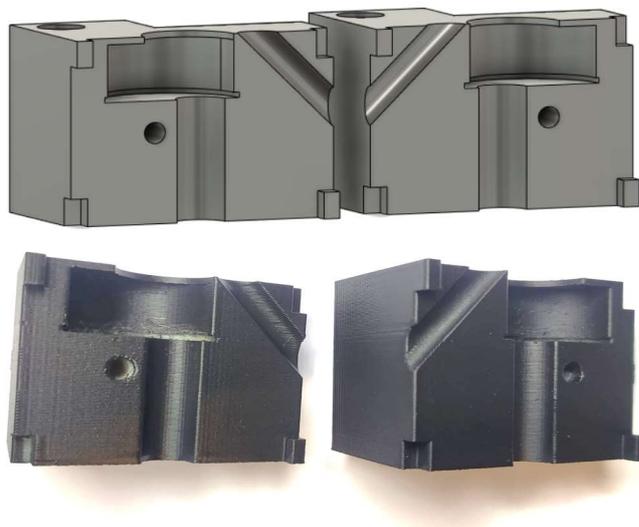


Figura 6.28 Setup de 45° para o modelo fotodiodo/LED. As Figuras superiores representam o modelo desenhado no fusion e as Figuras inferiores o modelo impresso.

6.4 Resumo

O LED e detetor ótico necessitam serem mecanicamente estáveis com elevada precisão de forma a não permitirem quaisquer movimentações, dado que tais causam desvios consideráveis nas leituras por parte do detetor ótico. Para resultados ótimos todo o *setup* deve ser colado de forma permanente de forma a evitar desvios.

A membrana deve ser fixada sobre o meio de uma estrutura facilmente removível, neste caso fita cola de força extrema colocada em apenas em dois cantos diagonais da membrana, permitindo a passagem de gás/água sobre toda a membrana. Este procedimento evita movimentações/deslocamentos na membrana e flutuação da mesma, enquanto permite passagem livre do fluido.

Todo o recipiente deve ser isolado por meio de silicone cola de forma a prevenir fugas. O isolamento ótico é também essencial ao funcionamento do sistema.

7. TESTES E RESULTADOS

O presente capítulo sumaria três tipos de testes e os respectivos resultados, nomeadamente testes de absorção, testes de luminescência em meio gasoso e testes de luminescência em meio líquido.

Os primeiros visam caracterizar as membranas de forma a selecionar um pequeno grupo para os dois testes seguintes, isto pois os testes de absorção são mais rápidos e não precisam de atmosferas controladas. No teste de absorção pretende-se testar não só a integridade das membranas, mas também a sua homogeneidade e intensidade de emissão. Os testes de luminescência em meio gasoso têm como objetivo selecionar a melhor membrana para desenvolver os testes em meio líquido, pois este último é mais complexo.

Os resultados obtidos com o sensor desenvolvido neste projeto de dissertação, foram comparados com os valores obtidos pelo sensor comercial- *Extech DO210*. Ao iniciar os testes de luminescência, após a montagem de todo o *setup*, é necessário obter as leituras de correção, nomeadamente a luminescência emitida pela membrana de controlo (membrana de referência, sem indicador) e leituras relativas à corrente do fotodiodo no escuro (*dark*), para posterior correção dos valores de intensidade de luminescência.

A membrana de controlo é colocada no interior do recipiente de medição e são guardados os valores de *dark* (sem LED ligado) e referência (com a membrana de controlo correspondente à membrana a analisar e com o LED ligado, para avaliar a quantidade de luz do LED que é diretamente lida pelo fotodiodo). Cobre-se todo o *setup* com um tecido preto e com uma caixa de cartão com interior preto, para minimizar a interferência da luz ambiente.

Durante o desenvolvimento dos testes, deve ser minimizada a movimentação de pessoas/objetos no ambiente circundante do fotodiodo, pois levam a alterações nas leituras, devido à alteração da capacidade do circuito do fotodiodo.

A nomenclatura das membranas utilizada ao longo deste subcapítulo encontra-se especificada nos anexos IV ao VI.

7.1 Métodos e Configurações de Teste

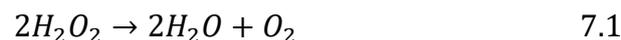
Neste subcapítulo serão introduzidos alguns aspetos físicos e químicos que foram tidos em consideração na execução dos testes experimentais, assim como algumas normas de segurança. São descritos os procedimentos para controlar a concentração de oxigénio, o setup de testes implementado, além das metodologias para medir a absorção e luminescência em ambientes distintos.

7.1.1 Metodologias para Variação da Concentração de Oxigénio

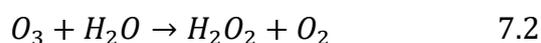
Os processos químicos descritos foram utilizados como forma primária de obtenção de amostras com diferentes taxas de oxigénio, de forma simples sem a utilização de garrafas de gás. Estes princípios podem ser particularmente interessantes para o caso de desenvolvimento de testes iniciais com o objetivo de testar os princípios de funcionamento.

O fabrico, assim como o teste, do sensor de OD envolve materiais cujo uso deve ser cauteloso por ser prejudicial à saúde humana. Consequentemente, devem ser tidas em conta todas as regras de segurança associadas ao manuseio deste tipo de componentes de forma a reduzir o perigo dos mesmos. Algumas das normas mais importantes podem ser consultadas no anexo XIV.

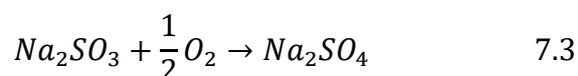
Uma forma de incorporar oxigénio numa amostra líquida de água é através de peróxido de hidrogénio (água oxigenada) H_2O_2 . Este funciona como agente oxidante dissolvendo-se na presença de água segundo a seguinte reação química presente na reação química 7.1.



Outra metodologia utilizada para incorporar oxigénio é o oxigénio ativo (ozono) O_3 . A fórmula química 7.2 descreve a decomposição do ozono na água.



Para reduzir a percentagem de oxigénio em amostras líquidas geralmente é utilizado sulfito de sódio (Na_2SO_3). A fórmula química 7-3 sintetiza a reação com OD.



Geralmente, à solução que contém Na_2SO_3 chama-se solução padrão de oxigênio zero. Por vezes, esta solução, pode incluir uma quantidade mínima de cloreto de cobalto ($CoCl_2$), este é utilizado como indicador, alterando a cor da solução quando esta não contém oxigênio [134].

Para amostras gasosas, os inibidores de oxigênio mais adequados são o nitrogênio (N_2) e o árgon (Ar). A sua utilização como inibidor de oxigênio ocorre por substituição e não por reação química. O árgon tem a maior densidade de entre estes três gases a Tabela 7-1, adaptada da referência [135] sumaria as densidades do nitrogênio, árgon e oxigênio, para condições STP (*Standard Temperature and Pressure*) (0 °C / 1 atm).

Tabela 7-1 Densidades do árgon, oxigênio e nitrogênio para condições STP.

Gás	Densidade ρ (kg/m³) STP
Ar	1,7837
O₂	1,4290
N₂	1,2506

O nitrogênio é um gás especialmente interessante pela sua abundância na atmosfera, o que o torna especialmente acessível comercialmente. Em grande parte das aplicações a utilização de árgon ou nitrogênio é indiferente, já que o nitrogênio, apesar de não ser inerte é um gás bastante estável que pode ser usado para criar ambientes desoxigenados desde que exista uma corrente constante de gás a passar. Em comparação com o árgon, o nitrogênio é menos denso e como tal é menos eficiente a preencher um volume.

A massa atômica do árgon (39,948 g/mol) é bastante superior à do nitrogênio (14,0067 g/mol) em comparação com a do ar (28,9647 g/mol) pelo que o nitrogênio é mais rápido a preencher um volume pois as suas moléculas dispersam menos facilmente. No caso concreto deste projeto, foram utilizados árgon e oxigênio em garrafas pressurizadas com o auxílio de um redutor.

No entanto, é necessária agitação da amostra para que seja possível criar um ambiente homogêneo, caso contrário, devido as diferentes densidades dos gases, a amostra vai ficar estratificada. Para efeitos de teste foi desenvolvido um simples agitador magnético para homogeneizar a amostra, este pormenor é aprofundado no subcapítulo 7.1.2.

Em condições normais de temperatura e pressão, o número de moléculas de oxigénio no ar ($pO_2 = 21\%$) é muito superior ao número de moléculas de oxigénio no meio líquido ($pO_2 = 1\%$) pelo que em condições normais de temperatura e pressão, o coeficiente de difusão de oxigénio na água é muito inferior ao coeficiente de difusão no ar [136].

Isto leva a que, por vezes, sensores com bons resultados em meio gasoso não sejam funcionais em meio líquido.

Conforme é possível observar pela Tabela 7-2, a solubilidade do árgon na água é muito superior ao nitrogénio. Por solubilidade (S) entenda-se a máxima concentração de soluto que um solvente consegue dissolver para uma determinada temperatura [137]. Já o conceito de difusão refere-se à dissolução de um soluto num solvente [138], este processo define-se pela movimentação de uma zona hipertónica (maior concentração) para uma zona hipotónica (menor concentração). Por outras palavras a difusão refere-se à velocidade de uma substância a movimentar-se num meio.

Tabela 7-2 Solubilidade e difusão do árgon, oxigénio e nitrogénio para as mesmas condições de temperatura e pressão.

	Temperatura 25 °C	Difusão (cm^2/sec)	Ref.	Temperatura 25 °C	Pressão 1 atm	Solubilidade mg/Kg	Ref.
Árgon			$2,50 \times 10^{-5}$			[139]	
Oxigénio		$2,42 \times 10^{-5}$			44		
Nitrogénio		$2,00 \times 10^{-5}$			18		

7.1.2 Setup de Fixação do Sensor e Controle de Oxigênio

Os testes de luminescência exigem um ambiente isolado de forma a que não ocorra contaminação exterior por gases externos à amostra. O *setup* desenhado tem uma janela de vidro que permite a visualização da membrana para análise da luz por parte da ótica. Dessa forma foi necessário criar uma barreira de pressão para impedir passagem de gases e garantir a fixação da lamina de vidro ao recipiente. Foram desenhadas duas peças, a primeira para análise de apenas uma única amostra, que pode ser observada na Figura 7.1 e a segunda para análise de 4 amostras simultâneas sem necessidade de remoção do vidro de suporte, que pode ser observada na Figura 7.2.

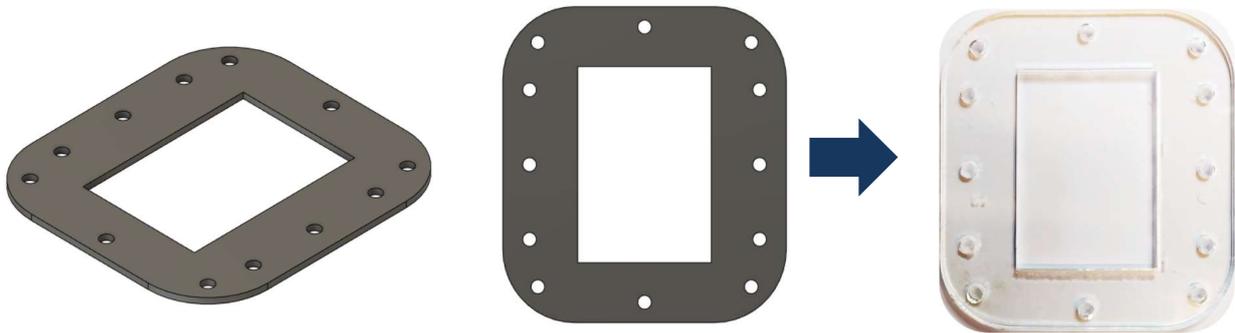


Figura 7.1 Estrutura de fixação da lâmina de vidro ao setup de amostragem para amostras livres do suporte de vidro.

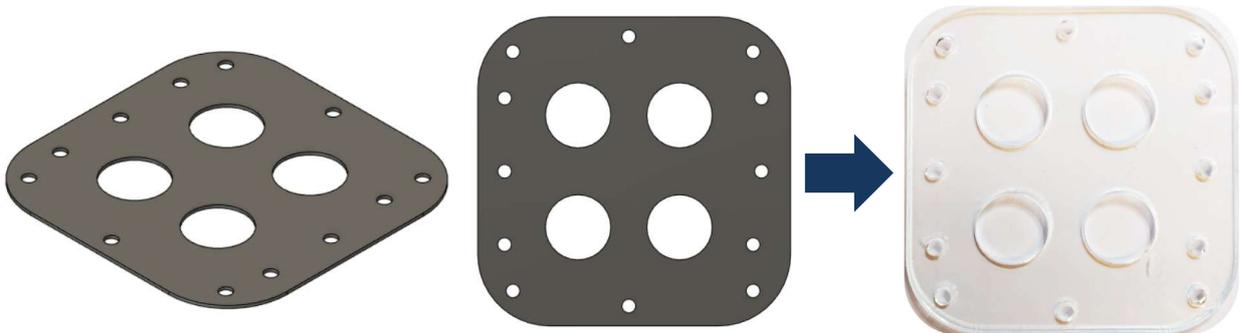


Figura 7.2 Estrutura de fixação da lâmina de vidro ao setup de amostragem para amostras fixas ao suporte de vidro.

Foi necessário incorporar uma fonte de agitação, não só para homogeneizar os gases no recipiente, mas também para auxiliar o correto funcionamento de um sensor comercial para comparação.

Para os testes desenvolvidos em ambiente gasoso utilizou-se uma pequena ventoinha (ventilador de refrigeração *LattePanda*) aparafusada na superfície lateral do recipiente de teste, sendo a passagem dos cabos isolada com silicone cola (*T-REX* Branco) de forma a prevenir contaminações do ambiente de teste por fugas gasosas., conforme é possível observar pela Figura 7.3.

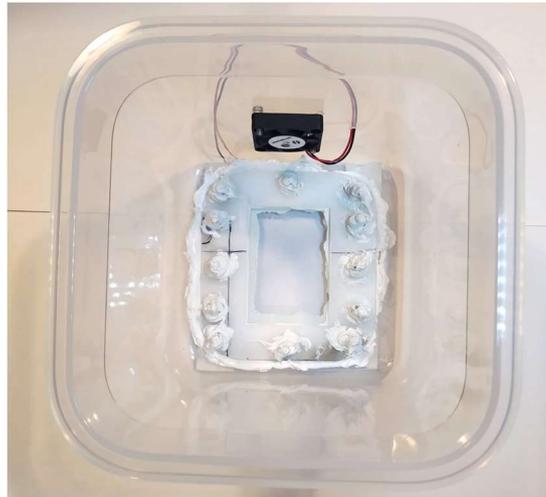


Figura 7.3 Fotografia da visão sobre o topo do recipiente de teste, com a ventoinha de homogeneização gasosa.

Para os testes em ambiente líquido, a fonte de agitação, revela-se essencial, não só para homogeneização da amostra, mas também pelo sensor comercial, que sendo eletroquímico, consome oxigênio no processo de leitura, originando anomalias nas análises feitas. No subcapítulo 3.2 e 3.4 este fenómeno encontra-se explorado de forma mais profunda.

Procedeu-se à utilização de um motor DC (*Legø*) associado ao devido equipamento de alimentação (*Legø*), cujos modelos podem ser observados na Figura 7.4.

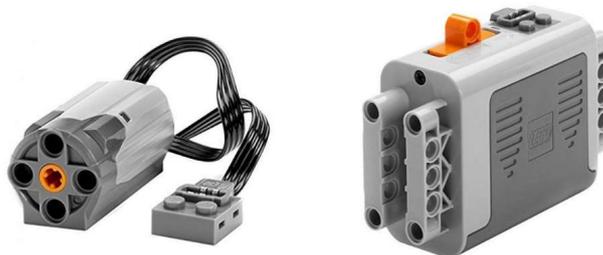


Figura 7.4 À esquerda – Motor Legø Power Function. À direita- Fonte de alimentação Legø.

O motor foi alimentado a 9 V (6 pilhas AA) resultando num output com rotação de 275 rpm. Com peças da mesma marca adaptou-se um sistema de 3 ventoinhas submersas que mostrou ser eficaz na movimentação da água.

O sistema foi incorporado na tampa do *setup* final, a montagem completa pode ser observada na Figura 7.5.

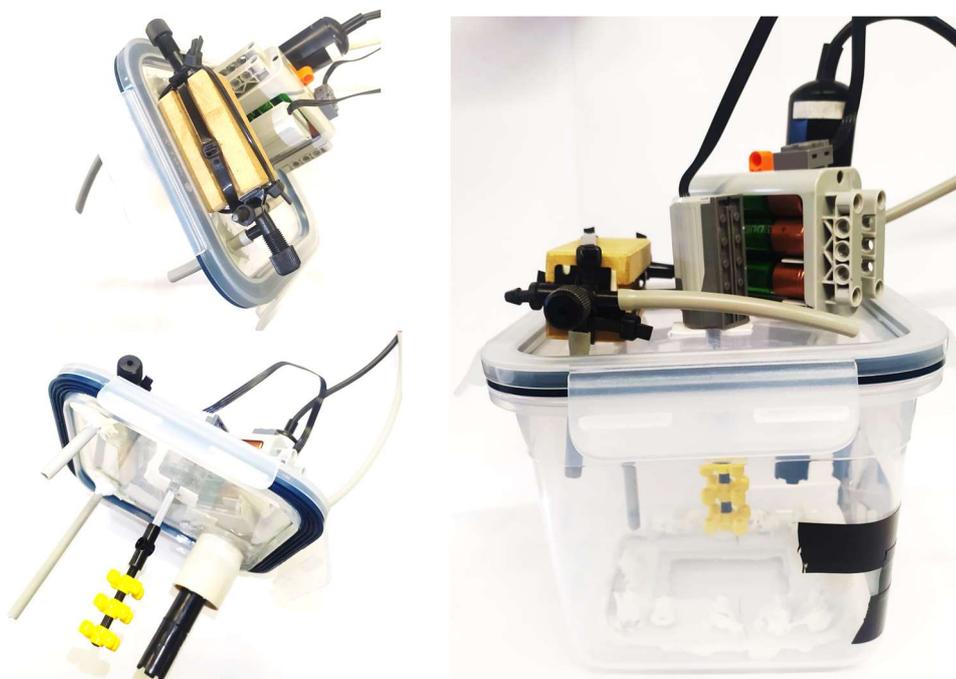


Figura 7.5 Fotografia das diferentes perspetivas da montagem do motor/bateria no recipiente de teste.

Na Figura 7.6 encontra-se representado o *setup* final legendado com a tubagem do gás engarrafado.

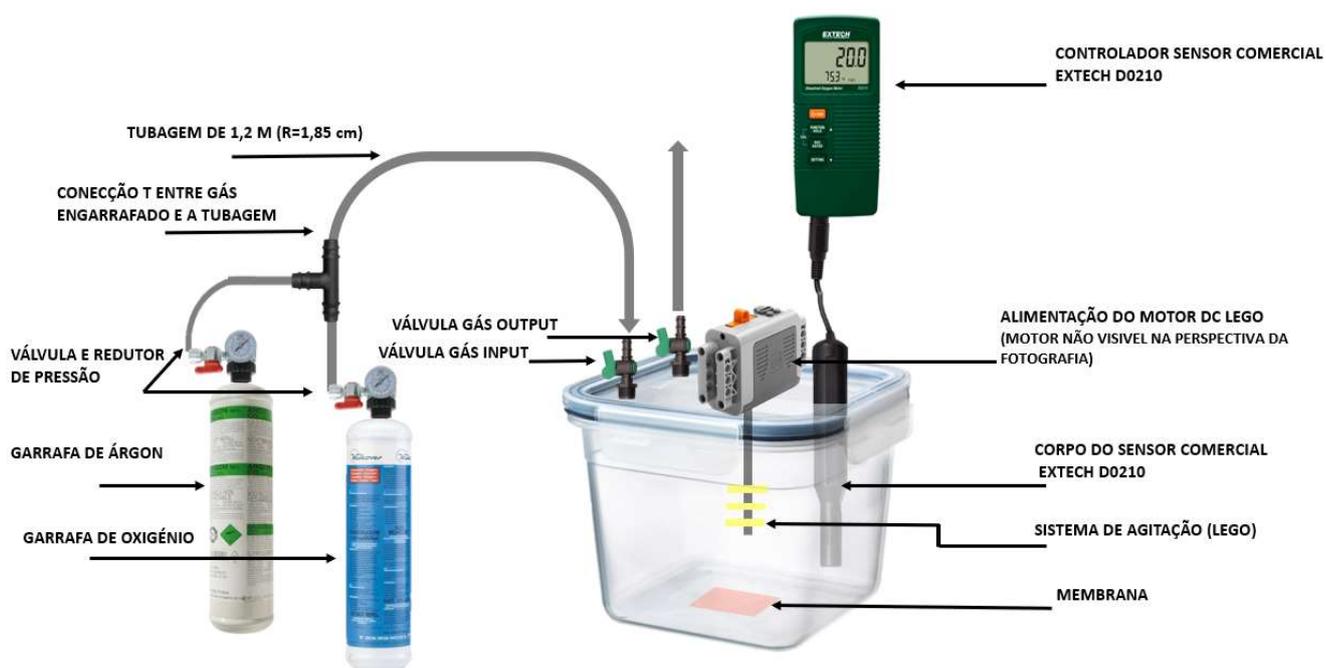


Figura 7.6 Setup final do recipiente isolado associado à tubagem de gás engarrafado.

Conforme é possível observar utilizaram-se duas garrafas de gás (árgon e oxigénio) conectadas ao respetivo regulador. O regulador tem como função transformar as elevadas pressões das garradas (145 bar) numa pressão segura para a sua utilização (10 mbar máximo). O regulador serve também de válvula para controlo do fluxo de gás. Posteriormente estas são conectadas a um conector T para que seja feita a sua ligação a uma mangueira de aproximadamente 1,20 m. A tubagem é conectada a uma válvula de entrada fixa na tampa do recipiente. É também possível observar uma válvula para possibilitar a saída de gás. A ponta de teste do sensor comercial encontra-se fixa na tampa do recipiente e ligada ao monitor de controlo por um fio de comunicação com cerca de 1,5 m. A posição do sensor comercial deve permitir que este se encontre submerso no caso do ambiente líquido. O motor e a alimentação do mesmo, encontram-se na tampa do recipiente, esta é perfurada para que seja possível a passagem do eixo de agitação.

Por fim o *setup* da Figura 6.28 foi colocado dentro de um cubo de MDF (*Medium Density Fiber Board*) cujas faces foram revestidas com papel de alumínio, deixando o mínimo de espaço possível para passagem de cabos e para o acesso da face superior à membrana iluminada. O papel de alumínio que funciona como encapsulamento condutor para eliminar o ruído elétrico, é ligado à massa. A Figura 7.7 representa o protótipo projetado.



Figura 7.7 À esquerda- Setup com isolamento de alumínio. À direita- Pormenor da ligação do encapsulamento de alumínio à massa

Para efetuar os testes de luminescência é necessário inicialmente remover todo o oxigênio presente na amostra. Utilizando o *setup* da Figura 7.6, inicialmente abre-se o regulador da válvula de argon e a válvula de saída, permitindo a passagem de argon para o interior do recipiente. Após a correta calibração do sensor de oxigênio comercial, aguarda-se até o sensor de oxigênio comercial atingir o seu valor mínimo (0,4% no meio gasoso e 0,9 mg/L no meio líquido). No entanto, este valor nem sempre é alcançado, devido à precisão do sensor $\pm 0,4$ mg/L em amostras líquidas e $\pm 0,7\%$ em amostras gasosas.

Este processo demora em média quinze minutos no meio gasoso e cerca de duas horas e meia no meio líquido. Quando o valor mínimo desejado de oxigênio é atingido, desliga-se o regulador da garrafa de argon e a válvula de saída. Nos momentos próximos a esta etapa é normal o valor de oxigênio ainda não estar estabilizado, dessa forma é recomendado esperar dez segundos antes de efetuar leituras. Durante este procedimento é necessária uma fonte de agitação independentemente do meio da amostra, o que permite ao argon misturar-se mais eficazmente.

O sensor final deverá ter a membrana selecionada pelos testes, incorporada no seu encapsulamento. Dessa forma desenhou-se um encapsulamento baseado numa tubagem de PVC cujas extremidades foram tapadas com uma tampa vedado com borracha, conforme a Figura 7.8. Todo o interior do encapsulamento é protegido por alumínio criando uma malha protetora do ruído, esta é conectada à massa do circuito.

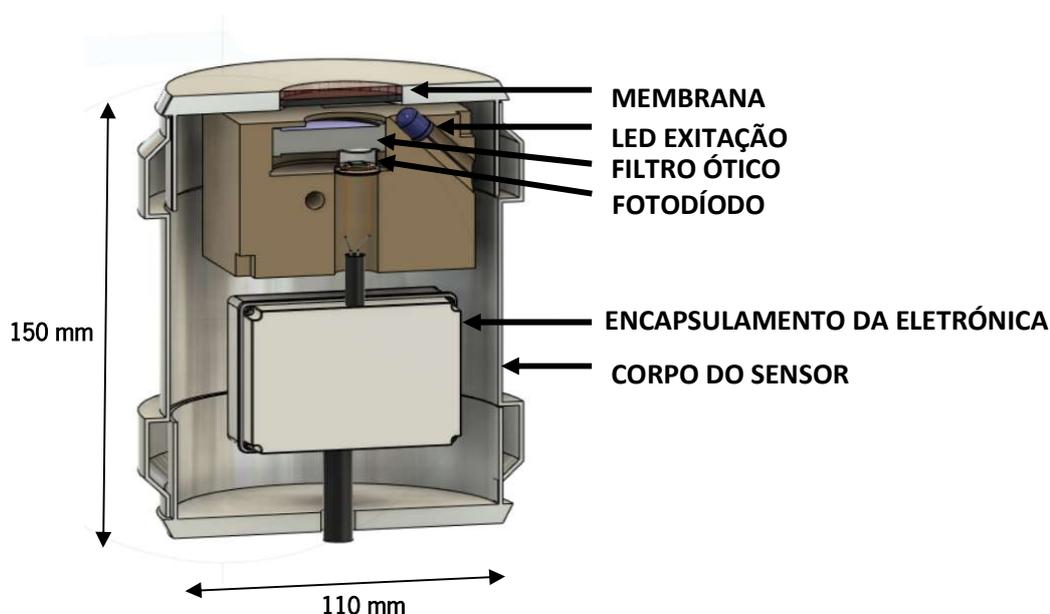


Figura 7.8 Perfil do setup do encapsulamento completo do sensor (Fusion).

Na Figura 7.9 é possível observar uma fotografia do sensor desenvolvido.



Figura 7.9 Fotografia do sensor desenvolvido.

7.1.3 Medição de Absorção

Por transmitância (T) entende-se a quantidade de luz incidente que é transmitida através da amostra (equação 7.1), I_0 significa a intensidade da luz incidente e I significa a intensidade da luz após passar pela amostra, a equação 7.4 descreve o fenômeno físico enunciado.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad 7.4$$

A absorção (A) refere-se à luz que é absorvida pela amostra, a Figura 7.10 demonstra este fenômeno. Ambos os fenômenos de absorção e transmitância relacionam se pela equação 7.5.

$$A = \log_{10} \left[\frac{1}{T} \right] = \log_{10} \left[\frac{I_0}{I} \right] \quad 7.5$$

Quando I é menor que I_0 significa que parte da luz foi absorvida pela amostra. Dessa forma em grande parte das análises a absorção apresenta um valor entre 0 e 1, onde 0 significa que não foi absorvida luz nenhuma e 1 significa que 90% da luz foi absorvida ($\log_{10}(100/10) = 1$), no entanto, é possível que existam valores de absorbância superiores a 1, quando a amostra apresenta um valor de concentração elevado.

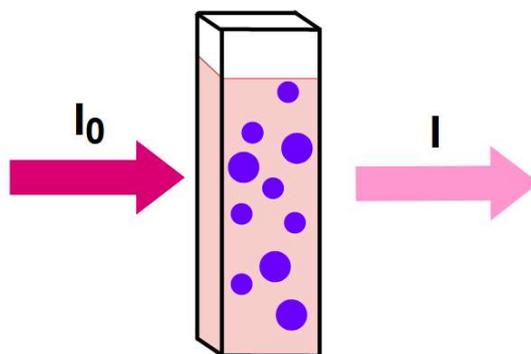


Figura 7.10 Representação do fenômeno da absorção/transmitância.

Segundo a literatura, o indicador PtOEP, apresenta diferentes comprimentos de onda de excitação que podem ser deslocados ou até mesmo anulados consoante a matriz onde são incorporados.

No entanto, normalmente, existem dois comprimentos de onda predominantes um na banda *Soret* (zona azul do espectro visível) e outro na banda *Q* (região de micro-ondas do espectro eletromagnético).

O primeiro teste efetuado com as amostras foi a análise do espectro de absorção de forma a determinar não só os comprimentos de onda de excitação mais adequados, mas também a analisar a diferença entre amostras com espessuras e concentrações diferentes. Dessa forma procedeu-se a um varrimento em todos os comprimentos de onda entre 350 nm e 600 nm, em intervalos de 1 nm, de forma a observar a absorção da amostra.

Em primeiro lugar implementou-se o *setup* descrito pela Figura 7.11 utilizando uma fonte de luz *NEWPORT* conectada a um monocromador *NEWPORT*, fazendo a luz passar por uma fibra *NEWPORT 77563 STD F/S Bundle* até à amostra.



Figura 7.11 Representação da montagem utilizada para análise da absorção.

Posteriormente um fotodiodo *Hamamatsu* ligado a um pico amperímetro *Keithley 487* efetua a leitura de valores de forma a analisar a absorção de luz por cada uma das amostras com resposta gráfica pelo *software Spectronic 2.1.0* (aplicação desenvolvida em *LabView*). A Figura 7.12 demonstra um menu do software utilizado assim como as configurações feitas para o desenvolvimento dos testes.

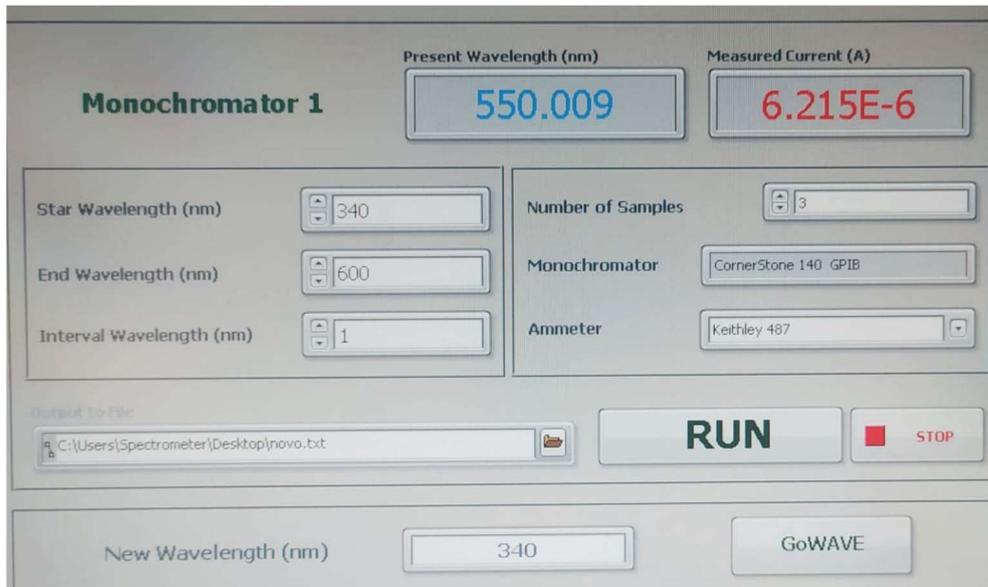


Figura 7.12 Menu do software Spectronic 2.1.0 com os dados associados às leituras de absorção.

Estes testes não necessitam de atmosfera controlada, como os que se seguem, sendo apenas necessário que o valor de oxigénio seja relativamente estável, o que acontece na atmosfera. A literatura baseada em PtOEP aponta que o limite de deteção deste indicador se situa entre 0-10% de concentração [141], pelo que, o oxigénio à atmosfera (20,9%) se encontra num limite de escala e pequenas variações não vão ser percecionadas. O subcapítulo 7.2 sumaria os resultados destes testes.

7.1.4 Medições de Luminescência com Espectrofotômetro

Os primeiros testes de luminescência foram realizados utilizando o recurso de um espectrofotômetro- AvaSoft Avaspec ULS2048 XL-RS-EVO. Este equipamento funciona em conjunto com o software AvaSoft que permite analisar o espectro de emissão em diferentes comprimentos de onda. O setup montado pode ser analisado na Figura 7.13 .

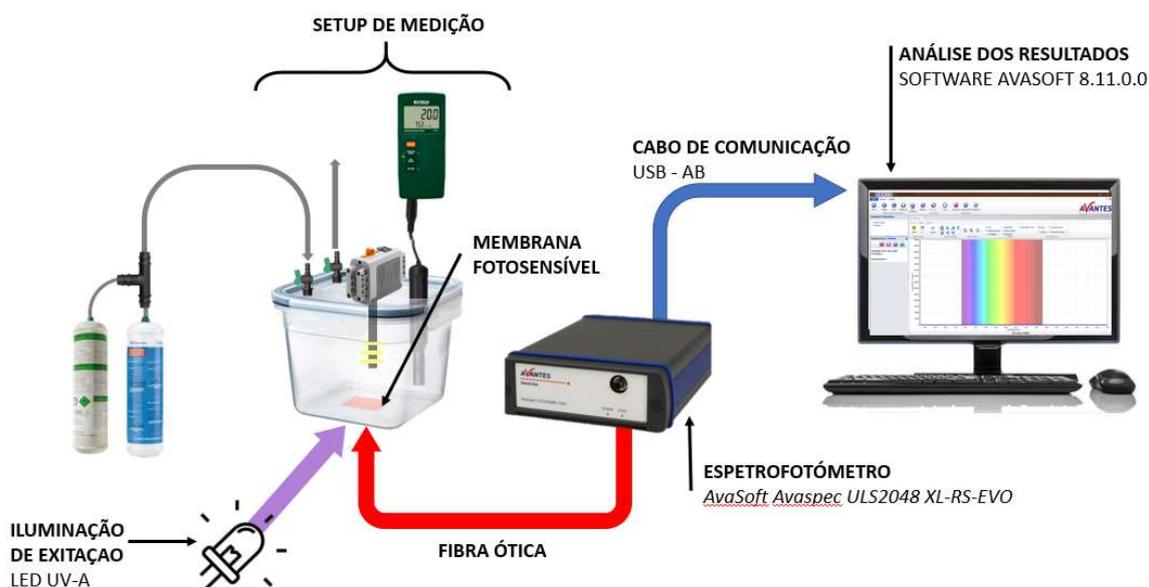


Figura 7.13 Setup utilizado para análise da luminescência das membranas.

Os valores recolhidos pelo *software* são guardados em formato Excel e posteriormente analisados no mesmo programa. Esta análise é especialmente útil pois permite obter uma representação visual da variação da intensidade quase em tempo real, sendo uma metodologia de elevado interesse para os primeiros testes desenvolvidos. Permite ainda comparar espectros guardados, efetuar correções em tempo real do *dark* e da referência. Os valores apresentados nos resultados resultam do número de “contagens” efetuadas pelo equipamento, sendo que o tempo de integração é igual em todos os testes para serem comparáveis.

7.1.5 Medições de Luminescência com Amplificador *Lock-in*

O *lock-in* utilizado (*Zurich Instruments HF2LI*) permite efetuar *Dual Phase Demodulation*, o que significa que é possível obter a amplitude e o desfasamento do sinal simultaneamente desde que este esteja na mesma frequência que o sinal de referência. Este conteúdo é aprofundado no capítulo 5.3.

Para utilizar o aparelho utiliza-se a interface *LabOne* que permite definir os parâmetros do *lock-in*, nomeadamente o sinal de referência (ou referência externa), características do filtro passa-baixo, o sinal de entrada, entre outras. A interface permite ainda analisar o sinal recebido, conforme é explicado nos parágrafos seguintes.

Em primeiro lugar define-se o input, nomeadamente o seu máximo, o *lock-in* satura a partir de 1,6 V (apesar de tolerar sinais até 2 V), pelo que essa a gama de medição selecionada no setor *Signal Inputs- Input 2*.

O *lock-in* utilizado permite que seja gerada internamente uma referência que pode ser definida conforme a necessidade do utilizador. Para o caso concreto da aplicação desenvolvida este oscilador foi definido para os parâmetros da Figura 7.14.

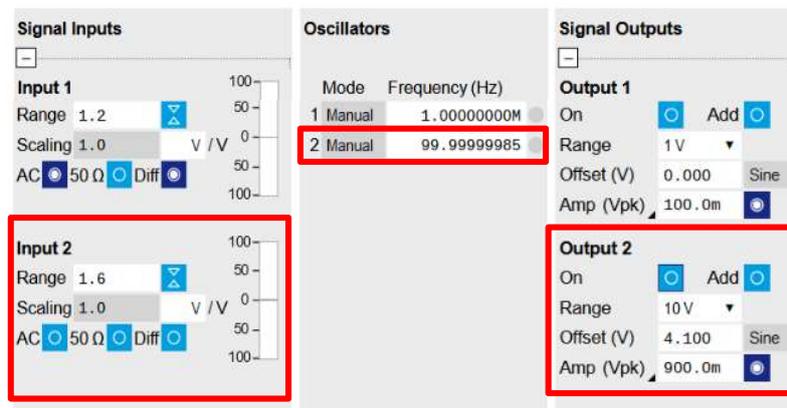


Figura 7.14 Parâmetros do *LabOne* utilizados.

No setor *Oscillators- 2* é definida a frequência do oscilador. Conforme a equação 4.7 este valor depende dos tempos de vida máximo e mínimo da PtOEP. Estes parâmetros sendo desconhecidos é necessário proceder ao teste de algumas frequências de forma a apurar a mais adequada. Testaram-se as frequências de 100, 500, 1k, 5k, 10k, 11k Hz tendo em conta os tempos de vida da PtOEP [141]–[143].

No setor *Signal Outputs- Output 2* os parâmetros foram baseados no *datasheet* do LED que apresenta *Minimum Forward Voltage* de 3,2 V , pelo que o offset da senoide de alimentação foi definido para 4,1 V com uma V_{pk} (Tensão pico a pico) de 0,9 V. Desta forma o LED nunca desliga, variando a sua intensidade entre um máximo e um mínimo.

No setor *Demodulators- Demod 5* (associado ao sinal de *input 2*) define-se os parâmetros do filtro passa baixo (ordem do filtro e frequência de corte) assim como a taxa de transmissão dos dados [144], conforme a Figura 7.15.

Reference	Frequencies	Input	Low-Pass Filters	Data Transfer		
Mode	Osc	Harm Demod Freq (Hz)	Phase (deg)	Signal	Order BW NEP Sinc	En Rate (Sa/s)
1 Manual	1	1.00000000M	0.000	Sig In 1	4 6.811	224.9
2 Manual	1	1.00000000M	0.000	Sig In 1	4 6.811	0.000
3 Manual	1	1.00000000M	0.000	Sig In 1	4 6.811	0.000
4 Manual	2	99.99999985	0.000	Sig In 2	4 6.811	0.000
5 Manual	2	99.99999985	0.000	Sig In 2	4 973.0m	7.196k
6 Manual	2	99.99999985	0.000	Sig In 2	4 6.811	0.000
7 Manual	1	1.00000000M		Sig In 1		
8 Manual	2	99.99999985		Sig In 2		

Figura 7.15 Parâmetros do LabOne utilizados (continuação).

O *lock-in* apresenta diversos *tab's* que permitem analisar o sinal recebido sobre a forma de coordenadas polares/retangulares, *scope*, entre outras. Os dados recolhidos foram exportados para *excel* de forma a facilitar a sua análise. O capítulo 7.4.2 é possível analisar os resultados dos testes de luminescência em ambiente gasoso obtidos com recurso ao amplificador *lock-in*.

7.2 Resultados de Absorção

A Figura 7.16 apresenta a absorção em função do comprimento de onda de 3 amostras de membrana de PDMS com espessuras semelhantes, para diferentes concentrações de PtOEP (0,20 mm para 363 ppm e 545 ppm de concentração e 0,15 mm para 727 ppm de concentração), utilizando THF como solvente.

É possível observar dois picos de absorção distintos em comprimentos de onda de aproximadamente 382 nm e 538 nm, estes dados estão em conformidade com a literatura atual [142] embora com a existência de pequenos desvios (na ordem dos 5 nm). Esta característica verifica-se em todas as membranas.

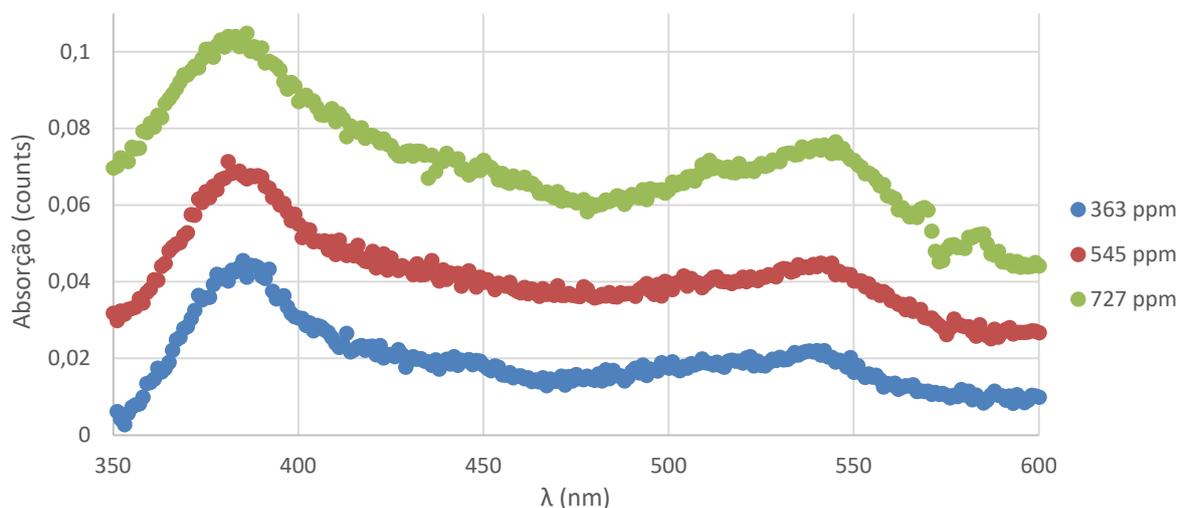


Figura 7.16 Absorção típica da PtOEP para diferentes concentrações com espessuras semelhantes, nomeadamente 0,2mm para as membranas de 363 ppm e 545 ppm de concentração e 0,15 mm para a membrana de 727 ppm de concentração, utilizando THF como solvente.

Na Figura 7.16 é possível também analisar que quanto maior for a concentração maior é a absorção da mesma. Este fenómeno é explicado pela Lei de Lambert – Beer da equação 7.6.

$$A = \frac{4\pi k}{\lambda} lc \quad 7.6$$

Onde A representa a absorção, k o coeficiente de extinção, λ o comprimento de onda de excitação, l a distância atravessada pela luz e c a concentração da substância absorvente.

Os gráficos da Figura 7.17 e da Figura 7.18, apresentam a absorção em função do comprimento de onda, comparando diferentes solventes para igual espessura da membrana (0,65 mm no caso da Figura 7.17 e 0,50 mm no caso da Figura 7.18) e igual concentração (727 ppm em ambas as figuras).

As membranas fabricadas com THF apresentam maior absorção em comparação com as fabricadas com tolueno, para ambas espessuras e ao longo de todo o espectro.

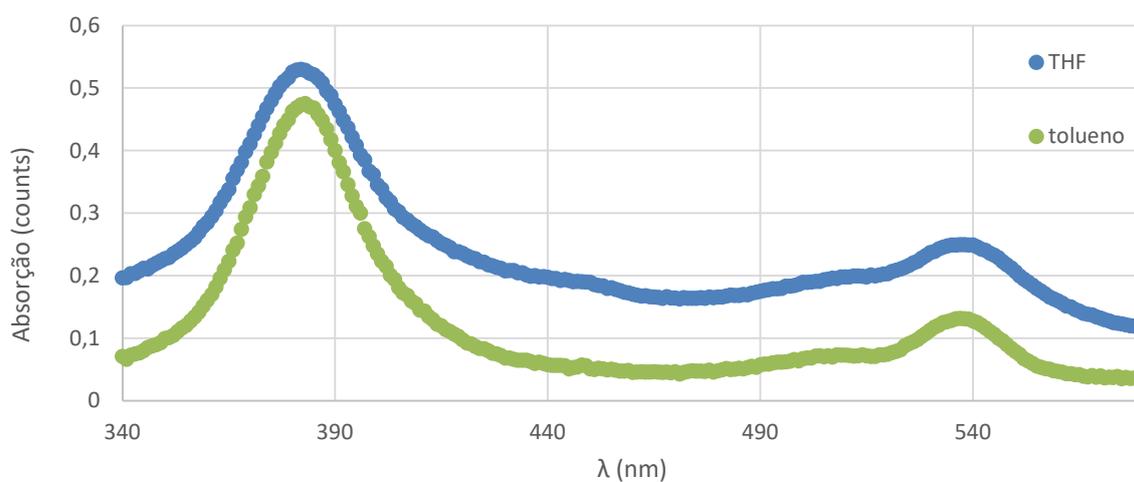


Figura 7.17 Espectro de absorção das membranas com concentração de 727 ppm, igual espessura (0,65 mm) quando utilizados diferentes solventes (THF e tolueno).

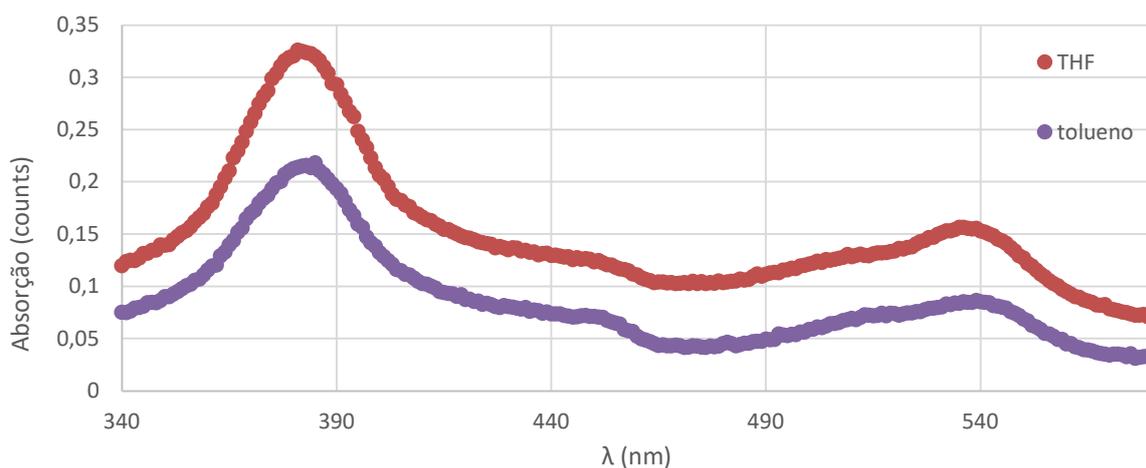


Figura 7.18 Espectro de absorção das membranas com concentração de 727 ppm, igual espessura (0,5 mm) quando utilizados diferentes solventes (THF e tolueno).

A Figura 7.19 e a Figura 7.20 demonstram a relação entre a espessura (0,1 – 1,9 mm) e a absorção das membranas utilizando o solvente tolueno e THF respectivamente, para diversas concentrações de indicador (181, 363, 545 e 727 ppm). A absorção foi medida a 382 nm.

Entre as duas figuras, é possível observar uma clara diferença na linearidade dos valores, sendo que a absorção em membranas preparadas com THF é mais linear em relação à espessura. Este resultado pode ter origem na homogeneidade das membranas, ou seja, o processo de fabrico utilizado pode divergir em ambos os solventes, e ser mais uniforme no THF. É também possível observar que para uma maior espessura a absorção é também maior.

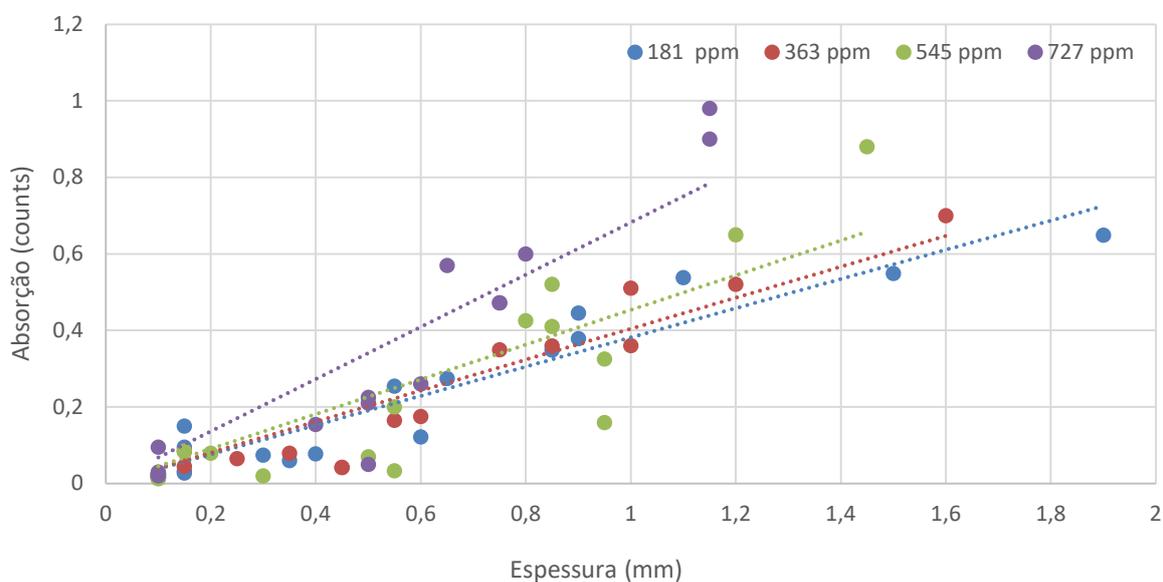


Figura 7.19 Relação entre a absorção e a espessura, para membranas fabricadas utilizando o solvente tolueno, com concentrações de indicador de 181, 363, 544 e 727 ppm.

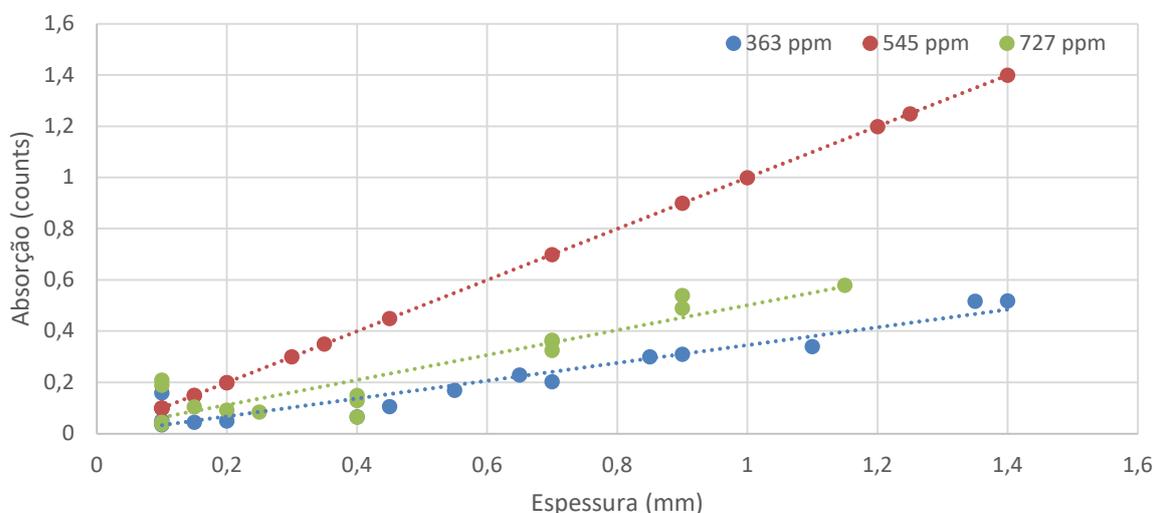


Figura 7.20 Relação entre a absorção e a espessura, para membranas fabricadas utilizando o solvente THF, com concentrações de indicador de 363, 544 e 727 ppm.

7.3 Resultados de Espectro de Luminescência

Na Figura 7.21, na Figura 7.22 e na Figura 7.23 é possível observar a variação da intensidade luminosa de luminescência entre diferentes membranas tolueno, ao longo de um espectro compreendido entre 635 nm e 658 nm para três concentrações de oxigênio diferentes 0,6%, 1,3% e 2%.

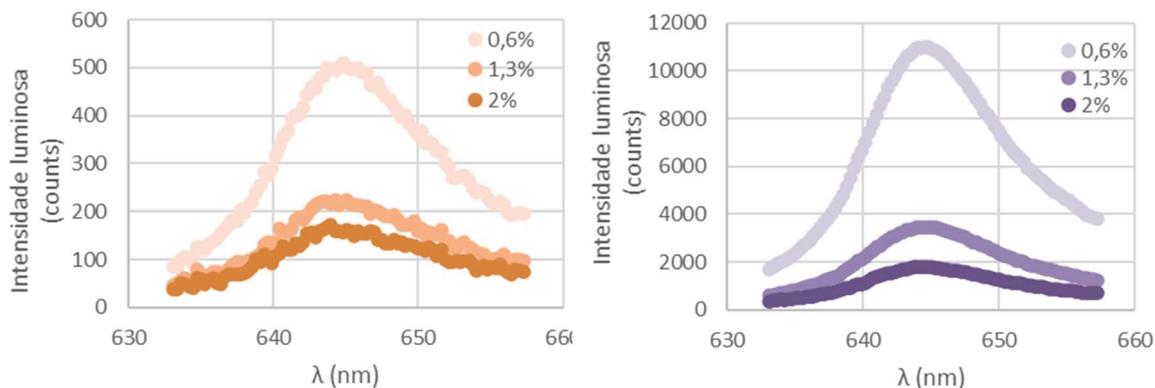


Figura 7.21 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de tolueno com concentração 363 ppm e espessura 0,15 mm (esquerda) e 1,25 mm (direita).

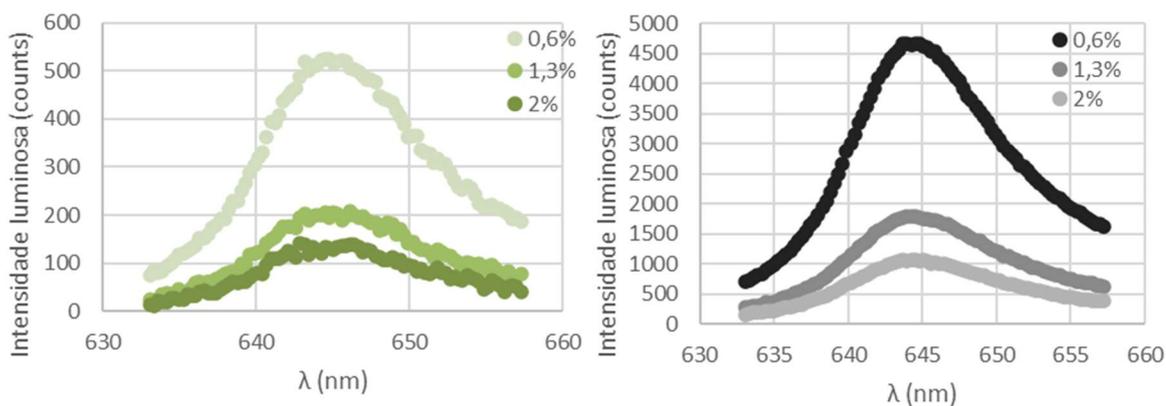


Figura 7.22 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de tolueno com concentração 545 ppm e espessura 0,15 mm (esquerda) e 1,4 mm (direita).

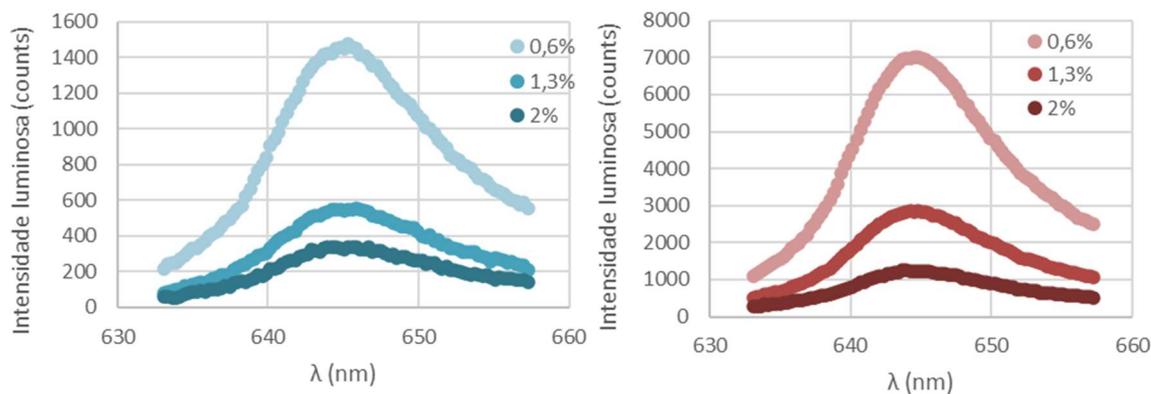


Figura 7.23 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de tolueno com concentração 727 ppm e espessura 0,15 mm (esquerda) e 1,15 mm (direita).

Na Figura 7.24, na Figura 7.25 e na Figura 7.26 é possível observar a variação da intensidade luminosa de luminescência entre diferentes membranas THF, ao longo de um espectro compreendido entre 635 nm e 658 nm para três concentrações de oxigênio diferentes 0,6%, 1,3% e 2%.

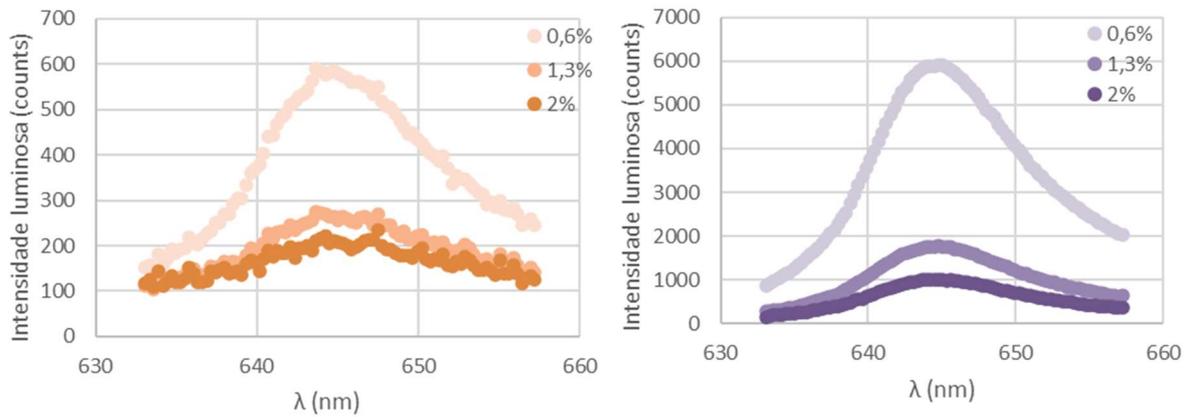


Figura 7.24 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de THF com concentração 363 ppm e espessura 0,2 mm (direita) e 1,4 mm (esquerda).

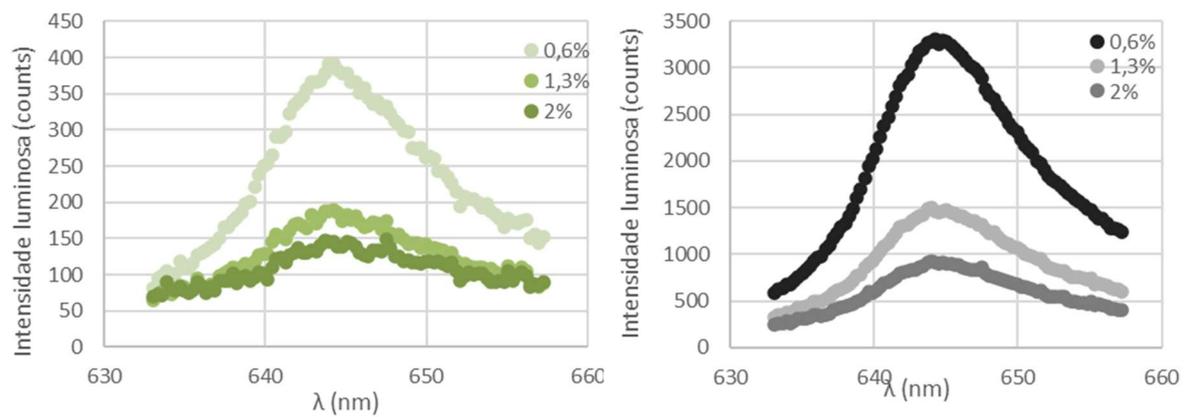


Figura 7.25 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membrana de THF com concentração 727 ppm e espessura 0,15mm.

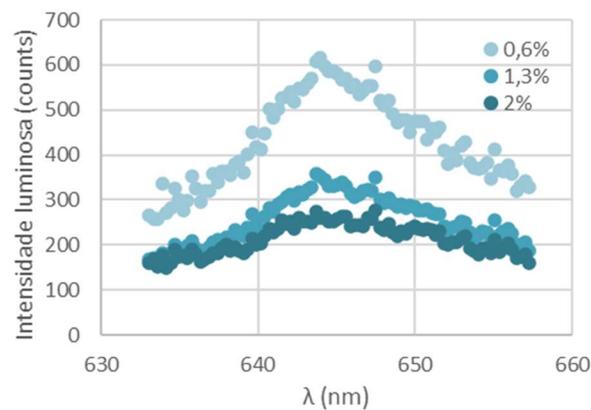


Figura 7.26 Variação da intensidade luminosa para diferentes comprimentos de onda em membranas de THF com concentração 545 ppm e espessura 0,2 mm (direita) e 1,4 mm (esquerda).

A Figura 7.26 encontra-se incompleta por inviabilidade dos dados recolhidos.

Em ambos os solventes, a maior luminescência é representada pela mesma concentração de indicador, nomeadamente 363 ppm de PtOEP, e a mesma espessura (1,25 mm no caso do tolueno e 1,40 mm no caso do THF), no mesmo intervalo de concentração de oxigénio gasoso ($PO_2 = 0,6\%$). No entanto para o solvente tolueno é cerca de 1,8 vezes superior.

É possível também observar que as menores concentrações de oxigénio correspondem maiores valores de luminescência.

7.4 Testes em Ambiente Gasoso

Apesar do objetivo deste trabalho ser o desenvolvimento de um sensor de oxigénio dissolvido em meio marinho em particular zonas OMZ (*oxygen minimum zones*), optou-se por inicialmente testar o sensor em ambiente gasoso, pela simplicidade acrescida de manuseamento, comparativamente ao ambiente líquido. Os testes em ambiente gasoso foram realizados com o *setup* descrito na Figura 7.6, para obter diferentes concentrações de oxigénio. A concentração de oxigénio foi medida com o sensor comercial *Extech DO210*. Apesar da baixa precisão deste equipamento, foi utilizado como referência por indisponibilidade de equipamento de maior precisão.

No anexo XI é possível encontrar todas as especificações do equipamento utilizado.

7.4.1 Resultados com Espectrofotómetro

Todos os gráficos deste subcapítulo foram obtidos com recurso a *excel*/após a extração de dados com o espectrofotómetro. A Figura 7.27, Figura 7.28, Figura 7.29 e Figura 7.30 resumiam os resultados de intensidade luminosa observada para o pico do espectro na banda de *Soret* (382 nm).

A Figura 7.27 representa um gráfico dos resultados obtidos em membranas com diferentes concentrações de indicador (363, 545, 727 ppm) com igual espessura (0,15 mm) e igual solvente (tolueno). Os dados do eixo y sofreram normalização. Foi utilizado o inverso da intensidade luminosa no eixo das ordenadas (medida no comprimento de onda no pico de luminescência, pois é expectável que a intensidade seja aproximadamente inversamente proporcional à concentração de oxigénio, conforme apresentado na equação 4.2).

Para diferentes concentrações de oxigénio compreendidas entre sensivelmente 0,4% e 4,5% observa-se a variação de intensidade luminosa para cada membrana. Conforme é possível observar, a intensidade luminosa é máxima para a membrana com concentração de 72% com 0,15 mm fabricada com tolueno.

A Figura 7.28 representa um gráfico dos resultados obtidos em membranas com diferentes concentrações de indicador, espessura semelhante (1,25 mm para 363 ppm 1,20 mm para 545 ppm e 1,15 mm para 727 ppm e igual solvente - tolueno). Os dados do eixo y sofreram normalização. Para diferentes concentrações de oxigênio compreendidas entre sensivelmente 0,4% e 20% observa-se a variação de intensidade luminosa, para cada membrana.

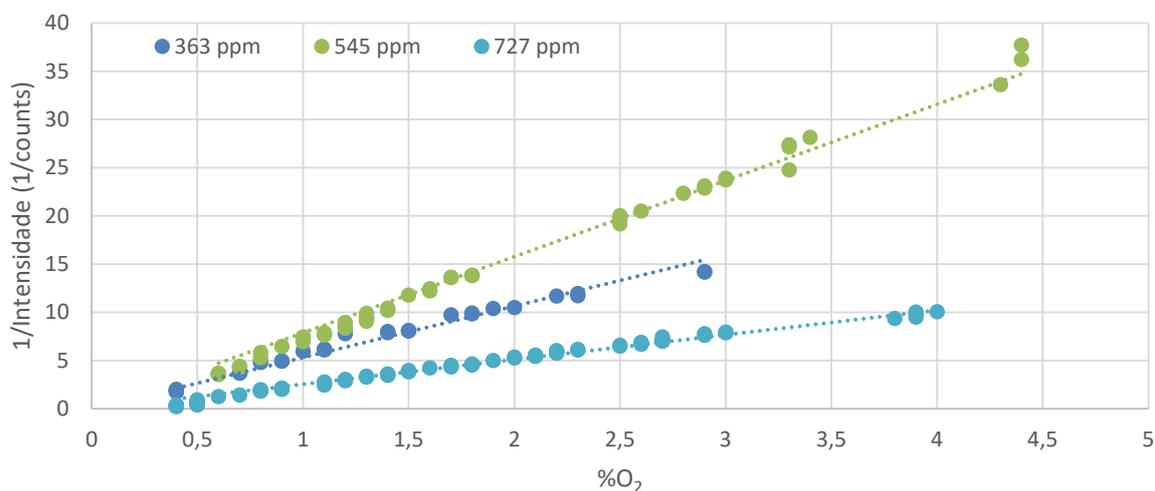


Figura 7.27 Intensidade luminosa das membranas fabricadas recorrendo ao solvente tolueno com diferentes concentrações, nomeadamente 363, 545 e 727 ppm para a mesma espessura (0,15 mm) em função de diferentes concentrações de oxigênio.

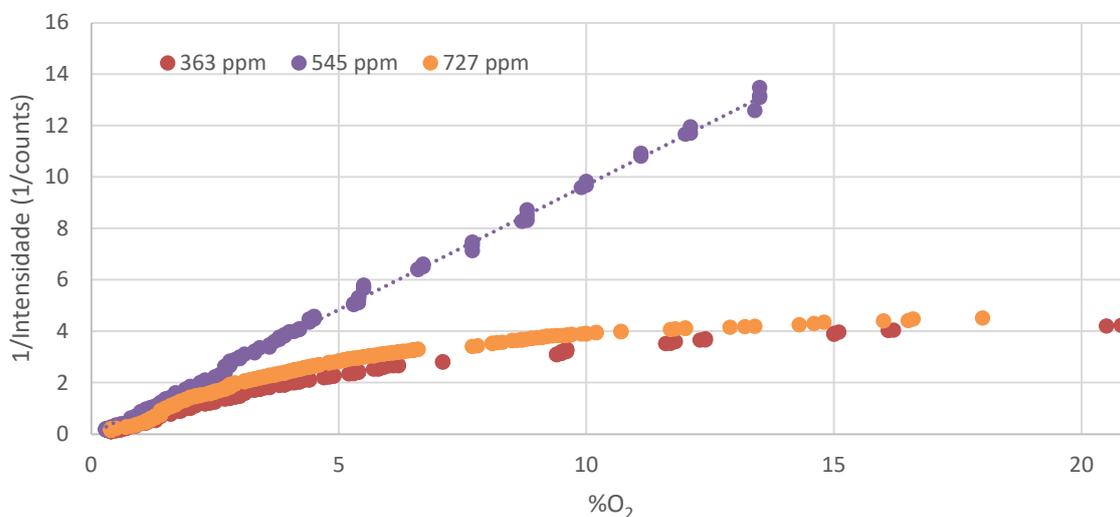


Figura 7.28 Intensidade luminosa das membranas fabricadas com o solvente tolueno com diferentes concentrações, nomeadamente 363, 545 e 725 ppm para a espessura semelhantes (1,25 mm para 363 ppm 1,2 mm para 545 ppm e 1,15 para 727 ppm) em função de diferentes concentrações de oxigênio.

Comparando o gráfico da Figura 7.27, com o gráfico da Figura 7.28, verifica-se que um aumento de espessura proporciona um aumento de luminescência, dado existirem mais moléculas de indicador para proporcionar maior luminescência.

Mas uma maior espessura leva também a alterações na homogeneidade da reação que ocorre nas membranas. Existe uma maior dificuldade do oxigênio em alcançar as moléculas de indicador. Este fenômeno traduz-se numa redução da linearidade do inverso da intensidade com a concentração de oxigênio (apesar da gama de oxigênio ser diferente em ambos os gráficos, a maior linearidade dos resultados da Figura 7.28 é ainda notória).

A Figura 7.29 e Figura 7.30 representam a variação de intensidade luminosa em unidades arbitrárias em função da concentração de oxigênio para três membranas com concentrações de indicador diferentes (igual solvente - THF). Em ambos os gráficos os dados do eixo y sofreram normalização. O gráfico da Figura 7.29 sumaria os resultados das membranas com menor espessura (0,2 mm para 363 ppm e 545 ppm e 0,15 mm para 727 ppm) enquanto o gráfico da Figura 7.30 representa os resultados das membranas com maior espessura (1,4 mm para 363 ppm e 545 ppm e 1,15 mm para 727 ppm).

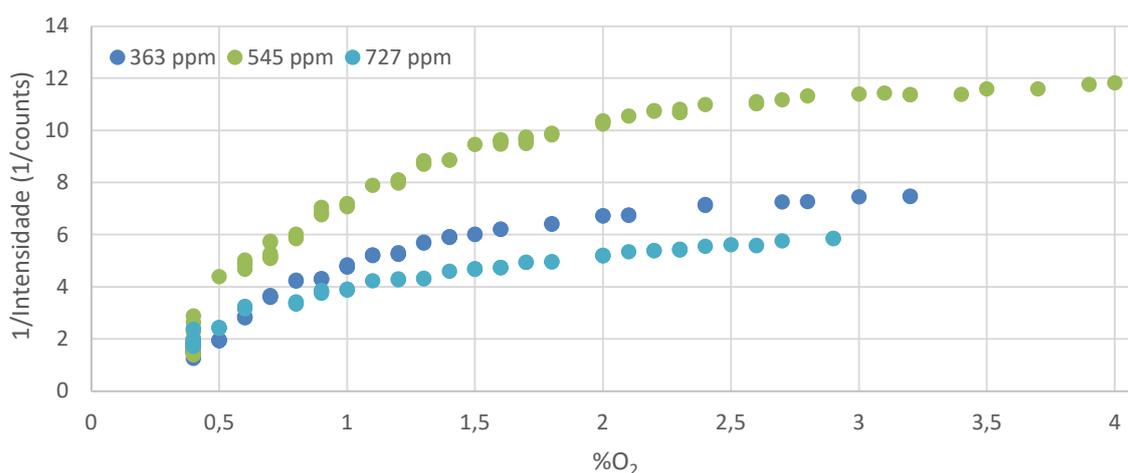


Figura 7.29 Intensidade luminosa das membranas de THF com diferentes concentrações, nomeadamente 363, 545 e 727 ppm para a espessura semelhantes (0,2 mm para 363 ppm e 545 ppm e 0,15 mm para 727 ppm) em função de diferentes concentrações de oxigênio.

Comparativamente aos resultados dos gráficos da Figura 7.27 e da Figura 7.28 continua a observar-se, em ambos os gráficos da Figura 7.29 e da Figura 7.30, uma maior intensidade luminosa nas membranas com maior concentração de indicador. Dessa forma é possível afirmar que uma maior concentração de indicador leva a intensidades de luminescência mais fortes independentemente do solvente utilizado.

Analisando os gráficos deste capítulo é possível afirmar também que para espessuras maiores é possível alcançar gamas de medição maiores, nomeadamente até 20%. Estes valores mais elevados de oxigénio não são detetados em membranas mais finas, pois a resposta do sensor a estes valores fica constante. As membranas mais espessas apresentam valores de intensidade mais elevados que no caso do THF podem ser cerca de 5,5 vezes superiores e no caso do tolueno 20 vezes superiores (note-se que o eixo vertical representa o inverso da intensidade).

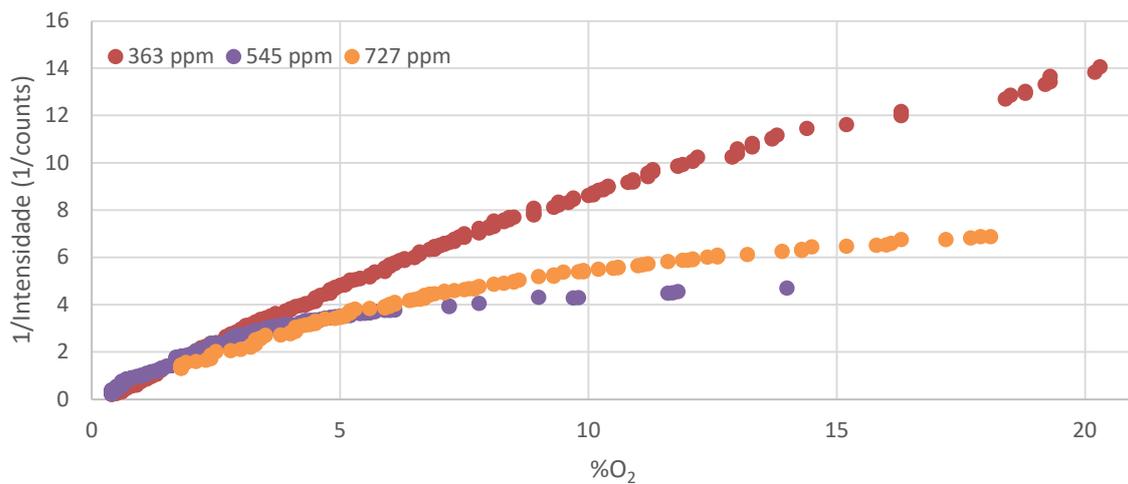


Figura 7.30 Intensidade luminosa das membranas de THF com diferentes concentrações, nomeadamente 363, 545 e 727 ppm para a espessura semelhantes (1,4 mm para 363 ppm e 545 ppm e 1,15 mm para 727 ppm) em função de diferentes concentrações de oxigénio.

A Tabela 7-3 e a Tabela 7-4 resumiam as diferentes propriedades analisadas na Figura 7.28, na Figura 7.27, na Figura 7.29 e na Figura 7.30, com o objetivo de selecionar duas membranas de melhor desempenho, de solventes distintos para utilização nos testes. É possível comparar a influência da concentração e da espessura na intensidade luminosa, na linearidade e gama de medição.

Tabela 7-3 Análise da influência da concentração e espessura na intensidade, linearidade e gama de medição das membranas fabricadas com o solvente tolueno.

CONCENTRAÇÃO de INDICADOR (ppm)	ESPESSURA (mm)	INTENSIDADE MÁXIMA ¹ (counts)	LINEARIDADE	GAMA DE MEDIÇÃO ²
363	0,15	56636	Linear	0,4 - 3%
	1,25	1008432	Não linear	0,4 - 15%
545	0,15	28297	Linear	0,4 - 4,5%
	1,2	600882	Linear	0,4 - 14%
727	0,15	444407	Linear	0,4 - 4%
	1,15	664118	Não linear	0,4 - 10%

¹Para o valor mínimo da gama de medição (0,4%)

²Em ambiente gasoso

Tabela 7-4 Análise da influência da concentração e espessura na intensidade, linearidade e gama de medição das membranas fabricadas com o solvente THF.

CONCENTRAÇÃO de INDICADOR (ppm)	ESPESSURA (mm)	INTENSIDADE MÁXIMA ¹ (counts)	LINEARIDADE	GAMA DE MEDIÇÃO ²
363	0,2	78731	Não linear	0,4 - 3%
	1,4	468993	Aprox. linear	0,4 - 21%
545	0,2	71500	Não linear	0,4 - 4%
	1,4	441400	Não linear	0,4 - 12%
727	0,15	57670	Não linear	0,4 - 2,9%
	1,15	76074	Não linear	0,4 - 18%

¹Para o valor mínimo da gama de medição (0,4%)

²Em ambiente gasoso

Conforme é possível observar as membranas com respostas mais lineares pertencem maioritariamente ao grupo de amostras fabricadas com tolueno, e com espessuras menores (0,15 mm). A linearidade é um fator de análise que reflete a homogeneidade da membrana, descrevendo se o indicador foi bem disperso. Em ambas as tabelas as membranas com maior espessura apresentam maiores intensidades relativamente às com menor espessura.

É possível também analisar que em ambas as tabelas as membranas com concentração 727 ppm em norma apresentam valores de intensidade luminosa inferior às restantes concentrações. O que significa que nem sempre o uso de maiores concentrações resulta em maiores intensidades luminosas, relevando que existe um valor ótimo entre 363 e 545 ppm. Este parâmetro é especialmente importante pois o indicador é o material mais dispendioso do sensor.

Da Tabela 7-3, selecionou-se a membrana com concentração 545 ppm e espessura 1,2 mm visto que tem um comportamento linear e apesar de não ser a membrana com maior intensidade luminosa, apresenta uma gama de medição superior à membrana de concentração 727 ppm e espessura 1,15 mm. Apesar do valor de intensidade ser de extrema relevância, a eletrónica desenvolvida consegue detetar estes valores. É possível também analisar que a membrana selecionada não é linear, no entanto a gama de medição é significativamente superior, e o processamento de eletrónica é capaz de ultrapassar este dilema.

Da Tabela 7-4, selecionou-se a membrana de concentração 363 ppm e espessura 1,4 mm pois apresenta a maior intensidade luminosa e a maior gama de medição, sendo que é também a que apresenta a relação mais linear.

As membranas selecionadas estão apresentadas a negrito nas tabelas.

7.4.2 Resultados com Amplificador *Lock-In*

Os seguintes gráficos da Figura 7.31 e da Figura 7.32 apresentam os resultados das leituras de módulo e desfasamento, respetivamente, para a mesma membrana (363 ppm 1,4 mm THF) em ambiente gasoso, consoante a variação de oxigénio. A membrana foi excitada com o LED UV descrito, variando a intensidade a várias frequências entre 100 Hz e 10k Hz e os resultados obtidos (amplitude e desfasamento da fotoluminescência) obtidos com um amplificador *lock-in* (utilizando o procedimento descrito em 7.1.5).

A amplitude do sinal de luminescência à saída do amplificador de transimpedância (R) diminui com o aumento do oxigénio, como seria expectável pela equação de *Stern-Volmer* (equação 4.2). Verifica-se também uma variação do desfasamento.

É possível ainda analisar que quanto maior for a frequência de excitação, maior é o valor do módulo e desfasamento e maior é a diferença entre o módulo associado ao maior valor de oxigénio (15,3%) e o menor valor de oxigénio (0,5%), traduzindo-se em maior sensibilidade do sensor. Para o intervalo de oxigénio compreendido entre 0,5 – 0,8% de oxigénio, em ambos os casos é possível observar que a membrana é claramente mais sensível, e a sua resposta tende a estabilizar numa horizontal revelando falta de sensibilidade para concentrações de oxigénio muito elevadas (> 6%).

Comparando a Figura 7.31 e a Figura 7.32 é possível também observar que no intervalo 0,5 – 0,8% de oxigênio o módulo apresenta uma variação significativamente superior ao desfasamento, e para valores superiores a 0,8% de oxigênio o gráfico do módulo apresenta um declive maior do que o do desfasamento.

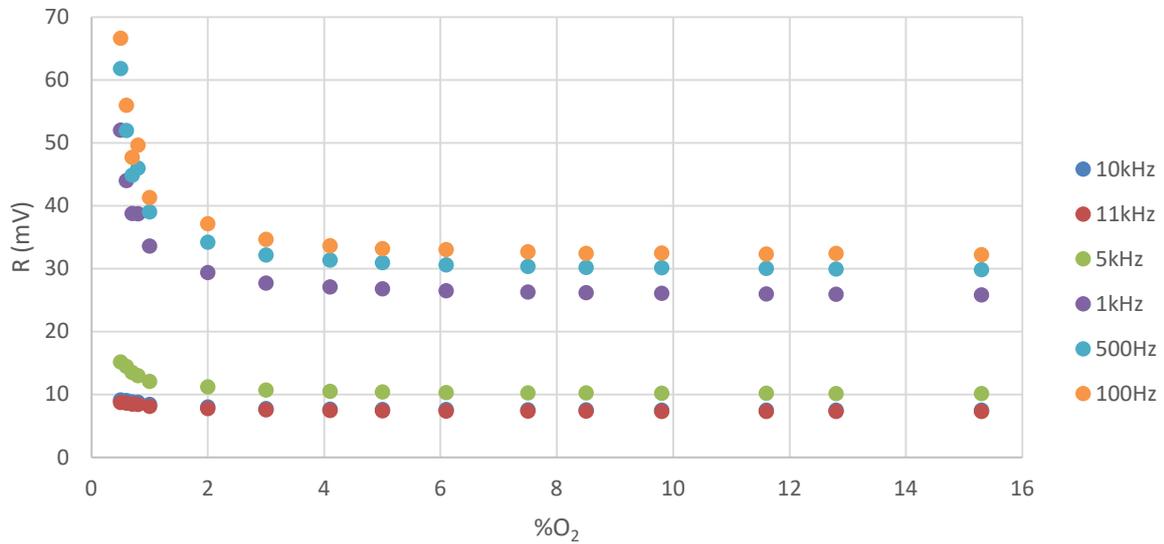


Figura 7.31 Módulo do sinal sensor em função da variação de oxigênio, para a membrana de concentração 363 ppm com espessura 1,4 mm e THF em ambiente gasoso.

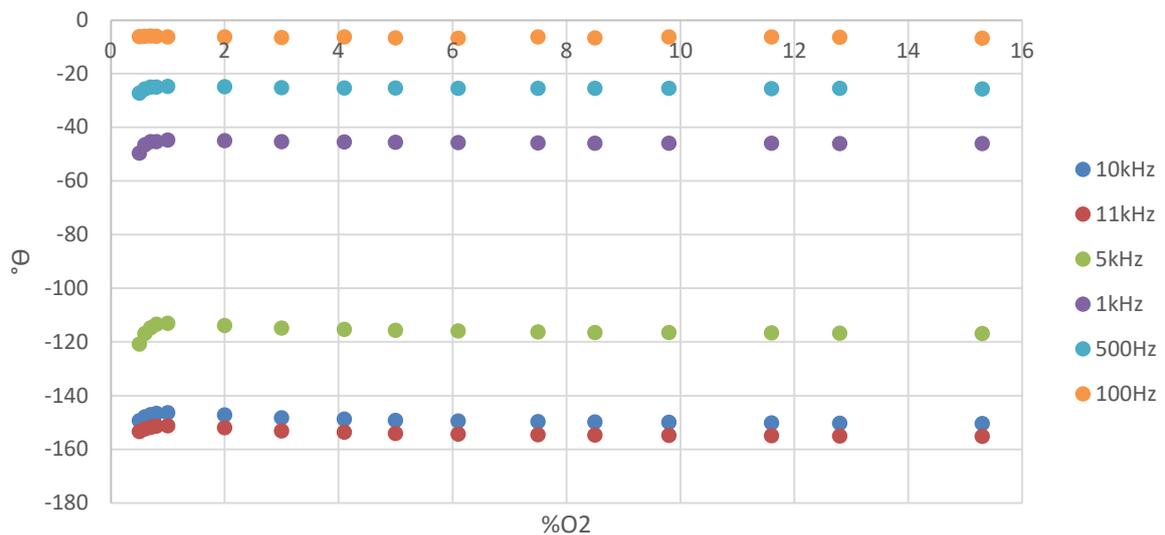


Figura 7.32 Desfasamento do sinal sensor em função da variação de oxigênio, para a membrana de concentração 363 ppm com espessura 1,4 mm e THF em ambiente gasoso.

A Figura 7.33 representa o atraso da luminescência em função da variação de oxigênio gasoso, com detalhe aproximado nas frequências de 1 kHz e 5 kHz. O atraso foi obtido através da fase e frequência das imagens anteriores.

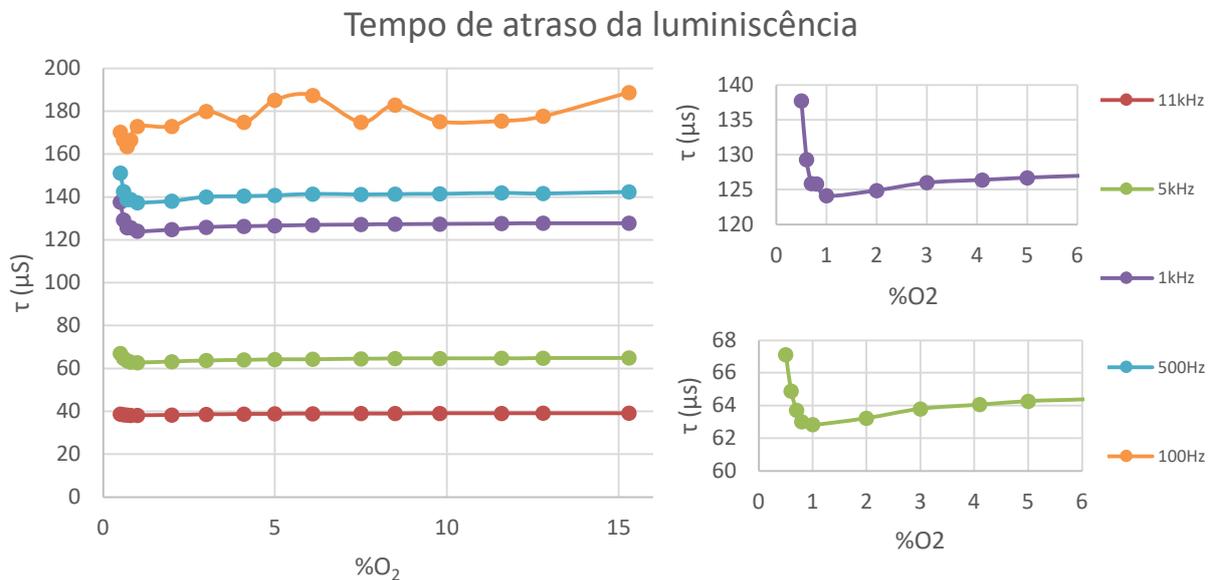


Figura 7.33 Atraso da luminescência em função da concentração de oxigênio para diferentes frequências, nomeadamente 100, 500, 1k, 5k e 11k Hz, com detalhe à direita nas frequências de 1kHz e 5kHz.

Pela Equação de *Stern-Volmer* (equação 4.2), era expectável uma relação inversamente linear entre o atraso (τ) e a concentração de oxigênio. No entanto, conforme é possível analisar, não se verifica esta relação. Também não existe relação entre o atraso da luminescência e a frequência utilizada. Esta falta de concordância com a teoria pode dever-se ao facto de chegar ao fotodíodo dois sinais, um de fotoluminescência com expectável e outro devido a reflexão e dispersão da luz de excitação na membrana. Enquanto que a luminescência deveria apresentar o atraso previsto, a reflexão e dispersão está em fase com a excitação. A utilização da amplitude, através do método de medição de intensidade, será a alternativa a seleccionar, ao invés do atraso da luminescência. É possível assim concluir que a análise do módulo permite obter maior sensibilidade e maior gama de medição, o que a torna especialmente útil para aplicações não especializadas. Apesar de a utilização do desfasamento poder atenuar os efeitos de envelhecimento da membrana, os seguintes testes do capítulo são efetuados de forma a analisar a intensidade (módulo) do sinal, dado a maior sensibilidade conseguida.

7.4.3 Resultados com Fotodíodo

Os testes para avaliação da luminescência da membrana em função do oxigénio, utilizando um fotodíodo como elemento sensor, foram realizados com o procedimento descrito em 7.1. Em primeiro lugar foram testadas as membranas com o fotodíodo apenas conectado a um pico-amperímetro e posteriormente com a eletrónica de condicionamento de sinal apresentada em 6.2. Iniciaram-se os testes com a medição de corrente no escuro sem nada sobreposto ao fotodíodo, de forma a ler a corrente *dark*, obtendo-se 0,02 nA. Posteriormente colocou-se o recipiente por cima do mesmo de forma a analisar de poderia existir algum tipo de reflexão (sem ligar o LED de excitação). A corrente subiu para 0,05 nA, diferença entre ambas a medição é muito reduzida (0,03 nA) pelo que para as condições de teste pode ser desprezada. Posteriormente ligou-se o LED e mediu-se a corrente no fotodíodo, com e sem recipiente por cima, isto pois a luz do LED pode ser refletida e consequentemente lida (apesar do filtro ótico). Conforme é possível observar, a membrana de controlo, por representar uma barreira à passagem de luz, promove alguma reflexão que acaba por ser lida pelo fotodíodo, correspondente a uma diferença de 0,87 nA.

Comparou-se os valores de corrente entre a amostra de controlo e membrana com indicador. No caso da membrana com indicador, o valor de corrente lido é superior ao anterior pois existe luminescência (apesar de pouca), representada por uma diferença de corrente de 1,55 nA.

A Tabela 7-5 sumaria os resultados obtidos pelos testes descritos no parágrafo anterior.

Tabela 7-5 Valores de Corrente (Pico-Amperímetro) para diferentes condições de teste em ambiente gasoso.

¹M. CONTROLO – Membrana de controlo de espessura 0,95 mm e solvente THF

LED	RECIPIENTE	MEMBRANA	CORRENTE (nA)
OFF	OFF	—	0,02
OFF	ON	M.CONTROLO ¹	0,05
ON	OFF	—	3,43
ON	ON	M.CONTROLO ¹	4,30
ON	ON	M.INDICADOR ²	5,85

²M. INDICADOR– Membrana com concentração de 363 ppm com espessura 1,4 mm e solvente THF

Após estes primeiros testes, isolou-se o recipiente e preencheu-se o mesmo com o maior valor de árgon. Durante este procedimento é possível observar em tempo real os valores de corrente no pico-amperímetro a aumentar, quando o valor estabilizou em $PO_2 = 0,8\%$ iniciaram-se as leituras.

Foram efetuadas leituras a cada 20 segundos até ao valor de $PO_2 = 3,0\%$, sem incorporação propositada de oxigénio (apenas devido à fuga do recipiente).

A partir deste valor de OD foi sendo introduzido, de forma muito lenta para observação do maior número de valores. A partir do valor de estabilização perto de $pO_2 = 21\%$ terminaram-se os testes. A Figura 7.34 representa a variação de corrente em função da variação de oxigénio, em ambiente gasoso para a membrana de concentração 363 ppm com 1,4 mm fabricada com THF.

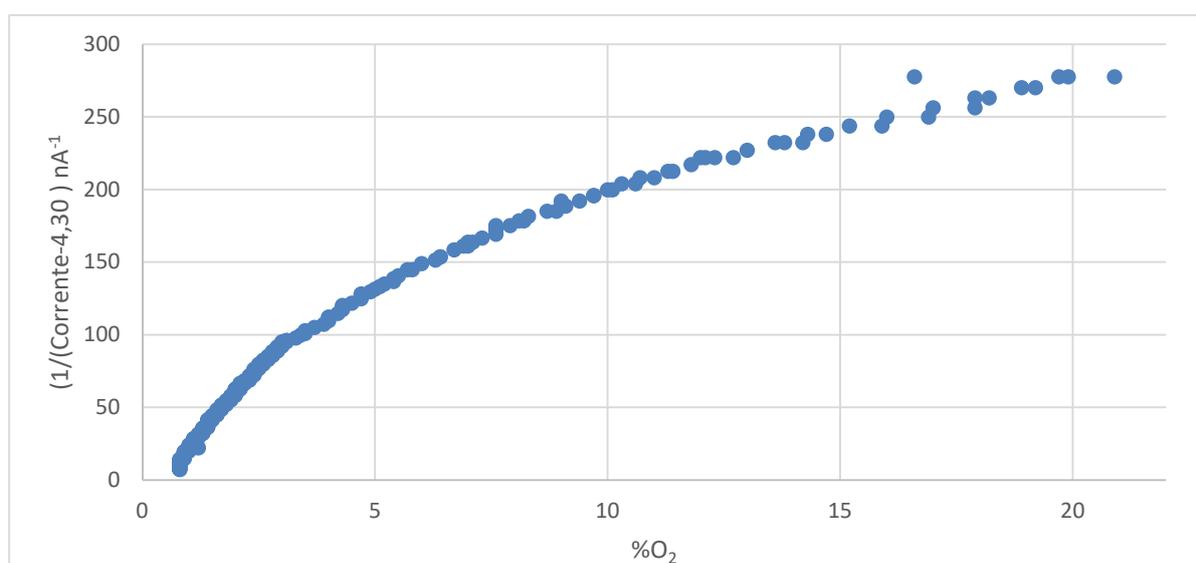


Figura 7.34 Inverso da intensidade de corrente ao longo do incremento de concentração de oxigénio, em ambiente gasoso, para a membrana 363 ppm com espessura 1,4 mm e THF. O offset de 4,3 nA foi retirado, e o inverso da corrente apresentado.

A escala vertical da Figura 7.34 foi determinada a partir do inverso da diferença da corrente lida da luminescência pela corrente lida com a membrana de controlo (4,3 nA), de forma a ser possível relacionar mais facilmente a intensidade com o oxigénio, conforme a equação de *Stern-Volmer*.

Conforme é possível observar, existe uma tendência linear para concentrações de oxigénio maiores, sendo que no intervalo inferior existe uma pequena curvatura. É possível concluir que a membrana consegue detetar níveis de oxigénio entre 0,4 - 20%, sendo que para valores superiores a resposta começa a estabilizar e a apresentar algum erro, determinando-se assim o fim de escala.

7.5 Testes em Ambiente Líquido

Os testes nesta secção são realizados às duas membranas seleccionadas, em água, sendo a variação de oxigénio conforme apresentado em 7.1. São apresentados testes com o espectrofotómetro comercial (7.5.1) e com o *hardware/software* desenvolvido neste trabalho (7.5.2), utilizando o fotodíodo como elemento sensor.

7.5.1 Resultados com Espectrofotómetro

Seleccionaram-se duas membranas dos testes do capítulo 7.4.1 fabricadas com solventes diferentes, cuja resposta em ambiente gasoso fosse o mais linear possível em ambiente gasoso. Dessa forma testou-se a membrana com 363 ppm de concentração de indicador, com espessura 1,4 mm e fabricada com THF e a membrana com 545 ppm de concentração de indicador com espessura 1,45 mm, fabricada com tolueno. Foram realizados testes em ambiente líquido (água) para uma variação de oxigénio entre 0,7 mg/L e 5,5 mg/L de oxigénio dissolvido (aproximadamente). Mediu-se a intensidade luminosa ao longo da gama de variação de oxigénio, o que resultou nos dados da Figura 7.35. Os dados obtidos por espectrofotómetro foram corrigidos de forma a subtrair a luminescência da membrana de controlo. A escala vertical dos gráficos tem como unidades o inverso da intensidade (ver equação 4.2), sendo a intensidade obtida diretamente no espectrofotómetro, para o comprimento de onda de 382 nm.

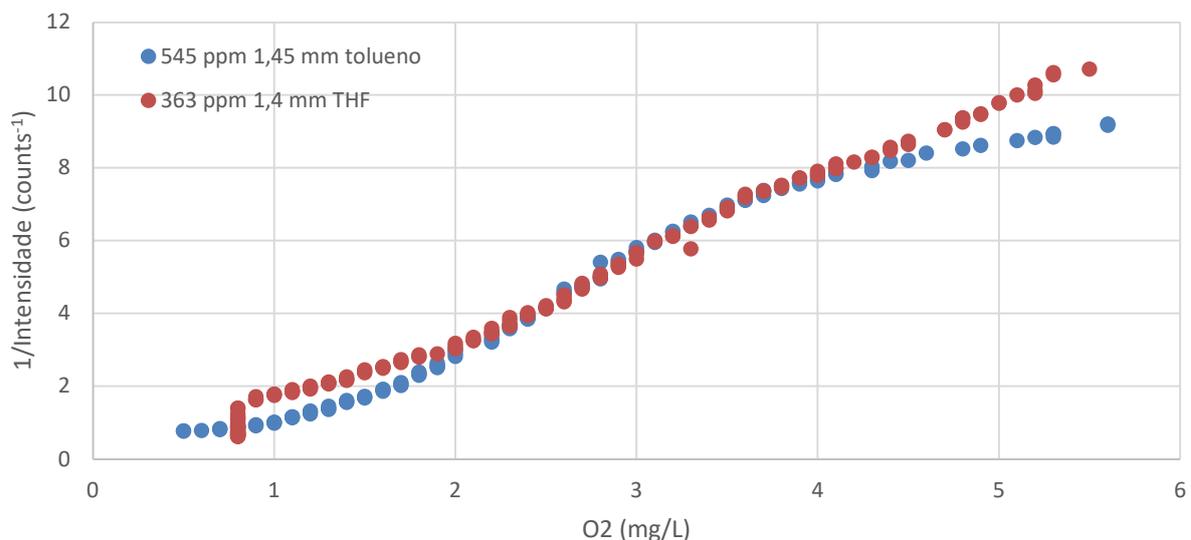


Figura 7.35 Inverso da intensidade luminosa da luminescência na membrana com 363 ppm de indicador com espessura 1,4 mm fabricada com THF e na membrana com 545 ppm de indicador com espessura 1,45 mm fabricada com tolueno, para diferentes concentrações de oxigénio em ambientes líquidos

Conforme é possível observar, com o solvente THF os resultados acompanham uma tendência aproximadamente linear, conclusão que vai de encontro aos dados observados entre a absorção e a espessura das membranas de THF. Estes valores permitem concluir que a dispersão do indicador/solvente/polímero nestas membranas foi mais homogênea comparativamente com os dados observados nas membranas de tolueno. É possível ainda confirmar o funcionamento das membranas no meio líquido, para uma gama de valores compreendida entre 0,7 – 5,5 mg/L. A intensidade da luminescência é equivalente para ambas as membranas.

7.5.2 Resultados com o fotodíodo e Hardware/Software Desenvolvido

Efetuar-se os mesmos procedimentos de calibração já descritos nos testes em ambiente gasoso (subcapítulo 7.4.3 que originaram a Tabela 7-5) mas agora aplicados aos testes em água, obtendo-se os resultados da Tabela 7-6. Foi medida a corrente no fotodíodo em várias condições. Inicialmente na ausência do recipiente e membrana e com o LED apagado (*dark current*), obtendo a menor corrente, até à situação de funcionamento, com a membrana de luminescência em de oxigénio ambiente (o oxigénio na água em equilíbrio com o oxigénio atmosférico de aproximadamente 21%) e o LED ligado, quando se obteve a maior corrente da Tabela 7-6.

Tabela 7-6 Valores de Corrente (Pico-Amperímetro) para diferentes condições de teste em ambiente líquido.

LED	RECIPIENTE	MEMBRANA	CORRENTE (nA)
OFF	OFF	–	0,065
ON	ON	–	3,50
ON	ON	M.CONTROLO ¹	3,85
ON	ON	M.INDICADOR ²	4,56

¹M. CONTROLO – Membrana de controlo com espessura 0,95 mm e THF

²M. INDICADOR– Membrana 363 pp de concentração com espessura 1,4 mm e THF

Após estes primeiros testes, isolou-se o recipiente e preencheu-se o mesmo com o maior valor de árgon, com agitação, de forma a reduzir a concentração de oxigénio. Durante este procedimento é possível observar em tempo real os valores de corrente no pico-amperímetro a aumentar, quando o valor de oxigénio estabilizou em 0,3 mg/L iniciaram-se as leituras. Foram efetuadas leituras a cada 20 segundos até ao valor de concentração de $O_2 = 4,5$ mg/L, valor no qual as leituras começaram a estabilizar.

A Figura 7.36 representa a variação de corrente lida no fotodíodo e da tensão de saída do amplificador em função da concentração de oxigênio.

A escala do eixo vertical da corrente da Figura 7.36 consiste no inverso da diferença da corrente lida da luminescência pela corrente lida com a membrana de controle. Quanto à escala vertical da tensão, consiste na divisão do inverso da diferença da tensão resultante da luminescência pela tensão resultante da corrente de referência por um fator que permita a ambas as escalas (corrente e tensão) se sobreporem para efeitos de comparação (2,7).

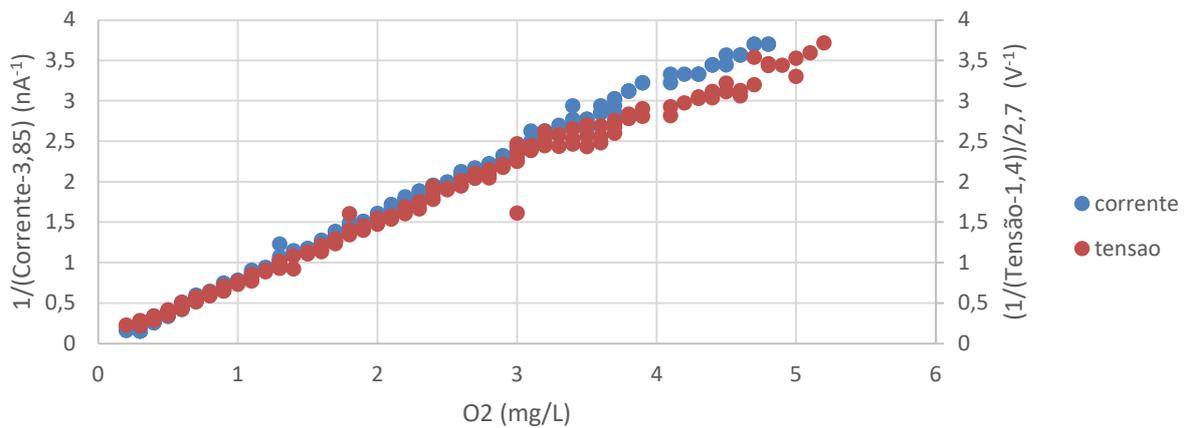


Figura 7.36 Inverso da corrente e da tensão lida no fotodíodo em função do oxigênio, para a membrana com 363 ppm de indicador e com 1,4 mm de espessura, fabricada com THF, em ambiente líquido. O offset de 3,85nA foi retirado, e o inverso da corrente apresentado

Conforme é possível observar na Figura 7.36 existe uma relação linear entre corrente/tensão lida e a concentração de oxigênio dissolvido, que segue a relação *Stern-Volmer*. A partir de 3,5 mg/L é possível observar ruído resultante da aproximação ao fim de escala (em que a corrente no fotodíodo é mais reduzida).

Os valores de tensão foram adquiridos com o ADC de 12 bits do microcontrolador (hardware descrito em 6.2). A conversão de um valor digital em analógico por um ADC pode ser classificada quanto à resolução do ADC. O ADC usado tem 12 bits, no entanto na prática o seu valor encontra-se nos 10 bits efetivos, dado o ruído existente. Dessa forma, a tensão máxima que o fotodíodo apresenta é de 3,2 V pelo que a sua resolução pode ser calculada pelas equações 7-7 e 7-8.

$$R_{TENSÃO_{MÁX}} = \frac{3,2}{4096} = 0,781 \text{ mV/bit} \quad 7.7$$

$$R_{TENSÃO_{MIN}} = \frac{3,2}{1024} = 3,12 \text{ mV/bit} \quad 7.8$$

Tendo em conta o valor máximo (4096) e mínimo do ADC (1735), respetivamente para 3 mg/L e 0mg/L, a resolução média do sensor pode ser calculada pela seguinte equação 7.9.

$$\frac{3 - 0}{4096 - 1735} = 0,00127 \text{ mg/L} \quad 7.9$$

A Figura 7.37 representa os valores de ADC em função da concentração de oxigénio dissolvido para a membrana com 363 ppm com 1,4 mm fabricada com THF.

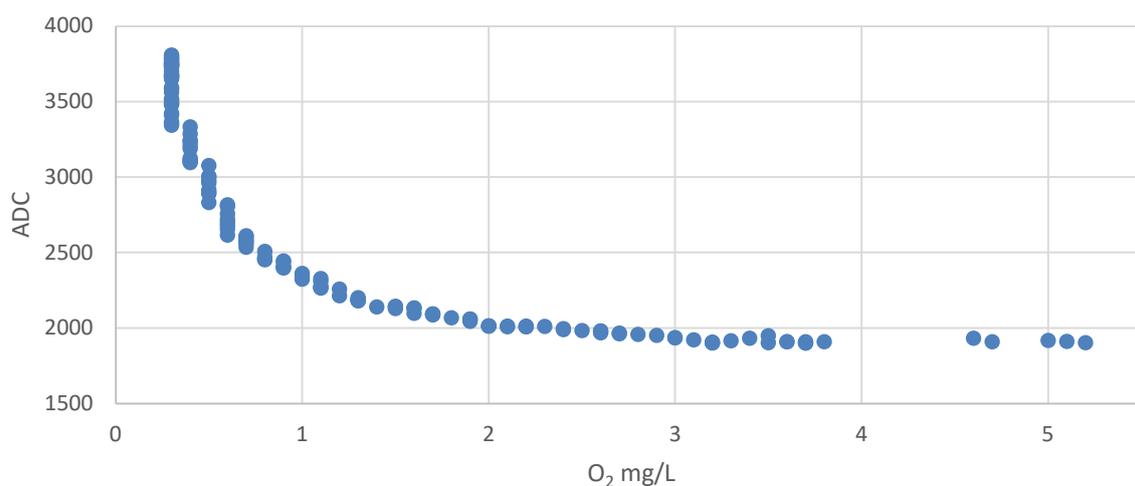


Figura 7.37 Valores de ADC em função da concentração de oxigénio para a membrana com 363 ppm de indicador com espessura 1,4 mm, fabricada com THF, em ambiente líquido

Conforme é possível observar a resolução é mais elevada (menor valor de mg/L) para concentrações menores de oxigênio e mais reduzida (maior valor em mg/L) quando o sensor se aproxima do fim da escala. A reduzida resolução do sensor de referência (0,1 mg/L), que determina a resolução do eixo horizontal, é também notória na Figura 7.37, e limita a capacidade de avaliar a resolução do sensor implementado. Por exemplo, para a concentração de 0,3 mg/L, a gama de valores do ADC varia entre 3285 e 3776.

A

7.10 (Stern-Volmer) descreve a tendência linear da membrana.

$$\frac{I_0}{I} = 1 + 25,5 pO_2 \quad 7.10$$

A Figura 7.38 representa a variação dos valores de oxigênio dissolvido medidos pelo sensor desenvolvido, calculados pela equação 7.10, em função dos valores de oxigênio dissolvido medidos pelo sensor comercial, para a membrana com concentração 363 ppm com espessura 1,4 mm fabricada com THF.

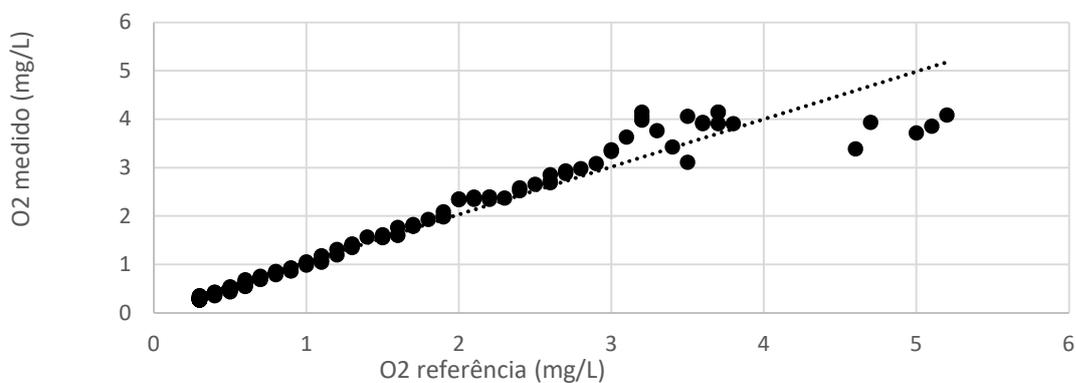


Figura 7.38 Variação dos valores de oxigênio dissolvido medidos (sensor desenvolvido) em função dos valores de oxigênio dissolvido de referência (medidos com o sensor comercial) para a membrana com concentração de 363 ppm com 1,4 mm e fabricada com THF.

Conforme é possível analisar, para valores superiores a 3,5 mg/L o erro do ADC, conforme foi mencionado acima, torna inviável a leitura, pelo que, este é o fim de escala de leitura do sensor.

8. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

Esta dissertação tinha como objetivo desenvolver um sensor ótico de OD a utilizar no meio marinho, com gama de medição entre 0 e 5 mg/L meio líquido (0 – 20% no meio gasoso) Para atingir este objetivo, fabricaram-se e caracterizaram-se membranas luminescentes (sensíveis à presença de oxigénio), desenvolveu-se a eletrónica de controlo e leitura, e construiu-se um sensor completo, que foi testado em ar e em água.

Foi possível fabricar membranas fotossensíveis ao oxigénio a partir de simples procedimentos experimentais, sem necessidade de material de laboratório complexo, o que possibilita que qualquer técnico sem formação química seja capaz de seguir o procedimento. Estas membranas são baseadas em PDMS (*syrgard 184*), um material muito comum em e microfluidica, com comportamento aproximado ao descrita pela equação de *Stern-Volmer* em particular através do método do rácio de intensidades de luminescência. Foi possível observar as diferenças entre solventes utilizados no fabrico, concluindo que, ao contrário de outros documentos [145], o uso de THF pode resultar em respostas mais lineares do que o tolueno, resultantes de maior homogeneidade na concentração de indicador.

É possível ainda confirmar que esta metodologia de medição pode ser aplicada em medições de oxigénio dissolvido (como objetivado) mas também em meio gasoso, para além dos objetivos propostos.

A gama de medição da membrana selecionada (363 ppm de indicador, 1,4 mm de espessura fabricada com THF) é de 0,5 – 21% em meio gasoso e 0,7 – 5,5 mg/L em meio líquido. No entanto, devido ao ruído e à resolução do ADC, o sensor apresenta uma gama de leitura de 0,5 – 20% em meio gasoso e 0 – 3,3 mg/L em meio líquido.

Constatou-se ainda que a membrana fabricada tem potencial para efetuar medições a baixas concentrações de oxigénio, no entanto, o sensor comercial disponível não possuía precisão, resolução e limite de deteção adequados para realizar esta validação. Para baixas concentrações, a sensibilidade da membrana fabricada é claramente superior à sensibilidade do sensor comercial.

O método de medição em intensidade de luminescência apresentou-se vantajoso relativamente ao método de medição de atraso de luminescência, por apresentar maior sensibilidade e linearidade. No entanto, seria expectável que o método de medição de atraso apresentasse maior imunidade ao envelhecimento da membrana, mas não foram realizados testes de envelhecimento.

A medição conjunta de atraso e intensidade poderia utilizar um amplificador *lock-in* conforme foi analisado no capítulo 7.1.5, sendo em particular útil o amplificador em circuito integrado *ADA2200* da *Analog Devices*.

O sensor apresenta um consumo de 100 mA durante uma medição, este valor pode ser consideravelmente reduzido para 21 mA com o uso de um microcontrolador mais adequado (*STM32L082KZT6*). Nas condições do trabalho desenvolvido uma leitura pode ser efetuada em menos de 100 ms, tendo em conta a resposta dinâmica do circuito.

Algo longo deste projeto, os desafios constantes, que se foram sobrepondo ao trabalho já previsto, foram de extrema relevância para o desenvolvimento das minhas capacidades criativas enquanto engenheira. Por incluir áreas científicas externas à eletrónica, permitiu-me desenvolver capacidades pessoais de resiliência e persistência que me auxiliaram no desenrolamento de todo o trabalho. Dessa forma, a dissertação, permitiu-me aprofundar áreas de conhecimento, mesmo dentro da eletrónica, que ainda desconhecia, auxiliando-me a encontrar, no mundo da investigação, os meus objetivos profissionais.

8.1 Limitações Práticas

A pandemia mundial de 2020 veio dificultar o desenvolvimento de testes assim como a disponibilidade comercial de diversos materiais e componentes que, por dificuldades associadas ao vírus entraram em rutura de stock ou apresentaram diversos problemas de distribuição. Estas dificuldades levaram à adaptação do trabalho quer por via teletrabalho quer como alteração da metodologia de testes e fabrico, resultando em alguns atrasos no desenvolvimento do projeto assim como alterações no plano de trabalhos.

O projeto de um sensor de oxigénio envolve áreas que ultrapassam a eletrónica e, como tal, essa consequência acarreta diversas restrições no fabrico e testes do sensor. Uma das principais dificuldades associadas aos testes prende-se com a necessidade de obter um recipiente completamente isolado que permita conservar uma determinada quantidade de gás ou mistura de gases durante um período válido à análise de amostras. Idealmente o recipiente seria colocado em vácuo para posterior preenchimento com árgon e oxigénio através de medidores de massa de forma a ser possível controlar com precisão os valores dos gases dentro do recipiente. Esta alternativa iria também permitir a utilização de um menor volume de gás. No entanto, perante o orçamento do projeto e o tempo limitado do seu desenvolvimento foi necessário adaptar todo o *setup* sem o uso de vácuo ou medidores de massa. Todavia, foi necessário ter árgon e oxigénio no local de leitura o que levou à utilização de garrafas de gás (oxigénio e árgon) presentes no local de amostragem que permitissem em tempo real injetar as misturas idealizadas.

A gama de medição do sensor comercial adquirido deve também ser adaptada à gama de medição do sensor a desenvolver. No caso particular desta dissertação, sendo uma nova metodologia de fabrico, as propriedades do sensor não seriam conhecidas desde o início pelo que a escolha não foi a mais indicada. Contudo, os preços de sensores comerciais para gamas de medição de anoxia a que o sensor desenvolvido se adapta, apresentam preços na ordem dos 2,500 – 8,000 € pelo que não seria uma proposta viável.

O desenho e projeto, deste trabalho envolve um grande investimento em material e instrumentação absolutamente necessários ao seu desenvolvimento. Apesar do produto final não ser dispendioso, a investigação na qual o sensor é baseado apresenta grandes custos que têm de ser controlados ao longo de todo o desenvolvimento. Um dos maiores desafios deste projeto foi reunir todo o material necessário ao desenvolvimento de testes enquanto manter o objetivo de minimizar gastos.

8.2 Melhorias e Alternativas de Procedimento para Trabalho Futuro

Ao nível do procedimento experimental adotado, seria interessante testar o quitosano no método de fabrico com um dispersor de modo a eliminar os pequenos aglomerados de indicador que se formaram nas amostras do capítulo 6.1.2. Caso esta alteração melhorasse a heterogeneidade das amostras, este poderia ser um processo viável de fabrico.

O processo sol-gel é um processo bem conhecido da literatura no fabrico de membranas de PtOEP. A seleção de um híbrido orgânico- inorgânico diferente do utilizado poderia resultar em membranas igualmente viáveis, pelo que o seu estudo não deve ser descartado.

Por outro lado, seria útil testar a homogeneidade/morfologia da membrana com microscópio SEM (*Scanning electron microscope*) de forma a analisar a superfície da amostra e, por exemplo, estabelecer diferenças concretas entre os dois processos de fabrico desenvolvidos (*spin-coating* e peso).

Seria também significativo efetuar testes *in-situ* de forma a analisar o comportamento do sensor nessas situações. Ao nível da calibração, num protótipo mais avançado seria vantajosa a implementação de um sensor de pressão, temperatura e salinidade com o propósito de efetuar correções nas retas de calibração. A leitura de amostras continua em ambientes não laboratoriais apenas seria possível caso esta alteração fosse adotada. Para tal seria necessário utilizar o setup final do sensor, representado pela Figura 7.8, com incorporação da membrana fotossensível num suporte de vidro através de por exemplo plasma de oxigénio. Nestes testes, a análise de formação de *biofouling* poderia acarretar alterações significativas na estrutura do sensor.

Para que o sinal recebido pelo fotodíodo fosse mais intenso seriam várias as alternativas nomeadamente o uso de fonte de excitação laser ou uso de lentes de convenção de forma a focar mais facilmente o feixe luminoso num ponto de leitura. Outra alteração possível seria a incorporação de microesferas de silício nas membranas, metodologia que já foi comprovada na literatura da referência [146], em ser capaz de aumentar significativamente o rendimento quântico.

Testes de envelhecimento deveriam ser realizado. Tendo em conta a literatura, a utilização do método de atraso da luminescência proporcionaria menor suscetibilidade à foto-lixiviação da membrana.

Para reduzir o sinal de offset recebido pelo fotodíodo poder-se-ia adotar uma metodologia mais eficiente de isolamento do setup LED/fotodíodo, nomeadamente o uso de moldes de fixação opacos fixos (resina).

O uso de fotodetetores miniaturizados, tais como fotodíodos SMD (*Surface Mounting Devices*) poderia representar vantagens ao nível do desenho do setup, possibilitando uma maior proximidade entre detetor e amostra.

A gama de medição do sensor desenvolvido aplica-se a ambiente de anoxia ou próximos desta, isto é, entre 0,5 – 20% de oxigénio gasoso, com maior sensibilidade para a gama de valores entre 0,5 – 6% e 0,5 – 3,3 mg/L de oxigénio dissolvido. Um sensor com uma maior gama de medição seria possível de se obter utilizando-se dois indicadores para gamas diferentes, dessa forma seria possível utilizar o mesmo sensor num vasto leque de aplicações. Uma forma de alcançar este objetivo seria por exemplo utilização de uma matriz semelhante à fabricada para aplicações de concentração inferior a 20% e por exemplo o uso de complexos de ruténio imobilizados num setor diferente do PDMS possibilitando leituras para ambientes mais saturados [103].

BIBLIOGRAFIA

- [1] D. A. P. de Abreu, J. M. Cruz, and P. P. Losada, "Active and Intelligent Packaging for the Food Industry," *Food Rev. Int.*, vol. 28, no. 2, pp. 146–187, 2012, doi: 10.1080/87559129.2011.595022.
- [2] M. Fitzgerald *et al.*, "Nondestructive monitoring of oxygen profiles in packaged foods using phase-fluorimetric oxygen sensor," *J. Food Sci.*, vol. 66, no. 1, pp. 105–110, 2001, doi: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb15590.x.
- [3] E. Sánchez *et al.*, "Use of the water quality index and dissolved oxygen deficit as simple indicators of watersheds pollution," *Ecol. Indic.*, vol. 7, no. 2, pp. 315–328, 2007, doi: 10.1016/j.ecolind.2006.02.005.
- [4] P. R. Kannel, S. Lee, Y. S. Lee, S. R. Kanel, and S. P. Khan, "Application of water quality indices and dissolved oxygen as indicators for river water classification and urban impact assessment," *Environ. Monit. Assess.*, vol. 132, no. 1–3, pp. 93–110, 2007, doi: 10.1007/s10661-006-9505-1.
- [5] A. . L. U. of A. J. (Latvia) Laizans and A. . L. U. of A. J. (Latvia) Sniders, *Analytical model and simulation of oxygen solubility in wastewater*. Latvia University of Agriculture, 2012.
- [6] H. Haider and W. Ali, "Evaluation of Water Quality Management Alternatives to Control Dissolved Oxygen and Un-ionized Ammonia for Ravi River in Pakistan," *Environ. Model. Assess.*, vol. 18, no. 4, pp. 451–469, 2013, doi: 10.1007/s10666-012-9353-z.
- [7] Ana Rita Campos, "Estudo e Desenvolvimento de Tecnologias Para o Tratamento de Águas", Universidade do Porto, 2015.
- [8] L. E. C. Conceição, Y. Dersjant-Li, and J. A. J. Verreth, "Cost of growth in larval and juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to growth rate, food intake and oxygen consumption," *Aquaculture*, vol. 161, no. 1–4, pp. 95–106, 1998, doi: 10.1016/S0044-8486(97)00260-3.
- [9] T. Yoshikawa, O. Murata, K. Furuya, and M. Eguchi, "Short-term covariation of dissolved oxygen and phytoplankton photosynthesis in a coastal fish aquaculture site," *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, vol. 74, no. 3, pp. 515–527, 2007, doi: 10.1016/j.ecss.2007.05.004.
- [10] B. Holanda, E. Domokos, Á. Rédey, and J. Fazakas, "Dissolved oxygen control of the activated sludge wastewater treatment process using model predictive control," *Comput. Chem. Eng.*, vol. 32, no. 6, pp. 1270–1278, Jun. 2008, doi: 10.1016/J.COMPCHEMENG.2007.06.008.
- [11] D. B. Papkovsky, "New oxygen sensors and their application to biosensing," *Sensors Actuators B. Chem.*, vol. 29, no. 1–3, pp. 213–218, 1995, doi: 10.1016/0925-4005(95)01685-6.
- [12] V. M. Chauhan, F. Giuntini, and J. W. Aylott, "Quadruple labelled dual oxygen and pH-sensitive ratiometric nanosensors," *Sens. Bio-Sensing Res.*, vol. 8, pp. 36–42, 2016, doi: 10.1016/j.sbsr.2016.03.007.
- [13] O. S. Wolfbeis, "Luminescent sensing and imaging of oxygen: Fierce competition to the Clark electrode," *BioEssays*, vol. 37, no. 8, pp. 921–928, 2015, doi: 10.1002/bies.201500002.
- [14] L. C. CLARK, R. WOLF, D. GRANGER, and Z. TAYLOR, "Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography.," *J. Appl. Physiol.*, vol. 6, no. 3, pp. 189–93, Sep. 1953, doi: 10.1152/jappl.1953.6.3.189.
- [15] J. Prasad, A. Joshi, R. D. Jayant, and R. Srivastava, "Cholesterol biosensors based on oxygen sensing alginate-silica microspheres," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 108, no. 9, pp. 2011–2021, 2011, doi: 10.1002/bit.23143.
- [16] J. M. Ingram, C. Zhang, J. Xu, and S. J. Schiff, "FRET excited ratiometric oxygen sensing in living tissue," *J. Neurosci. Methods*, vol. 214, no. 1, pp. 45–51, 2013, doi:

- 10.1016/j.jneumeth.2013.01.002.
- [17] Ramaier Narayanaswamy and Otto S. Wolfbeis, "Optical Sensors: Industrial Environmental and Diagnostic Applications", Springer, Berlin, Heidelberg, 2004
- [18] "Dissolved Oxygen Measurement | Dissolved Oxygen (DO) Meter, Oxygen Meters and Sensors." <https://www.yei.com/parameters/dissolved-oxygen> (accessed Nov. 21, 2019).
- [19] M. H. Gholizadeh, A. M. Melesse, and L. Reddi, "A comprehensive review on water quality parameters estimation using remote sensing techniques," *Sensors (Switzerland)*, vol. 16, no. 8. 2016, doi: 10.3390/s16081298.
- [20] Paul G. Falkowski, John A. Raven, "Aquatic Photosynthesis: Second Edition", Princeton University Press, 2007.
- [21] K. Sand-Jensen, "Environmental variables and their effect on photosynthesis of aquatic plant communities," *Aquat. Bot.*, vol. 34, no. 1–3, pp. 5–25, Jul. 1989, doi: 10.1016/0304-3770(89)90048-X.
- [22] John T. O. Kirk "Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems", British Ecological Society, 1985
- [23] P. C. Wilson, "Water Quality Notes : pH 1," pp. 1–8, 2011, <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/SS538> (accessed Sep. 9, 2020).
- [24] G. Chapman, "Ambient Water Quality Criteria for Dissolved Oxygen (Freshwater), EPA Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, EPA 440/5-86-003."
- [25] "Environmental Dissolved Oxygen." <https://www.yei.com/File%20Library/Documents/Technical%20Notes/T602-Environmental-Dissolved-Oxygen-Values-Above-100-percent-Air-Saturation.pdf> (accessed Sep. 22, 2020).
- [26] "Oxygen - Solubility in Fresh Water and Seawater." https://www.engineeringtoolbox.com/oxygen-solubility-water-d_841.html (accessed Sep. 10, 2020).
- [27] D. Tromans, "Oxygen in Water : a Thermodynamic Analysis," *Hydrometallurgy*, vol. 48, pp. 327–342, 1998, doi: 10.1016/S0304-386X(98)00007-3.
- [28] D. N. Myers, "Why monitor water quality?," *United States Geol. Surv.*, pp. 240–241, 2014, doi: 10.1016/j.jcrs.2013.12.013.
- [29] B. G. A. Truesdale, A. L. Downing, and G. F. Lowden, "The oxygen," no. Table 1, 1955.
- [30] "DOTABLES." <https://water.usgs.gov/water-resources/software/DOTABLES/> (accessed Jan. 15, 2021).
- [31] G. Water, "Global Water," *Water*, no. 916, pp. 1–13, 2008.
- [32] P. A. Franklin, "Dissolved oxygen criteria for freshwater fish in New Zealand: A revised approach," *New Zeal. J. Mar. Freshw. Res.*, vol. 48, no. 1, pp. 112–126, 2014, doi: 10.1080/00288330.2013.827123.
- [33] "Dissolved oxygen requirements of freshwater fishes. Fisheries Technical Paper. No. 86. | Inland Fisheries | Food and Agriculture Organization of the United Nations." <http://www.fao.org/inland-fisheries/topics/detail/en/c/1149239/> (accessed Sep. 18, 2020).
- [34] J. E. Sherwood, F. Stagnitti, M. J. Kokkinn, and W. D. Williams, "Dissolved oxygen concentrations in hypersaline waters," *Limnol. Oceanogr.*, vol. 36, no. 2, pp. 235–250, Mar. 1991, doi: 10.4319/lo.1991.36.2.0235.
- [35] A. Paulmier and D. Ruiz-Pino, "Oxygen minimum zones (OMZs) in the modern ocean," *Progress in Oceanography*, Volume 80, Issues 3–4, 2009, doi: 10.1016/j.pocean.2008.08.001.
- [36] Brad A. Seibel, "Critical oxygen levels and metabolic suppression in oceanic oxygen minimum zones," *J Exp Biol* 15 January 2011, doi: 10.1242/jeb.049171.
- [37] E. V. Yakushev, E. L. Vinogradova, A. V. Dubinin, A. V. Kostyleva, N. M. Men'shikova, and S. V. Pakhomova, "On determination of low oxygen concentrations with Winkler technique," *Oceanology*, vol. 52, no. 1, pp. 122–129, Feb. 2012, doi: 10.1134/S0001437012010201.
- [38] N. P. Revsbech, B. Thamdrup, T. Dalsgaard, and D. E. Canfield, "Construction of STOX oxygen

- sensors and their application for determination of O₂ concentrations in oxygen minimum zones,” in *Methods in Enzymology*, vol. 486, no. C, Academic Press Inc., 2011, pp. 325–341.
- [39] A. Tengberg, “Aanderaa Data Instruments AS.” <https://www.aanderaa.com/media/pdfs/Oxygen-Optode-3835-4130-4175.pdf> (accessed Nov. 8, 2020).
- [40] N. G. C. and R. I. C. M J Stiff, “Environmental Quality Standards for Dissolved Oxygen,” p. 132, 1992, http://ealit.freshwaterlife.org/archive/ealit:4544/OBJ/51315_ca_object_representations_media_251_original.pdf (accessed Dez. 30, 2019).
- [41] Hartsock, J.A., Piercey, J., House, M.K. *et al.* An evaluation of water quality at Sandhill Wetland: implications for reclaiming wetlands above soft tailings deposits in northern Alberta, Canada. *Wetlands Ecol Manage* **29**, 111–127 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11273-020-09771-8>.
- [42] Artigo, “DIÁRIO DA REPÚBLICA-I SÉRIE-A.”, 1990
- [43] Oren Kraus, “Development of a Microfluidic Platform to Investigate Effect of Dissolved Gases on Small Blood Vessel Function”, University of Toronto, 2012.
- [44] “Dissolved Oxygen - Environmental Measurement Systems.” <https://www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/water-quality/dissolved-oxygen/> (accessed Nov. 21, 2019).
- [45] L. Spencer Lima, “Lei de Dalton,” *Rev. Ciência Elem.*, vol. 3, no. 1, Mar. 2015, doi: 10.24927/rce2015.093.
- [46] J. Jaffré and A. Sboui, “Henry’ Law and Gas Phase Disappearance,” *Transp. Porous Media*, vol. 82, no. 3, pp. 521–526, Apr. 2010, doi: 10.1007/s11242-009-9407-0.
- [47] H. A. C. Montgomery, N. S. Thom, and A. Cockburn, “Determination of dissolved oxygen by the winkler method and the solubility of oxygen in pure water and sea water,” *J. Appl. Chem.*, vol. 14, no. 7, pp. 280–296, May 2007, doi: 10.1002/jctb.5010140704.
- [48] “O método Winkler de titulação [03] - aquacultura.” <https://sites.google.com/site/aquaculturaminas/home-1/limnologia/limnologia-aplicada-a-aquacultura-03> (accessed Oct. 08, 2020).
- [49] Ferreira, M.A.C. Development of Dissolved Oxygen Sensors Using Electrochemical and Optic Methods for Real Time Monitoring of Water Quality. 2008. Available online: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3140/tde-08012008-161104/> (accessed on 15 January 2021).
- [50] “Polarographic Oxygen Sensors: Aquatic and Physiological Applications.” Springer, Berlin, Heidelberg 1983.
- [51] YSI, “The Dissolved Oxygen Handbook,” *Ysi*, p. 43, 2009.
- [52] O. S. Wolfbeis, “Materials for fluorescence-based optical chemical sensors,” *J. Mater. Chem.*, vol. 15, no. 27–28, pp. 2657–2669, 2005, doi: 10.1039/b501536g.
- [53] E. R. Carraway, J. N. Demas, B. A. DeGraff, and J. R. Bacon, “Photophysics and photochemistry of oxygen sensors based on luminescent transition-metal complexes,” *Anal. Chem.*, vol. 63, no. 4, pp. 337–342, Feb. 1991, doi: 10.1021/ac00004a007.
- [54] C. S. Chu, K. Z. Lin, and Y. H. Tang, “A new optical sensor for sensing oxygen based on phase shift detection,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 223, pp. 606–612, 2016, doi: 10.1016/j.snb.2015.09.155.
- [55] I. Helm, G. Karina, L. Jalukse, T. Pagano, and I. Leito, “Comparative validation of amperometric and optical analyzers of dissolved oxygen: a case study,” *Environ. Monit. Assess.*, vol. 190, no. 5, 2018, doi: 10.1007/s10661-018-6692-5.
- [56] E. L. Bray, “Lead Compounds-Ullmanns,” *Miner. Commod. Summ.*, pp. 2015–2016, 2016, doi: 10.1002/14356007.a15.
- [57] A. J. J. Bos, “Theory of thermoluminescence,” *Radiat. Meas.*, vol. 41, no. SUPPL. 1, pp. 45–56, 2006, doi: 10.1016/j.radmeas.2007.01.003.

- [58] J. R. Lakowicz, "Introduction to Fluorescence," in *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Boston, MA: Springer US, 1999, pp. 1–23.
- [59] M. Kasha, "Characterization of electronic transitions in complex molecules," *Discuss. Faraday Soc.*, vol. 9, no. 0, pp. 14–19, 1950, doi: 10.1039/DF9500900014.
- [60] A. Jablonski, "Efficiency of Anti-Stokes Fluorescence in Dyes," *Nature*, vol. 131, no. 3319, pp. 839–840, 1933, doi: 10.1038/131839b0.
- [61] "Dissertação | Enhanced Reader." moz-extension://9b96a6c8-598d-4d94-93c5-e4b3974e9589/enhancedreader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Fwww.dissertações.usp.br%2Fdissertações%2Fdisponiveis%2F75%2F75131%2Ftde-25102007-171809%2Fpublico%2FCarolinaASabatini.pdf (accessed Jan. 11, 2021).
- [62] C. McDonagh, B. D. MacCraith, and A. K. McEvoy, "Tailoring of Sol-Gel Films for Optical Sensing of Oxygen in Gas and Aqueous Phase," *Anal. Chem.*, vol. 70, no. 1, pp. 45–50, 1998, doi: 10.1021/ac970461b.
- [63] M. Quaranta, S. M. Borisov, and I. Klimant, "Indicators for optical oxygen sensors," *Bioanal. Rev.*, vol. 4, no. 2–4, pp. 115–157, 2012, doi: 10.1007/s12566-012-0032-y.
- [64] S. M. Borisov, "CHAPTER 1: Fundamentals of Quenched Phosphorescence O₂ Sensing and Rational Design of Sensor Materials," in *RSC Detection Science*, vol. 2018-January, no. 11, Royal Society of Chemistry, 2018, pp. 1–18.
- [65] A. Mills, "Response characteristics of optical sensors for oxygen: a model based on a distribution in t_o and k_q ," *Analyst*, 1999.
- [66] A. Tengberg *et al.*, "Evaluation of a lifetime-based optode to measure oxygen in aquatic systems," *Limnol. Oceanogr. Methods*, vol. 4, no. 2, pp. 7–17, Feb. 2006, doi: 10.4319/lom.2006.4.7.
- [67] G. Holst, R. N. Glud, M. Kühl, and I. Klimant, "A microoptode array for fine-scale measurement of oxygen distribution," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 38, no. 1–3, pp. 122–129, Jan. 1997, doi: 10.1016/S0925-4005(97)80181-5.
- [68] H. Tai, Y. Yang, S. Liu, and D. Li, "A review of measurement methods of dissolved oxygen in water," in *IFIP Advances in Information and Communication Technology*, Oct. 2012, vol. 369 AICT, no. PART 2, pp. 569–576, doi: 10.1007/978-3-642-27278-3_58.
- [69] F. G. Gao, J. M. Fay, G. Mathew, A. S. Jeevarajan, and M. M. Anderson, "Optical sensor based on fluorescent quenching and pulsed blue LED excitation for long-term monitoring of dissolved oxygen in NASA space bioreactors," *J. Biomed. Opt.*, vol. 10, no. 5, p. 054005, 2005, doi: 10.1117/1.2062427.
- [70] D. Xiao, Y. Mo, and M. M. F. Choi, "A hand-held optical sensor for dissolved oxygen measurement," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 14, no. 6, pp. 862–867, May 2003, doi: 10.1088/0957-0233/14/6/323.
- [71] E. J. Park, K. R. Reid, W. Tang, R. T. Kennedy, and R. Kopelman, "Ratiometric fiber optic sensors for the detection of inter- and intra-cellular dissolved oxygen," *J. Mater. Chem.*, vol. 15, no. 27–28, pp. 2913–2919, 2005, doi: 10.1039/b502981c.
- [72] C. S. Chu and C. Y. Chuang, "Ratiometric optical fiber dissolved oxygen sensor based on metalloporphyrin and CdSe quantum dots embedded in sol-gel matrix," *J. Lumin.*, vol. 167, pp. 114–119, Jul. 2015, doi: 10.1016/j.jlumin.2015.06.019.
- [73] X. L. Wang, K. H. Lai, and A. Ruotolo, "A comparative study on the ferromagnetic properties of undoped and Mn-doped ZnO," *J. Alloys Compd.*, vol. 542, pp. 147–150, Nov. 2012, doi: 10.1016/j.jallcom.2012.07.035.
- [74] E. J. Park, K. R. Reid, W. Tang, R. T. Kennedy, and R. Kopelman, "Ratiometric fiber optic sensors for the detection of inter- and intra-cellular dissolved oxygen," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 15, no. 27–28. The Royal Society of Chemistry, pp. 2913–2919, Jul. 21, 2005, doi: 10.1039/b502981c.

- [75] H. Xu, J. W. Aylott, R. Kopelman, T. J. Miller, and M. A. Philbert, "A real-time ratiometric method for the determination of molecular oxygen inside living cells using sol-gel-based spherical optical nanosensors with applications to rat C6 glioma," *Anal. Chem.*, vol. 73, no. 17, pp. 4124–4133, Sep. 2001, doi: 10.1021/ac0102718.
- [76] X. Poteau and B. D. MacCraith, "Ratiometric sensor for dissolved oxygen in seawater," in *Opto-Ireland 2002: Optics and Photonics Technologies and Applications*, Mar. 2003, vol. 4876, p. 886, doi: 10.1117/12.464211.
- [77] W. Feng, N. Zhou, L. Chen, and B. Li, "An optical sensor for monitoring of dissolved oxygen based on phase detection," *J. Opt. (United Kingdom)*, vol. 15, no. 5, p. 055502, Apr. 2013, doi: 10.1088/2040-8978/15/5/055502.
- [78] X. Dai, Z. Yue, M. E. Eccleston, J. Swartling, N. K. H. Slater, and C. F. Kaminski, "Fluorescence intensity and lifetime imaging of free and micellar-encapsulated doxorubicin in living cells," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 4, no. 1, pp. 49–56, Mar. 2008, doi: 10.1016/j.nano.2007.12.002.
- [79] I. Helm, G. Karina, L. Jalukse, T. Pagano, and I. Leito, "Comparative validation of amperometric and optical analyzers of dissolved oxygen: a case study," *Environ. Monit. Assess.*, vol. 190, no. 5, pp. 1–18, May 2018, doi: 10.1007/s10661-018-6692-5.
- [80] C. McDonagh *et al.*, "Phase fluorometric dissolved oxygen sensor," in *Sensors and Actuators, B: Chemical*, Apr. 2001, vol. 74, no. 1–3, pp. 124–130, doi: 10.1016/S0925-4005(00)00721-8.
- [81] E. R. Carraway, J. N. Demas, and B. A. DeGraff, "Luminescence quenching mechanism for microheterogeneous systems," *Anal. Chem.*, vol. 63, no. 4, pp. 332–336, Feb. 1991, doi: 10.1021/ac00004a006.
- [82] D. B. Papkovsky and R. I. Dmitriev, "Detection Science Series No. 11 Quenched-phosphorescence Detection of Molecular Oxygen: Applications in Life Sciences Edited," 2018, doi: 10.1039/9781788013451-00001.
- [83] M. J. Cook *et al.*, "Luminescent Metal Complexes Part 1. Tris-chelates of substituted 2,2'-bipyridyls with ruthenium (II) as dyes for luminescent solar collectors," 1984.
- [84] F. J. Mingoarranz and M. C. Moreno-bondi, "Mikrochimica Acta Oxygen-Sensitive Layers for Optical Fibre Devices," vol. 118, pp. 107–118, 1995.
- [85] P. C. Alford *et al.*, "Luminescent Metal Complexes. Part 5.' Luminescence Properties of Ring-substituted 1,10-Phenanthroline Tris-complexes of Ruthenium(II)."
- [86] W. Xu, K. A. Kneas, J. N. Demas, and B. A. DeGraff, "Oxygen sensors based on luminescence quenching of metal complexes: Osmium complexes suitable for laser diode excitation," *Int. J. Comput. Vis.*, vol. 18, no. 3, pp. 2605–2609, 1996, doi: 10.1021/ac960083v.
- [87] K. Koren, S. M. Borisov, R. Saf, and I. Klimant, "Strongly phosphorescent iridium(III)-porphyrins - New oxygen indicators with tuneable photophysical properties and functionalities," *Eur. J. Inorg. Chem.*, vol. 2011, no. 10, pp. 1531–1534, Apr. 2011, doi: 10.1002/ejic.201100089.
- [88] S. W. Lai *et al.*, "Electronic spectroscopy, photophysical properties, and emission quenching studies of an oxidatively robust perfluorinated platinum porphyrin," *Inorg. Chem.*, vol. 43, no. 12, pp. 3724–3732, Jun. 2004, doi: 10.1021/ic049902h.
- [89] P. J. Spellane, M. Gouterman, A. Antipas, S. Kim, and Y. C. Liu, "Porphyrins. 40.1 Electronic Spectra and Four-Orbital Energies of Free-Base, Zinc, Copper, and Palladium Tetrakis(Perfluorophenyl)Porphyrins," *Inorg. Chem.*, vol. 19, no. 2, pp. 386–391, 1980, doi: 10.1021/ic50204a021.
- [90] V. V Vasil'ev, S. M. Borisov, Y. O. Chubarova, and V. D. Romyantseva, "Dimerization, Aggregation, and Luminescent Properties of Palladium(II) and Platinum(II) Complexes with meso-Tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrin COORDINATION COMPOUNDS," 2003.
- [91] Y. Amao, K. Asai, and I. Okura, "Photoluminescent oxygen sensing using palladium tetrakis(4-

- carboxyphenyl)porphyrin self-assembled membrane on alumina," *Anal. Commun.*, vol. 36, no. 5, pp. 179–180, Jan. 1999, doi: 10.1039/a900721k.
- [92] D. B. Papkovsky, G. V. Ponomarev, W. Trettnak, and P. O'Leary, "Phosphorescent Complexes of Porphyrin Ketones: Optical Properties and Application to Oxygen Sensing," *Anal. Chem.*, vol. 67, no. 22, pp. 4112–4117, 1995, doi: 10.1021/ac00118a013.
- [93] Y. Amao, Y. Ishikawa, and I. Okura, "Green luminescent iridium(III) complex immobilized in fluoropolymer film as optical oxygen-sensing material," *Anal. Chim. Acta*, vol. 445, no. 2, pp. 177–182, Oct. 2001, doi: 10.1016/S0003-2670(01)01254-5.
- [94] C. S. K. Mak, D. Penflehner, M. Stich, O. S. Wolfbeis, W. K. Chan, and H. Yersin, "Exceptional oxygen sensing capabilities and triplet state properties of Ir(pppy-NPh₂)₃," *Chem. Mater.*, vol. 21, no. 11, pp. 2173–2175, Jun. 2009, doi: 10.1021/cm9003678.
- [95] L. H. Fischer, M. I. J. Stich, O. S. Wolfbeis, N. Tian, E. Holder, and M. Schäferling, "Red- and Green-Emitting Iridium(III) Complexes for a Dual Barometric and Temperature-Sensitive Paint," *Chem. - A Eur. J.*, vol. 15, no. 41, pp. 10857–10863, Oct. 2009, doi: 10.1002/chem.200901511.
- [96] I. Klimant, M. Köhl, R. N. Glud, and G. Holst, "Optical measurement of oxygen and temperature in microscale: Strategies and biological applications," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 38, no. 1–3, pp. 29–37, Jan. 1997, doi: 10.1016/S0925-4005(97)80168-2.
- [97] D. B. Papkovsky *et al.*, "Phosphorescent polymer films for optical oxygen sensors," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 7, no. 3, pp. 199–206, Jan. 1992, doi: 10.1016/0956-5663(92)87016-I.
- [98] S. K. Lee and I. Okura, "Porphyrin-doped sol-gel glass as a probe for oxygen sensing," *Anal. Chim. Acta*, vol. 342, no. 2–3, pp. 181–188, Apr. 1997, doi: 10.1016/S0003-2670(96)00562-4.
- [99] S. K. Lee and I. Okura, "Optical sensor for oxygen using a porphyrin-doped sol-gel glass," *Analyst*, vol. 122, no. 1, pp. 81–84, Jan. 1997, doi: 10.1039/a604885d.
- [100] P. Douglas and K. Eaton, "Response characteristics of thin film oxygen sensors, Pt and Pd octaethylporphyrins in polymer films," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 82, no. 2–3, pp. 200–208, Feb. 2002, doi: 10.1016/S0925-4005(01)01006-1.
- [101] Y. Amao, T. Miyashita, and I. Okura, "Optical oxygen sensing based on the luminescence change of metalloporphyrins immobilized in styrene-pentafluorostyrene copolymer film," *Analyst*, vol. 125, no. 5, pp. 871–875, Jan. 2000, doi: 10.1039/b000702I.
- [102] Y. Amao, K. Asai, I. Okura, H. Shinohara, and H. Nishide, "Platinum porphyrin embedded in poly(1-trimethylsilyl-1-propyne) film as an optical sensor for trace analysis of oxygen," *Analyst*, vol. 125, no. 11, pp. 1911–1914, 2000, doi: 10.1039/b005838f.
- [103] K. Oguri, H. Kitazato, and R. N. Glud, "Platinum octaethylporphyrin based planar optodes combined with an UV-LED excitation light source: An ideal tool for high-resolution O₂ imaging in O₂ depleted environments," *Mar. Chem.*, vol. 100, no. 1–2, pp. 95–107, Jun. 2006, doi: 10.1016/j.marchem.2005.11.005.
- [104] "Polymer Permeability - Google Livros." https://books.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=Yzn6CAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=polymer+permeability&ots=sSxsJj8YMo&sig=K BTKUCulrSjJD9DhIRDFXYz4Y90&redir_esc=y#v=onepage&q=polymer permeability&f=false (accessed Oct. 06, 2020).
- [105] P. Cristina, D. A. Jerónimo, S. Ó. D. E. M. Sol-gel, F. D. E. Farmácia, D. A. Universidade, and D. O. Porto, "Sensores ópticos de matriz sol-gel com interesse na análise farmacêutica e clínica," 2005.
- [106] J. Brandrup *et al.*, "POLYMER HANDBOOK FOURTH EDITION", Wiley-interscience Publication, 1999.
- [107] K. Nagai, A. Higuchi, and T. Nakagawa, "Gas permeability and stability of poly(1-trimethylsilyl-1-propyne-co-1-phenyl-1-propyne) membranes," *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 33, no.

- 2, pp. 289–298, Jan. 1995, doi: 10.1002/polb.1995.090330214.
- [108] Y. Amao and I. Okura, “Optical oxygen sensor devices using metalloporphyrins,” *J. Porphyr. Phthalocyanines*, vol. 13, no. 11, pp. 1111–1122, Nov. 2009, doi: 10.1142/S1088424609001455.
- [109] Y. Amao, “Probes and Polymers for Optical Sensing of Oxygen,” *Microchim. Acta*, vol. 143, no. 1, pp. 1–12, 2003, doi: 10.1007/s00604-003-0037-x.
- [110] G. Wu, C. L. B. Almquist, and S. T. Hwang, “High gas permeability in open-structure membranes,” *Korean J. Chem. Eng.*, vol. 21, no. 2, pp. 442–453, 2004, doi: 10.1007/BF02705434.
- [111] D. Cai, A. Neyer, R. Kuckuk, and H. M. Heise, “Raman, mid-infrared, near-infrared and ultraviolet-visible spectroscopy of PDMS silicone rubber for characterization of polymer optical waveguide materials,” *J. Mol. Struct.*, vol. 976, no. 1–3, pp. 274–281, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.molstruc.2010.03.054.
- [112] M. T. Murtagh, M. R. Shahriari, and M. Krihak, “A study of the effects of organic modification and processing technique on the luminescence quenching behavior of sol-gel oxygen sensors based on a Ru(II) complex,” *Chem. Mater.*, vol. 10, no. 12, pp. 3862–3869, 1998, doi: 10.1021/cm9802806.
- [113] X. M. Li and K. Y. Wong, “Luminescent platinum complex in solid films for optical sensing of oxygen,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 262, no. 1, pp. 27–32, Jun. 1992, doi: 10.1016/0003-2670(92)80004-Q.
- [114] Y. Amao, K. Asai, I. Okura, H. Shinohara, and H. Nishide, “Platinum porphyrin embedded in poly(1-trimethylsilyl-1-propyne) film as an optical sensor for trace analysis of oxygen,” *Analyst*, vol. 125, no. 11, pp. 1911–1914, Jan. 2000, doi: 10.1039/b005838f.
- [115] E. Vander Donckt, B. Camerman, R. Herne, and R. Vandeloise, “Fibre-optic oxygen sensor based on luminescence quenching of a Pt(II) complex embedded in polymer matrices,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 32, no. 2, pp. 121–127, May 1996, doi: 10.1016/0925-4005(96)80120-1.
- [116] Y. Mao *et al.*, “Platinum porphyrin/3-(trimethoxysilyl)propylmethacrylate functionalized flexible PDMS micropillar arrays as optical oxygen sensors,” *New J. Chem.*, vol. 41, no. 13, pp. 5429–5435, Jun. 2017, doi: 10.1039/c7nj01187c.
- [117] I. Klimant, V. Meyer, and M. Köhl, “Fiber-optic oxygen microsensors, a new tool in aquatic biology,” *Limnol. Oceanogr.*, vol. 40, no. 6, pp. 1159–1165, Sep. 1995, doi: 10.4319/lo.1995.40.6.1159.
- [118] W. Trettnak, W. Gruber, F. Reininger, and I. Klimant, “Recent progress in optical oxygen sensor instrumentation,” *Sensors Actuators B. Chem.*, vol. 29, no. 1–3, pp. 219–225, Oct. 1995, doi: 10.1016/0925-4005(95)01686-4.
- [119] W. Trettnak, C. Kolle, F. Reininger, C. Dolezal, and P. O’Leary, “Miniaturized luminescence lifetime-based oxygen sensor instrumentation utilizing a phase modulation technique,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 36, no. 1–3, pp. 506–512, Oct. 1996, doi: 10.1016/S0925-4005(97)80120-7.
- [120] S. K. Lee and I. Okura, “Optical sensor for oxygen using a porphyrin-doped sol-gel glass,” *Analyst*, vol. 122, no. 1, pp. 81–84, 1997, doi: 10.1039/a604885d.
- [121] M. C. Moreno-Bondi, O. S. Wolfbeis, M. J. P. Leiner, and B. P. H. Schaffar, “Oxygen Optrode for Use in a Fiber-Optic Glucose Biosensor,” *Anal. Chem.*, vol. 62, no. 21, pp. 2377–2380, Jan. 1990, doi: 10.1021/ac00220a021.
- [122] I. Klimant and O. S. Wolfbeis, “Oxygen-Sensitive Luminescent Materials Based on Silicone-Soluble Ruthenium Diimine Complexes,” *Anal. Chem.*, vol. 67, no. 18, pp. 3160–3166, Sep. 1995, doi: 10.1021/ac00114a010.
- [123] F. J. Krug, “ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA E,” U. D. E. S. ã. O. Paulo, 2010.

- [124] J. Chapman, E. Weir, and F. Regan, "Period four metal nanoparticles on the inhibition of biofouling," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 78, no. 2, pp. 208–216, Jul. 2010, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2010.03.002.
- [125] L. Delauney, "Biofouling protection for marine underwater observatories sensors," *Ocean. '09 IEEE Bremen Balanc. Technol. with Futur. Needs*, no. August, 2009, doi: 10.1109/OCEANSE.2009.5278199.
- [126] "Article Preview – The Journal of Ocean Technology." https://www.thejot.net/article-preview/?show_article_preview=601 (accessed Dec. 14, 2020).
- [127] "Oregon State University Tests Cabled UV Biofouling Control for Ocean Observatories Initiative." <https://amloceanographic.com/case-studies/osu-trials-cuv/> (accessed Oct. 17, 2020).
- [128] V. C. Pinto, P. J. Sousa, E. M. F. Vieira, L. M. Gonçalves, and G. Minas, "Antibiofouling strategy for optical sensors by chlorine generation using low-cost, transparent and highly efficient electrodes based on platinum nanoparticles coated oxide," *Chem. Eng. J.*, vol. 404, p. 126479, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.cej.2020.126479.
- [129] C. M. Filley, W. Halliday, and B. K. Kleinschmidt-Demasters, "The Effects of Toluene on the Central Nervous System," *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, vol. 63, no. 1, pp. 1–12, Jan. 2004, doi: 10.1093/jnen/63.1.1.
- [130] T. Chandy and C. P. Sharma', "Chitosan - as a Biomaterial," *Biomater. Artif. Cells Artif. Organs*, vol. 18, no. 1, pp. 1–24, Jan. 1990, doi: 10.3109/10731199009117286.
- [131] C. G. T. Neto, T. N. C. Dantas, J. L. C. Fonseca, and M. R. Pereira, "Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition," *Carbohydr. Res.*, vol. 340, no. 17, pp. 2630–2636, Dec. 2005, doi: 10.1016/j.carres.2005.09.011.
- [132] H. Yi *et al.*, "Reviews Biofabrication with Chitosan," 2005, doi: 10.1021/bm050410I.
- [133] "Photodiode Circuit Desenho Wizard | Analog Devices," Feb. 18, 2021. <https://tools.analog.com/en/photodiode/> (accessed Jan. 18, 2021).
- [134] "(PDF) SOLUÇÕES RASTREÁVEIS E ESTÁVEIS PARA DETERMINAÇÃO DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO EM ÁGUAS SUBTERRÂNEAS: MELHORIA DA QUALIDADE TÉCNICA DOS RESULTADOS DE CAMPO." https://www.researchgate.net/publication/277030142_SOLUCOES_RASTREAVEIS_E_ESTAVEIS_PARA_DETERMINACAO_DE_OXIGENIO DISSOLVIDO_EM_AGUAS_SUBTERRANEAS_MELHORIA_DA_QUALIDADE_TECNICA_DOS_RESULTADOS_DE_CAMPO (accessed Apr. 21, 2021).
- [135] "Gases - Densities." https://www.engineeringtoolbox.com/gas-density-d_158.html (accessed Oct. 13, 2020).
- [136] "CHEMICAL FEATURES OF WATER." <http://www.fao.org/3/ac183e/ac183e04.htm> (accessed Jan. 05, 2021).
- [137] "Solubility | Introduction to Chemistry." <https://courses.lumenlearning.com/introchem/chapter/solubility/> (accessed Jan. 04, 2021).
- [138] "General Chemistry - Wikibooks, open books for an open world." https://en.wikibooks.org/wiki/General_Chemistry (accessed Jan. 04, 2021).
- [139] "Diffusion Coefficients of Gases in Water." https://www.engineeringtoolbox.com/diffusion-coefficients-d_1404.html (accessed Sep. 10, 2020).
- [140] "Solubility of Gases in Water." https://www.engineeringtoolbox.com/gases-solubility-water-d_1148.html (accessed Dec. 18, 2020).
- [141] S. Ji *et al.*, "Real-time monitoring of luminescent lifetime changes of PtOEP oxygen sensing film with LED/photodiode-based time-domain lifetime device," *Analyst*, vol. 134, no. 5, pp. 958–965, 2009, doi: 10.1039/b817791k.
- [142] A. K. Bansal, W. Holzer, A. Penzkofer, and T. Tsuboi, "Absorption and emission spectroscopic characterization of platinum-octaethyl-porphyrin (PtOEP)," *Chem. Phys.*, vol. 330, no. 1–2, pp.

- 118–129, Nov. 2006, doi: 10.1016/j.chemphys.2006.08.002.
- [143] M. A. Baldo *et al.*, “Highly efficient phosphorescent emission from organic electroluminescent devices,” *Nature*, vol. 395, no. 6698, pp. 151–154, Sep. 1998, doi: 10.1038/25954.
- [144] “HF2 User Manual,” https://docs.zhinst.com/pdf/ziHF2_UserManual.pdf (accessed Jan. 18, 2021).
- [145] B. Gündüz and N. Bulut, “Effects of solvents on photonic and fluorescence properties of PtOEP phosphorescent material: Experimental and computational analysis,” *J. Mol. Liq.*, vol. 316, p. 113865, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.molliq.2020.113865.
- [146] E. Cirulnick, H. Zhang, and D. Klotzkin, “Optical Oxygen Sensors With Improved Lifetime Incorporating Titania Beads and Polydimethylsiloxane Coatings,” *Photonic Sensors*, pp. 1–6, Nov. 2020, doi: 10.1007/s13320-020-0608-z.
- [147] N. de Nevers, “Appendix A: Useful Tables and Charts,” in *Physical and Chemical Equilibrium for Chemical Engineers*, Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2012, pp. 303–317.
- [148] “Gas cylinder storage - Compliance and safety requirements.” <https://offers.storemasta.com.au/lp-gas-cylinder-storage-compliance-safety-requirements> (accessed Jan. 07, 2021).

ANEXO I – EQUAÇÕES/CONVERSÕES UTILITÁRIAS

É possível calcular a salinidade a partir da condutividade a partir da seguinte equação.

$$S = A + (B \cdot R^{0,5}) + (C \cdot R) + (D \cdot R^{1,5}) + (E \cdot R^2) + (F \cdot R^{2,5})$$

Onde S representa a salinidade em unidades PSS e R a condutividade em $\mu S/cm$, as restantes variáveis podem ser consultadas na seguinte Tabela.

VARIÁVEL	VALOR
A	0,0120
B	-0,2174
C	25,3283
D	13,7714
E	-6,4788
F	2,5842

Pode ser conveniente converter pressão atmosférica em diferentes unidades, para tal a seguinte Tabela resume algumas das mais frequentes.

	1 bar
mmHg	750,061683
atm	0,986923267

Para converter altitude em pressão atmosférica procede-se ao uso da seguinte equação.

$$P_{ATM} = 1013 - (3,54733E^{-2} \cdot (A \cdot 3,28) + (4,6068714E^{-7} \cdot (A \cdot 3,28)^2))$$

Onde P_{ATM} representa a pressão atmosférica em mbar e A a altitude em m.

Para converter $\mu mol/L$ em mg/L procede-se à multiplicação do valor em micromoles pela massa molar do oxigénio, posteriormente divide-se o resultado por 1000 e obtém-se o valor em mg/L . O seguinte exemplo demonstra o descrito:

$$20 \mu mol/L \cdot 32 g/L = \frac{340 \mu mol/L}{1000} = 0,64 mg/L$$

ANEXO II – FATORES DE CORREÇÃO DE SALINIDADE

uS	0	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000	9000	10000	11000	12000	13000	14000	15000	16000
PSS	0.0	0.5	1.0	1.6	2.1	2.7	3.3	3.8	4.4	5.0	5.6	6.2	6.8	7.5	8.1	8.7	9.3
°C																	
0	1.000	0.996	0.992	0.988	0.984	0.981	0.977	0.973	0.969	0.965	0.961	0.957	0.953	0.950	0.946	0.942	0.938
1	1.000	0.996	0.992	0.988	0.984	0.981	0.977	0.973	0.969	0.965	0.961	0.957	0.953	0.950	0.946	0.942	0.938
2	1.000	0.996	0.992	0.988	0.984	0.981	0.977	0.973	0.969	0.965	0.961	0.957	0.953	0.950	0.946	0.942	0.938
3	1.000	0.996	0.992	0.988	0.985	0.981	0.977	0.973	0.969	0.966	0.962	0.958	0.954	0.950	0.947	0.943	0.939
4	1.000	0.996	0.992	0.988	0.985	0.981	0.977	0.973	0.969	0.966	0.962	0.958	0.954	0.950	0.947	0.943	0.939
5	1.000	0.996	0.992	0.989	0.985	0.981	0.977	0.974	0.970	0.966	0.962	0.959	0.955	0.951	0.947	0.944	0.940
6	1.000	0.996	0.992	0.989	0.985	0.981	0.977	0.974	0.970	0.966	0.962	0.959	0.955	0.951	0.947	0.944	0.940
7	1.000	0.996	0.992	0.989	0.985	0.981	0.978	0.974	0.970	0.967	0.963	0.959	0.956	0.952	0.948	0.945	0.941
8	1.000	0.996	0.992	0.989	0.985	0.981	0.978	0.974	0.970	0.967	0.963	0.959	0.956	0.952	0.948	0.945	0.941
9	1.000	0.996	0.992	0.989	0.985	0.981	0.978	0.974	0.970	0.967	0.963	0.959	0.956	0.952	0.948	0.945	0.941
10	1.000	0.996	0.992	0.989	0.985	0.982	0.978	0.974	0.971	0.967	0.964	0.960	0.956	0.953	0.949	0.946	0.942
11	1.000	0.996	0.992	0.989	0.985	0.982	0.978	0.974	0.971	0.967	0.964	0.960	0.956	0.953	0.949	0.946	0.942
12	1.000	0.997	0.993	0.990	0.986	0.983	0.979	0.975	0.972	0.968	0.965	0.961	0.957	0.954	0.950	0.947	0.943
13	1.000	0.997	0.993	0.990	0.986	0.983	0.979	0.975	0.972	0.968	0.965	0.961	0.957	0.954	0.950	0.947	0.943
14	1.000	0.997	0.993	0.990	0.986	0.983	0.979	0.975	0.972	0.968	0.965	0.961	0.957	0.954	0.950	0.947	0.943
15	1.000	0.997	0.993	0.990	0.986	0.983	0.979	0.976	0.972	0.969	0.965	0.962	0.958	0.955	0.951	0.948	0.944
16	1.000	0.997	0.993	0.990	0.986	0.983	0.979	0.976	0.972	0.969	0.965	0.962	0.958	0.955	0.951	0.948	0.944
17	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.983	0.980	0.976	0.973	0.969	0.966	0.962	0.959	0.955	0.952	0.948	0.945
18	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.983	0.980	0.976	0.973	0.969	0.966	0.962	0.959	0.955	0.952	0.948	0.945
19	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.983	0.980	0.976	0.973	0.969	0.966	0.962	0.959	0.955	0.952	0.948	0.945
20	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.983	0.980	0.977	0.973	0.970	0.966	0.963	0.960	0.956	0.953	0.949	0.946
21	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.983	0.980	0.977	0.973	0.970	0.966	0.963	0.960	0.956	0.953	0.949	0.946
22	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.984	0.980	0.977	0.974	0.970	0.967	0.964	0.960	0.957	0.954	0.950	0.947
23	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.984	0.980	0.977	0.974	0.970	0.967	0.964	0.960	0.957	0.954	0.950	0.947
24	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.984	0.980	0.977	0.974	0.970	0.967	0.964	0.960	0.957	0.954	0.950	0.947
25	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.984	0.981	0.977	0.974	0.971	0.968	0.964	0.961	0.958	0.955	0.951	0.948
26	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.984	0.981	0.977	0.974	0.971	0.968	0.964	0.961	0.958	0.955	0.951	0.948
27	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.984	0.981	0.977	0.974	0.971	0.968	0.964	0.961	0.958	0.955	0.951	0.948
28	1.000	0.997	0.994	0.991	0.987	0.984	0.981	0.978	0.975	0.971	0.968	0.965	0.962	0.959	0.955	0.952	0.949
29	1.000	0.997	0.994	0.991	0.987	0.984	0.981	0.978	0.975	0.971	0.968	0.965	0.962	0.959	0.955	0.952	0.949
30	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.984	0.981	0.978	0.975	0.972	0.969	0.966	0.963	0.959	0.956	0.953	0.950
31	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.984	0.981	0.978	0.975	0.972	0.969	0.966	0.963	0.959	0.956	0.953	0.950
32	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.984	0.981	0.978	0.975	0.972	0.969	0.966	0.963	0.959	0.956	0.953	0.950
33	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.985	0.982	0.979	0.976	0.972	0.969	0.966	0.963	0.960	0.957	0.954	0.951
34	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.985	0.982	0.979	0.976	0.972	0.969	0.966	0.963	0.960	0.957	0.954	0.951
35	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.985	0.982	0.979	0.976	0.972	0.969	0.966	0.963	0.960	0.957	0.954	0.951
36	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.985	0.982	0.979	0.976	0.973	0.970	0.967	0.964	0.961	0.957	0.954	0.951
37	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.985	0.982	0.979	0.976	0.973	0.970	0.967	0.964	0.961	0.958	0.955	0.952
38	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.985	0.982	0.979	0.976	0.973	0.970	0.967	0.964	0.961	0.958	0.955	0.952
39	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.985	0.982	0.979	0.976	0.973	0.970	0.967	0.964	0.961	0.958	0.955	0.952
40	1.000	0.997	0.994	0.991	0.988	0.985	0.982	0.979	0.976	0.974	0.971	0.968	0.965	0.962	0.959	0.956	0.953

uS	17000	18000	19000	20000	21000	22000	23000	24000	25000	26000	27000	28000	29000	30000	31000	32000	33000
PSS	10.0	10.6	11.3	11.9	12.6	13.2	13.9	14.5	15.2	15.9	16.5	17.2	17.9	18.6	19.2	19.9	20.6
°C																	
0	0.934	0.930	0.926	0.922	0.918	0.914	0.910	0.906	0.902	0.897	0.893	0.889	0.885	0.881	0.877	0.873	0.869
1	0.934	0.930	0.926	0.922	0.918	0.914	0.910	0.906	0.902	0.898	0.894	0.890	0.886	0.882	0.878	0.874	0.870
2	0.935	0.931	0.927	0.923	0.919	0.915	0.911	0.907	0.903	0.899	0.895	0.891	0.887	0.883	0.879	0.875	0.871
3	0.935	0.931	0.927	0.923	0.919	0.915	0.911	0.907	0.903	0.899	0.895	0.891	0.887	0.883	0.879	0.875	0.871
4	0.935	0.932	0.928	0.924	0.920	0.916	0.912	0.908	0.904	0.900	0.896	0.892	0.888	0.884	0.880	0.876	0.872
5	0.936	0.932	0.928	0.924	0.920	0.916	0.912	0.908	0.904	0.901	0.897	0.893	0.889	0.885	0.881	0.877	0.873
6	0.936	0.933	0.929	0.925	0.921	0.917	0.913	0.909	0.905	0.902	0.898	0.894	0.890	0.886	0.882	0.878	0.874
7	0.937	0.933	0.929	0.925	0.921	0.918	0.914	0.910	0.906	0.902	0.898	0.894	0.890	0.887	0.883	0.879	0.875
8	0.937	0.933	0.929	0.925	0.922	0.918	0.914	0.910	0.906	0.903	0.899	0.895	0.891	0.887	0.884	0.880	0.876
9	0.938	0.934	0.930	0.926	0.923	0.919	0.915	0.911	0.907	0.904	0.900	0.896	0.892	0.888	0.885	0.881	0.877
10	0.938	0.934	0.930	0.926	0.923	0.919	0.915	0.911	0.907	0.904	0.900	0.896	0.892	0.888	0.885	0.881	0.877
11	0.939	0.935	0.931	0.927	0.924	0.920	0.916	0.912	0.908	0.905	0.901	0.897	0.893	0.889	0.886	0.882	0.878
12	0.939	0.935	0.931	0.928	0.924	0.920	0.916	0.913	0.909	0.905	0.901	0.898	0.894	0.890	0.886	0.883	0.879
13	0.939	0.936	0.932	0.929	0.925	0.921	0.917	0.914	0.910	0.906	0.902	0.899	0.895	0.891	0.887	0.884	0.880
14	0.940	0.936	0.932	0.929	0.925	0.921	0.918	0.914	0.910	0.907	0.903	0.899	0.896	0.892	0.888	0.885	0.881
15	0.940	0.937	0.933	0.930	0.926	0.922	0.919	0.915	0.911	0.908	0.904	0.900	0.897	0.893	0.889	0.886	0.882
16	0.941	0.937	0.933	0.930	0.926	0.922	0.919	0.915	0.911	0.908	0.904	0.900	0.897	0.893	0.889	0.886	0.882
17	0.941	0.938	0.934	0.931	0.927	0.923	0.920	0.916	0.912	0.909	0.905	0.901	0.898	0.894	0.890	0.887	0.883
18	0.942	0.938	0.934	0.931	0.927	0.924	0.920	0.916	0.913	0.909	0.906	0.902	0.898	0.895	0.891	0.888	0.884
19	0.942	0.938	0.934	0.931	0.927	0.924	0.920	0.917	0.913	0.910	0.906	0.903	0.899	0.896	0.892	0.889	0.885
20	0.942	0.939	0.935	0.932	0.928	0.925	0.921	0.918	0.914	0.911	0.907	0.904	0.900	0.897	0.893	0.890	0.886
21	0.943	0.939	0.935	0.932	0.928	0.925	0.921	0.918	0.914	0.911	0.907	0.904	0.900	0.897	0.893	0.890	0.886
22	0.943	0.940	0.936	0.933	0.929	0.926	0.922	0.919	0.915	0.912	0.908	0.905	0.901	0.898	0.894	0.891	0.887
23	0.944	0.940	0.937	0.933	0.930	0.926	0.923	0.919	0.916	0.912	0.909	0.905	0.902	0.898	0.895	0.891	0.888
24	0.944	0.941	0.938	0.934	0.931	0.927	0.924	0.920	0.917	0.913	0.910	0.906	0.903	0.899	0.896	0.892	0.889
25	0.944	0.941	0.938	0.934	0.931	0.927	0.924	0.920	0.917	0.913	0.910	0.906	0.903	0.899	0.896	0.892	0.889
26	0.945	0.941	0.938	0.934	0.931	0.927	0.924	0.921	0.917	0.914	0.910	0.907	0.904	0.900	0.897	0.893	0.890
27	0.945	0.942	0.939	0.935	0.932	0.928	0.925	0.922	0.918	0.915	0.911	0.908	0.905	0.901	0.898	0.894	0.891
28	0.946	0.942	0.939	0.935	0.932	0.929	0.925	0.922	0.919	0.915	0.912	0.909	0.905	0.902	0.899	0.895	0.892
29	0.946	0.943	0.940	0.936	0.933	0.929	0.926	0.923	0.919	0.916	0.912	0.909	0.906	0.902	0.899	0.895	0.892
30	0.946	0.943	0.940	0.936	0.933	0.930	0.926	0.923	0.920	0.916	0.913	0.910	0.906	0.903	0.900	0.896	0.893
31	0.947	0.943	0.940	0.936	0.933	0.930	0.927	0.923	0.920	0.917	0.914	0.910	0.907	0.904	0.901	0.897	0.894
32	0.947	0.944	0.941	0.937	0.934	0.931	0.928	0.924	0.921	0.918	0.915	0.911	0.908	0.905	0.902	0.898	0.895
33	0.947	0.944	0.941	0.937	0.934	0.931	0.928	0.924	0.921	0.918	0.915	0.911	0.908	0.905	0.902	0.898	0.895
34	0.948	0.945	0.942	0.938	0.935	0.932	0.929	0.925	0.922	0.919	0.916	0.912	0.909	0.906	0.903	0.899	0.896
35	0.948	0.945	0.942	0.939	0.935	0.932	0.929	0.926	0.923	0.919	0.916	0.913	0.910	0.907	0.903	0.900	0.897
36	0.948	0.945	0.942	0.939	0.936	0.933	0.930	0.926	0.923	0.920	0.917	0.914	0.911	0.907	0.904	0.901	0.898
37	0.949	0.946	0.943	0.940	0.936	0.933	0.930	0.927	0.924	0.921	0.918	0.914	0.911	0.908	0.905	0.902	0.899
38	0.949	0.946	0.943	0.940	0.937	0.934	0.931	0.928	0.924	0.921	0.918	0.915	0.912	0.909	0.906	0.903	0.899
39	0.950	0.947	0.944	0.941	0.937	0.934	0.931	0.928	0.925	0.922	0.919	0.916	0.913	0.910	0.906	0.903	0.900
40	0.950	0.947	0.944	0.941	0.938	0.935	0.932	0.929	0.926	0.923	0.919	0.916	0.913	0.910	0.907	0.904	0.901

uS	34000	35000	36000	37000	38000	39000	40000	41000	42000	43000	44000	45000	46000	47000	48000	49000	50000
PSS	21.3	22.0	22.7	23.4	24.0	24.8	25.5	26.2	26.9	27.6	28.4	29.1	29.8	30.5	31.3	32.0	32.7
°C																	
0	0.866	0.861	0.857	0.853	0.849	0.844	0.840	0.836	0.832	0.828	0.824	0.820	0.815	0.811	0.807	0.803	0.799
1	0.866	0.862	0.858	0.854	0.850	0.845	0.841	0.837	0.833	0.829	0.825	0.821	0.816	0.812	0.808	0.804	0.800
2	0.867	0.863	0.859	0.855	0.851	0.846	0.842	0.838	0.834	0.830	0.826	0.822	0.817	0.813	0.809	0.805	0.801
3	0.867	0.863	0.859	0.855	0.851	0.847	0.843	0.839	0.835	0.831	0.827	0.823	0.819	0.815	0.811	0.807	0.803
4	0.868	0.864	0.860	0.856	0.852	0.848	0.844	0.840	0.836	0.832	0.828	0.824	0.820	0.816	0.812	0.808	0.804
5	0.869	0.865	0.861	0.857	0.853	0.849	0.845	0.841	0.837	0.833	0.829	0.825	0.821	0.817	0.813	0.809	0.805
6	0.870	0.866	0.862	0.858	0.854	0.850	0.846	0.842	0.838	0.834	0.830	0.826	0.822	0.818	0.814	0.810	0.806
7	0.871	0.867	0.863	0.859	0.855	0.851	0.847	0.843	0.840	0.836	0.832	0.828	0.824	0.820	0.816	0.812	0.808
8	0.872	0.868	0.864	0.860	0.856	0.852	0.848	0.844	0.841	0.837	0.833	0.829	0.825	0.821	0.817	0.813	0.809
9	0.873	0.869	0.865	0.861	0.857	0.853	0.849	0.845	0.842	0.838	0.834	0.830	0.826	0.822	0.818	0.814	0.810
10	0.874	0.870	0.866	0.862	0.858	0.854	0.850	0.846	0.843	0.839	0.835	0.831	0.827	0.823	0.819	0.815	0.811
11	0.874	0.870	0.866	0.863	0.859	0.855	0.851	0.847	0.844	0.840	0.836	0.832	0.828	0.824	0.821	0.817	0.813
12	0.875	0.871	0.867	0.864	0.860	0.856	0.852	0.848	0.845	0.841	0.837	0.833	0.829	0.825	0.822	0.818	0.814
13	0.876	0.872	0.868	0.865	0.861	0.857	0.853	0.849	0.846	0.842	0.838	0.834	0.830	0.826	0.823	0.819	0.815
14	0.877	0.873	0.869	0.866	0.862	0.858	0.854	0.850	0.847	0.843	0.839	0.835	0.831	0.827	0.824	0.820	0.816
15	0.878	0.874	0.870	0.867	0.863	0.859	0.855	0.851	0.848	0.844	0.840	0.836	0.832	0.828	0.825	0.821	0.817
16	0.879	0.875	0.872	0.868	0.864	0.860	0.857	0.853	0.849	0.845	0.842	0.838	0.834	0.830	0.827	0.823	0.819
17	0.879	0.875	0.872	0.868	0.864	0.861	0.857	0.853	0.850	0.846	0.842	0.838	0.835	0.831	0.827	0.824	0.820
18	0.880	0.876	0.873	0.869	0.865	0.862	0.858	0.854	0.851	0.847	0.843	0.839	0.836	0.832	0.828	0.825	0.821
19	0.881	0.877	0.874	0.870	0.866	0.863	0.859	0.855	0.852	0.848	0.844	0.840	0.837	0.833	0.829	0.826	0.822
20	0.882	0.878	0.875	0.871	0.867	0.864	0.860	0.856	0.853	0.849	0.845	0.841	0.838	0.834	0.830	0.827	0.823
21	0.883	0.879	0.876	0.872	0.869	0.865	0.861	0.858	0.854	0.850	0.847	0.843	0.840	0.836	0.832	0.829	0.825
22	0.884	0.880	0.877	0.873	0.870	0.866	0.862	0.859	0.855	0.851	0.848	0.844	0.841	0.837	0.833	0.830	0.826
23	0.884	0.880	0.877	0.873	0.870	0.866	0.863	0.859	0.856	0.852	0.848	0.845	0.841	0.838	0.834	0.831	0.827
24	0.885	0.881	0.878	0.874	0.871	0.867	0.864	0.860	0.857	0.853	0.849	0.846	0.842	0.839	0.835	0.832	0.828
25	0.886	0.882	0.879	0.875	0.872	0.868	0.865	0.861	0.858	0.854	0.850	0.847	0.843	0.840	0.836	0.833	0.829
26	0.887	0.883	0.880	0.876	0.873	0.869	0.866	0.862	0.859	0.855	0.851	0.848	0.844	0.841	0.837	0.834	0.830
27	0.887	0.884	0.880	0.877	0.873	0.870	0.866	0.863	0.859	0.855	0.852	0.848	0.845	0.841	0.838	0.834	0.831
28	0.888	0.885	0.881	0.878	0.874	0.871	0.867	0.864	0.860	0.857	0.853	0.849	0.846	0.842	0.839	0.835	0.832
29	0.889	0.886	0.882	0.879	0.875	0.872	0.868	0.865	0.862	0.858	0.855	0.851	0.848	0.844	0.841	0.837	0.834
30	0.890	0.887	0.883	0.880	0.876	0.873	0.869	0.866	0.863	0.859	0.856	0.852	0.849	0.845	0.842	0.838	0.835
31	0.890	0.887	0.883	0.880	0.877	0.873	0.870	0.866	0.863	0.860	0.856	0.853	0.850	0.846	0.843	0.839	0.836
32	0.891	0.888	0.884	0.881	0.878	0.874	0.871	0.867	0.864	0.861	0.857	0.854	0.851	0.847	0.844	0.840	0.837
33	0.892	0.889	0.885	0.882	0.879	0.875	0.872	0.868	0.865	0.862	0.858	0.855	0.852	0.848	0.845	0.841	0.838
34	0.893	0.890	0.886	0.883	0.880	0.876	0.873	0.869	0.866	0.863	0.859	0.856	0.853	0.849	0.846	0.842	0.839
35	0.893	0.890	0.886	0.883	0.880	0.876	0.873	0.870	0.867	0.863	0.860	0.857	0.853	0.850	0.847	0.843	0.840
36	0.894	0.891	0.887	0.884	0.881	0.877	0.874	0.871	0.867	0.864	0.861	0.858	0.854	0.851	0.848	0.844	0.841
37	0.895	0.891	0.888	0.885	0.882	0.878	0.875	0.872	0.868	0.865	0.862	0.859	0.855	0.852	0.849	0.846	0.842
38	0.895	0.892	0.889	0.886	0.882	0.879	0.876	0.873	0.869	0.866	0.863	0.860	0.856	0.853	0.850	0.847	0.844
39	0.896	0.893	0.890	0.887	0.883	0.880	0.877	0.874	0.870	0.867	0.864	0.861	0.858	0.854	0.851	0.848	0.845
40	0.897	0.894	0.891	0.887	0.884	0.881	0.878	0.875	0.871	0.868	0.865	0.862	0.859	0.855	0.852	0.849	0.846

uS	51000	52000	53000	54000	55000	56000	57000	58000	59000	60000	61000	62000	63000	64000	65000	66000	67000
PSS	33.5	34.2	34.9	35.7	36.4	37.2	37.9	38.7	39.4	40.2	40.9	41.7	42.5	43.2	44	44.8	45.6
°C																	
0	0.785	0.791	0.787	0.782	0.778	0.774	0.770	0.766	0.762	0.757	0.753	0.749	0.745	0.741	0.736	0.732	0.728
1	0.796	0.792	0.788	0.784	0.780	0.775	0.771	0.767	0.763	0.759	0.755	0.751	0.746	0.742	0.738	0.734	0.730
2	0.797	0.793	0.789	0.785	0.781	0.777	0.773	0.769	0.765	0.760	0.756	0.752	0.748	0.744	0.740	0.736	0.732
3	0.798	0.794	0.790	0.786	0.782	0.778	0.774	0.770	0.766	0.761	0.757	0.753	0.749	0.745	0.741	0.737	0.733
4	0.800	0.796	0.792	0.788	0.784	0.780	0.776	0.772	0.768	0.763	0.759	0.755	0.751	0.747	0.743	0.739	0.735
5	0.801	0.797	0.793	0.789	0.785	0.781	0.777	0.773	0.769	0.765	0.761	0.757	0.753	0.749	0.745	0.741	0.737
6	0.802	0.798	0.794	0.790	0.786	0.782	0.778	0.774	0.770	0.766	0.762	0.758	0.754	0.750	0.746	0.742	0.738
7	0.804	0.800	0.796	0.792	0.788	0.784	0.780	0.776	0.772	0.768	0.764	0.760	0.756	0.752	0.748	0.744	0.740
8	0.805	0.801	0.797	0.793	0.789	0.785	0.781	0.777	0.774	0.770	0.766	0.762	0.758	0.754	0.750	0.746	0.742
9	0.806	0.802	0.798	0.794	0.790	0.786	0.782	0.778	0.775	0.771	0.767	0.763	0.759	0.755	0.751	0.747	0.743
10	0.807	0.803	0.799	0.795	0.792	0.788	0.784	0.780	0.776	0.772	0.768	0.764	0.761	0.757	0.753	0.749	0.745
11	0.809	0.805	0.801	0.797	0.793	0.789	0.785	0.781	0.778	0.774	0.770	0.766	0.762	0.758	0.754	0.750	0.746
12	0.810	0.806	0.802	0.798	0.795	0.791	0.787	0.783	0.779	0.775	0.771	0.767	0.764	0.760	0.756	0.752	0.748
13	0.811	0.807	0.803	0.800	0.796	0.792	0.788	0.784	0.781	0.777	0.773	0.769	0.765	0.761	0.758	0.754	0.750
14	0.812	0.808	0.804	0.801	0.797	0.793	0.789	0.785	0.782	0.778	0.774	0.770	0.766	0.762	0.759	0.755	0.751
15	0.814	0.810	0.806	0.803	0.799	0.795	0.791	0.787	0.784	0.780	0.776	0.772	0.768	0.764	0.761	0.757	0.753
16	0.815	0.811	0.807	0.804	0.800	0.796	0.792	0.788	0.785	0.781	0.777	0.773	0.769	0.765	0.762	0.758	0.754
17	0.816	0.812	0.809	0.805	0.801	0.797	0.794	0.790	0.786	0.782	0.779	0.775	0.771	0.767	0.764	0.760	0.756
18	0.817	0.813	0.810	0.806	0.802	0.798	0.795	0.791	0.787	0.783	0.780	0.776	0.772	0.768	0.765	0.761	0.757
19	0.819	0.815	0.812	0.808	0.804	0.800	0.797	0.793	0.789	0.785	0.782	0.778	0.774	0.770	0.767	0.763	0.759
20	0.820	0.816	0.813	0.809	0.805	0.801	0.798	0.794	0.790	0.786	0.783	0.779	0.775	0.771	0.768	0.764	0.760
21	0.821	0.817	0.814	0.810	0.806	0.803	0.799	0.795	0.792	0.788	0.784	0.780	0.777	0.773	0.769	0.766	0.762
22	0.822	0.818	0.815	0.811	0.807	0.804	0.800	0.796	0.793	0.789	0.785	0.781	0.778	0.774	0.770	0.767	0.763
23	0.823	0.819	0.816	0.812	0.809	0.805	0.801	0.798	0.794	0.790	0.787	0.783	0.780	0.776	0.772	0.769	0.765
24	0.824	0.820	0.817	0.813	0.810	0.806	0.802	0.799	0.795	0.791	0.788	0.784	0.781	0.777	0.773	0.770	0.766
25	0.826	0.822	0.819	0.815	0.812	0.808	0.804	0.801	0.797	0.793	0.790	0.786	0.783	0.779	0.775	0.772	0.768
26	0.827	0.823	0.820	0.816	0.813	0.809	0.805	0.802	0.798	0.794	0.791	0.787	0.784	0.780	0.776	0.773	0.769
27	0.828	0.824	0.821	0.817	0.814	0.810	0.807	0.803	0.800	0.796	0.792	0.789	0.785	0.782	0.778	0.775	0.771
28	0.829	0.825	0.822	0.818	0.815	0.811	0.808	0.804	0.801	0.797	0.793	0.790	0.786	0.783	0.779	0.776	0.772
29	0.830	0.827	0.823	0.820	0.816	0.813	0.809	0.806	0.802	0.799	0.795	0.792	0.788	0.785	0.781	0.778	0.774
30	0.831	0.828	0.824	0.821	0.817	0.814	0.810	0.807	0.803	0.800	0.796	0.793	0.789	0.786	0.782	0.779	0.775
31	0.832	0.829	0.825	0.822	0.818	0.815	0.811	0.808	0.804	0.801	0.797	0.794	0.790	0.787	0.783	0.780	0.776
32	0.833	0.830	0.826	0.823	0.819	0.816	0.812	0.809	0.806	0.802	0.799	0.795	0.792	0.788	0.785	0.781	0.778
33	0.834	0.831	0.827	0.824	0.820	0.817	0.813	0.810	0.807	0.803	0.800	0.796	0.793	0.789	0.786	0.782	0.779
34	0.836	0.833	0.829	0.826	0.822	0.819	0.815	0.812	0.809	0.805	0.802	0.798	0.795	0.791	0.788	0.784	0.781
35	0.837	0.834	0.830	0.827	0.823	0.820	0.816	0.813	0.810	0.806	0.803	0.799	0.796	0.792	0.789	0.785	0.782
36	0.838	0.835	0.831	0.828	0.825	0.821	0.818	0.814	0.811	0.807	0.804	0.801	0.797	0.794	0.790	0.787	0.784
37	0.839	0.836	0.833	0.829	0.826	0.822	0.819	0.816	0.812	0.809	0.805	0.802	0.799	0.795	0.792	0.788	0.785
38	0.841	0.837	0.834	0.830	0.827	0.824	0.820	0.817	0.814	0.810	0.807	0.803	0.800	0.797	0.793	0.790	0.787
39	0.842	0.838	0.835	0.832	0.828	0.825	0.822	0.818	0.815	0.812	0.808	0.805	0.802	0.798	0.795	0.792	0.788
40	0.843	0.840	0.836	0.833	0.830	0.826	0.823	0.820	0.816	0.813	0.810	0.806	0.803	0.800	0.796	0.793	0.790

ANEXO III – VARIAÇÃO DAS CONSTANTES DE HENRY, PARA OXIGÉNIO E NITROGÉNIO GASOSOS EM ÁGUA

A seguinte Tabela adaptada da referência [147] resume alguns dos valores da constante de Henry consoante a temperatura.

	Temperatura (°C)					
	0	10	20	30	40	50
Oxigénio	2,55	3,27	4,01	4,75	5,35	5,88
Nitrogénio	5,29	6,687	8,04	9,24	10,4	11,3
Constantes de Henry ($\times 10^4$ atm)						

ANEXO IV – CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE TOLUENO

Membranas Fabricadas com Concentração de 181 ppm – Metodologia Peso

MEMBRANA		ESPESSURA (mm)	FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C2_TOLU_M1		0,1	272	Precipitação muito ligeira do indicador
C2_TOLU_M2	+	0,4	415	Precipitação muito ligeira do indicador descentralizada
	-	0,3		
C2_TOLU_M3	+	0,7	560	Precipitação muito ligeira do indicador
	-	0,5		
C2_TOLU_M4	+	0,7	853	Precipitação ligeira do indicador
	-	0,4		
C2_TOLU_M5	+	1,1	1085	Precipitação ligeira do indicador
	-	0,7		
C2_TOLU_M6	+	1,3	1207	Precipitação ligeira do indicador descentralizada
	-	0,9		
C2_TOLU_M7	+	2,0	1558	Textura irregular
	-	1,0		
C2_TOLU_M1_2	+	0,2	273	Precipitação muito ligeira do indicador
	-	0,1		
C2_TOLU_M2_2	+	0,5	420	Precipitação muito ligeira do indicador
	-	0,1		
C2_TOLU_M3_2	+	0,5	553	Precipitação muito ligeira do indicador
	-	0,3		
C2_TOLU_M4_2	+	0,7	885	Precipitação ligeira do indicador
	-	0,6		
C2_TOLU_M5_2	+	1,0	1073	Precipitação muito ligeira do indicador
	-	0,7		
C2_TOLU_M6_2	+	1	1200	Precipitação ligeira do indicador descentralizada
	-	0,8		
C2_TOLU_M7_2	+	2,4	1570	Textura irregular
	-	1,4		

Membranas Fabricadas com Concentração de 181 ppm – Metodologia Spin-Coating

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO	DESCRIÇÃO
C2_TOLU_S1	+	0,2	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C2_TOLU_S2	0,1		250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C2_TOLU_S3	0,1		500 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C2_TOLU_S1_2	+	0,2	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C2_TOLU_S2_2	+	0,2	250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C2_TOLU_S3_2	0,1		500 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea

s- Segundos

Membranas Fabricadas com Concentração de 363 ppm – Metodologia Peso

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C4_TOLU_M1	+	0,2	282	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C4_TOLU_M2	+	0,3	419	Amostra cristalina homogénea
	-	0,6		
C4_TOLU_M3	+	0,6	562	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C4_TOLU_M4	+	0,8	856	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C4_TOLU_M5	+	1	1095	Amostra cristalina homogénea
	-	0,5		
C4_TOLU_M6	+	1,2	1195	Amostra cristalina homogénea
	-	0,8		
C4_TOLU_M7	+	1,8	1571	Textura irregular
	-	1,4		
C4_TOLU_M1_2	+	0,4	281	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C4_TOLU_M2_2	+	0,6	424	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C4_TOLU_M3_2	+	0,9	538	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C4_TOLU_M4_2	+	0,7	858	Amostra cristalina homogénea
	-	0,5		
C4_TOLU_M5_2	+	1	1075	Amostra cristalina homogénea
	-	0,7		
C4_TOLU_M6_2	+	1,3	1228	Amostra cristalina homogénea
	-	0,7		
C4_TOLU_M7_2	+	1,4	1591	Textura irregular
	-	1,1		

Membranas Fabricadas com Concentração de 363 ppm – Metodologia Spin-Coating

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO	DESCRIÇÃO
C4_TOLU_S1	+	0,1	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
	-	0,2		
C4_TOLU_S2	0,1		250 rpm 30s	Amostra cristalina homogénea
C4_TOLU_S3	0,1		500 rpm 30s	Amostra cristalina homogénea
C4_TOLU_S1_2	0,1		100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C4_TOLU_S2_2	0,1		250 rpm 30s	Amostra cristalina homogénea
C4_TOLU_S3_2	0,1		500 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea

s- Segundos

Membranas Fabricadas com Concentração de 545 ppm – Metodologia Peso

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C6_TOLU_M1	+	0,2	268	Precipitação ligeira do indicador centralizada
	-	0,1		
C6_TOLU_M2	+	0,4	422	Precipitação ligeira do indicador centralizada
	-	0,2		
C6_TOLU_M3	+	0,6	534	Precipitação ligeira do indicador centralizada
	-	0,4		
C6_TOLU_M4	+	0,8	852	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C6_TOLU_M5	+	1	1061	Amostra cristalina homogénea
	-	0,7		
C6_TOLU_M6	+	1	1224	Amostra cristalina homogénea
	-	0,9		
C6_TOLU_M7	+	1,8	1574	Amostra cristalina homogénea
	-	1,1		
C6_TOLU_M1_2	+	0,3	284	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C6_TOLU_M2_2	+	0,8	420	Precipitação ligeira do indicador centralizada
	-	0,3		
C6_TOLU_M3_2	+	0,6	554	Precipitação ligeira do indicador centralizada
	-	0,4		
C6_TOLU_M4_2	+	1,0	870	Amostra cristalina homogénea
	-	0,9		
C6_TOLU_M5_2	+	0,9	1098	Amostra cristalina homogénea
	-	0,7		
C6_TOLU_M6_2	+	1	1243	Amostra cristalina homogénea
	-	0,7		
C6_TOLU_M7_2	+	1,3	1564	Textura irregular
	-	1,1		

Membranas Fabricadas com Concentração de 545 ppm – Metodologia Spin coating

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)	FABRICO	DESCRIÇÃO
C6_TOLU_S1	0,1	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C6_TOLU_S2	0,1	250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C6_TOLU_S3	0,1	500 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C6_TOLU_S1_2	0,1	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C6_TOLU_S2_2	0,1	250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C6_TOLU_S3_2	0,1	500 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea

s- Segundos

Membranas Fabricadas com Concentração de 727 ppm – Metodologia Peso

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C8_TOLU_M1	+	0,2	306	Precipitação do indicador centralizada
	-	0,1		
C8_TOLU_M2	+	0,4	421	Precipitação muito ligeira do indicador
	-	0,2		
C8_TOLU_M3	+	0,6	532	Precipitação ligeira do indicador descentralizada
	-	0,2		
C8_TOLU_M4	+	0,6	845	Precipitação ligeira do indicador centralizada
	-	0,4		
C8_TOLU_M5	+	0,9	1086	Precipitação do indicador centralizada
	-	0,7		
C8_TOLU_M6	+	0,8	1223	Precipitação muito ligeira do indicador centralizada
	-	0,7		
C8_TOLU_M7	+	1,2	1579	Textura irregular
	-	1,1		
C8_TOLU_M1_2	+	0,3	328	Precipitação muito ligeira do indicador
	-	0,1		
C8_TOLU_M2_2	+	0,6	431	Precipitação muito ligeira do indicador
	-	0,2		
C8_TOLU_M3_2	+	0,7	542	Precipitação ligeira do indicador centralizada
	-	0,3		
C8_TOLU_M4_2	+	0,6	860	Bolhas de ar descentralizadas Precipitação do indicador centralizada
	-	0,4		
C8_TOLU_M5_2	+	0,9	1087	Precipitação do indicador centralizada
	-	0,6		
C8_TOLU_M6_2	+	0,8	1231	Precipitação muito leve do indicador descentralizada
	-	0,5		
C8_TOLU_M7_2	+	1,3	1557	Textura irregular
	-	1,0		

Membranas Fabricadas com Concentração de 727 ppm – Metodologia Spin-Coating

s- Segundos

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)	FABRICO	DESCRIÇÃO
C8_TOLU_S1	0,1	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C8_TOLU_S2	0,1	250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C8_TOLU_S3	0,1	500 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C8_TOLU_S1_2	0,1	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C8_TOLU_S2_2	0,1	250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C8_TOLU_S3_2	0,1	500 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea

ANEXO V – CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE THF

Membranas Fabricadas com Concentração de 363 ppm – Metodologia Peso

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C4_THF_M1	+	0,3	270	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C4_THF_M2	+	0,4	429	Amostra cristalina homogénea
	-	0,2		
C4_THF_M3	+	0,6	543	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C4_THF_M4	+	0,8	843	Coloração raiada transparente
	-	0,6		
C4_THF_M5	+	1	1086	Não uniforme raiado
	-	0,8		
C4_THF_M6	+	1,3	1215	Não uniforme raiado
	-	0,9		
C4_THF_M7	+	1,5	1596	Amostra cristalina homogénea
	-	1,3		
C4_THF_M1_2	+	0,2	282	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C4_THF_M2_2	+	0,5	426	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C4_THF_M3_2	+	0,7	560	Amostra cristalina homogénea
	-	0,2		
C4_THF_M4_2	+	0,8	863	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C4_THF_M5_2	+	1,3	1077	Amostra cristalina homogénea
	-	0,4		
C4_THF_M6_2	+	0,7	1220	Não uniforme frágil
	-	0,6		
C4_THF_M7_2	+	1,5	1589	Textura não uniforme raiado
	-	1,2		
C4_THF_M_EXTRA	+	1,5	1372	Não uniforme raiado
	-	1		

Membranas Fabricadas com Concentração de 363 ppm – Metodologia Spin-Coating

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)	FABRICO	DESCRIÇÃO
C4_THF_S1	0,1	100 rpm 30 s	INVÁLIDA
C4_THF_S2	0,1	250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C4_THF_S3	0,1	500 rpm 30 s	INVÁLIDA
C4_THF_S1_2	0,2	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C4_THF_S2_2	0,1	250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C4_THF_S3_2	0,1	500 rpm 30 s	INVÁLIDA

s- Segundos

Membranas Fabricadas com Concentração de 545 ppm – Metodologia Peso

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C6_THF_M1	0,2		272	Amostra cristalina homogénea
C6_THF_M2	+	0,4	410	Amostra cristalina homogénea
	-	0,2		
C6_THF_M3	+	0,4	542	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C6_THF_M4	+	0,8	854	Amostra cristalina homogénea
	-	0,6		
C6_THF_M5	+	1,3	1090	textura raiada transparente
	-	1,1		
C6_THF_M6	+	1,4	1211	textura raiada transparente
	-	1,1		
C6_THF_M7	+	1,9	1564	textura raiada transparente
	-	1,5		
C6_THF_M1_2	0.1		272	Amostra cristalina homogénea
C6_THF_M2_2	+	0,4	413	Amostra cristalina homogénea
	-	0,2		
C6_THF_M3_2	+	0,5	542	Amostra cristalina homogénea
	-	0,4		
C6_THF_M4_2	+	0,3	417	Amostra cristalina homogénea
	-	0,2		
C6_THF_M5_2	+	1	1079	Amostra cristalina homogénea
	-	0,8		
C6_THF_M6_2	+	1,1	1221	Textura irregular com bolhas de ar dispersas
	-	0,9		
C6_THF_M7_2	+	1,5	1564	Amostra cristalina homogénea
	-	1,3		

Membranas Fabricadas com Concentração de 545 ppm – Metodologia Spin-Coating

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO	DESCRIÇÃO
C6_THF_S1	+	0,2	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C6_THF_S2	0,1		250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C6_THF_S1_2	+	0,2	100 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C6_THF_S2_2	0,1		250 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C6_THF_S3_2	0,1		500 rpm 30 s	Amostra cristalina homogénea
C6_THF_S1_3	0,4		100 rpm 30 s	Bolhas de ar dispersas

s- Segundos

Membranas Fabricadas com Concentração de 727 ppm – Metodologia Peso

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C8_THF_M1	+	0,2	270	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C8_THF_M2	+	0,5	410	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C8_THF_M3	+	0,5	540	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C8_THF_M4	+	0,9	852	Amostra cristalina homogénea
	-	0,5		
C8_THF_M5	+	0,9	1080	Uniforme cristalino com bolhas laterais
	-	0,5		
C8_THF_M6	+	1	1213	Amostra cristalina homogénea
	-	0,8		
C8_THF_M7	+	1,4	1585	Não uniforme raiado transparente
	-	0,9		
C8_THF_M1_2	+	0,3	294	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C8_THF_M2_2	+	0,4	419	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C8_THF_M3_2	+	0,5	550	Textura não uniforme com bolhas
	-	0,3		
C8_THF_M4_2	+	0,8	857	Amostra cristalina homogénea
	-	0,6		
C8_THF_M5_2	+	1,1	1086	Não uniforme raiado transparente
	-	0,7		

Membranas Fabricadas com Concentração de 727 ppm – Metodologia Spin-Coating

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C8_THF_S1	0,1		100 rpm (30 s)	INVÁLIDA
C8_THF_S2	0,1		250 rpm (30 s)	Amostra cristalina homogénea
C8_THF_S3	0,1		500 rpm (30 s)	INVÁLIDA
C8_THF_S4	0,1		1000 rpm (30 s)	Amostra cristalina homogénea
C8_THF_S1_2	0,4		100 rpm (30 s)	Partículas suspensas de pó
C8_THF_S2_2	0,1		250 rpm (30 s)	Partículas suspensas de pó
C8_THF_S3_2	0,1		500 rpm (30 s)	Amostra cristalina homogénea
C8_THF_S1_3	+	0,4	100 rpm (30 s)	Não uniforme
	-	0,1		
C8_THF_S3_3	0,1		500 rpm (30 s)	Amostra cristalina homogénea

s- Segundos

ANEXO VI – CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CONTROLO

Membranas de Tolueno – Metodologia Peso

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C1_Tolu	+	0,2	295	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C2_Tolu	0,1		260	Amostra cristalina homogénea
C3_Tolu	+	0,5	538	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C4_Tolu	+	0,7	844	Amostra cristalina homogénea
	-	0,5		
C5_Tolu	+	1	1086	Bolhas de ar dispersas em toda a amostra
	-	0,8		
C6_Tolu	+	1	1215	Bolhas de ar dispersas em toda a amostra
	-	0,8		
C7_Tolu	+	1,1	1497	Bolhas de ar dispersas em toda a amostra
	-	0,8		

Membranas de Tolueno – Metodologia *Spin-Coating*

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO	DESCRIÇÃO
C_S1_Tolu	0,1		100 rpm 30s	Amostra cristalina homogénea
C_S2_Tolu	+	0,2	250 rpm 30s	Amostra cristalina homogénea
	+	0,1		
C_S2_Tolu	0,1		500 rpm 30s	Amostra cristalina homogénea

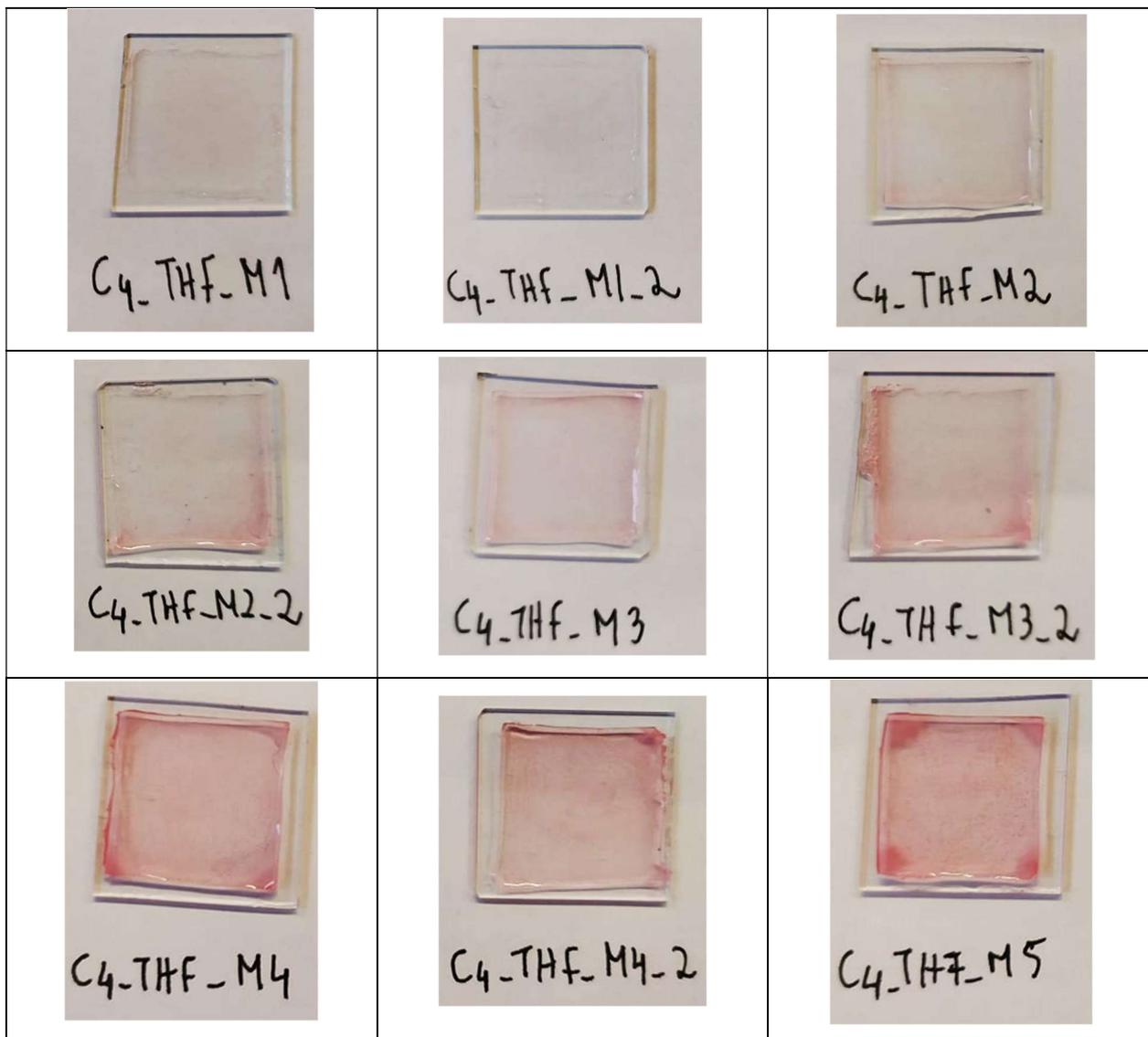
s- Segundos

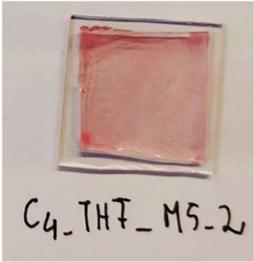
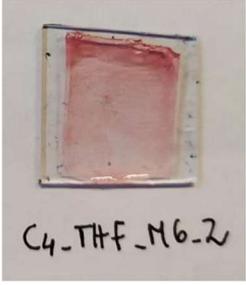
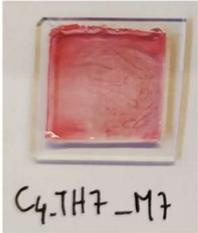
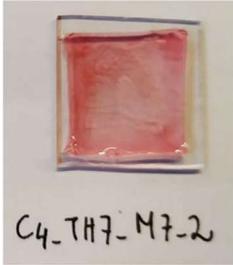
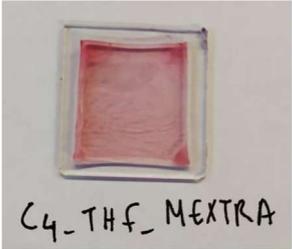
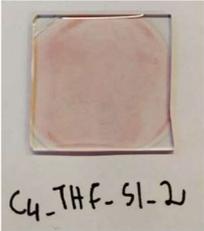
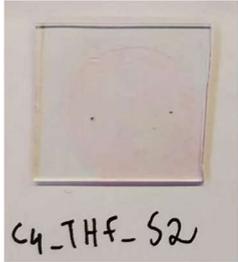
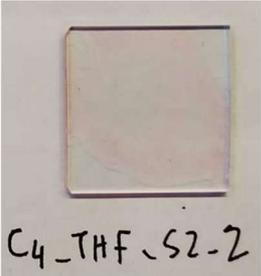
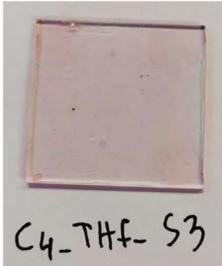
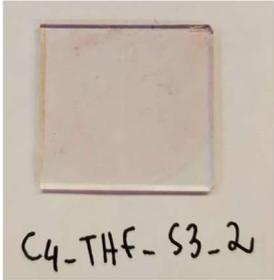
Membranas de THF

MEMBRANA	ESPESSURA (mm)		FABRICO (mg)	DESCRIÇÃO
C1_THF	+	0,2	278	Amostra cristalina homogénea
	-	0,1		
C2_THF	+	0,6	421	Amostra cristalina homogénea
	-	0,3		
C3_THF	+	1	532	Amostra cristalina homogénea
	-	0,6		
C4_THF	+	1,6	863	Bolhas de ar dispersas em toda a amostra
	-	1,3		
C5_THF	+	0,5	1065	Amostra cristalina homogénea
	-	0,2		
C6_THF	+	0,7	1223	Textura irregular
	-	0,4		
C7_THF	+	1	1554	Textura irregular
	-	0,8		

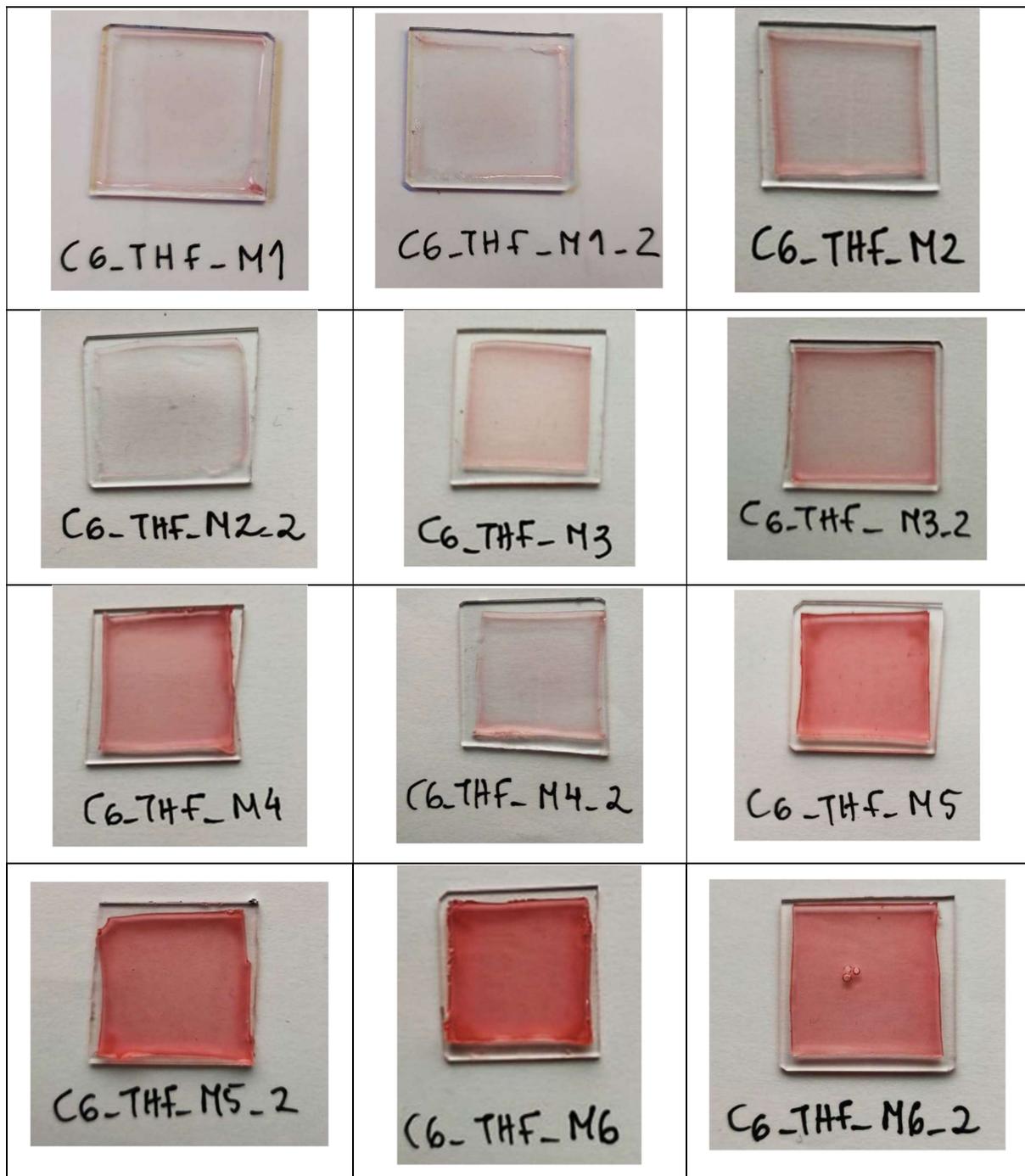
ANEXO VII – FOTOGRAFIAS DO RESULTADO DA CURA DAS MEMBRANAS DE THF

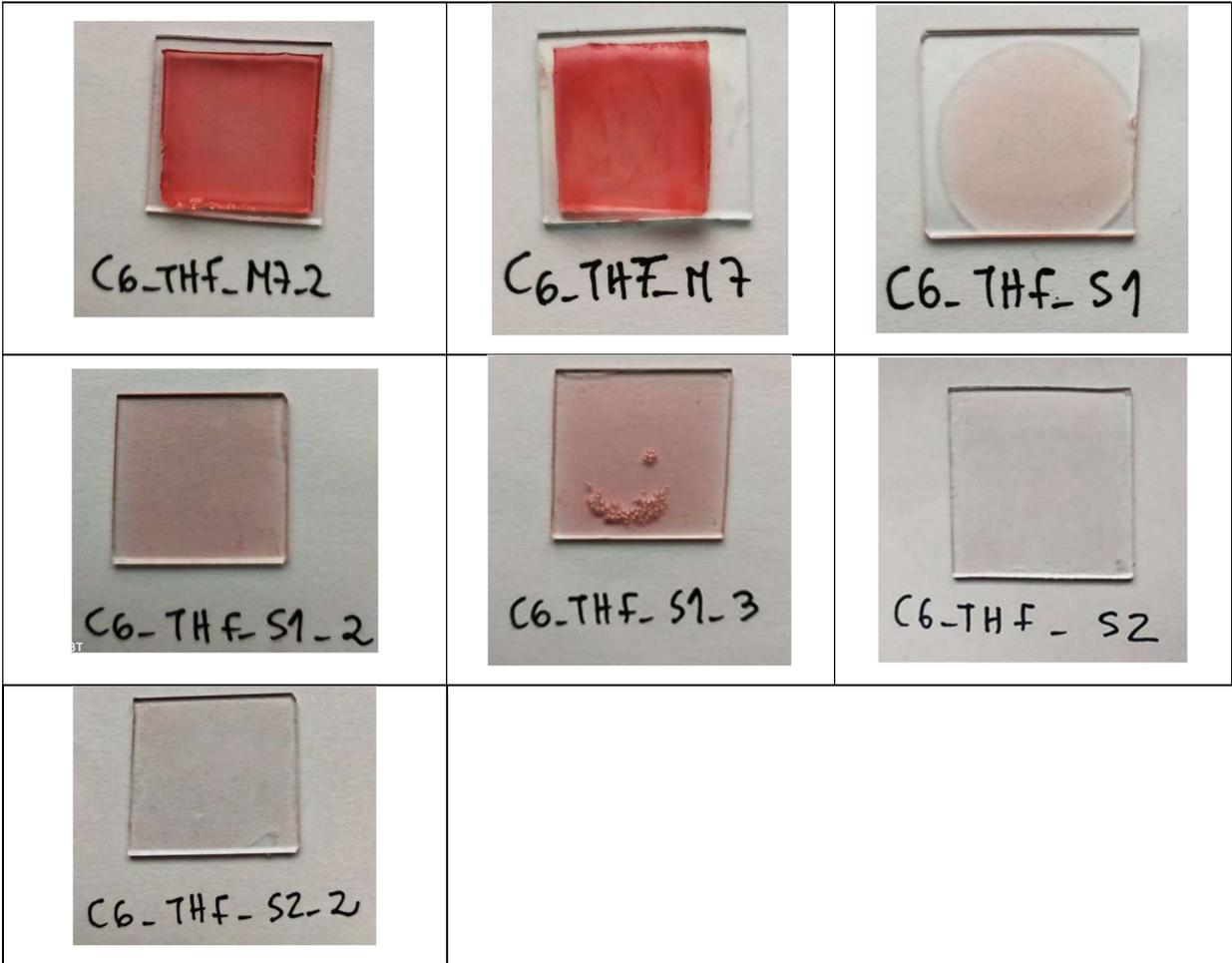
Membranas Fabricadas com 363 ppm de concentração



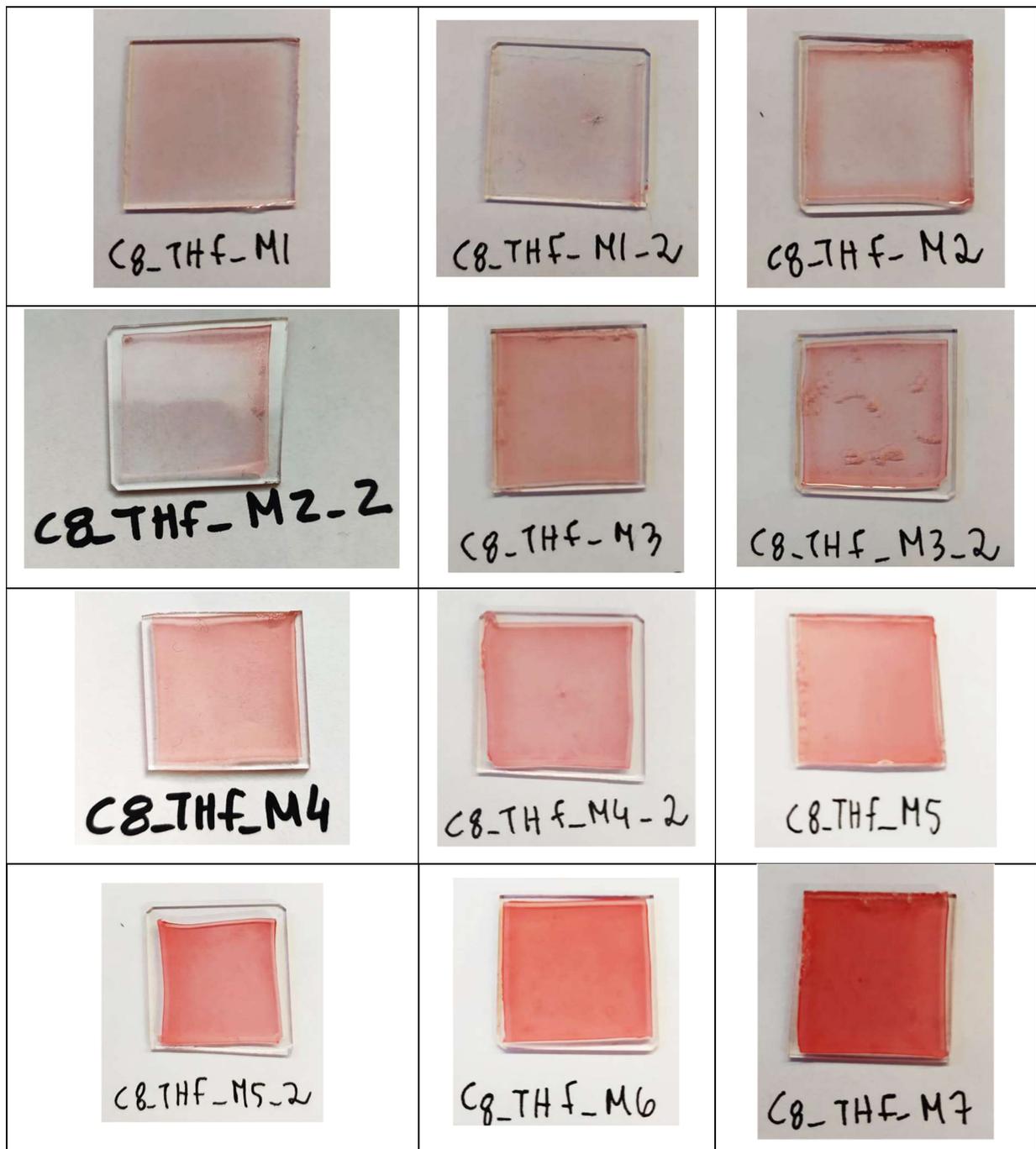
 <p>C4-THF-M5-2</p>	 <p>C4-THF-M6</p>	 <p>C4-THF-M6-2</p>
 <p>C4-THF-M7</p>	 <p>C4-THF-M7-2</p>	 <p>C4-THF-MEXTRA</p>
 <p>C4-THF-S1</p>	 <p>C4-THF-S1-2</p>	 <p>C4-THF-S2</p>
 <p>C4-THF-S2-2</p>	 <p>C4-THF-S3</p>	 <p>C4-THF-S3-2</p>

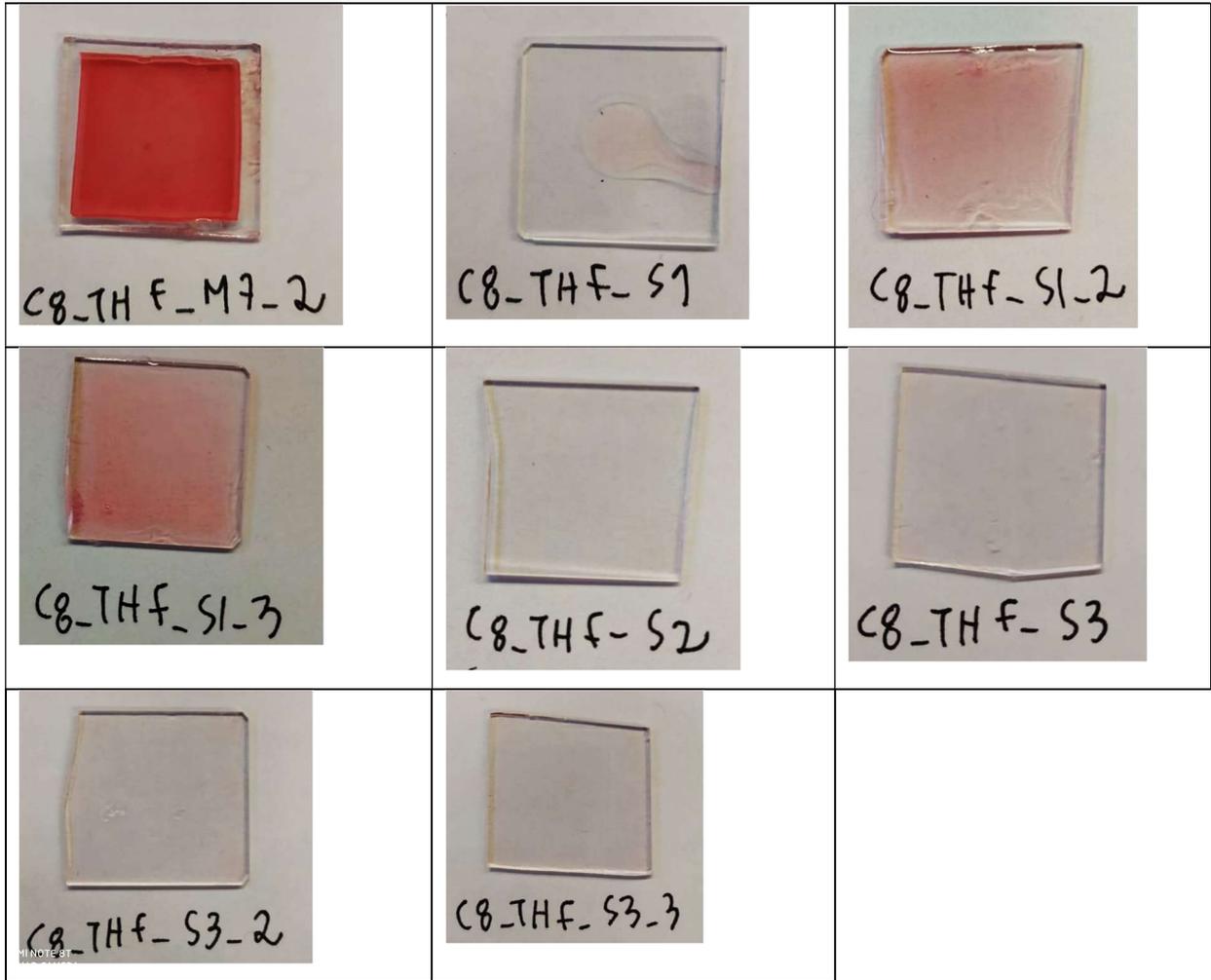
Membranas Fabricadas com 545 ppm de concentração



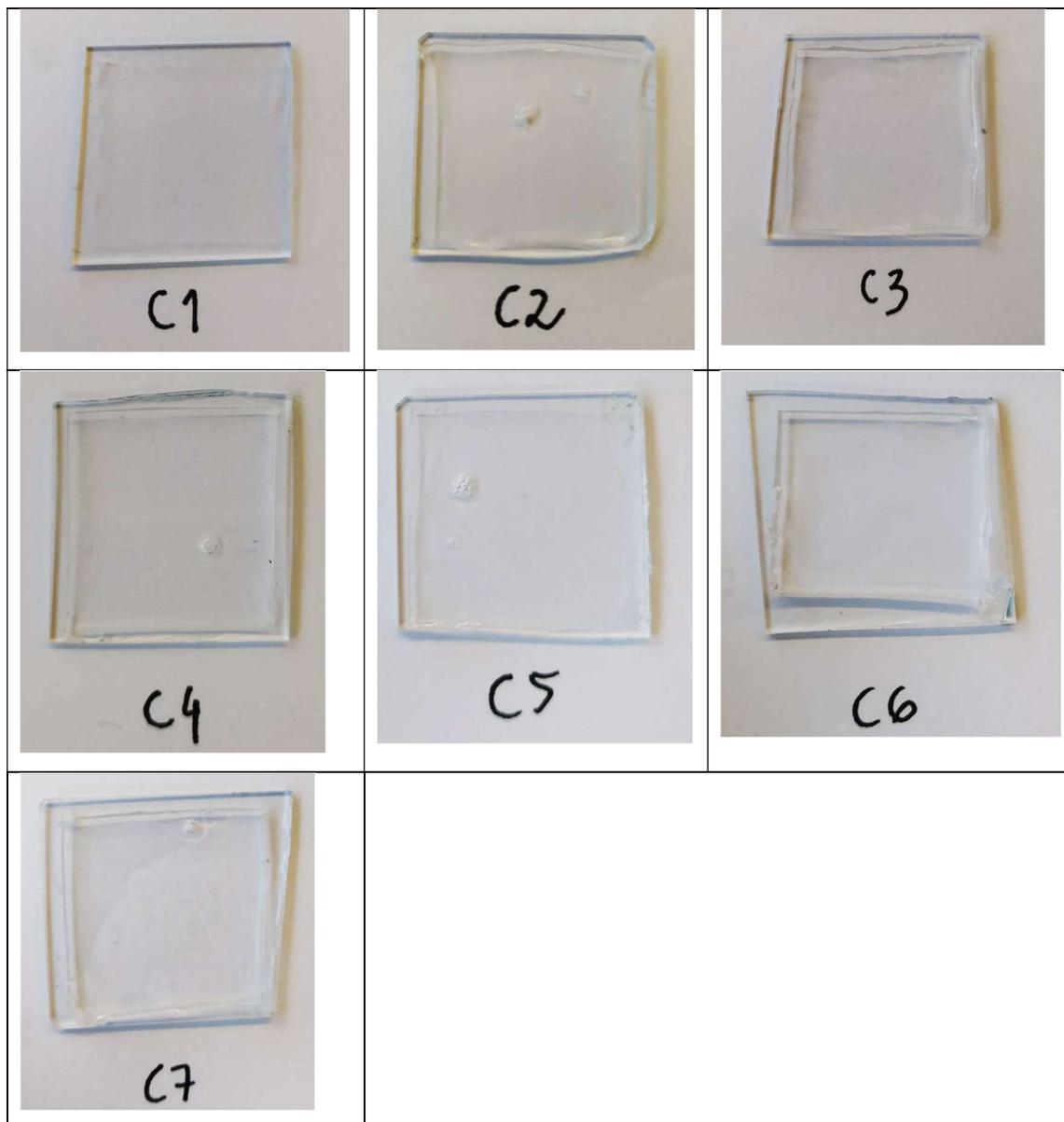


Membranas Fabricadas com 727 ppm de concentração



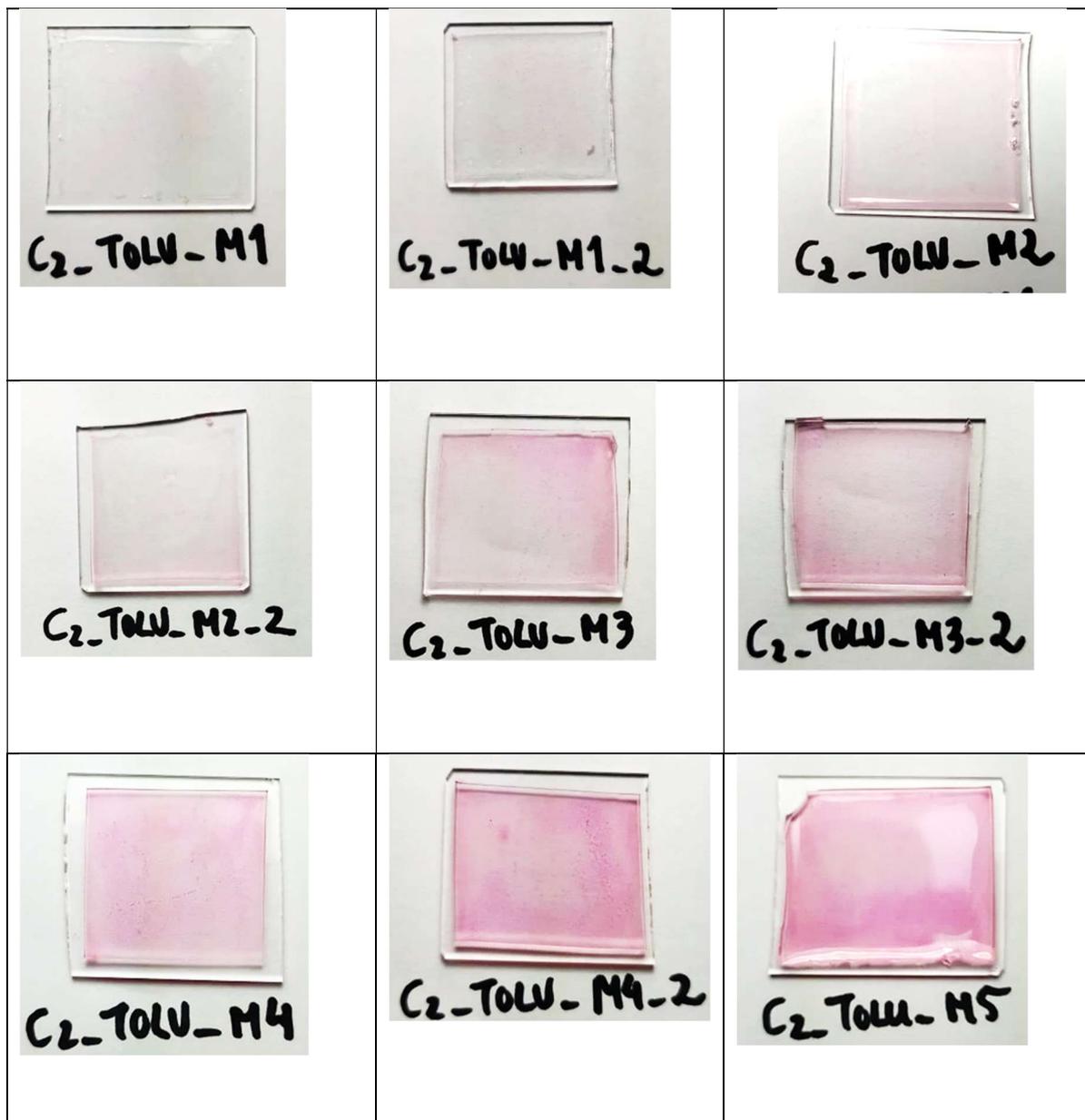


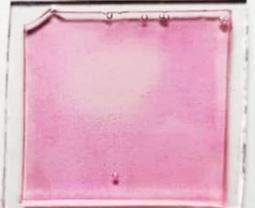
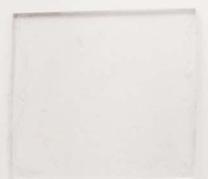
ANEXO VII – FOTOGRAFIAS DO RESULTADO DA CURA DAS MEMBRANAS DE CONTROLO-THF



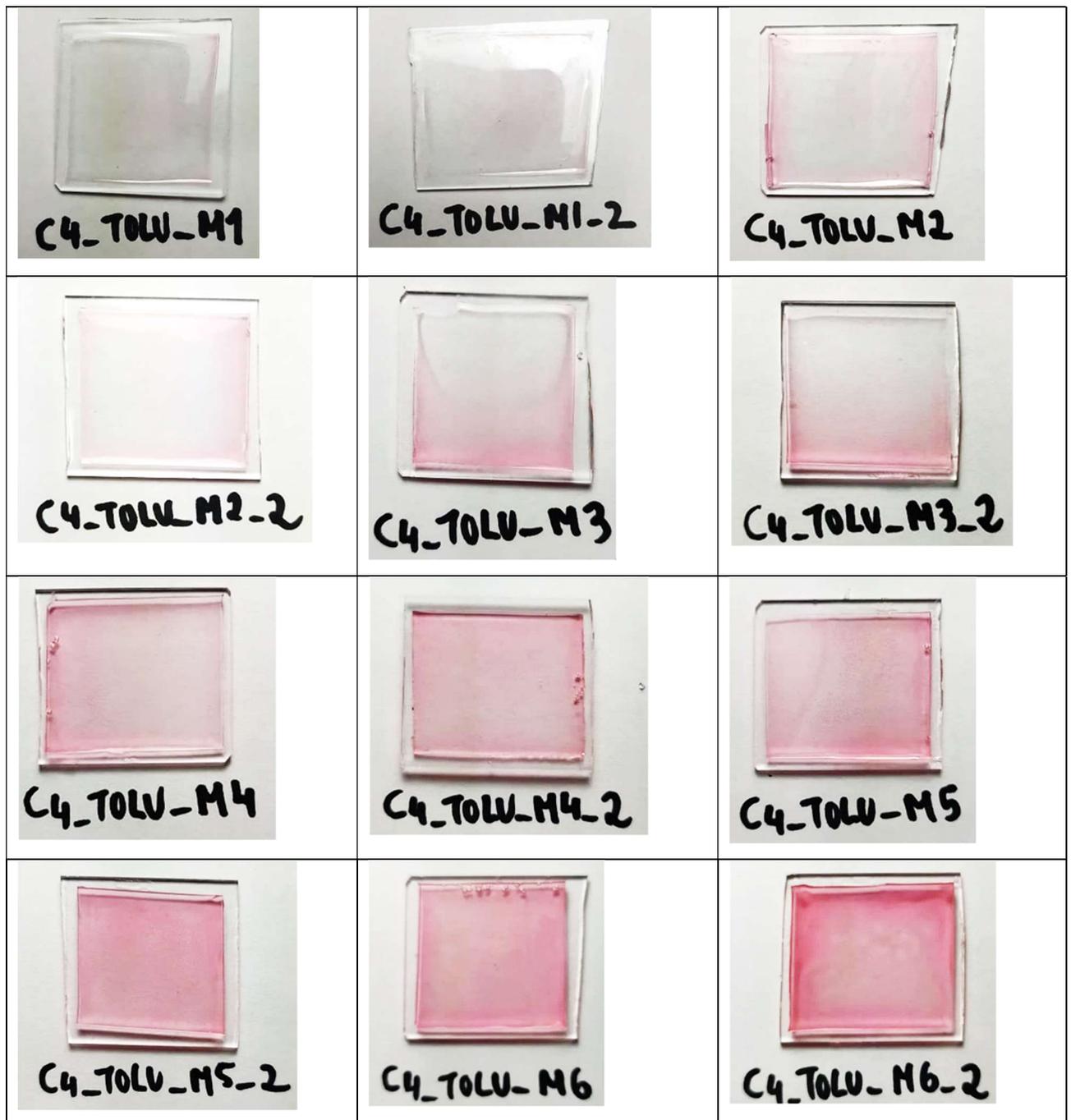
ANEXO VIII – FOTOGRAFIAS DO RESULTADO DA CURA DAS MEMBRANAS DE TOLUENO

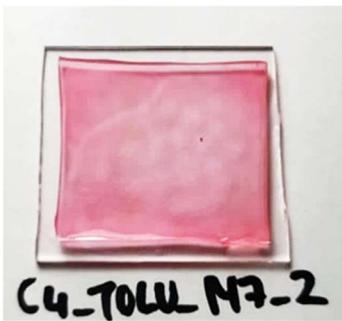
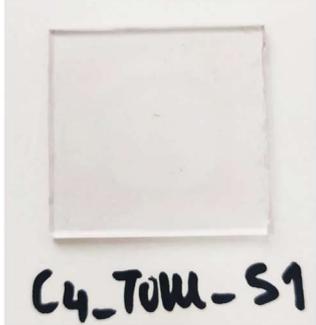
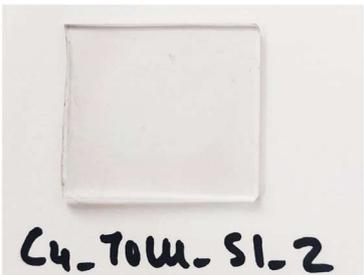
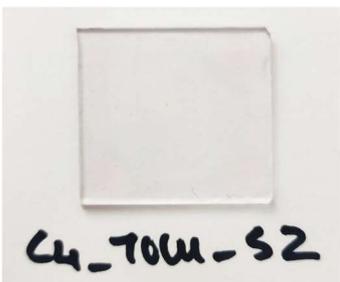
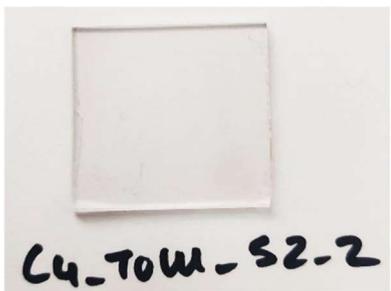
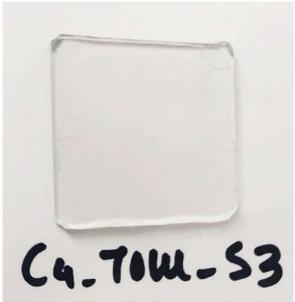
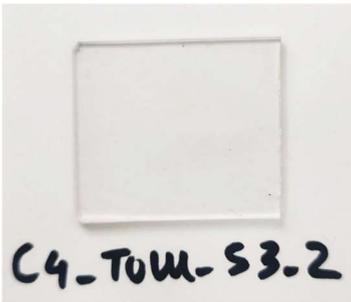
Membranas Fabricadas com 181 ppm de concentração



 <p>C₂-TOLU-M5-2</p>	 <p>C₂-TOLU-M6</p>	 <p>C₂-TOLU-M6-2</p>
 <p>C₂-TOLU-M7</p>	 <p>C₂-TOLU-M7-2</p>	 <p>C₂-TOLU-S1</p>
 <p>C₂-TOLU-S1-2</p>	 <p>C₂-TOLU-S2</p>	 <p>C₂-TOLU-S2-2</p>
 <p>C₂-TOLU-S3</p>	 <p>C₂-TOLU-S3-2</p>	

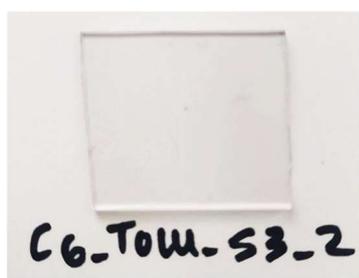
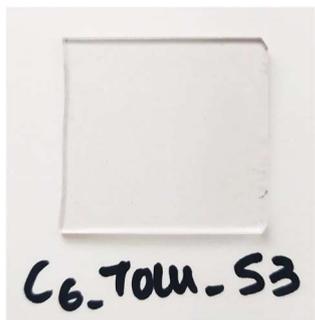
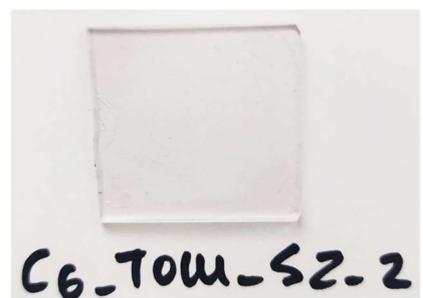
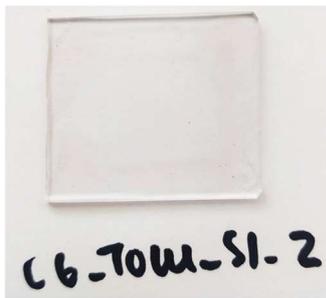
Membranas Fabricadas com 363 ppm de concentração



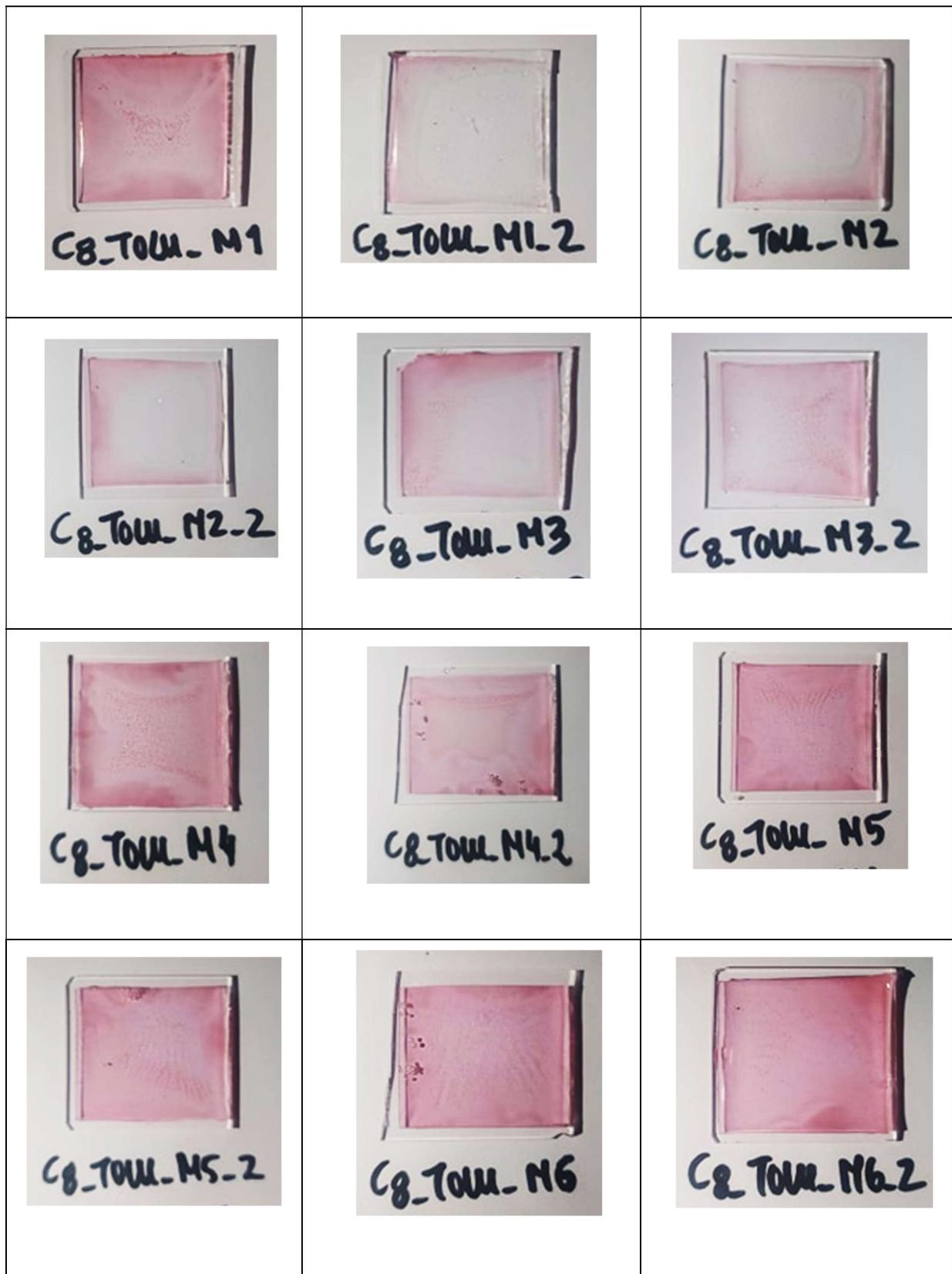
 <p>C4-TOLU-M7</p>	 <p>C4-TOLU-M7-2</p>	 <p>C4-TOLU-S1</p>
 <p>C4-TOLU-S1-2</p>	 <p>C4-TOLU-S2</p>	 <p>C4-TOLU-S2-2</p>
 <p>C4-TOLU-S3</p>	 <p>C4-TOLU-S3-2</p>	

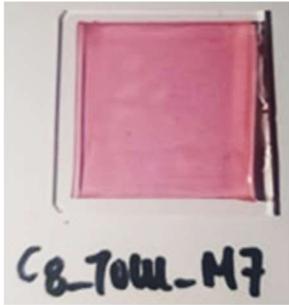
Membranas Fabricadas com 545 ppm de concentração



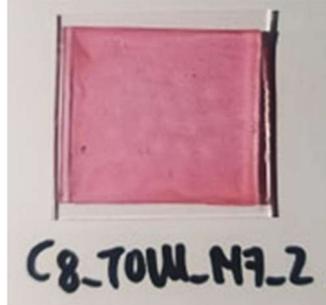


Membranas Fabricadas com 727 ppm de concentração

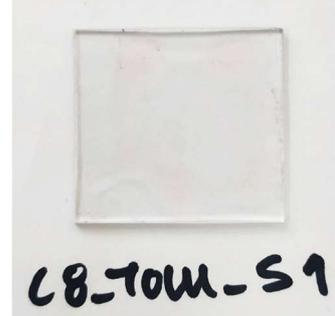




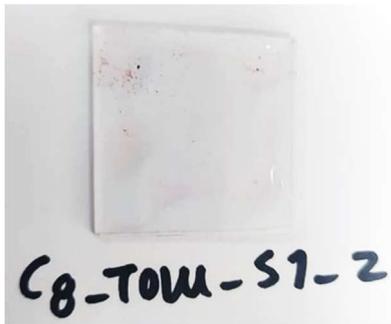
CB-TOM-M7



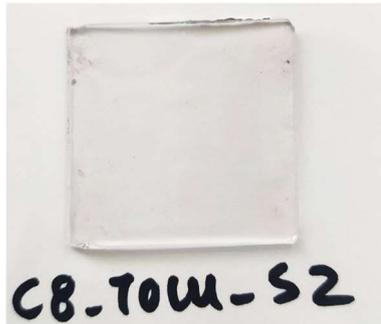
CB-TOM-M7-2



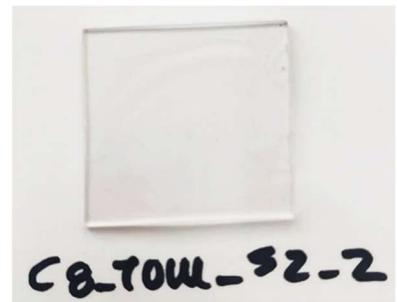
CB-TOM-S1



CB-TOM-S1-2



CB-TOM-S2



CB-TOM-S2-2



CB-TOM-S3



CB-TOM-S3-2

ANEXO IX – FOTOGRAFIAS DO RESULTADO DA CURA DAS MEMBRANAS DE
CONTROLO-TOLUENO



ANEXO X- ORÇAMENTO DO PROJETO

Orçamento Eletrónica

COMPONENTE	DESCRIÇÃO	FORNECEDOR	UNIDADES	VALOR/ Unidade (€)	TOTAL (€)
Fotodíodo 	S1336-8BK	<i>Hamamatsu</i>	1	29,03	29,03
Condensador 1,6 pF	C320C169DAG5TA	<i>KEMET</i>	1	0,62	0,62
Condensador 22 nF	D222K25Y5PH63L6R	<i>Vishay / BC Components</i>	1	0,18	0,18
Condensador 100 pF	CC45SL3AD101JYNNA	<i>TDK</i>	1	0,24	0,24
Condensador 1, 1 pF	C321C119D3G5TA	<i>KEMET</i>	1	0,62	0,62
Condensador 22 µF	FG14X5R1E226MRT06	<i>TDK</i>	1	0,62	0,62
Amplificador Precisão 	AD8691AUJZ-REEL7	<i>Analog Devices Inc</i>	2	1,17	2,34
AmpOp 	LM358N	<i>Texas Instruments</i>	1	0,35	0,35
Conector de Parafuso 2 Pinos 	TB006-508-02BE	<i>Mouser</i>	1	0,47	0,47
Distribuidores e Alojamento de Fios 4 PIN 	M20-7820446	<i>Mouser</i>	1	0,66	0,66
MOSFET canal N 	2N7000	<i>STMicroelectronics</i>	1	0,86	0,86
LED 385 nm 	UV5TZ-385-30	<i>BIVAR</i>	1	1,98	1,98
Microcontrolador 	STM32F767	<i>Mouser</i>	1	22	22
Conector BNC 	Cabo RF BNC	<i>Mouser</i>	2	8,5	17
Resistências variadas	—	—	—	—	—
TOTAL					76,97

Orçamento *Setup* Medição

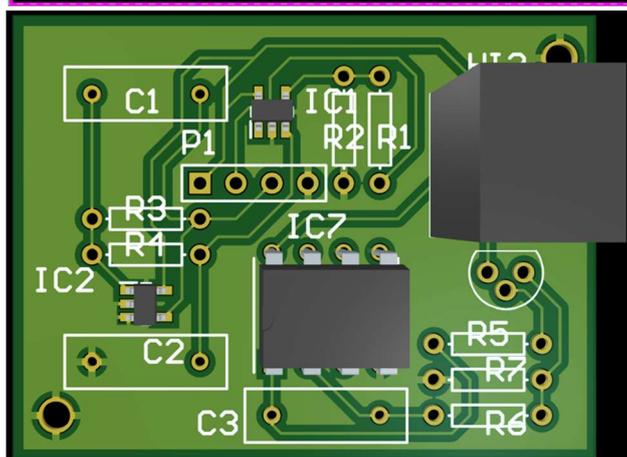
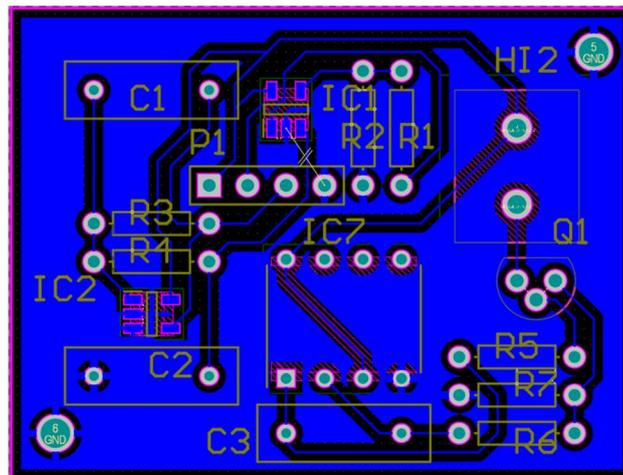
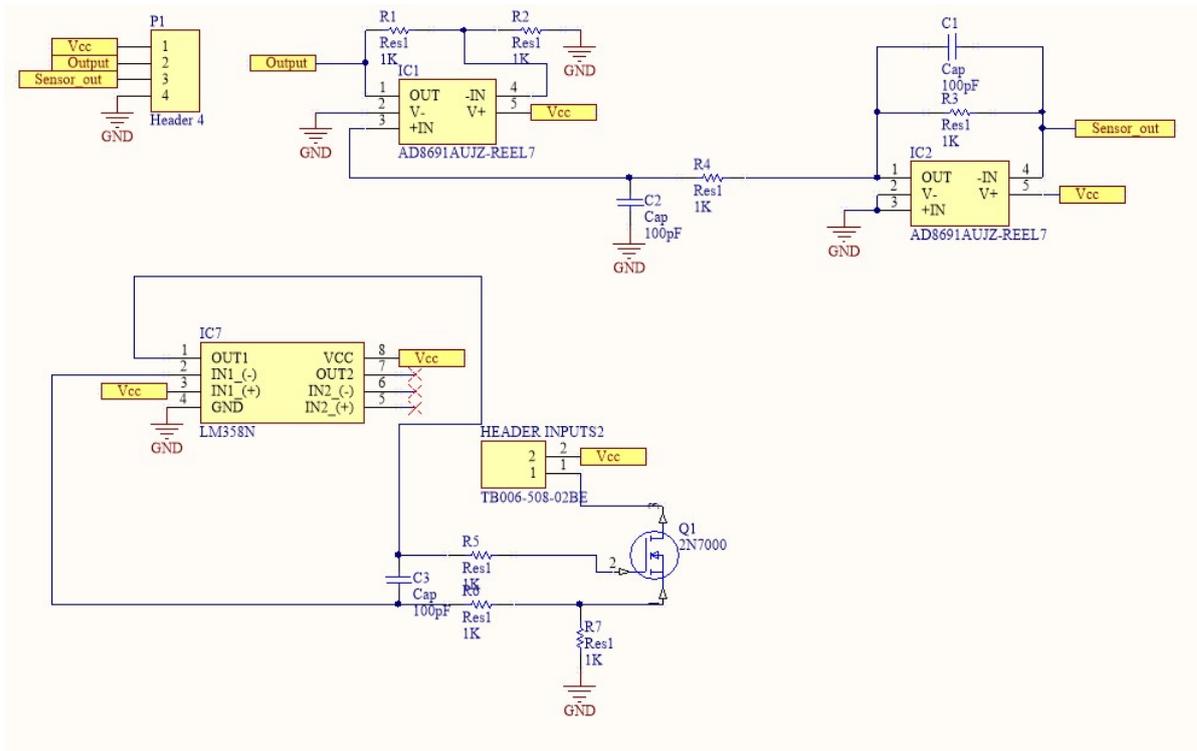
COMPONENTE	DESCRIÇÃO	FORNECEDOR	UNIDADES	VALOR/UNIDADE (€)	TOTAL (€)
MDF	800X400X10 mm	Leroy Merlin	4	3,49	13,96
Porcas	M4 (45 Pcs)	Leroy Merlin	1	3,49	3,49
Anilhas	M4 (75 Pcs)	Leroy Merlin	1	1,69	1,69
Fronha	Preta Elema (60 cm x 60 cm)	Leroy Merlin	1	3,99	3,99
Parafusos	M4(30 Pcs)	Leroy Merlin	1	1,99	1,99
Mangueira	Microtubo polietileno geolia (25 m)	Leroy Merlin	1	6,79	6,79
Tampões Rega	Microtubo final 4MM geolia (10 Pcs)	Leroy Merlin	1	1,59	1,59
Torneira	Válvula de fecho Geolia 16 MM (2 Pcs)	Leroy Merlin	1	3,99	3,99
Silicone Cola	T-REX (290 mL Branco)	Leroy Merlin	1	10,29	10,29
Varão Roscado	Aço zincado M4 (1 m)	Leroy Merlin	1	0,39	0,39
Lata Tinta	Spray Multisuperfícies Preto Matte	Leroy Merlin	3	3,29	9,87
Ventoinha	Ventilador Refrigeração LattePanda	Boot n Rool	1	14,90	14,90
Motor DC	<i>Power Function Medium Motor</i>	Legó	1	19,99	19,99
Bateria Motor	<i>9v Bateria supply</i>	Legó	1	18,65	18,65
Pilhas Alcalinas	ENERGIZER LR06- AA 1.5 V (8 Unidades)	Leroy Merlin	1	7,99	7,99
Recipiente	1.4 L	IKEA	2	2,5	5
Tampa Recipiente	-	IKEA	2	1	2
Regulador Gás	Redutor pressão 215000 árgon OXYTURBO	Chave Vertical	1	24,99	24,99
Árgon	Garrafa de árgon Puro	Leroy Merlin	19	23,99	455,81
Oxigénio	Garrafa de Oxigénio Puro	Elax	4	24,99	99,96
TOTAL					707,33

ANEXO XI- DESCRIMINAÇÃO DO MATERIAL/EQUIPAMENTO UTILIZADO NO FABRICO E TESTE DAS MEMBRANAS

PRODUTO	DESCRIÇÃO	CAS	MASSA MOLAR	CAS	FORNECEDOR
Tolueno	-	$C_6H_5CH_3$	92,14 g/mol	108-88-3	Sigma Adrich
THF	99,9% extra pure anhydrous stabilized	C_4H_8O	72,11 g/mol	109-99-9	Sigma Adrich
Quitosano	-	$C_{56}H_{103}N_9O_{39}$	1526,5 g/mol	9012-76-4	Sigma Adrich
PTOEP	-	$C_{36}H_{44}N_4Pt$	727,84 g/mol	31248-39-2	Sigma Adrich
PMDS	Sylgard 184 silicone elastomer kit	-	-	-	Sigma Adrich
Ácido Acético	-	CH_3COOH	60,05 g/mol	64-19-7	-
Álcool	-	CH_3CH_2OH	46,07 g/mol	64-17-5	Sigma Adrich

	EQUIPAMENTO	DESCRIÇÃO
FABRICO	Ultrassom	Martin Walter Powersonic D
	Agitador Magnético	MSH300
	Estufa	—
	Spin-Coating	Polos SPS Spin 150
	Hot Plate	Prazitherm PZ28-2 Heating plate
	Hotte	Arias
	Espectrofotômetro	AvaSoft Avaspec ULS2048 XL-RS-EVO
TESTES LUMINESCÊNCIA	Fibra	NewPort 77563 STD F/S Bundle
	Monocromador	Driel Instruments 74000
	Pico amperímetro	Keithley 487 / Keithley 6487
	Fonte Luz	NEWPORT
	Fotodiodo	Hammamatsu
	Lock-In	Zurich Instruments HF2LI
SENSOR COMERCIAL	Extech DO210 Oxygen meter	

ANEXO XII- PROJETO PCB



ANEXO XIV- SEGURANÇA LABORATORIAL

O uso de luz de excitação no comprimento de onda UV-A (*Ultraviolet*-A) 400 – 320 nm deve ser acompanhado de normas de utilização que previnam a luminosidade nociva de atingir os olhos ou pele. O manuseio cuidadoso dos *setup's* representa uma grande parte da proteção, no entanto, para a correta utilização deste tipo de espectros deve ser utilizado uma proteção ocular.

Durante os procedimentos de fabrico deve ser fomentado o uso de equipamento de evacuação de gases (*hotte*) assim como proteção pessoal, que evitem o contacto dos produtos em uso com o corpo humano (luvas/máscara). Devem ser reduzidos ao máximo os tempos de fabrico de forma a minimizar a exposição aos químicos. Deve ser tomado especial cuidado com os solventes utilizados (THF e tolueno), no capítulo 6.2.1 esta matéria é explorada de forma mais ampla.

As garrafas de gás devem ser utilizadas com cautela, visto que se encontram armazenadas a elevadas pressões (110 bar), dessa forma devem sempre ser acopladas ao devido regulador de pressão (preferencialmente com barómetro). Aquando o término de uma garrafa, esta não deve ser reutilizada, devendo seguir imediatamente para a reciclagem. O regulador deve se encontrar na posição *off* para efetuar o novo acoplamento. O armazenamento das garrafas, em particular do oxigénio, deve ser feito de forma a evitar que este entre em contacto com agentes combustíveis, já que facilita a combustão. Ambas as garrafas devem, no entanto, ser protegidas do contacto direto com fontes de luz forte ou fonte de calor. Após o uso das garrafas deve ser sempre confirmado o fecho correto dos reguladores, pois o oxigénio por exemplo pode levar reações explosivas com determinados materiais. As garrafas devem ser mantidas na posição vertical e sempre que possível num *trolley* para o efeito. As válvulas devem ser abertas de forma progressiva de forma a evitar explosões súbitas por fricção.[148]