

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**DOUGLAS MENDES DA SILVA**

**DETERMINAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS UTILIZANDO MÉTODOS  
COLORIMÉTRICOS E DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS EM PAPEL: UMA  
REVISÃO DA LITERATURA**

**UBERLÂNDIA**

**2022**

DOUGLAS MENDES DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS UTILIZANDO MÉTODOS  
COLORIMÉTRICOS E DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS EM PAPEL: UMA  
REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Química Industrial.

**Orientador:** Prof. Dr. João Flávio da Silveira Petrucci

**UBERLÂNDIA**

**2022**

DOUGLAS MENDES DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS UTILIZANDO MÉTODOS  
COLORIMÉTRICOS E DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS EM PAPEL: UMA  
REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Instituto de Química da Universidade Federal de  
Uberlândia como requisito parcial para obtenção  
do título de bacharel em Química Industrial.

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. João Flávio da Silveira Petrucci  
(Orientador)

---

Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva  
(Titular)

---

Me. Weida Rodrigues Silva  
(Titular)

Uberlândia, 29 de março de 2022

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por ter me iluminado e guiado minhas mãos e mente na escrita desse trabalho.

À minha família que me apoiou desde o início e me incentivou a sempre buscar novos conhecimentos e estudar.

Aos meus amigos e colegas de curso que participarem comigo em toda essa jornada, principalmente à Sheila, Érica e Fernanda.

Aos meus professores que, através de suas experiências e conselhos ajudaram minha chegada até o fim dessa viagem acadêmica.

Ao meu orientador João Flávio que teve a paciência e fé em mim desde o início.

E finalmente, a todos que contribuíram e/ou torceram pela realização desse trabalho.

*“A ciência nunca resolve um problema sem  
criar pelo menos outros dez.”*

*George Bernard Shaw*

## RESUMO

A determinação quantitativa de íons metálicos é de grande interesse econômico, de saúde humana e ambiental, devido ao caráter contaminante/poluinte de alguns, mas também devido suas vastas aplicações e funções, desde metabólicas no corpo humano até usos industriais de outros. Para que a determinação seja realizada, é necessário que métodos analíticos confiáveis sejam desenvolvidos e, para esta tarefa, diversas técnicas analíticas têm sido utilizadas. Apesar de produzirem resultados confiáveis, sensíveis e seletivos, as metodologias analíticas mais comuns têm alto custo, baixa portabilidade e podem exigir procedimentos laboriosos. Com a popularização e reconhecimento de uma plataforma analítica de baixo custo, alta sensibilidade e seletividade, os dispositivos microfluídicos baseados em papel ( $\mu$ PAD's) aliados à detecção colorimétrica via tratamento de imagens digitais vem sendo utilizados para amplas aplicações na determinação de íons metálicos para análises ambientais, industriais e biológicas. O objetivo deste trabalho de conclusão de curso é elaborar uma revisão e fornecer uma visão geral sobre avanços recentes de desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de íons metálicos utilizando dispositivos microfluídicos em papel ( $\mu$ PAD's) e detecção colorimétrica via tratamento de imagens digitais, discutindo alguns trabalhos desenvolvidos na área no período de 2017 a 2022. Serão discutidas as etapas de fabricação dos dispositivos, os tipos de tratamento das imagens empregados e a performance do dispositivo desenvolvido na determinação dos íons ferro (III), níquel (II), cobre (II), mercúrio (II).

**Palavras-chave:**  $\mu$ PAD's, íons metálicos, colorimetria, microfluídica

## ABSTRACT

The quantitative determination of metal ions is of economic, human health and environmental interest, due to the contaminating/polluting characteristics, but also due to their vast applications and functions, from metabolic in the human body to industrial uses. For the development of chemical analysis, it is necessary that reliable analytical methods are developed and, for this task, several analytical techniques have been used. Despite producing reliable, sensitive and selective results, the most common analytical methodologies have high cost, low portability and may require laborious procedures. With the popularization and recognition of a low cost, high sensitivity and selectivity analytical platform, paper-based microfluidic devices ( $\mu$ PAD's) combined with colorimetric detection via digital image processing have been used for wide applications in the determination of metal ions for environmental analysis, industrial and biological. The objective of this undergraduate thesis of the chemistry course is to review and provide an overview of recent advances in the development of analytical methods for metal ion determination using microfluidic paper devices ( $\mu$ PAD's) and colorimetric detection via digital imaging, discussing some works developed in the area from 2017 to 2022. The device manufacturing steps, the types of image processing used and the performance of the device developed in the determination of iron (III), nickel (II), copper (II), mercury (II).

**Keywords:**  $\mu$ PAD's, metal ions, colorimetry, microfluidics

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dispositivo microfluídico criado por Martinez et. al, 2007.....	17
Figura 2 - Esquema de fabricação de $\mu$ PAD adotado por De Tarso Garcia et al. Consiste em um papel parafinado (p-paper) entre um carimbo metálico quente e um papel e filtro (n-paper)..	18
Figura 3 - (a) Processo esquemático de obtenção de chip microfluídico com padrão de PDMS e lápis de cera. (b) foto do chip com padrão em cera .....	19
Figura 4 - Esquema básico de impressão à base de cera .....	19
Figura 5 - Diagrama esquemático para demonstrar o uso do sensor baseado em papel para smartphone e processamento no software ImageJ para determinar a curva de calibração de íons ferro .....	24
Figura 6 - Representação esquemática do $\mu$ PAD para determinação de ferro em urina. <b>a</b> Distribuição de camadas. <b>b</b> Imagem escaneada do $\mu$ PAD .....	26
Figura 7 - Fabricação dispositivo analítico de dupla camada em papel (PAD 3D) para detecção de seis íons metálicos .....	27
Figura 8 - Desenvolvimento de dispositivo microfluídico usando a técnica de C- $\mu$ PAD.....	30
Figura 9 - Esquema de detecção de metais pesados com superfície modificada .....	31
Figura 10 - (a -b) Demonstração de análise quantitativa de Níquel II entre 0 e 20 ppm usando o valor RGB no ImageJ. (c,d, e) análise de especificidade, amostras de 10 ppm de níquel frente aos reagentes colorimétricos de outros íons (Cromo e Mercúrio).....	31
Figura 11 - Representação esquemática de prototipagem da fabricação do dispositivo com pulverização de tinta em duas etapas.....	32
Figura 12 - (a) Fotografia do dispositivo microfluídico em formato floral para análise múltipla. (b) curva de calibração para análise de níquel.....	33
Figura 13 - Desenho dos $\mu$ PAD's 3D. (a) dispositivo com duas camadas. (b) Dispositivo com camada de resíduo .....	36
Figura 14 - Processo completo do uso do $\mu$ PAD .....	36
Figura 15 - Curva de calibração com a correlação entre a concentração de mercúrio (0 - 4 ppb) e a intensidade dos canais de cor azul, verde e vermelho.....	39
Figura 16 - Esquema da preparação do dispositivo analítico baseado em papel (PAD) e aquisição de imagem digital para determinação de íons de mercúrio. Assim como no sensor colorimétrico, nanopartículas de prata foram incorporadas ao PAD antes da adição da amostra .....	40

Figura 17 - Diagrama esquemático de (a) síntese do PVP-AgNPs, (b) impressão do PVP-AgNPs no papel, (c) deposição dos padrões, (d) aquisição das imagens, (e) medida da intensidade de cor, (f) curva de calibração .....41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aplicação do método baseado em papel e smartphone frente aos resultados de ICP-AES.....	25
Tabela 2 - Parâmetros de metodologias propostas para análise de ferro utilizando $\mu$ PAD's e colorimetria.....	28
Tabela 3 - Parâmetros das metodologias propostas para análise de níquel.....	33
Tabela 4 - Parâmetros analíticos da curva de calibração (na ausência e presença do PVC)....	37
Tabela 5 - Parâmetros analíticos com algumas técnicas desenvolvidas para análise de cobre utilizando $\mu$ PAD's e colorimetria .....	37
Tabela 6 - Parâmetros analíticos com algumas técnicas desenvolvidas para análise de mercúrio utilizando $\mu$ PAD's e colorimetria .....	42

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação de conversão de RGB em escala de Cinza.....	22
Inversão da correlação entre sinal em escala de cinza.....	22
Distância euclidiana entre duas cores e RGB.....	22
Linearização de dados RGB via escala logarítmica .....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu$ PAD	Dispositivo microfluidico de papel
AgNP1's	Nanoplacas de prata
AgNPs	Nanopartículas de prata
APTES	(3-Aminopropyl) trietóxissilano
BPS	Batofenantrolina
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CS	Cromo Azurol
CTAB	Cetil Trimetil Amônio
DMG	Dimetilglioxima
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
LOC	Lab on chip
OMS	Organização Mundial da Saúde
PMMA	Polimetilmetacrilato
PV	Violeta Pirocateol
PVC	Policloreto de Vinila
PVP	Polivinilpirrolidona
TCS	Triclorossilano

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>LAB-ON-A-CHIP E MICROFLUÍDICA.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Microfluídica em papel.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Fabricação de <math>\mu</math>PADs .....</b>	<b>17</b>
<b>2.3</b>	<b>Métodos colorimétricos em <math>\mu</math>PADs .....</b>	<b>20</b>
<b>2.4</b>	<b>Tratamento de imagens e detecção em <math>\mu</math>PAD's .....</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>APLICAÇÕES DOS <math>\mu</math>PAD'S EM REAÇÕES COLORIMÉTRICAS PARA DETECÇÃO DE METAIS .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1</b>	<b>Ferro.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>Níquel.....</b>	<b>28</b>
<b>3.3</b>	<b>Cobre.....</b>	<b>34</b>
<b>3.4</b>	<b>Mercúrio .....</b>	<b>38</b>
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>42</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>44</b>

## 1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é descrever e discutir os fundamentos da técnica e fazer uma revisão dos trabalhos publicados nos anos de 2017 a 2022 relacionados a métodos analíticos de determinação de íons metálicos utilizando dispositivos microfluídicos em papel e tratamento de imagens digitais.

## 2 LAB-ON-A-CHIP E MICROFLUÍDICA

A microfluídica é a ciência e tecnologia dos sistemas de processamento, manipulação e comportamento de líquidos em pequenas quantidades ( $10^{-9}$  a  $10^{-18}$  litros), incluído também o design de dispositivos ou sistemas que podem executar essas tarefas de maneira confiável e reprodutível utilizando microcanais com dimensões de dezenas a centenas de micrômetros.(WHITESIDES, 2006)

A primeira tecnologia desenvolvida no campo da microfluídica data dos anos 1950, quando foram feitos esforços para distribuir pequenas quantidades de líquidos na faixa de nanolitros e picolitros, fornecendo a base para a atual tecnologia de jato de tinta. No final da década de 1980 e no início da década de 1990, vários dispositivos microfluídicos como microválvulas e microbombas, foram fabricadas utilizando micro-usinagem de silício, fornecendo a base para a automação de protocolos complexos de manipulação de líquidos por integração de canais microfluídicos. Este foi o advento do recém emergente campo dos 'microssistemas de análise total', também chamado de “ $\mu$ TAS” e, mais tarde, de "lab-on-a-chip".(MARK et al., 2010)

O termo “Lab on Chip” (LOC) foi provavelmente cunhado pela primeira vez por MOSER et al. (1995) para descrever os biossensores miniaturizados de glutamato e glutamina de filme fino desenvolvidos por eles. Mais tarde, o termo LOC representou um dispositivo miniaturizado que é capaz de reduzir, integrar e automatizar as operações convencionais de um ou vários laboratórios em um chip com tamanho que varia de milímetros a alguns centímetros quadrados. Estas operações podem ser mecânicas, eletrônicas de fluido, etc.(ABGRALL; GUÉ, 2007; SENGUPTA; HUSSAIN, 2019)

As primeiras aplicações das tecnologias microfluídicas e “lab-on-a-chip” foram em análises, para as quais se oferecem várias vantagens como o recurso de usar quantidades muito pequenas de amostras e reagentes, realizar separações e detecções com alta resolução e sensibilidade, baixo custo, tempos curtos para análise. Por mais de duas décadas, aplicações de

microfluídica foram amplamente exploradas na interface de biologia, química e engenharia.(WHITESIDES, 2006)

Atualmente, o progresso das tecnologias de microsistemas nas ciências da vida reside no fato das vantagens da miniaturização. Um novo kit de diagnóstico ou sistema analítico não é desenvolvido sem que contenha componentes, elementos ou estratégias miniaturizados em algum estágio. Para ampla utilização nos mercados que mais exigem facilidade analítica e tudo que a tecnologia microfluídica traz consigo, seja em diagnósticos, análises ambientais e de alimentos, é necessário estabelecer tecnologias de microfabricação que permitam a fabricação de tais dispositivos a um custo pelo menos comparável aos dispositivos convencionais.(BECKER; GÄRTNER, 2008)

## 2.1 Microfluídica em papel

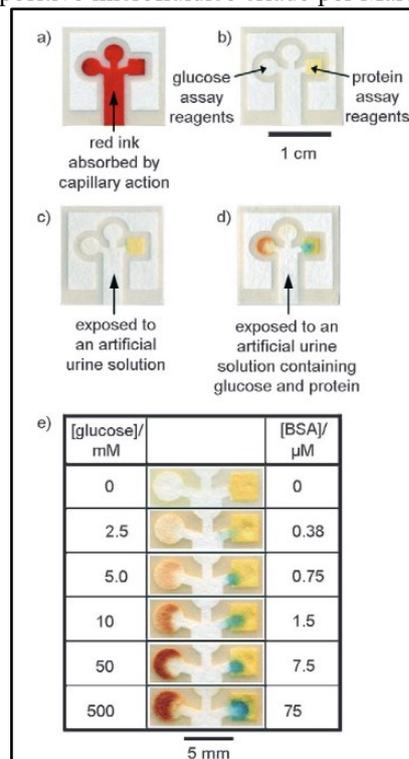
O uso de papel como substrato em análises qualitativas data de cerca de 2000 anos atrás quando Caio Plinius Secundus utilizou tiras de papiro embebidas de extrato de noz de galha (ricas em ácidos tânicos) para verificar a contaminação de sulfato de ferro (II) em acetato de cobre (II). Caso a tira adquirisse cor preta, seria um indicativo da presença de ferro (II).(ANDRADE; ALVIM, 2006)

Já em 1700, um marco importante foi alcançado quando o papel de tornassol começou a ser utilizado. O papel de tornassol consiste em pedaço de papel de celulose impregnado com cromóforos sensíveis ao pH e foi uma revolução significativa na época porque permitiu a medição do pH em locais e amostras onde não eram possíveis anteriormente. Inspirado por esse conceito, West (1945) desenvolveu testes pontuais para metais nas décadas de 1930 e 1940, onde os cromóforos sensíveis ao pH foram substituídos por ligantes que mudavam de cor na presença de metais específicos (WEST, 1945, apud CARRELL et al., 2019). Fritz Feigl realizou um trabalho bastante marcante em relação ao uso do papel na área de química analítica. Ele avaliou diversas reações colorimétricas para identificação de íons e moléculas orgânicas e inorgânicas. (ESPINOLA, 2004)

O princípio de trabalho por trás dos dispositivos microfluídicos de papel ( $\mu$ PADs) não difere muito dos princípios originais: é baseado na dispersão da solução da amostra por meio de capilaridade em papel hidrofílico, limitada por uma barreira hidrofóbica, assim reagentes podem ser impregnados nas chamadas “zonas de detecção” que permitem a análise qualitativa por avaliação visual ou quantitativa via leitor óptico de um ou múltiplos analitos (JIANG; FAN, 2016; ZHAO; VAN DEN BERG, 2008). Os  $\mu$ PADs modernos padronizados com barreiras

hidrofóbicas e áreas hidrofílicas podem ser rastreados até 1902, e foram projetados para evitar a contaminação cruzada entre diferentes regiões de reação (LIN et al., 2016). Mais recentemente, em 2007, Martinez et al., buscando bioanálises rápidas, de baixo custo, portátil e tecnicamente simples, descreveram um método de detecção simultânea de glicose e proteína, por reações colorimétricas, em amostras de urina, utilizando fotolitografia para criar canais hidrofóbicos milimétricos em papel.

Figura 1 - Dispositivo microfluídico criado por Martinez et. al, 2007



Fonte: Martinez et al., 2007

A partir desse trabalho de Martinez et al. (2007), muitos outros surgiram com aplicações em bioanálises e em áreas diversas, como na determinação de compostos tóxicos em água, análise em comida, drogas e até cenas de crime. (MUSILE et al., 2021; OZER; HENRY, 2021; SIVAKUMAR; LEE, 2021; SRIRAM et al., 2017)

## 2.2 Fabricação de $\mu$ PADs

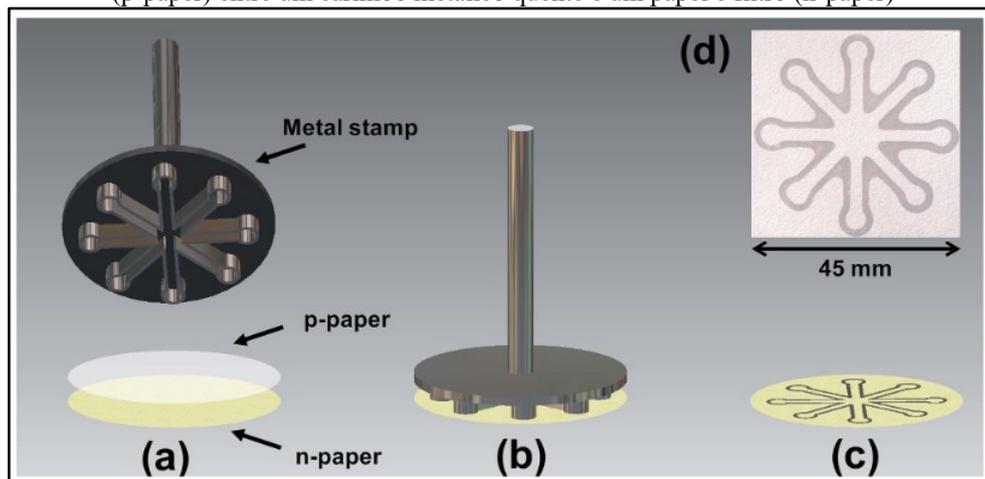
A fim da criação das barreiras hidrofóbicas no papel, algumas técnicas foram desenvolvidas ao longo dos anos, podendo ela ser manual ou automatizada.

A litografia, utilizada no dispositivo de Martinez et al. (2007), por exemplo, consiste no uso de uma substância hidrofóbica sensível à raios ultravioleta (fotorresiste). A máscara com

o desenho então é colocada sobre o papel com o fotorresiste e exposta à luz ultravioleta, a solução então se fixa ao papel e o restante é retirado do papel utilizando solventes.

A principal técnica utilizada nos anos de 2010 a 2020 foi o método da impressão com cera. A cera – material constituído por compostos apolares – pode ser aplicada usando uma variedade de técnicas e derrete rapidamente através do papel com aplicação de temperaturas em torno de 200°C para criar uma barreira tridimensional (CATE et al., 2015), fazendo com que os canais hidrofóbicos sejam criados e a solução direcionada através deles. Yagoda (1937) utilizou a cera como barreira hidrofóbica em papel, onde a técnica aplicada consistia na utilização da borda de um tubo metálico quente pressionado acima de um tecido encerado, a cera então se derretia passando para o papel de filtro abaixo. Técnica semelhante foi utilizada por DE Tarso Garcia et al., (2014), onde foi utilizado um carimbo metálico para impressão do padrão sobre o papel para uso em ensaios clínicos simultâneos. Outra técnica relatada é da imersão em cera, um exemplo é a técnica proposta por Songjaroen et al., (2011), defenderam como uma técnica simples, rápida e barata, nesta utilizou-se de uma peça metálica cortada à laser na forma desejada do canal hidrofílico, então a chapa metálica foi colocada sobre o papel e uma placa de vidro, colocou-se um ímã permanente na parte inferior e então submergiu em cera derretida por 1s. A figura 2 apresenta um esquema de fabricação de dispositivos microfluídicos em papel utilizando um método de carimbo.

Figura 2 - Esquema de fabricação de  $\mu$ PAD adotado por De Tarso Garcia et al. Consiste em um papel parafinado (p-paper) entre um carimbo metálico quente e um papel e filtro (n-paper)

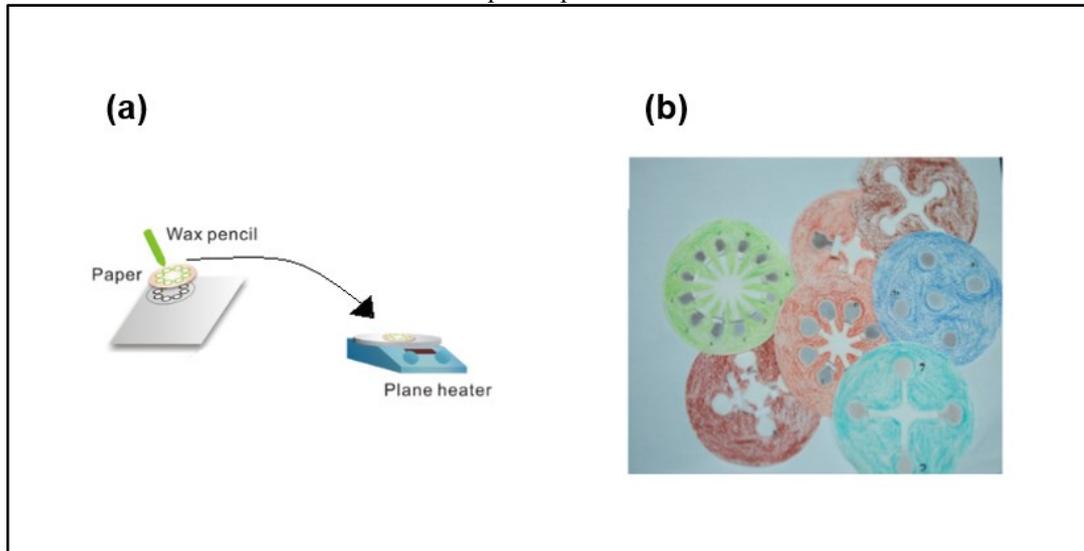


Fonte: De Tarso Garcia et al., 2014

Os padrões de cera também podem ser inseridos de maneira manual, como proposto por Dungchai; Chailapakul; Henry, (2011), onde utilizam técnicas de serigrafia e aquecimento do papel impresso para separação de zonas hidrofílicas e hidrofóbicas ou mesmo desenhadas à

mão com lápis de cera como forma de prototipagem para otimização de condições experimentais como realizado por Ma et al., (2014).

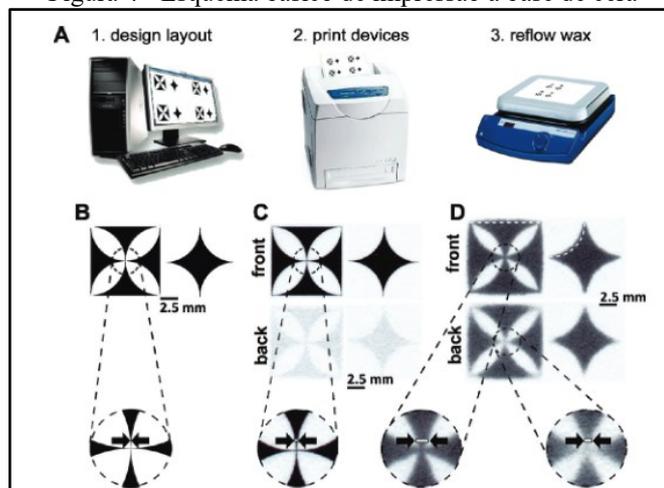
Figura 3 - (a) Processo esquemático de obtenção de chip microfluídico com padrão de PDMS e lápis de cera. (b) foto do chip com padrão em cera



Fonte: Adaptada de Ma et al., 2014

Porém, o método amplamente mais utilizado para fabricação de  $\mu$ PAD's é a impressão dos padrões usando impressoras com tintas à base de cera, onde os padrões são desenhados e as páginas são aquecidas para penetração da cera no papel. Neste método o usuário é limitado por ter que gerar uma nova máscara para diferentes designs de dispositivos, mas tem a liberdade para aplicar facilmente alterações de design e pode imprimir dispositivos em segundos (CARRILHO; MARTINEZ; WHITESIDES, 2009).

Figura 4 - Esquema básico de impressão à base de cera



Fonte: Carrilho; Martinez; Whitesides, 2009

Outros métodos vêm sendo desenvolvidos como a impressão por jato de tinta que utiliza, em detrimento da cera, outros compostos como polímeros (ABE; SUZUKI; CITTERIO, 2008); a impressão de canais hidrofóbicos utilizando flexografia em  $\mu$ PADs utilizando uma tinta de poliestireno dissolvida em solventes orgânicos voláteis (OLKKONEN; LEHTINEN; ERHO, 2010); também é possível utilizar cortes no papel para fabricação dos  $\mu$ PAD's, utilizando laser, por exemplo (EVANS et al., 2014).

### **2.3 Métodos colorimétricos em $\mu$ PADs**

A detecção colorimétrica é uma das técnicas mais utilizadas para  $\mu$ PADs devido às suas vantagens de leitura visual, detecção rápida, viabilidade para aplicações em áreas remotas, operação direta e estabilidade superior. A detecção colorimétrica em  $\mu$ PADs envolve o movimento da solução de analito pelo dispositivo microfluídico (por exemplo, biomoléculas e íons tóxicos) para a zona de teste do dispositivo sob os efeitos da ação capilar e a reação deste com o reagente cromóforo até uma alteração de cor detectável. Em geral, as imagens da zona de detecção nos métodos de detecção colorimétrica são adquiridas por scanners, câmeras de smartphones ou câmeras digitais e são então transferidas para um computador pessoal (PC) ou smartphone para fins de extração do sinal analítico e posterior aplicação nas determinações.(FU; WANG, 2018)

A detecção colorimétrica quantitativa de analitos usando  $\mu$ PADs é possível pela obtenção da imagem digital do dispositivo contendo a reação por meio de reflectância e da intensidade de cor ser correlacionada à concentração do analito. A detecção de reflectância é baseada na medição da luz refletida na superfície da zona de teste. A luz refletida pode ser capturada por um scanner ou uma câmera digital. Ao medir a intensidade da cor em uma imagem digital da zona de teste, é possível obter a concentração do analito comparando sua intensidade com uma curva de calibração. As curvas de calibração utilizando parâmetros de intensidade de cor normalmente seguem funções não lineares em função do aumento da concentração. A não linearidade é o resultado da saturação de cor em altas concentrações de analitos.(MARTINEZ et al., 2010)

### **2.4 Tratamento de imagens e detecção em $\mu$ PAD's**

O método mais simples para avaliação de reações colorimétricas e que não requer nenhum equipamento adicional para detecção é a detecção visual, porém para métodos

quantitativos é necessário o uso de equipamentos de obtenção de imagens digitais como scanners ou câmeras fotográficas. Os scanners, por exemplo, têm a vantagem de oferecer alta resolução e garantir o foco da imagem digitalizada e não ser afetado por condições de iluminação externa e os smartphones, além da portabilidade, oferecem interfaces amigáveis e ser um item bastante popular, sendo um bem de consumo possuído por cerca de 67% da população mundial.(NERY; KUBOTA, 2013)

Após a digitalização, a imagem pode ser tratada com o uso de programas como Adobe Illustrator, Adobe Photoshop, GenePix, DigitalColor Meter, Corel Photo Paint ou ImageJ ou outros com linguagens de programação com o Python, MATLAB, etc.(NERY; KUBOTA, 2013)

Existem várias maneiras de obter e avaliar os parâmetros de intensidade de cor de  $\mu$ PADs e determinar as figuras de mérito do método analítico. As imagens digitais podem ser construídas em vários sistemas de cores distintos como, por exemplo, o RGB (Red, Green, Blue), HSV (matiz, saturação, valor) e CMYK – ciano, magenta, amarelo e preto. (COLTRO et al., 2010; MORBIOLI et al., 2017)

O sistema RGB divide a luz em três canais de cores primárias (vermelho, verde e azul). Cada cor é representada digitalmente por um canal de 8 bits ( $2^8 = 256 = 0 - 255$ ) de informação, sendo que o canal 0 significa a ausência da cor e o 255 a intensidade máxima da mesma. Com isso 16 milhões de cores podem ser geradas através da combinação de coordenadas dos três canais, por exemplo, a branca é representada por (255, 255, 255) e a preta por (0, 0, 0).(LEAL, 2020; MORBIOLI et al., 2017)

A escolha do método de aquisição de dados de intensidade de cor e sua utilização como sinal analítico depende do método a ser aplicado, pois cada sistema é único, tanto no tratamento do papel, o cromóforo usado, a cor formada, o método de digitalização da imagem e outras condições.(MORBIOLI et al., 2017)

Alguns autores preferem utilizar apenas um canal da escala RGB para obter a relação linear entre concentração e sinal analítico, como Ferreira; Mesquita; Rangel (2021) que usa apenas o canal verde para determinação de nitrato em urina, já que sua cor resultante é rosa, a cor complementar de verde. O mesmo princípio é usado por Ferreira et al. (2021) no método para determinação de ferro. O canal azul foi escolhido para a melhor correlação do sinal analítico e concentração do analito para determinação de cobre em cachaça adotado por Fernandes et al. (2020).

Outra forma de análise de dados provenientes de imagens digitais é a conversão para a escala de cinza, que consiste em traduzir 255 para branco e 0 para preto, como nas equações

a seguir,  $S_{obt}$  representa a conversão de uma coordenada de cores para a escala de cinza e  $S_{inv}$  pode ser usado como ferramenta para obter uma curva inversamente correlacionada. (MORBIOLI et al., 2017)

$$S_{obt} = \frac{R + G + B}{3} \quad (1)$$

$$S_{inv} = 255 - S_{obt} \quad (2)$$

A distância Euclidiana ( $\Delta E$ ) é uma técnica também utilizada para obtenção do sinal analítico por imagens. Consiste na distância entre as cores, a obtida com a reação entre o analito e reagente cromóforo e o branco/controle, pode ser calculada de acordo com a Equação 3, onde R, G e B representa cada canal, vermelho, verde e azul, respectivamente, já os índices  $a$  e  $b$ , representam o sinal do analito depois da reação e do branco. (DEVADHASAN; KIM, 2018; LI et al., 2019; LIN et al., 2005)

$$\Delta E = \sqrt{(R_b - R_a)^2 + (G_b - G_a)^2 + (B_b - B_a)^2} \quad (3)$$

O tratamento de imagens deve ser um ponto relevante para sugerir um novo método, e é benéfico o teste de múltiplas abordagens ideias para cada novo ensaio.

### 3 APLICAÇÕES DOS $\mu$ PAD'S EM REAÇÕES COLORIMÉTRICAS PARA DETECÇÃO DE METAIS

#### 3.1 Ferro

O Ferro (Fe) é o metal de transição mais abundante na crosta terrestre, água e vegetais, ocorrendo naturalmente nas formas de íons  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$ , é um oligoelemento essencial que desempenha várias funções nos processos bioquímicos e intracelulares, como transporte de elétrons, síntese de DNA e transporte de oxigênio através da hemoglobina. O valor limite dos íons ferros ( $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$ ) recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e também pela Resolução Conama N° 357 para águas destinadas ao consumo humano, águas salobras e salinas é de  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ , enquanto para efluentes é de  $15,0 \text{ mg L}^{-1}$ . (BRASIL, 2005; SHRIVAS et al., 2020)

A ingestão em excesso de ferro através de alimentos e água podem induzir a formação de espécies ativas de oxigênio no corpo que resultam em oxidação e danos de proteínas, ácidos nucleicos e lipídios o que resulta em condições como carcinoma, Alzheimer, Doença de Parkinson, doença de Huntington, hemocromatose, cirrose, siderose, artrite e aterosclerose em seres humanos; no entanto, a deficiência de ferro pode resultar em anemia, fadiga, e imunidade

prejudicada. Consequentemente, a determinação do ferro em amostras de água e biológicas é de grande interesse para garantir saúde pública. (BALASUBRAMANIAN et al., 2021; NAITO; MASUYAMA; ISHIHARA, 2021; SHRIVAS et al., 2020)

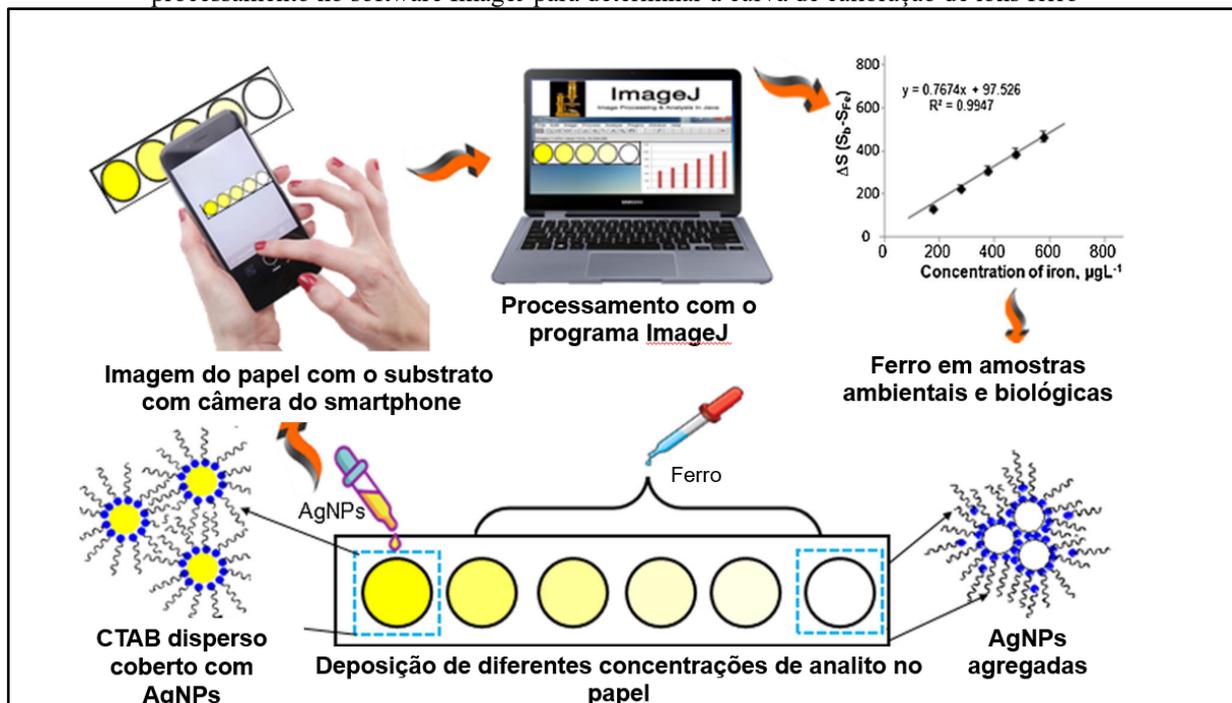
Gases nocivos podem ser gerados pela queima ineficiente quando  $\text{Fe}^{3+}$  está presente em gasolina ou biodiesel, o mesmo promove a degradação dos combustíveis por meio de catálise, o que promove a formação de gomas e sedimentos nos motores prejudicando seu desempenho.(JOÃO et al., 2019)

Na análise de íons metálicos, a espectrometria de absorção atômica, a espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-AES) e a espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) são empregadas convencionalmente para análises de rotina por serem altamente seletivas e sensíveis (CHARLES; SUMMERLEE; DEWEY, 2011; MURILLO et al., 1999; PRIOTEASA et al., 2014; WOLAK; ZAJĄC; GOŁĘBIEWSKI, 2019). Porém, as operações que utilizam esses instrumentos são, em geral, limitadas ao laboratório e requerem equipamentos caros e complexos. Assim, a medição apropriada no local simplifica o processo de amostragem e evita a contaminação das amostras.(FERREIRA et al., 2021; OGAWA; KANETA, 2016)

Diante disso, pesquisadores vêm buscando novos métodos analíticos rápidos, de baixo custo para determinação de íons de ferro utilizando detecção colorimétrica a partir de imagens digitais, seja através de smartphones ou digitalizadas com scanners (FERREIRA et al., 2021). A seguir, serão discutidos trabalhos recentes envolvendo a determinação de íons ferro utilizando a abordagem de detecção colorimétrica e dispositivos microfluidicos em papel.

Para determinação de ferro utilizando dispositivos microfluídicos em papel, comumente utiliza-se da reação colorimétrica do íon com fenantrolina, como os propostos por Ogawa e Kaneta (2016) e de Asano; Shiraishi (2015), já o trabalho de Shrivias, et. al. (2020), discutido adiante, a determinação de íons  $\text{Fe(III)}$  em amostras ambientais e biológicas foi baseada na reação do analito com brometo de cetil trimetil amônio modificado com nanopartículas de prata (AgNPs/CTAB) e utilizando imagens digitais obtidas por smartphone. O indicador, antes amarelo, torna-se incolor na presença do analito, com isso, usando processamento digital da imagem e relacionando a intensidade da cor amarela com a concentração de ferro, foi possível realizar a sua determinação. A figura 5 apresenta um diagrama esquemático utilizado na determinação de ferro (III) do trabalho desenvolvido por Shirivas (2020).

Figura 5 - Diagrama esquemático para demonstrar o uso do sensor baseado em papel para smartphone e processamento no software ImageJ para determinar a curva de calibração de íons ferro



Fonte: Adaptada de Shrivastava et al., 2020

Shrivastava et al. (2020) ainda estudaram a influência de outros íons metálicos na reação como o  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$ , ou seja, se estes poderiam reagir com as AgNPs, contudo, somente na presença de  $\text{Fe(III)}$  o indicador apresenta descoloração. Para otimização do método analítico, foi estudado a faixa de pH ideal para a máxima descoloração do reagente, sendo o intervalo ideal de 3.0 a 5.0 onde a reação é favorecida. Além de ser seletivo, já que as AgNPs interagem somente com  $\text{Fe}^{3+}$ , a adição de uma solução de  $\text{KMnO}_4$  torna possível a determinação do ferro total, ou seja, todo ferro(II) pode ser oxidado a ferro(III) permitindo que o reagente perca a coloração amarela, assim sendo possível sua detecção.

O método proposto foi utilizado para análises de plasma sanguíneo, águas de superfície, águas subterrâneas e de efluentes industriais. As amostras de água e plasma sanguíneo foram pré-tratadas com uma solução de ácido clorídrico para evitar a precipitação de  $\text{Fe}^{3+}$  e posteriormente filtradas em papel de filtro. Ao fim do estudo, obteve-se a faixa linear nas concentrações entre 50 e 900  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , limite de detecção de 20  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e de quantificação 65  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Comparando os resultados obtidos via testes estatísticos, com o método baseado em papel e detecção via imagem de smartphone com os valores advindos de análises via ICP-AES não apresentaram diferenças significativas. (SHRIVASTAVA et al., 2020).

A tabela 1 mostra os resultados obtidos de amostras reais de água e de plasma sanguíneo pelo método analítico utilizando o dispositivo microfluídico em papel em comparação aos obtidos via ICP-AES.

Tabela 1 - Aplicação do método baseado em papel e smartphone frente aos resultados de ICP-AES

Amostra/Lugar	AgNP/CTAB	ICP-AES
	Ferro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Ferro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Rio 1/Raipur	137	129
Rio 2/Durg	250	242
Lago 1/Raipur	205	200
Lago 2/Durg	177	165
Água de Poço 1/Raipur	68	74
Água de Poço 2/Durg	300	293
Água de Poço 2/Dhamtari	105	109
Efluente industrial/Raipur	450	458
Plasma Sanguíneo 1	530	524
Plasma Sanguíneo 2	470	466

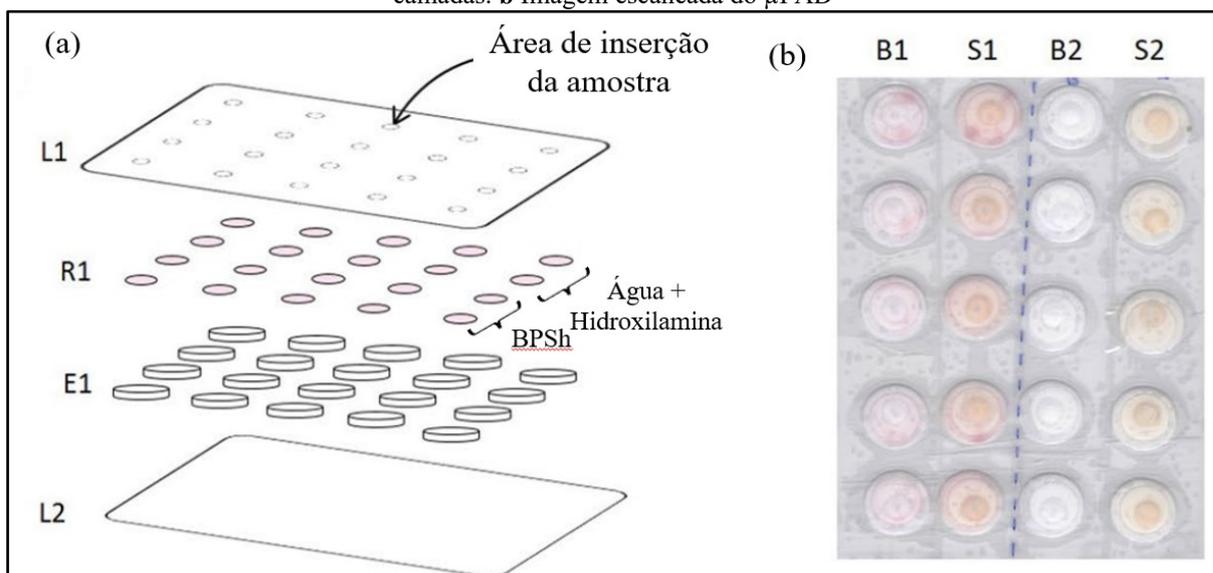
Fonte: Adaptada de Shrivastava et. al., 2020

Também com a proposta para análises em amostras biológicas, Ferreira et al. (2021) buscou uma alternativa para determinação de ferro em amostras de urina utilizando dispositivo microfluídico baseado em papel. Devido à seletividade da reação colorimétrica de íons  $\text{Fe}^{2+}$  com a batofenantrolina (BPS), este é o íon de interesse para a metodologia, portanto, além da utilização do reagente colorimétrico, também foi necessário o uso de hidroxilamina como agente redutor para reduzir todo  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ , para esta mistura de BPS e hidroxilamina chamou-se de BPSH. O  $\mu\text{PAD}$  foi produzido em sistema de camadas, sendo a inferior (L2) e superior (L1) compostas por material plástico, esta perfurada (4 colunas e 5 linhas de furos) para acondicionamento do material hidrofílico; plastificado entre as camadas, mais duas de papel de filtro recortados em discos de 12,7 mm (E1), inferior, e a superior (R1) de 9,5 mm. A camada R1 embebida do reagente, BPSH e depois seca a  $50^\circ\text{C}$  e a E1 uma camada vazia apenas para facilitar o fluxo vertical e servir como reservatório. (FERREIRA et al., 2021)

Como a urina pode ter alta variação de coloração (Figura 6 - b), e como o sinal analítico foi baseado em RGB e não a um comprimento de onda específico, a saída encontrada pelos pesquisadores para eliminação deste fator foi a inclusão de duas colunas para medição de

branco. A primeira (B1) consiste no  $\mu$ PAD com o BPSH e a segunda (B2) com água e hidroxilamina, com isso, as interferências do próprio reagente e da urina podem ser eliminadas após as leituras de cor das colunas S1 e S2 (FERREIRA et al., 2021). A figura 6 traz a representação esquemática da construção do  $\mu$ PAD e a imagem escaneada do dispositivo após a reação do analito e reagentes.

Figura 6 - Representação esquemática do  $\mu$ PAD para determinação de ferro em urina. **a** Distribuição de camadas. **b** Imagem escaneada do  $\mu$ PAD



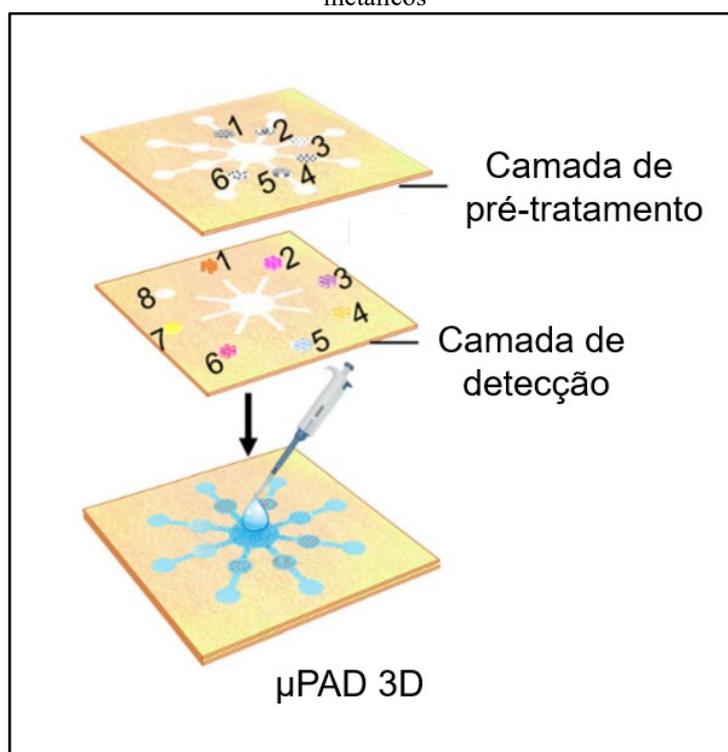
Fonte: Adaptada de Ferreira et. al., 2021

Diferente de Shrivastava et al. (2020) que propôs imagens digitais captadas com smartphone, Ferreira et al. (2021) utilizou scanner para obtenção das imagens e o filtro verde (G) da escala RGB para obtenção do sinal analítico via utilização do software ImageJ, uma vez que o resultado da reação do ferro(II) com a batofenantrolina é rosa e o verde é sua cor complementar. O método desenvolvido foi capaz de determinar ferro total em amostras de urina numa faixa entre  $0,07 - 1,2 \text{ mg.L}^{-1}$  com limite de detecção de  $20 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e limite de quantificação de  $65 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e não teve diferença estatisticamente significativa quando comparada espectrometria de absorção atômica.

Utilizando também um sistema de camadas para construção do seu  $\mu$ PAD 3D, Li et al. (2019) propôs um método analítico para detecção de seis íons metálicos simultaneamente, dentre eles, o ferro(III). Para a fabricação do  $\mu$ PAD 3D, utilizou-se impressão à base de cera para desenhar os padrões do dispositivo em papel de filtro. A camada superior do dispositivo, ou camada de pré-tratamento, contou com uma zona central, hidrofílica, utilizada como reservatório da amostra de 10 mm de diâmetro, 8 zonas de pré-tratamento (diâmetro de 6 mm)

e mais 8 zonas de amostras (6 mm de diâmetro). A camada inferior, ou camada de detecção, também dispôs de outro ponto central de 10 mm cercada de oito canais microfluídicos (6 mm de comprimento por 2 mm de largura) e oito zonas de detecção com um vão de 4 mm entre os canais e os pontos de detecção. (LI et al., 2019). O esquema das camadas que constituem o dispositivo é mostrado na figura 7.

Figura 7 - Fabricação dispositivo analítico de dupla camada em papel (PAD 3D) para detecção de seis íons metálicos



Fonte: Adaptada de Li et. al., 2019

A etapa de pré-tratamento da amostra, se tratando da detecção dos íons ferro, foi preparada com uma solução de ácido ascórbico para redução de Fe(III) para Fe(II), já a zona de detecção com o reagente colorimétrico 1,10-fenantrolina. (LI et al., 2019). Com base em um trabalho anterior, Li et al., (2019) utilizou uma lâmpada de LED como fonte de iluminação externa para diminuição de efeitos da luz ambiente e o smartphone para obtenção das imagens digitais. Para tratamento das imagens e obtenção do sinal analítico foi utilizado o software ImageJ, e estudou-se vários canais de intensidade de cor incluindo a escala de cinza (Gray), o canal vermelho (R), o verde (G) e o azul (B), e suas respectivas variações ( $\Delta$ ) com a subtração da zona de detecção do branco e, ainda, a distância Euclidiana ( $\Delta E$ ) com a raiz quadrada do seguinte somatório  $\Delta R^2 + \Delta G^2 + \Delta B^2$ . A relação entre  $\Delta E$  e  $\Delta G$  e a concentração foram

analisados para cada analito, para o ferro, o  $\Delta E$  exibiu a melhor relação linear, com faixa linear de 0,3 a 18 mg.L<sup>-1</sup> e limite de detecção de 0,2 mg.L<sup>-1</sup>.

A tabela 2 apresenta os parâmetros encontrados para os métodos descritos anteriormente e outros reportados para a determinação de íons Ferro (II) e (III) utilizando reações colorimétricas em dispositivos microfluídicos em papel. Foram selecionados trabalhos realizados no período de 2015 a 2022.

Tabela 2 - Parâmetros de metodologias propostas para análise de ferro utilizando  $\mu$ PAD's e colorimetria

Reagente	Faixa Linear (mg.L <sup>-1</sup> )	Limite de Detecção (mg.L <sup>-1</sup> )	Referência
AgNPs/CTAB	0,05 - 0,9	0,02	SHRIVAS et al. (2020)
Batofenantrolina	0,07 - 1,2	0,02	FERREIRA et al. (2021)
1,10-fenantrolina	0,3 - 18	0,2	LI et al. (2019)
Ferrozina	5,0 - 100	3,691	WALLER et al. (2019)
1,10-fenantrolina	0,50 - 4,97	0,22	ASANO; SHIRAIISHI, (2015)

Fonte: O autor

Para análise de ferro, o método proposto por Shrivass et al., (2020) e de Ferreira et al., (2021) atingiram os menores valores de LOD, apesar do primeiro se destacar pela portabilidade com o uso do smartphone, exige o uso das nanopartículas de prata, por sua vez, LI et al. (2019), apesar de LOD 10 vezes superior aos dois primeiros trabalhos, utiliza de uma preparação simples de reagentes e da própria confecção do seu  $\mu$ PAD que pode ser usado para análise múltiplas de vários íons metálicos. Para monitoramento da qualidade de água ou efluentes, tomando como base os limites estabelecidos na CONAMA 357, todas as metodologias seriam viáveis.

### 3.2 Níquel

O níquel (Ni) é um metal de transição branco-prateado duro, dúctil, é o 28º elemento na tabela periódica e pode existir em vários estados de oxidação desde -1 até +4. No entanto, o estado de oxidação +2 (Ni<sup>2+</sup>) é o mais comum no meio ambiente e sistemas biológicos. O níquel pertence aos elementos ferromagnéticos e se apresenta naturalmente na crosta terrestre, geralmente em combinação com oxigênio e enxofre, presente no solo, meteoritos e expelidos por vulcões. Mesmo que nenhuma evidência existente denote o valor nutricional do Ni em

humanos, tem sido reconhecido como um nutriente essencial para alguns microorganismos, plantas e espécies animais, além de ser essencial para o bom crescimento e desenvolvimento das espécies vegetais e tem papéis vitais em uma ampla gama de funções morfológicas e fisiológicas, como a germinação de sementes e produtividade.(GENCHI et al., 2020)

A exposição humana a ambientes altamente poluídos com níquel pode causar uma variedade de efeitos patológicos. O acúmulo de níquel e compostos de níquel no organismo por meio da exposição crônica pode ser responsável por uma variedade de efeitos adversos à saúde dos seres humanos, como fibrose pulmonar, doenças renais, cardiovasculares e câncer do trato respiratório (GENCHI et al., 2020). A resolução Conama nº 357 limita o níquel total para água de consumo humano em uma concentração de  $0,025 \text{ mg L}^{-1}$  e para lançamentos de efluentes  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ . (BRASIL, 2005)

Assim como a maioria dos metais, o níquel também pode ser detectado e quantificado através de técnicas analíticas instrumentais de espectroscopia de absorção atômica, espectrometria de plasma/emissão atômica acoplada indutivamente, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e titulação (ANTUNES et al., 1998; MOHAMMADI; AFZALI; POURTALEBI, 2010; MYKYTIUK; RUSSELL; STURGEON, 2002). Porém estas podem ser técnicas caras, demoradas e podem requerer laboratórios especializados.(DEVADHASAN; KIM, 2018)

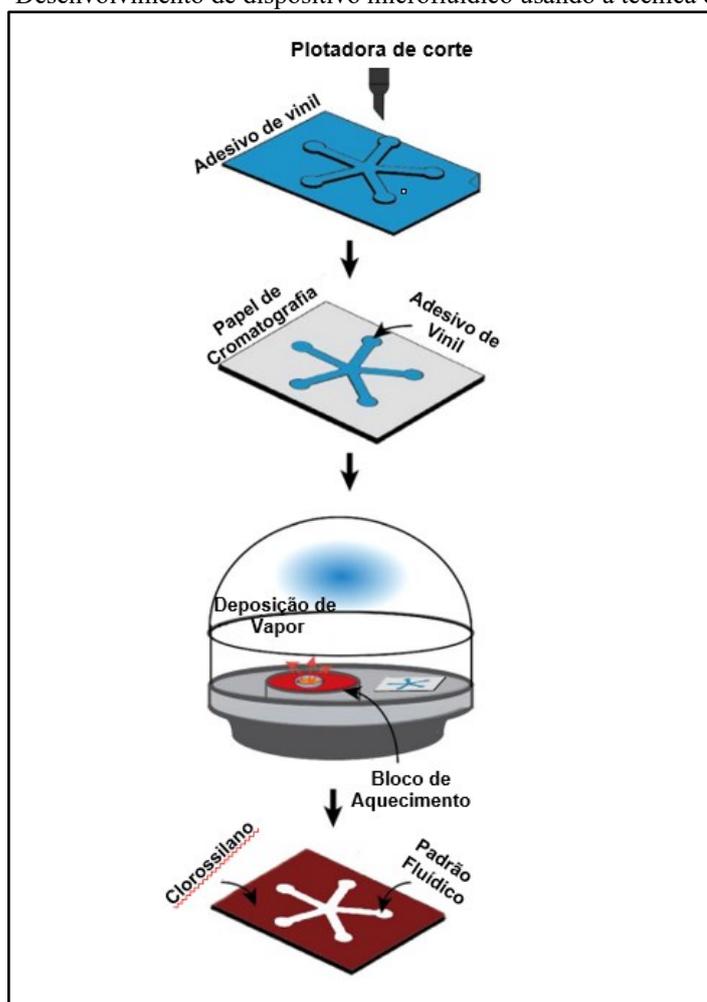
No trabalho já mencionado de Li et al. (2019), utilizando o mesmo dispositivo já descrito, um dos íons metálicos quantificados foi o níquel (II). Diferente da análise do ferro, o autor utilizou na etapa de pré-tratamento de amostra uma solução  $1 \text{ mol.L}^{-1}$  de fluoreto de sódio, seguido de uma solução de tiosulfato de sódio com o intuito de mascarar íons Fe(III) e Co(II) e na zona de detecção uma solução de dimetilglioxima 1% (m/V) preparada em acetona.

A forma de obtenção e tratamento das imagens digitais foi realizada de maneira análoga ao descrito para o ferro anteriormente, e também assim como foi para os íons ferro, para o níquel, o  $\Delta E$  exibiu a melhor relação linear, com faixa linear entre  $0,4$  e  $23 \text{ mg.L}^{-1}$  e limite de detecção de  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ .(LI et al., 2019)

Com uma proposta diferente de construção do dispositivo analítico, incluindo uma superfície quimicamente modificada, Devadhasan e Kim (2018) também conduziram uma pesquisa de determinação de níquel e outros metais em amostras de água através da colorimetria. Para fabricação deste dispositivo, nomeado de C- $\mu$ PAD, os pesquisadores desenvolveram um método de deposição de vapor químico (CVD) para criar barreiras hidrofóbicas térmica e quimicamente estáveis. Esta técnica exige papel de cromatografia, triclorossilano (TCS) como agente hidrofóbico e uma câmara de vácuo para criação dos padrões

hidrofóbicos. Como mostrado na Figura 8, o processo esquemático é simples, para silanizar o papel de cromatografia foi utilizado um bloco de aquecimento dentro de uma câmara de vácuo para vaporização da solução de TCS, com isso, as moléculas penetram no papel e formam ligações covalentes com as hidroxilas da celulose, formando barreiras hidrofóbicas extremamente estáveis e reproduzíveis com padrões hidrofílicos onde o adesivo em vinil é colocado. (LAM et al., 2017)

Figura 8 - Desenvolvimento de dispositivo microfluídico usando a técnica de C- $\mu$ PAD

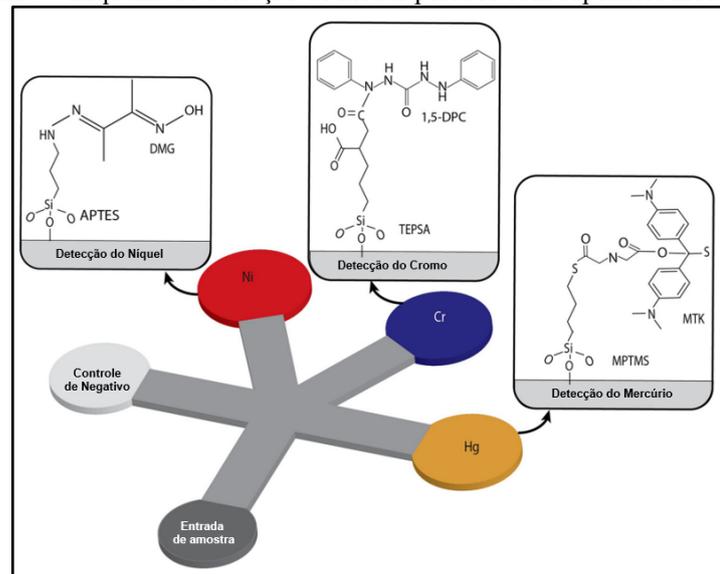


Fonte: Adaptada de Lam et. al., 2017

Para a zona de detecção do níquel, foi imobilizado um grupo amina ( $\text{NH}_2$ ) e posteriormente o reagente colorimétrico na parte hidrofílica. O grupamento amina foi introduzido através de  $2\mu\text{L}$  de uma solução de (3-Aminopropyl) trietóxissilano (APTES) e seco a  $110^\circ\text{C}$  durante 30 minutos. Com isso, este composto se liga covalentemente à celulose do papel, após isso, o papel pode ser lavado com água deionizada afim de remover os grupos que não se ligaram às hidroxilas da celulose e seco novamente a  $50^\circ\text{C}$ . Dessa forma, o dispositivo

está pronto para receber a solução de 10 mg L<sup>-1</sup> de dimetilglioxima (DMG) utilizada como reagente colorimétrica. Esta foi inserida na zona de detecção do níquel e, com seu grupo -OH, através da reação de hidrólise a 95°C, pôde se ligar ao grupo NH<sub>2</sub> do primeiro reagente.(DEVADHASAN; KIM, 2018)

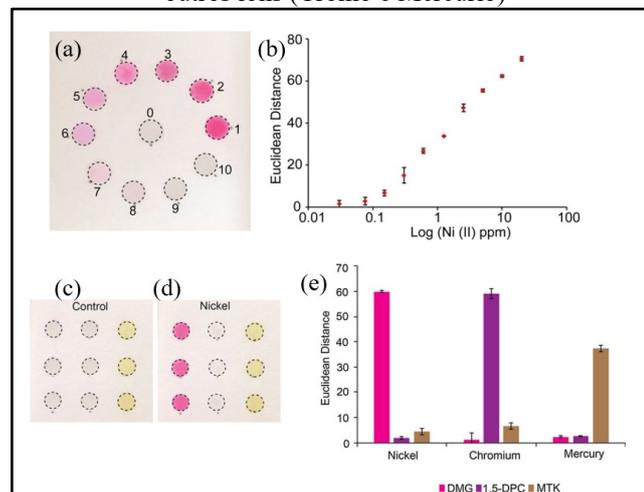
Figura 9 - Esquema de detecção de metais pesados com superfície modificada



Fonte: Adaptada de Devadhasan; Kim, 2018

Neste estudo foram fabricados 5 diferentes C- $\mu$ PAD's, dentre eles, uma matriz com 11 pontos para o estudo do limite de detecção, uma matriz 3x3 para estudar a especificidade e outra com padrão floral para análise de múltiplos íons metálicos.(DEVADHASAN; KIM, 2018)

Figura 10 - (a -b) Demonstração de análise quantitativa de Níquel II entre 0 e 20 ppm usando o valor RGB no ImageJ. (c,d, e) análise de especificidade, amostras de 10 ppm de níquel frente aos reagentes colorimétricos de outros íons (Cromo e Mercúrio)



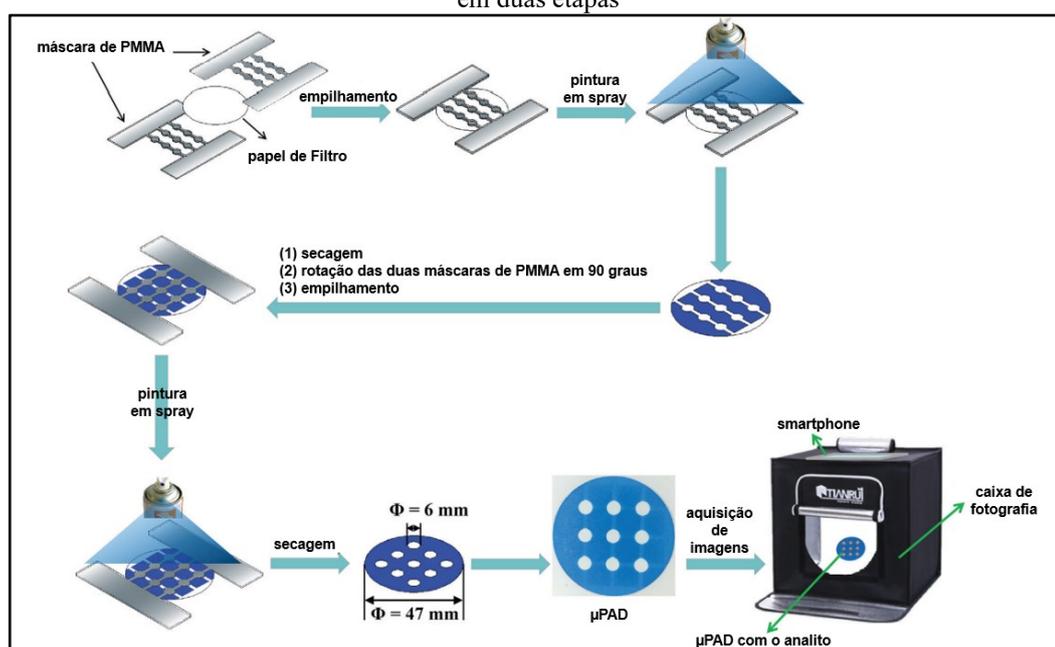
Fonte: Adaptada de Devadhasan; Kim, 2018

O tratamento das imagens digitais foi conduzido também pelo software Image J e a distância Euclidiana ( $\Delta E$ ) foi utilizada como sinal analítico para obtenção da curva de calibração. Com o cálculo do limite de detecção, o valor obtido foi de 0,24 ppm. Com a aplicação em amostras de águas de lagos, foi concluído que o método analítico não apresenta interferência significativa entre os íons metálicos e nem de outros minerais presentes nas amostras e que o mesmo pode ser usado para identificação individual ou mistura de íons metálicos e que parte disso também se deve a homogeneidade de cor que a superfície modificada promove na zona de detecção. (DEVADHASAN; KIM, 2018)

Mais recentemente e com uma proposta de construção do dispositivo bem mais simplificada, Nie et al. (2021) atingiu uma faixa linear de 1-6 mmol L<sup>-1</sup> e limite de detecção 1 mmol L<sup>-1</sup> para íons níquel(II) em água usando novamente a DMG como reagente colorimétrico.

Denominado como sp- $\mu$ PAD, o dispositivo foi obtido utilizando tinta em spray, papel de filtro e uma máscara de polimetilmetacrilato (PMMA), o protótipo é representado no esquema da Figura 11. O papel de filtro é colocado entre duas máscaras de PMMA, a tinta em spray é colocada em todo dispositivo e seco, as máscaras são rotacionadas em 90 graus e pintado novamente com a tinta, ao secar e retirar a máscaras são formadas as zonas hidrofílicas e hidrofóbicas, esta técnica permite o desenho de outros padrões mais complexos apenas trocando a máscara.(NIE et al., 2021)

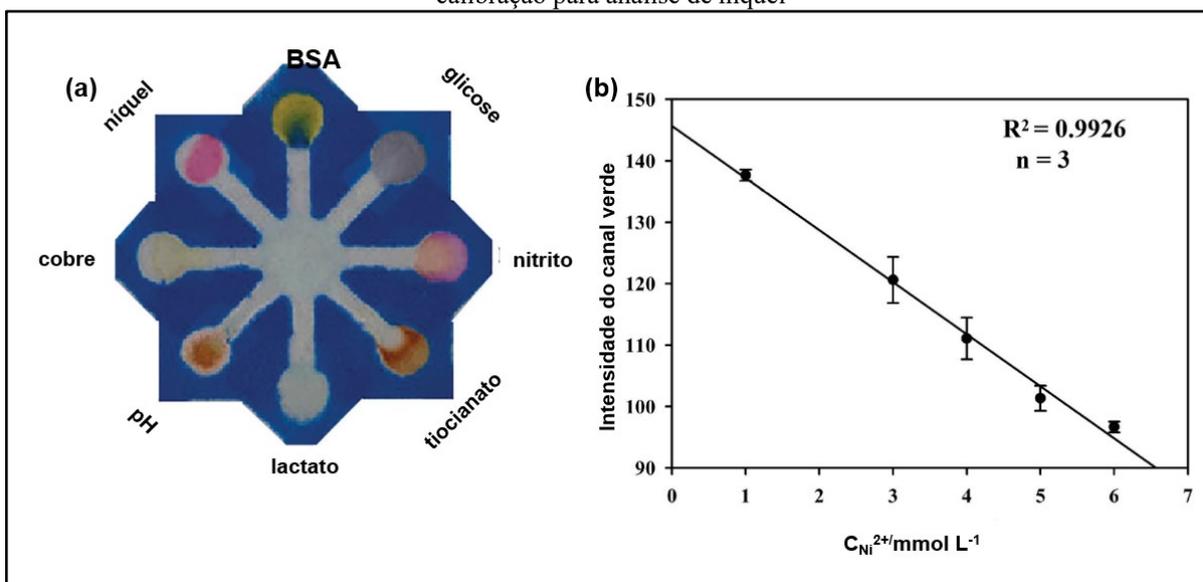
Figura 11 - Representação esquemática de prototipagem da fabricação do dispositivo com pulverização de tinta em duas etapas



Fonte: Adaptada de Nie et. al., 2021

Para análise de múltiplos analitos, incluindo os íons de níquel (II), foi usado um dispositivo com formato floral, como na Figura 12. Diferentemente de Devadhasan e Kim (2018), a distância Euclidiana não foi usada para obtenção do sinal analítico via software ImageJ, mas sim a intensidade do canal verde obtido pelas imagens digitais. (NIE et al., 2021)

Figura 12 - (a) Fotografia do dispositivo microfluídico em formato floral para análise múltipla. (b) curva de calibração para análise de níquel



Fonte: Adaptada de Nie et. al.,2021

Assim, os parâmetros analíticos obtidos pelos desenvolvimentos demonstrados nos trabalhos citados, podem ser vistas na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros das metodologias propostas para análise de níquel

Técnica	Faixa Linear (ppm)	Limite de Detecção (ppm)	Referência
$\mu$ PAD 3D com camada de pré-tratamento	0,4 - 23	0,3	LI et al. (2019)
Superfície quimicamente modificada	-	0,24	DEVADHASAN; KIM (2018)
sp- $\mu$ PAD	58,7 - 352	58,7	NIE et al., (2021)
Dispositivo rotacional	15 - 60	4,8	SUN et al. (2018)
PAD com $\beta$ -galactosidase	-	0,230	HOSSAIN; BRENNAN (2011)

Fonte: O autor

Os dois primeiros trabalhos retornaram limites de detecção bem próximos, já o de NIE et. al (2018), um valor muito acima quando comparado aos demais, que, além de ter utilizado um tratamento das imagens, o único que não utilizou o  $\Delta E$  como sinal analítico, não utilizou qualquer tipo de pré-tratamento de amostra, mesmo assim, considerando apenas o controle de qualidade de água potável, nenhum dos três métodos propostos alcançaria a detecção do limite máximo concentração de níquel recomendada pelo CONAMA de  $0,025 \text{ mg L}^{-1}$ , porém teriam aplicação no controle de níquel para lançamentos de efluentes onde, as duas primeiras metodologias discutidas, alcançariam a detecção de  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de níquel total estabelecida pelo CONAMA.

### 3.3 Cobre

O cobre (Cu) é um oligoelemento essencial para o ser humano e desempenha um papel importante em muitos processos biológicos. Contudo, a absorção excessiva de cobre pode induzir uma série de doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Wilson e Parkinson. A concentração de íon cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) dissolvido para lançamentos de efluentes é restringida pela Resolução CONAMA 357 a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  e águas destinadas ao consumo humano de  $0,009 \text{ mg L}^{-1}$ . Portanto, é necessário desenvolver métodos eficazes para monitorar a concentração de  $\text{Cu}^{2+}$  em amostras de águas, alimentos e fluidos biológicos é de vital importância. O cobre também pode causar problemas quando presente em combustíveis, pode ser agir como um catalisador para oxidação de radicais livres que leva à formação de vernizes, gomas e sedimentos, estes podem entupir os bicos na combustão e filtros de combustível, reduzir a eficiência dos trocadores de calor, causando superaquecimentos dos motores.(BRASIL, 2005; TAYLOR; SYNOVEC, 1993)

Várias metodologias baseadas em técnicas analíticas instrumentais com alta sensibilidade foram desenvolvidas para determinação de  $\text{Cu}^{2+}$ , incluindo espectrometria de absorção atômica, técnicas eletroquímicas, tais como voltametria e amperometria, espectrometria de fluorescência e outras (SQUISSATO; RICHTER; MUNOZ, 2019; TIMOSHENKO et al., 2020). No entanto, a aplicação desses métodos é limitada pelo alto custo, instrumentos sofisticados e pré-tratamentos de amostras. Assim, é altamente necessário desenvolver métodos novos, simples e conveniente para determinação de  $\text{Cu}^{2+}$ . Com isso, o uso dos dispositivos microfluídicos baseados em papel podem ser uma boa estratégia para determinar concentração de cobre *in situ* sem a necessidade de equipamentos e análises onerosas. (CAO et al., 2019; SHARIFI; TASHKHOURIAN; HEMMATEENEJAD, 2020)

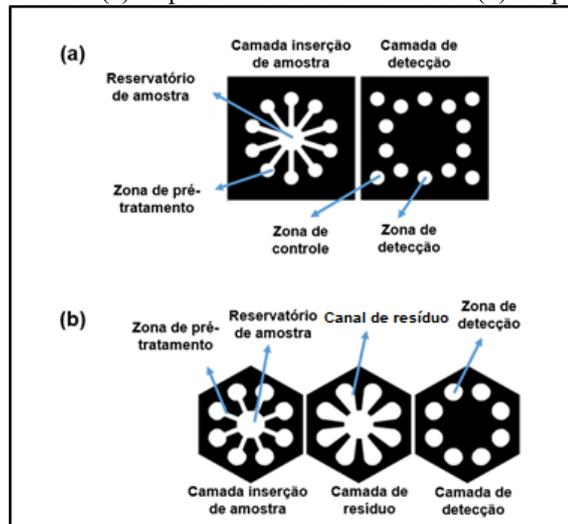
Utilizando o dispositivo sp- $\mu$ PAD do trabalho já citado anteriormente, Nie et. al (2021), utilizou o dietilditiocarbamato de sódio como reagente colorimétrico e, diferentemente do produto formado entre níquel e DMG, foi utilizado o canal azul (B) para aquisição do sinal analítico e curva de calibração, o que retornou uma limite de detecção de  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  (317 ppm) e faixa linear de  $5 - 9 \text{ mmol L}^{-1}$  (317 – 572 ppm) para amostras de água.

Com uma proposta mais sofisticada e utilizando vários reagentes tanto para a camada de pré-tratamento de amostra como a de detecção, Li et al. (2019), desenvolveu uma metodologia para quantificação de cobre (II) em água com seu  $\mu$ PAD 3D. Na camada de pré-tratamento foi adicionada uma solução de citrato de sódio para mascarar íons ferro (III) e na zona de detecção, a fim de reduzir o  $\text{Cu}^{2+}$  para  $\text{Cu}^+$ , utilizou uma solução de quitosana em ácido acético seguido de outra de cloridrato de hidroxilamina. Então uma mistura de batocuproína, polietilenoglicol 200 (PEG 200) e Tween 20 foi adicionada. O PEG 200 foi adicionado para capturar a batocuproína hidrofóbica e o complexo Cu–batocuproína, já o Tween 20 foi adicionado para aumentar a uniformidade da cor da zona de detecção, essa mistura culmina em um complexo amarelo estável.

Li et al. (2019) utilizou a escala de cinza, posteriormente a respectiva variação entre o sinal obtido pelo branco e pelo analito ( $\Delta\text{Gray}$ ) para construção da curva de calibração, a faixa linear foi de  $0,05$  a  $24 \text{ mg L}^{-1}$  e limite de detecção de  $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ . Com uma combinação de uma membrana de policloreto de vinila (PVC) e com o intuito de amenizar heterogeneidade da cor na zona de detecção, Sharifi, Tashkhourian e Hemmateenejad, (2020) construíram seu dispositivo também três dimensões em uma espécie de origami para permitir carregar uma maior quantidade de analito.

Para construção das barreiras hidrofóbicas no dispositivo, o papel foi impresso com impressora a jato de tinta com o desenho do padrão, e o mesmo foi aquecido a  $200^\circ\text{C}$ , o que causou a penetração da tinta nos poros do papel e criação das barreiras. Foram construídos dois tipos de  $\mu$ PAD's 3D: o primeiro com duas camadas (Figura 13 - a), sendo a superior de inserção de amostra, que consiste em uma zona central conectada com dez zonas hidrofílicas (de pré-tratamento) e a inferior com dez zonas circulares utilizadas para detecção. O segundo dispositivo (Figura 13 - b) era constituído por 3 camadas, sendo as duas primeiras similares ao do dispositivo anterior e a terceira utilizada com uma camada de resíduo com o intuito que um maior volume de amostra chegue dentro do  $\mu$ PAD.(SHARIFI; TASHKHOURIAN; HEMMATEENEJAD, 2020)

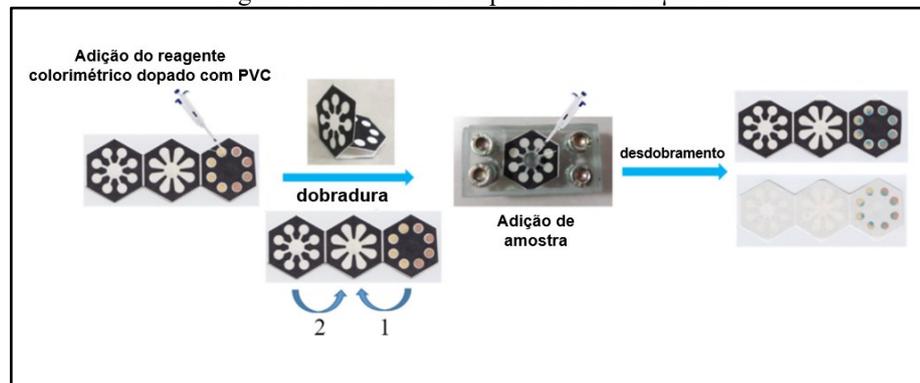
Figura 13 - Desenho dos  $\mu$ PAD's 3D. (a) dispositivo com duas camadas. (b) Dispositivo com camada de resíduo



Fonte: Adaptada de Sharifi; Tashkhourian; Hemmateenejad, 2020

Os reagentes colorimétricos (cromoazurol S [CS] e violeta pirocatecol [PV]) são incorporados ao papel da camada de detecção juntamente com uma matriz polimérica (PVC e dibutilftalato) e secos completamente. O dispositivo é posteriormente dobrado para receber a amostra. Pela presença do PVC, na camada de detecção é criado um ambiente relativamente hidrofóbico, o que leva à uma penetração lenta da amostra através desta área, portanto, foi necessário a inserção da amostra em um fluxo controlado (40  $\mu$ L em 10 s), evitando que se perca por cima da barreira hidrofóbica do dispositivo. Finalmente as imagens da zona de detecção são capturadas com scanner e os canais RGB são extraídos com programa ImageJ. O processo completo do método pode ser observado na Figura 14.(SHARIFI; TASHKHOURIAN; HEMMATEENEJAD, 2020)

Figura 14 - Processo completo do uso do  $\mu$ PAD



Fonte: Adaptada de Sharifi; Tashkhourian; Hemmateenejad, 2020

Para calibração do método, o autor utilizou quatro curvas de calibração, estudando o efeito da presença do PVC com os dois reagentes colorimétricos, e utilizou o canal vermelho

do RGB como sinal analítico, a Tabela 4 mostra os resultados alcançados.(SHARIFI; TASHKHOURIAN; HEMMATEENEJAD, 2020)

Tabela 4 - Parâmetros analíticos da curva de calibração (na ausência e presença do PVC)

	Na presença de PVC		Na ausência de PVC	
	CS	PV	CS	PV
Faixa linear (mg L <sup>-1</sup> )	5,0 – 1400,0	5,0 – 200,0	10,0 – 1000,0	30,0 – 400,0
Sensibilidade	51,35	38,87	30,79	12,60
Coeficiente de regressão (R <sup>2</sup> )	0,9816	0,9863	0,9195	0,9591
Limite de detecção (mg L <sup>-1</sup> )	1,7	1,9	2,3	4,1

Fonte: Adaptada de Sharifi; Tashkhourian; Hemmateenejad, 2020

Resultados mais sensíveis, precisos e com menores limites de detecção foram obtidos na presença de reagentes imobilizados de PVC, e isso pode ser atribuído à formação de manchas de cor mais concentradas e homogêneas.(SHARIFI; TASHKHOURIAN; HEMMATEENEJAD, 2020). Outros trabalhos que utilizaram dispositivos microfluídicos em papel para determinação de cobre (II) estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros analíticos com algumas técnicas desenvolvidas para análise de cobre utilizando  $\mu$ PAD's e colorimetria

Técnica	Faixa Linear (ppm)	Limite de Detecção (ppm)	Referência
$\mu$ PAD 3D com camada de pré-tratamento	0,05 - 24	0,03	LI et al. (2019)
Dispositivo em origami com membrana de PVC	5,0 - 1400	1,7	SHARIFI; TASHKHOURIAN; HEMMATEENEJAD (2020)
sp- $\mu$ PAD	317,73 – 571,91	58,7	NIE et al. (2021)
$\mu$ PAD com catálise de tiosulfato e nanoplaquetas de prata (AgNPLs)	$5 \cdot 10^{-4}$ – 0,2	$3 \cdot 10^{-4}$	CHAIYO et al. (2015)
Dispositivo rotacional	5,0 – 80	1,6	SUN et al. (2018)
CTAB/tiosulfato/AgNPLs	10,00 – 350,00	$4,12 \cdot 10^{-3}$	CHAIYO et al. (2016)
PAD com $\beta$ -galactosidase	-	0,020	HOSSAIN; BRENNAN (2011)

Fonte: O autor

Dentre os dispositivos e dados apresentados na Tabela 5 cabe a escolha do método por objetivo de tipo de amostra analisada, porém somente a técnica desenvolvida por Chaiyo et al. (2015) se aplicaria no controle de qualidade de água destinada ao consumo humano, de acordo com os limites da Resolução CONAMA 357, apesar de ser muito sensível e seletiva, a técnica desenvolvida demanda a etapa de síntese das nanoplacas de prata; o método de Sharifi; Tashkhourian; Hemmateenejad (2020) contempla uma ampla faixa linear, enquanto a simples técnica de fabricação do sp- $\mu$ PAD de Nie et al. (2021), dependendo do uso, pode ser uma alternativa viável frente às técnicas tradicionais; a de Li et al. (2019), por exemplo, seria uma opção para controle de lançamento de efluentes, já que seu limite de detecção é abaixo do estabelecido de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  da legislação brasileira.

### 3.4 Mercúrio

Os compostos de mercúrio são naturalmente emitidos para a atmosfera por vulcões, incêndios florestais, intemperismo de rochas e solos. Embora beneficie diversas indústrias, o mercúrio e seus derivados são prejudiciais aos ecossistemas e aos seres humanos, dependendo de sua forma química e também da sua concentração. O mercúrio elementar e orgânico é tóxico para o sistema nervoso periférico e central. A ingestão de  $\text{Hg}^{2+}$  através de água potável contaminada e material alimentar pode levar a efeitos graves na saúde humana, como danos ao cérebro, rins, infertilidade e defeitos congênitos. Portanto, o mercúrio no meio ambiente é um importante produto químico que precisa ser monitorado continuamente devido à sua natureza extremamente tóxica. (FIRDAUS et al., 2019; MONISHA et al., 2021)

A voltametria cíclica (CV), espectrometria de absorção atômico de vapor frio (CV-AAS), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), espectroscopia de emissão atômica de plasma acoplada indutivamente e espectrofotometria UV-Vis (UV-Vis) são relatados para determinação de  $\text{Hg}^{2+}$  em uma variedade de amostras (CLEVENGER; SMITH; WINEFORDNER, 1997; GAO; HUANG, 2013; MARTÍN-YERGA; GONZÁLEZ-GARCÍA; COSTA-GARCÍA, 2013). A maioria desses instrumentos é sensível à detecção de  $\text{Hg}^{2+}$ , porém é necessário pessoal treinado para realização das análises e possuem portabilidade reduzida. Entre as técnicas que utilizam equipamentos, a colorimetria ainda é a técnica preferida para a determinação de mercúrio devido à sua simplicidade e disponibilidade de instrumentos econômicos, com isso a utilização de dispositivos baseados em papel e colorimetria podem ser uma alternativa para análise

quantitativa de mercúrios em vários tipos de amostras. (MONISHA et al., 2021; NASHUKHA et al., 2021)

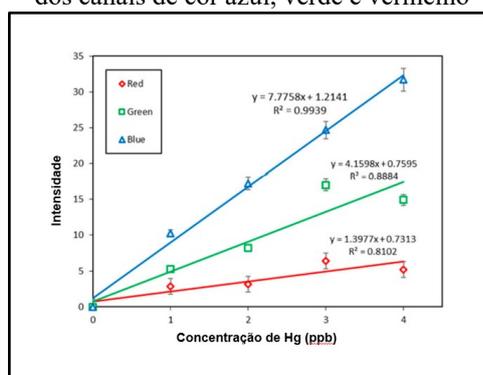
Nanopartículas de prata (AgNPs) sofrem oxidação pelo mercúrio, passando de uma solução amarelada para incolor. Utilizando essa propriedade, Firdaus et al. (2019) desenvolveu um aplicativo de celular usando a intensidade dessa descoloração captada pela câmera para quantificação de Hg e alcançou um limite de detecção de 0,86 ppb.

Para obtenção do sinal analítico, o autor utilizou o programa para cálculos numéricos MATLAB para extrair os valores RGB obtidas pela câmera. A plotagem dos dados brutos de RGB em relação à concentração dos padrões produz um gráfico com tendência hiperbólica. Para obtenção da curva com tendência linear, utilizou a conversão via escala logarítmica seguindo a lei de Lambert-Beer, como na Equação 4. (FIRDAUS et al., 2019)

$$I_R = \log \frac{R_0}{R_S}; I_G = \log \frac{G_0}{G_S}; I_B = \log \frac{B_0}{B_S}. \quad (4)$$

$I_R$ ,  $I_G$  e  $I_B$  são as intensidades de cor para o vermelho, verde e azul, respectivamente. Os termos  $(RGB)_0$  e  $(RGB)_S$  são os valores do branco e da amostra, respectivamente. Com isso, a conversão dos valores RGB é diretamente proporcional à concentração do íon mercúrio e pôde ser usado para quantificação em amostras. Como pode ser observado na Figura 15, a curva de calibração obtida com o uso da intensidade do canal de cor azul obteve a maior linearidade e inclinação, uma vez que o mesmo é a cor complementar do amarelo da solução de AgNPs, portanto estes valores foram utilizados para a pesquisa. O método, inicialmente, foi calibrado extraindo o sinal analítico de imagens obtidas das soluções padrão em cubetas. (FIRDAUS et al., 2019)

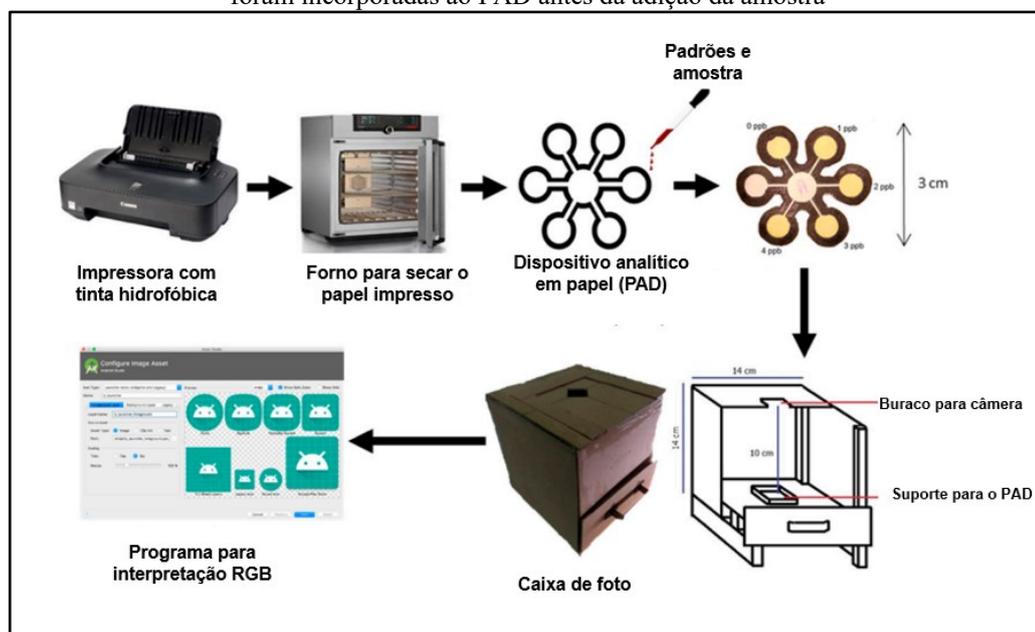
Figura 15 - Curva de calibração com a correlação entre a concentração de mercúrio (0 - 4 ppb) e a intensidade dos canais de cor azul, verde e vermelho



Fonte: Adaptada de FIRDAUS et al., 2019

Para aumentar a portabilidade, aplicaram o mesmo método também para os dispositivos analíticos em papel. A construção utilizada do dispositivo segue a base mais comum, uso papel de filtro com o padrão impresso com tinta hidrofóbica, depois aquecido a 150°C por 5 minutos. As imagens foram obtidas através de smartphone e uma “Caixa de foto” personalizada.(FIRDAUS et al., 2019)

Figura 16 - Esquema da preparação do dispositivo analítico baseado em papel (PAD) e aquisição de imagem digital para determinação de íons de mercúrio. Assim como no sensor colorimétrico, nanopartículas de prata foram incorporadas ao PAD antes da adição da amostra



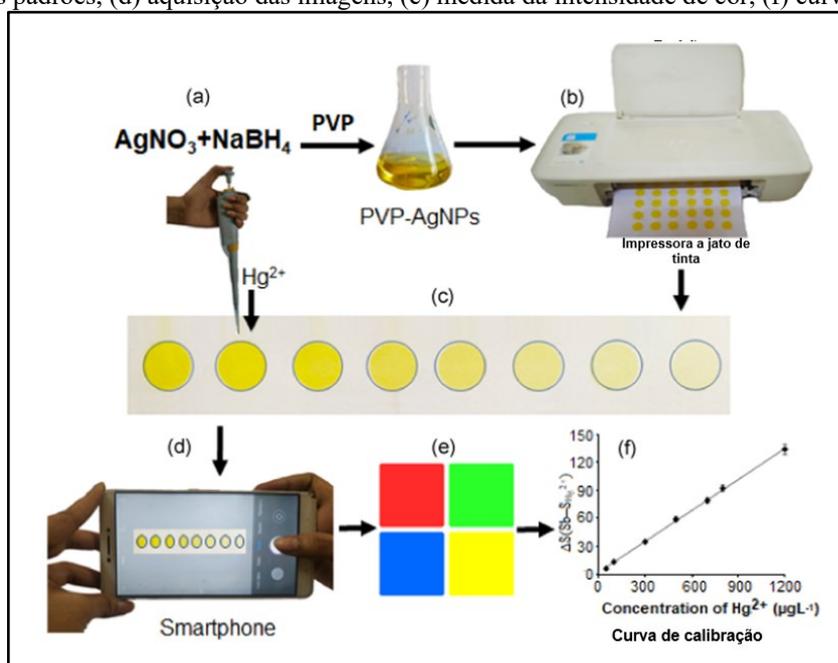
Fonte: Adaptada de FIRDAUS et al., 2019

Utilizando o ICP-OES como método de referência e teste de recuperação para validação, retornou valores de erro abaixo de 2,4% e desvio entre as réplicas de análise melhor que 2,5%, segundo os autores, o mesmo obteve precisão e exatidão satisfatórios.(FIRDAUS et al., 2019)

Em um trabalho mais recente e com abordagem semelhante no uso do smartphone e nanopartículas de prata modificada com polivinilpirrolidona (PVP-AgNPs), porém incorporando o reagente cromóforo na tinta de impressão dos PAD's, MONISHA et al. (2021), vieram com essa proposta de determinação do mercúrio via colorimetria.

Utilizando uma impressora à jato de tinta carregada com uma tinta de nanopartículas de prata, para desenho de um círculo de 1cm, e também com o reagente cromóforo PVP-AgNP para a zona de teste, com isso o dispositivo foi criado em papel de filtro e foi possível a determinação da intensidade RGB via aplicativo para smartphone.(MONISHA et al., 2021)

Figura 17 - Diagrama esquemático de (a) síntese do PVP-AgNPs, (b) impressão do PVP-AgNPs no papel, (c) deposição dos padrões, (d) aquisição das imagens, (e) medida da intensidade de cor, (f) curva de calibração



Fonte: Adaptada de MONISHA et al., 2021

Assim como no trabalho citado anteriormente, há a descoloração do reagente na presença de mercúrio, dado pela reação de oxirredução dos compostos. Para plotagem da curva de calibração foi utilizado o mesmo princípio, à medida que a concentração de mercúrio aumenta, mais incolor a área do cromóforo fica, com isso o aplicativo de detecção de RGB detecta a intensidade dessa cor e pode ser usado a diferença de sinal entre o branco e do analito ( $\Delta S = S_b - S_{Hg^{2+}}$ ). O método retornou uma faixa linear de 40 – 1200 ppb e limite de detecção de 10 ppb. (MONISHA et al., 2021)

Com seu dispositivo para análise múltiplas e superfície quimicamente modificada já citado anteriormente, DEVADHASAN; KIM (2018), utilizando a tiocetona de Michler, que é um composto que forma um complexo marrom com o mercúrio, e EDTA como mascarante de outros íons metálicos como forma de alteração química da superfície, os autores alcançaram um limite de detecção de 0,19 ppm para mercúrio. A tabela 6 apresenta os resultados dos trabalhos discutidos e de outros anteriormente reportados com métodos de determinação quantitativa de mercúrio utilizando dispositivos microfluídicos em papel e colorimetria.

Tabela 6 - Parâmetros analíticos com algumas técnicas desenvolvidas para análise de mercúrio utilizando  $\mu$ PAD's e colorimetria

Técnica	Faixa Linear (ppb)	Limite de Detecção (ppb)	Referência
$\mu$ PAD com AgNPs	-	0,86	FIRDAUS et al., 2019
$\mu$ PAD com PVP-AgNPs	40 - 1200	10	MONISHA et al., 2021
$\mu$ PAD com superfície quimicamente modificada	-	190	DEVADHASAN; KIM, 2018
$\mu$ PAD com AgNPs	5000 - 75000	120	APILUX et al., 2012
$\mu$ PAD de dupla camada com AgNPs	50 - 700	1,00	MEELAPSOM et al., 2016
$\mu$ PAD com AgNPs	0,1 - 3	-	FU et al., 2021
$\mu$ PAD com AuNPs	5 - 20	10	CHEN et al., 2014
PAD com PtNPs/TMB	0,5 - 100	2	CHEN et al., 2016
PAD com $\beta$ -galactosidase	-	1	HOSSAIN; BRENNAN, 2011

Fonte: O autor

Comparável à métodos mais caros de detecção, Firdaus et al. (2019) alcançaram um limite de detecção de 0,86 ppb, porém não é capaz de detectar o limite máximo presente de concentração de mercúrio total em águas para consumo humano descrito na CONAMA 357, de 0,2 ppb, no entanto seria capaz de identificar o limite máximo para lançamento de efluentes 10 ppb, assim como o de Monisha et al. (20121)

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A determinação de íons metálicos apresenta uma importância analítica que compreende desde controle de qualidade de combustíveis e alimentos, saúde humana e ambiental, também em indústrias como metalúrgicas e de mineração. As técnicas mais comuns para quantificação destes íons são as de espectrometria de absorção e emissão atômicas, as mesmas apresentam a vantagem de serem altamente sensíveis e seletivas, porém exigem equipamentos de alto custo e portabilidade reduzida. As técnicas utilizando os dispositivos microfluídicos aliado à colorimetria auxilia e pode substituir de forma equiparável estes métodos analíticos tradicionais com a vantagem de terem o custo mais baixo, portabilidade, uso de equipamentos simples e sem a exigência de treinamento específico de analistas.

Portanto a detecção de íons metálicos via colorimetria e dispositivos microfluídicos de papel pode ser viável para vários fins, desde que otimizada para tal propósito, porém existem muitos desafios a serem superados e metodologias a serem exploradas.

Há ainda fatores que influenciam as metodologias que são um pouco negligenciados ou não há consenso entre os autores como, por exemplo, tipo de tratamento de imagens adotados e as melhores ferramentas para aquisição do sinal analítico. Fatores como a definição da área para aquisição de intensidade de coloração ainda parecem serem tratadas de forma arbitrária.

Apesar dos aspectos técnicos e barreiras ainda a serem superadas, os  $\mu$ PAD's podem ser uma alternativa rápida, barata e equivalente à métodos mais caros para análises de metais em amostras ambientais e biológicas.

## REFERÊNCIAS

- ABE, K.; SUZUKI, K.; CITTERIO, D. Inkjet-printed microfluidic multianalyte chemical sensing paper. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 18, p. 6928–6934, 15 set. 2008.
- ABGRALL, P.; GUÉ, A. M. Lab-on-chip technologies: Making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem - A review. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, 1 maio 2007.
- ANDRADE, J. C. DE; ALVIM, T. R. A importância da Química Analítica Qualitativa nos cursos de química das instituições de Ensino Superior brasileiras. **Quim. Nova**, v. 29, n. 1, p. 168–172, 2006.
- ANTUNES, P. A. et al. Determinação simultânea de cobalto e níquel. **Química Nova**, v. 21, n. 3, p. 289–299, 1998.
- APILUX, A. et al. Simple and rapid colorimetric detection of Hg(II) by a paper-based device using silver nanoplates. **Talanta**, v. 97, p. 388–394, 15 ago. 2012.
- ASANO, H.; SHIRAIISHI, Y. Development of paper-based microfluidic analytical device for iron assay using photomask printed with 3D printer for fabrication of hydrophilic and hydrophobic zones on paper by photolithography. **Analytica Chimica Acta**, v. 883, p. 55–60, 9 jul. 2015.
- BALASUBRAMANIAN, S. et al. Digital colorimetric analysis for estimation of iron in water with smartphone-assisted microfluidic paper-based analytical devices. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, p. 1–18, 5 mar. 2021.
- BECKER, H.; GÄRTNER, C. Polymer microfabrication technologies for microfluidic systems. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 390, n. 1, p. 89–111, jan. 2008.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução Conama nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 mar. 2007. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747>> Acesso em 05 Fev. 2022.
- CAO, Y. et al. Portable colorimetric detection of copper ion in drinking water via red beet pigment and smartphone. **Microchemical Journal**, v. 150, 1 nov. 2019.
- CARRELL, C. et al. Beyond the lateral flow assay: A review of paper-based microfluidics. **Microelectronic Engineering**, v. 206, p. 45–54, 1 fev. 2019.
- CARRILHO, E.; MARTINEZ, A. W.; WHITESIDES, G. M. Understanding wax printing: A simple micropatterning process for paper-based microfluidics. **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 16, p. 7091–7095, 15 ago. 2009.
- CATE, D. M. et al. Recent developments in paper-based microfluidic devices. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 19–41, 6 jan. 2015.

CHARLES, C. V.; SUMMERLEE, A. J. S.; DEWEY, C. E. Iron content of Cambodian foods when prepared in cooking pots containing an iron ingot. **Tropical Medicine and International Health**, v. 16, n. 12, p. 1518–1524, dez. 2011.

CHAIYO, S. et al. Highly selective and sensitive paper-based colorimetric sensor using thiosulfate catalytic etching of silver nanoplates for trace determination of copper ions. **Analytica Chimica Acta**, v. 866, p. 75–83, 25 mar. 2015.

CHAIYO, S. et al. High sensitivity and specificity simultaneous determination of lead, cadmium and copper using  $\mu$ PAD with dual electrochemical and colorimetric detection. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 233, p. 540–549, 5 out. 2016.

CHEN, G. H. et al. Detection of mercury(II) ions using colorimetric gold nanoparticles on paper-based analytical devices. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 14, p. 6843–6849, 15 jul. 2014.

CHEN, W. et al. A Simple Paper-Based Colorimetric Device for Rapid Mercury(II) Assay. **Scientific Reports**, v. 6, 24 ago. 2016.

CLEVENGER, W. L.; SMITH, B. W.; WINEFORDNER, J. D. Trace determination of mercury: A review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 1–26, 1997.

COLTRO, W. K. T. et al. Toner and paper-based fabrication techniques for microfluidic applications. **Electrophoresis**, v. 31, n. 15, p. 2487–2498, ago. 2010.

DE TARSO GARCIA, P. et al. A handheld stamping process to fabricate microfluidic paper-based analytical devices with chemically modified surface for clinical assays. **RSC Advances**, v. 4, n. 71, p. 37637–37644, 2014.

DEVADHASAN, J. P.; KIM, J. A chemically functionalized paper-based microfluidic platform for multiplex heavy metal detection. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 273, p. 18–24, 10 nov. 2018.

DUNGCHAI, W.; CHAILAPAKUL, O.; HENRY, C. S. A low-cost, simple, and rapid fabrication method for paper-based microfluidics using wax screen-printing. **Analyst**, v. 136, n. 1, p. 77–82, 7 jan. 2011.

ESPINOLA, A. Fritz Feigl: sua obra e novos campos tecno-científicos por ela originados. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 169–176, 2004.

EVANS, E. et al. Rational selection of substrates to improve color intensity and uniformity on microfluidic paper-based analytical devices. **Analyst**, v. 139, n. 9, p. 2127–2132, 31 mar. 2014.

FERNANDES, G. M. et al. Paper-based analytical device for colorimetric detection of  $\text{Cu}^{2+}$  in Brazilian sugarcane spirits by digital image treatment. **Microchemical Journal**, v. 159, p. 105463, 1 dez. 2020.

FERREIRA, F. T. S. M. et al. New microfluidic paper-based analytical device for iron determination in urine samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 1 dez. 2021.

FERREIRA, F. T. S. M.; MESQUITA, R. B. R.; RANGEL, A. O. S. S. Design and functionalization of a  $\mu$ pad for the enzymatic determination of nitrate in urine. **Molecules**, v. 26, n. 21, 1 nov. 2021.

- FIRDAUS, M. L. et al. Smartphone coupled with a paper-based colorimetric device for sensitive and portable mercury ion sensing. **Chemosensors**, v. 7, n. 2, 1 jun. 2019.
- FU, L. M. et al. Design of an integrated microfluidic paper-based chip and inspection machine for the detection of mercury in food with silver nanoparticles. **Biosensors**, v. 11, n. 12, 1 dez. 2021.
- FU, L. M.; WANG, Y. N. Detection methods and applications of microfluidic paper-based analytical devices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 107, p. 196–211, 1 out. 2018.
- GAO, C.; HUANG, X. J. Voltammetric determination of mercury(II). **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 51, p. 1–12, 1 nov. 2013.
- GENCHI, G. et al. Nickel: Human health and environmental toxicology. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 3, 1 fev. 2020.
- HOSSAIN, S. M. Z.; BRENNAN, J. D.  $\beta$ -Galactosidase-based colorimetric paper sensor for determination of heavy metals. **Analytical Chemistry**, v. 83, n. 22, p. 8772–8778, 15 nov. 2011.
- JIANG, X.; FAN, Z. H. Fabrication and Operation of Paper-Based Analytical Devices. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 9, p. 203–222, 12 jun. 2016.
- JOÃO, A. F. et al. Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-based device. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 1134–1139, 1 maio 2019.
- LAM, T. et al. A Chemically Patterned Microfluidic Paper-based Analytical Device (C- $\mu$ PAD) for Point-of-Care Diagnostics. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 1 dez. 2017.
- LEAL, Vanderli Garcia. **Desenvolvimento de plataforma portátil e de baixo custo para determinação de sulfeto em águas utilizando smartphones e impressão 3D**. 2020. 64 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.
- LI, F. et al. Three-dimensional microfluidic paper-based device for multiplexed colorimetric detection of six metal ions combined with use of a smartphone. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 24, p. 6497–6508, 1 set. 2019.
- LIN, F. Y. H. et al. Development of a nanoparticle-labeled microfluidic immunoassay for detection of pathogenic microorganisms. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 12, n. 3, p. 418–425, mar. 2005.
- LIN, Y. et al. Detection of heavy metal by paper-based microfluidics. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 83, p. 256–266, 15 set. 2016.
- MA, S. et al. Visible paper chip immunoassay for rapid determination of bacteria in water distribution system. **Talanta**, v. 120, p. 135–140, 2014.
- MARK, D. et al. Microfluidic lab-on-a-chip platforms: Requirements, characteristics and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 3, p. 1153–1182, 24 fev. 2010.
- MARTÍN-YERGA, D.; GONZÁLEZ-GARCÍA, M. B.; COSTA-GARCÍA, A. Electrochemical determination of mercury: A review. **Talanta**, v. 116, p. 1091–1104, 2013.

- MARTINEZ, A. W. et al. Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 46, n. 8, p. 1318–1320, 2007.
- MARTINEZ, A. W. et al. Diagnostics for the developing world: Microfluidic paper-based analytical devices. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 1, p. 3–10, 2010.
- MEELAPSOM, R. et al. Chromatic analysis by monitoring unmodified silver nanoparticles reduction on double layer microfluidic paper-based analytical devices for selective and sensitive determination of mercury(II). **Talanta**, v. 155, p. 193–201, 1 ago. 2016.
- MOHAMMADI, S. Z.; AFZALI, D.; POURTALEBI, D. Flame atomic absorption spectrometric determination of trace amounts of lead, cadmium and nickel in different matrixes after solid phase extraction on modified multiwalled carbon nanotubes. **Central European Journal of Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 662–668, jun. 2010.
- MONISHA et al. Inkjet-printed paper-based colorimetric sensor coupled with smartphone for determination of mercury (Hg<sup>2+</sup>). **Journal of Hazardous Materials**, v. 414, 15 jul. 2021.
- MORBIOLI, G. G. et al. Technical aspects and challenges of colorimetric detection with microfluidic paper-based analytical devices (μPADs) - A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 970, p. 1-22, 1 jun. 2017.
- MOSER, I. et al. Miniaturized thin film glutamate and glutamine biosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 10, n. 6–7, p. 527–532, 1 jan. 1995.
- MURILLO, M. et al. Determination of copper, iron and nickel in edible oils using emulsified solutions by ICP-AES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, n. 5, p. 815–820, 1 jan. 1999.
- MUSILE, G. et al. Paper-based microfluidic devices: On-site tools for crime scene investigation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 143, p. 116406, 1 out. 2021.
- MYKYTIUK, A. P.; RUSSELL, D. S.; STURGEON, R. E. Simultaneous determination of iron, cadmium, zinc, copper, nickel, lead, and uranium in sea water by stable isotope dilution spark source mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 52, n. 8, p. 1281–1283, 2002.
- NAITO, Y.; MASUYAMA, T.; ISHIHARA, M. Iron and cardiovascular diseases. **Journal of Cardiology**, v. 77, n. 2, p. 160–165, 1 fev. 2021.
- NASHUKHA, H. L. et al. Simple and equipment-free paper-based device for determination of mercury in contaminated soil. **Molecules**, v. 26, n. 7, 1 abr. 2021.
- NERY, E. W.; KUBOTA, L. T. Sensing approaches on paper-based devices: A review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 24, p. 7573–7595, set. 2013.
- NIE, B. et al. Single-layered paper-based microfluidic devices made by paint-spraying technique with great barrier resistance for colorimetric assays. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, n. 3, p. 599–608, 1 mar. 2021.
- OGAWA, K.; KANETA, T. Determination of iron ion in the water of a natural hot spring using microfluidic paper-based analytical devices. **Analytical Sciences**, v. 32, p. 31–34, 2016.
- OLKKONEN, J.; LEHTINEN, K.; ERHO, T. Flexographically printed fluidic structures in paper. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 24, p. 10246–10250, 15 dez. 2010.

OZER, T.; HENRY, C. S. Paper-based analytical devices for virus detection: Recent strategies for current and future pandemics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 144, p. 116424, 1 nov. 2021.

PRIOTEASA, L. et al. Determination by ICP-MS of Heavy Metals and Other Toxic Elements in Drinking Water from Several Rural Areas of Romania. **Rev. Chim. (Bucharest)**, v. 65, n. 8, 2014.

SENGUPTA, J.; HUSSAIN, C. M. Graphene and its derivatives for Analytical Lab on Chip platforms. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 114, p. 326–337, 1 maio 2019.

SHARIFI, H.; TASHKHOURIAN, J.; HEMMATEENEJAD, B. A 3D origami paper-based analytical device combined with PVC membrane for colorimetric assay of heavy metal ions: Application to determination of Cu(II) in water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 1126, p. 114–123, 22 ago. 2020.

SHRIVAS, K. et al. Smartphone coupled with paper-based chemical sensor for on-site determination of iron(III) in environmental and biological samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, n. 7, p. 1573–1583, 1 mar. 2020.

SIVAKUMAR, R.; LEE, N. Y. Recent progress in smartphone-based techniques for food safety and the detection of heavy metal ions in environmental water. **Chemosphere**, v. 275, p. 130096, 1 jul. 2021.

SONGJAROEN, T. et al. Novel, simple and low-cost alternative method for fabrication of paper-based microfluidics by wax dipping. **Talanta**, v. 85, n. 5, p. 2587–2593, 15 out. 2011.

SQUISSATO, A. L.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Voltammetric determination of copper and tert-butylhydroquinone in biodiesel: A rapid quality control protocol. **Talanta**, v. 201, p. 433–440, 15 ago. 2019.

SRIRAM, G. et al. Paper-based microfluidic analytical devices for colorimetric detection of toxic ions: A review. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 93, p. 212–227, 1 ago. 2017.

SUN, X. et al. Improved assessment of accuracy and performance using a rotational paper-based device for multiplexed detection of heavy metals. **Talanta**, v. 178, p. 426–431, 1 fev. 2018.

TAYLOR, D. B.; SYNOVEC, R. E. Chromatographic determination of copper speciation in jet fuel. **Talanta**, v. 40, n. 4, p. 495–501, 1 abr. 1993.

TIMOSHENKO, R. V. et al. Promising Approaches for Determination of Copper Ions in Biological Systems. **Nanotechnologies in Russia**, v. 15, n. 2, p. 121–134, 1 mar. 2020.

WALLER, A. W. et al. Development of a paper-based sensor compatible with a mobile phone for the detection of common iron formulas used in fortified foods within resource-limited settings. **Nutrients**, v. 11, n. 7, 1 jul. 2019.

WOLAK, A.; ZAJĄC, G.; GOŁĘBIEWSKI, W. Determination of the content of metals in used lubricating oils using AAS. **Petroleum Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 93–102, 2 jan. 2019.

WHITESIDES, G. M. The origins and the future of microfluidics. **Nature**, v. 442, n. 7101, p. 368–373, 27 jul. 2006.

YAGODA, H. Applications of Confined Spot Tests in Analytical Chemistry. **Industrial Engineering Chemistry and Analytical Edition**, v. 9, n. 2, p. 79–82, 1937.

ZHAO, W.; VAN DEN BERG, A. Lab on paper. **Lab on a Chip**, v. 8, n. 12, p. 1988–1991, 2008.