

DAYANE KARINE INÁCIO

DESENVOLVIMENTO DE UM DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO A BASE DE PAPEL EMPREGANDO UM SENSOR RGB

UBERLÂNDIA

2023

DAYANE KARINE INÁCIO

DESENVOLVIMENTO DE UM DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO A BASE DE PAPEL EMPREGANDO UM SENSOR RGB

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de BACHAREL EM QUÍMICA INDUSTRIAL.

Orientador: Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva

UBERLÂNDIA

2023

	Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da U com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).	FU
135	Inácio, Dayane Karine, 1995-	
2023	Desenvolvimento de um Dispositivo Microfluídico a Base	
	de Papel Empregando um Sensor RGB [recurso eletrônico] /	
	Dayane Karine Inácio 2023.	
	Orientador: Sidnei Gonçalves da Silva.	
	Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -	
	Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Química	
	Industrial.	
	Modo de acesso: Internet.	
	Inclui bibliografia.	
	Inclui ilustrações.	
	1. Tecnologia química. I. Silva, Sidnei Gonçalves da,	
	1980-, (Orient.). II. Universidade Federal de	
	Uberlândia. Graduação em Química Industrial. III.	
	Título.	
		CDU: 660.2

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2: Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091 Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

A todos aqueles que, um dia, se beneficiarão deste projeto.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo privilégio de poder realizar este trabalho e por sua presença constante em minha vida. Sem o seu amor e sua orientação, eu não teria sido capaz de chegar até aqui.

Agradeço à minha família, em especial, meu pai Wander, minha mãe Maria de Lourdes, minha irmã Eloá e meu companheiro Guilherme, pelo amor e pelo constante incentivo durante toda a minha jornada acadêmica. Este trabalho é, em grande parte, resultado da dedicação e do apoio incondicional que recebi de todos vocês.

Agradeço às minhas meninas, Lady e Darkness, por estarem comigo desde o início e serem meu suporte emocional ao longo de todos esses anos.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Sidnei Gonçalves da Silva, pelo apoio, orientação e dedicação durante todo o processo de elaboração deste trabalho. Sem a sua ajuda e incentivo, este projeto não teria sido possível.

Agradeço aos meus colegas de turma e amigos pelo apoio moral e pelas conversas que muito contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço também aos participantes deste estudo pelo tempo e pelo esforço em colaborar com as atividades propostas. Sem eles, este trabalho não seria possível.

Por fim, gostaria de agradecer a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, processo: APQ-01395-22) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq, processo: 403929/2021-0) pelo apoio financeiro fornecido durante a realização deste trabalho e pela bolsa de iniciação científica CNPq.

RESUMO

As análises colorimétricas são técnicas de análise química que utilizam a cor e a variação de uma solução para determinar a concentração de uma determinada espécie química. Estas análises podem ser realizadas utilizando diferentes tipos de equipamentos, tais como espectrofotômetros e dispositivos microfluídicos, e são amplamente utilizadas em diversas áreas, como a medicina, a indústria alimentícia e a química ambiental. O presente trabalho foi baseado no desenvolvimento de um dispositivo microfluídico a base de papel, para a obtenção de valores RGB (vermelho, verde e azul) para medidas quantitativas. Uma plataforma de prototipagem eletrônica de hardware livre chamada Arduino, usando um sensor de cor RGB TCS34725 foi empregada na construção do dispositivo, visando a aplicação em amostras ambientais. Com a construção deste dispositivo obteve-se um equipamento portátil e de baixo custo. Foram realizados testes para verificar a resposta do sensor a soluções coloridas, incluindo amarelo tartrazina, índigo, verde de bromocresol, vermelho ponceau e fenolftaleína, obtendo valores de desvio padrão relativo (RSD) menores que 3 %, enquanto a câmera apresentou resultados maiores quando comparado com o sensor, estes estudos indicam que os resultados obtidos com o sensor apresentam melhor precisão, comparado ao uso do smartphone. Após esta fase de testes, o dispositivo proposto foi aplicado para a determinação de fluoreto em amostras de água, com base na determinação espectrofotométrica indireta de fluoreto, conhecida como o método SPADNS.

Palavras-Chave: Dispositivo microfluídico, RGB, Sensor, Soluções coloridas, SPADNS.

ABSTRACT

Colorimetric analyses are chemical analysis techniques that use the color and variation of a solution to determine the concentration of a specific chemical species. These analyses can be performed using different types of equipment, such as spectrophotometers and microfluidic devices, and are widely used in various fields, such as medicine, the food industry, and environmental chemistry. The present study was based on the development of a paper-based microfluidic device for obtaining RGB (red, green, and blue) values for quantitative measurements. An open-source hardware electronic prototyping platform called Arduino, using an RGB color sensor TCS34725, was employed in the construction of the device, aiming at application in environmental samples. With the construction of this device, a portable and low-cost equipment was obtained. Tests were performed to verify the sensor's response to colored solutions, including tartrazine yellow, indigo, bromocresol green, ponceau red, and phenolphthalein, obtaining relative standard deviation (RSD) values less than 3 %, while the camera showed higher results when compared to the sensor. These studies indicate that the results obtained with the sensor have better precision compared to the use of smartphones. After this testing phase, the proposed device was applied to the determination of fluoride in water samples, based on the indirect spectrophotometric determination of fluoride, known as the SPADNS method. Key Words: Microfluidic Device, RGB, Sensor, Color Solutions, SPADNS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - µPADs com solução de corante índigo em diferentes concentrações19
Figura 2 - Arduino UNO R3 comercializado pela empresa italiana ARDUINO®20
Figura 3 - Sensor de cor RGB TCS3472522
Figura 4 - Detalhe do sensor de cor RGB TCS3472522
Figura 5 - Representação do funcionamento do sensor de cor RGB TCS3472523
Figura 6 - Esquema de montagem do sensor de cor RGB na placa Arduino UNO26
Figura 7 - Sensor acoplado ao dispositivo desenvolvido para realizar as medições.26
Figura 8 - Sensor de cor RGB TCS34725 conectado ao Arduino UNO que se conecta
a um computador por meio do cabo USB27
Figura 9 - Dispositivo suporte para smartphone durante a aquisição das fotos dos
µPADs
Figura 10 - Regiões dos µPADs com a solução de amarelo tartrazina
Figura 11 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução amarelo tartrazina
utilizando o sensor de cor RGB TCS3472531
Figura 12 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução amarelo tartrazina
utilizando o software ImageJ31
Figura 13 - Espectro de resposta relativo do sensor de cor RGB TCS3472532
Figura 14 - Espectro de absorbância da solução de amarelo tartrazina combinado com
o espectro de resposta relativa do sensor de cor RGB TCS34725
Figura 15 - Regiões dos µPADs com a solução índigo
Figura 16 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução índigo utilizando
o sensor de cor RGB TCS3472535
Figura 17 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução índigo utilizando
o software ImageJ35
Figura 18 - Espectro de absorbância da solução índigo combinado com o espectro de
resposta relativa do sensor de cor RGB TCS3472536
Figura 19 - Regiões dos µPADs com a solução verde de bromocresol
Figura 20 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução verde de
bromocresol utilizando o sensor de cor RGB TCS34725
Figura 21 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução verde de
bromocresol utilizando o software ImageJ

Figura 22 - Espectro de absorbância da solução verde de bromocresol combinado
com o espectro de resposta relativa do sensor de cor RGB TCS3472540
Figura 23 - Regiões dos µPADs com a solução vermelho <i>ponceau</i> 41
Figura 24 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução vermelho
ponceau utilizando o sensor de cor RGB TCS3472542
Figura 25 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução vermelho
ponceau utilizando o software ImageJ42
Figura 26 - Espectro de absorbância da solução vermelho ponceau combinado com o
espectro de resposta relativa do sensor de cor RGB TCS3472543
Figura 27 - Regiões dos µPADs com a solução fenolftaleína45
Figura 28 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução fenolftaleína
utilizando o sensor de cor RGB TCS3472545
Figura 29 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução fenolftaleína
utilizando o software ImageJ46
Figura 30 - Espectro de absorbância da solução fenolftaleína combinado com o
espectro de resposta relativa do sensor de cor RGB TCS3472547
Figura 31 - Regiões dos µPADs com a solução SPADNS-Zr + Fluoreto48
Figura 32 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução SPADNS-Zr +
Fluoreto utilizando o sensor de cor RGB TCS3472549

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução amarelo tartrazina30
Tabela 2 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução amarelo tartrazina30
Tabela 3 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução amarelo
tartrazina
Tabela 4 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução índigo
Tabela 5 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução índigo
Tabela 6 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução índigo
Tabela 7 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução verde de bromocresol37
Tabela 8 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução verde de bromocresol.38
Tabela 9 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução verde
de bromocresol
Tabela 10 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução vermelho ponceau41
Tabela 11 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução vermelho ponceau41
Tabela 12 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução
vermelho <i>ponceau</i> 43
Tabela 13 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução fenolftaleína44
Tabela 14 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução fenolftaleína45
Tabela 15 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução
fenolftaleína46
Tabela 16 - Valores para a preparação das soluções a serem aplicadas nos µPADs
Tabela 17 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução SPADNS-Zr + Fluoreto
Tabela 18 - Resultados obtidos após análise do sensor da solução SPADNS-Zr +
Fluoreto
Tabela 19 - Valores de RGB obtidos pelo sensor para diferentes combinações de
solução SPADNS-Zr + Fluoreto e para SPADNS puro e diluído

LISTA DE ABREVIAÇÕES

R	Red (Vermelho)		
G	Green (Verde)		
В	Blue (Azul)		
UFU	Universidade Federal de Uberlândia		
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico		
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais		
	Microfluidic paper-based devices (Dispositivo microfluídico a		
μΓΑΟ	base de papel)		
SDADNS	2-(parassulfofeniazo)-1,8-dihidroxi-3,6-naftaleno dissulfonato de		
SFADINS	sódio		
loT	Internet of Things (Internet das Coisas)		
рН	Potencial Hidrogeniônico		
LCD	Liquid Crystal Display (Display de Cristal Líquido)		
IR	Infra-red (Infravermelho)		
LED	Light Emitter Diode (Diodo Emissor de Luz)		
USB	Universal Serial Bus (Porta Serial Universal)		
ADC	Analog-to-digital Converter (Conversor Analógico-digital)		
RSD	Desvio Padrão Relativo		
Conc.	Concentração		

SUMÁRIO

INTRO	DUÇÃO	14
1.1.	Objetivos	16
1.1.1.	Objetivo geral	16
1.1.2.	Objetivos específicos	17
FUNDA	MENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1.	Colorimetria	18
2.2.	Dispositivos microfluídicos à base de papel	19
2.3.	Arduino UNO	20
2.4.	Método SPADNS	20
2.5.	Sensor de cor	21
ΜΕΤΟΙ	DOLOGIA	25
3.1.	Preparo das soluções coloridas	25
3.2.	Construção do dispositivo	26
3.3.	Realização das medidas dos valores de RGB pelo	sensor e pelo
smartp	hone	27
RESUL	TADOS E DISCUSSÕES	29
4.1.	Avaliação da linearidade dos valores obtidos de RGB da	as soluções de
diferen	tes cores	29
4.1.1.	Amarelo de Tartrazina	29
4.1.2.	Índigo	33
4.1.3.	Verde de Bromocresol	
4.1.4.	Vermelho <i>ponceau</i>	40
4.1.5.	Fenolftaleína	44
4.2.	Solução de SPADNS-Zr e de Fluoreto	47
CONCI	_USÕES	51

5.1.	Trabalhos futuros	52
REFERÉ	ÈNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
APÊNDI	CE	55

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

A Microfluídica é uma área multidisciplinar que combina conhecimentos de micro fabricação, física, química, biologia e engenharia, e se concentra em controlar e manipular fluidos em escalas de micro e nanômetros (GÓMEZ-HENS; FERNÁNDEZ-ROMERO, 2017). Esta estratégia vem contribuindo para o desenvolvimento de dispositivos microfluídicos, que são sistemas miniaturizados capazes de realizar a manipulação e o transporte de fluidos em escala reduzida com aplicabilidade, principalmente na determinação de amostras que de interesse biológicos, bioquímicos entre outras (CREVILLÉN *et al.*, 2007).

Além do baixo consumo de reagentes, outras vantagens são atribuídas ao uso destes dispositivos microfluídicos, tais como rapidez, simplicidade e baixo custo (WHITESIDES, 2006). Na literatura é possível encontrar o uso de vários materiais para fabricação de dispositivos microfluídicos (CAPITÁN-VALLVEY *et al.*, 2015).

Recentemente, o desenvolvimento de plataformas de baixo custo, fácil manuseio e portáteis, que visam aplicações em campo, tem recebido atenção devido a ampla variedade de aplicações analíticas e bioanalíticas (SODA; BAKKER, 2019).

Substratos descartáveis, como o plástico, tecido e papel têm demonstrado versatilidade para produção em alta velocidade de dispositivos microfluídicos por processos de fabricação menos complexos. Os dispositivos microfluídicos à base de papel, do inglês *microfluídic paper-based devices* (µPAD) são compatíveis com a maioria das análises químicas, biomédicas e médicas (SODA; BAKKER, 2019).

Análises químicas com base em alterações de cores, registrados em dispositivos de imagens, vêm apresentando bastante interesse em química analítica devido às suas várias vantagens tais como: simplicidade de uso, possibilidade de análises *in situ* e em tempo real e portabilidade (CAPITÁN-VALLVEY *et al.*, 2015).

As reações cromogênicas ocorrem dentro das zonas reacionais dos µPADs e, com isso, a identificação do analito pode ser feita visualmente. Desta identificação, pode-se trabalhar com respostas de confirmação binária (sim ou não) ou em escala quantitativa por relações matemáticas da intensidade de cor do analito, após tratamento da imagem digitalizada.

Ao se utilizar imagens para identificação é necessário a obtenção da imagem da área de trabalho empregando um dispositivo de captura de imagem e enviada para softwares que possam disponibilizar os valores de componentes de cores da imagem de entrada. Neste caso, os valores obtidos servem para construção da curva de calibração e análise das amostras (CAPITÁN-VALLVEY *et al.*, 2015).

Imagens digitais são registros resultantes do espalhamento e da reflectância da luz incidida sobre um objeto e podem servir como ferramenta para aplicações analíticas, fornecendo de forma rápida informações que podem ser associadas às concentrações de espécies químicas coloridas. A luz refletida ao passar por um conjunto de filtros com as cores vermelho, verde e azul (RGB, do inglês, *Red*, *Blue* e *Green*) é agrupada na forma de um mosaico e conhecido como filtro de Bayer (GONZALES; WOODS, 2010).

Os dispositivos de captura de imagem são empregados como detectores fotossensíveis e usualmente empregados em química analítica para obtenção de imagens digitais. Estas imagens são constituídas por uma matriz de valores conhecidos como pixels. A partir das diferentes transmitâncias adquiridas para cada pixel e utilizando como base o modelo das misturas de cores RGB, o sinal é então convertido (pelo uso de um software) em unidades decimais de 8 bits, entre 0 e 255 (YUSUFU; MILLS, 2018).

Desta forma é possível correlacionar a concentração de espécies coloridas com os sinais dos valores de R, G e B (isolados ou após tratamentos matemáticos), que em certas condições experimentais, respondem linearmente com a concentração do analito.

Como a intensidade da cor pode ser proporcional à concentração de uma espécie química, em µPAD, a quantificação dessa espécie pode ser realizada a partir

da correlação dos valores das componentes do sistema RGB de uma imagem digitalizada associada com essa espécie e sua concentração. Pode-se considerar uma analogia a medidas espectrofotométricas, mas dispensando-se todo aparato instrumental usualmente empregado (CAPITÁN-VALLVEY *et al.*, 2015).

Para converter a imagem capturada após a reação da amostra contendo o analito, a imagem é digitalmente processada usando uma série de operações matemáticas proporcionando reduções de ruídos, correção de nível de cinza e correção de desfoque, para melhorar a qualidade dos sinais (CAPITÁN-VALLVEY *et al.*, 2015). Análise de imagens digitais para fins analíticos, desatacam-se na utilização visando análises *in situ*, incluindo aplicações ambientais, e possibilitando a obtenção de resultados em tempo real.

O emprego de microcontroladores de plataforma aberta (*open-source*) tornaram-se cada vez comuns em química analítica, devido ao seu baixo custo, portabilidade e pela possibilidade de integrar a aquisição de dados e controle de dispositivos em um único sistema (GRINIAS *et al.*, 2016).

Em laboratórios de ensino, esses dispositivos permitem que os alunos obtenham experiência prática na construção e programação de instrumentação usada em projetos de classe. Exemplos de instrumentação analítica baseada em Arduino incluem a construção de um fotômetro, buretas automáticas etc. Estes microcontroladores têm sido usados para acoplar sensores medidores de pH ou termômetros para displays LCD apresentando os resultados em tempo real (GRINIAS *et al.*, 2016).

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo geral

Construção de um dispositivo microfluídico a base de papel empregando um sensor de cor RGB como alternativa para as medidas colorimétricas visando a aplicação em amostras ambientais.

1.1.2. Objetivos específicos

Construir um dispositivo microfluídico a base de papel empregando um sensor de cor RGB portátil e de baixo custo para medidas quantitativas de espécies coloridas.

Avaliar o uso deste dispositivo na determinação de fluoreto em amostras de águas, baseado no método de SPADNS.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Colorimetria

As técnicas colorimétricas são utilizadas há muito tempo, mas recentemente ganharam visibilidade devido à portabilidade e aos avanços em dispositivos de captura de imagem, que já estão sendo usados como alternativas para análises qualitativas, semiquantitativas e quantitativas. Desenvolvimentos recentes em tecnologias optoeletrônicas, como diodos emissores de luz e sensores diversos, também se tornaram uma ferramenta interessante para o projeto de dispositivos portáteis (FERNANDES *et al.*, 2020).

O método analítico colorimétrico é amplamente utilizado em análises químicas quantitativas, visando obter a concentração de compostos em soluções coloridas. Os equipamentos comerciais usados para análises de cores mais precisos incluem colorímetro, fotômetro e espectrofotômetro (OLIVEIRA, 2022).

O termo "colorímetro" é utilizado para designar um aparelho utilizado em medidas de absorção, no qual o olho humano é utilizado como detector, comparando a cor de uma amostra com a de um padrão de referência (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2018).

Já um fotômetro é um dispositivo que mede a intensidade de luz e é composto por uma fonte de luz, um filtro, um transdutor fotoelétrico e um processador e leitor de sinais. Alguns cientistas e fabricantes de instrumentos também se referem a fotômetros como colorímetros ou colorímetros fotoelétricos (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2018).

Um espectrômetro é um instrumento científico que mede a intensidade de radiação eletromagnética como uma função de comprimento de onda ou frequência. Um espectrofotômetro é um tipo de espectrômetro que possui fendas de saída e transdutores fotoelétricos, permitindo a determinação da relação entre a potência

radiante de dois feixes de luz em diferentes comprimentos de onda (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2018).

2.2. Dispositivos microfluídicos à base de papel

Dispositivos microfluídicos à base de papel, do inglês *microfluidic paper-based devices*, (µPAD) representam uma opção promissora combinando as capacidades de dispositivos microfluídicos convencionais com a simplicidade de indicadores químicos e biológicos que usam tiras de papel poroso impregnadas com reagentes (SODA; BAKKER, 2019).

Por meio dos µPADs, é possível realizar análises rápidas e de baixo custo, requerendo apenas um suporte externo simples e pequenos volumes de amostras e reagentes. Os fluidos são conduzidos pelos poros do papel sob ação capilar devido ao ordenamento enovelado das fibras e a hidrofilicidade deste tipo de substrato. Desta forma, a aplicação de equipamentos externos para condução dos fluidos é desnecessária (NOVIANA *et al.*, 2021).

Diversas aplicações explorando os µPADs como sensores colorimétricos podem ser encontradas na literatura, uma vez que esses dispositivos corroboram para análises rápidas diretamente no *point-of-care* (CREVILLÉN *et al.*, 2007). A Figura 1 apresenta 8 µPADs com uma mesma solução em diferentes concentrações. É possível observar a diferença entre as cores de cada uma das concentrações, sendo assim, um indicador que esta diferença pode ser quantificada através de um sensor de cores.

Figura 1 - µPADs com solução de corante índigo em diferentes concentrações



Os µPADs são obtidos por uma impressora a cera e posteriormente são submetidos a uma temperatura de 180 °C durante 120 s usando uma estufa, essa etapa de aquecimento se faz necessária para promover a fusão da cera, e, assim, criar as barreiras hidrofóbicas de cera no substrato de papel.

2.3. Arduino UNO

O Arduino é uma plataforma de *hardware* de código aberto muito utilizada para a criação de equipamentos eletrônicos que utilizam sensores. A placa consiste em um sistema de entradas e saídas (analógicas e digitais) que vão até um microcontrolador. O Arduino possui ambiente de desenvolvimento próprio e com informações difundidas por toda a *Internet*, tornando-se assim uma excelente opção para o desenvolvimento de protótipos de baixo custo (ARDUINO, 2020).

Existem diferentes versões do Arduino e, o modelo utilizado neste projeto é conhecido com Arduino UNO, que possui um microcontrolador ATmega328, 16 pinos de entrada e saída digital, 6 pinos de entrada analógica, possui uma tensão de alimentação de 7 V a 12 V e uma tensão de operação de nível lógico de 5 V. A Figura 2 mostra um modelo de Arduino UNO (ARDUINO, 2020).

Figura 2 - Arduino UNO R3 comercializado pela empresa italiana ARDUINO®



Fonte: (ARDUINO, 2020)

2.4. Método SPADNS

Entre os métodos espectrofotométricos, o reagente 2-(parassulfofeniazo) -1,8dihidroxi-3,6-naftaleno dissulfonato de sódio (SPADNS) é considerado como uma opção de grande importância devido às suas vantagens. Uma das principais vantagens do uso do SPADNS é a sua capacidade de promover uma reação instantânea com o fluoreto (LIMA, 2014). Além disso, este reagente apresenta poucos interferentes, o que garante uma maior exatidão na determinação do fluoreto. Outra vantagem importante é o seu baixo custo, tornando-o uma opção acessível para muitas aplicações (LIMA, 2014).

O método proposto baseia-se na reação do íon fluoreto com o corante vermelho de zircônio, resultando na formação de um complexo aniônico incolor [ZrF₆]²⁻. É importante destacar que a quantidade de fluoreto presente é inversamente proporcional à cor produzida (LIMA, 2014).

A faixa analítica deste método varia entre 0,05 mg L⁻¹ e 1,40 mg L⁻¹ de flúor, abrangendo assim a faixa de concentração considerada ideal para águas de abastecimento público, que é de 1,0 mg L⁻¹ a 1,2 mg L⁻¹ (BRASIL, 2012). Dessa forma, o reagente SPADNS é amplamente utilizado para a determinação de fluoreto em água potável (LIMA, 2014).

2.5. Sensor de cor RGB

Os sensores de cores são transdutores baseados no efeito fotoelétrico, que convertem a quantidade de radiação luminosa que chega a superfície do sensor em corrente elétrica.

Por sua vez, os sensores de cor RGB permitem que uma matriz de fotodiodos possa identificar 3 cores: vermelho (do inglês *red*, R), verde (*green*, G) e azul (*blue*, B). Esta identificação pode acontecer de diferentes maneiras e, no sensor de cor RGB TCS34725, além da identificação dos valores RGB há um bloqueio de infravermelho (IV), minimizando esta influência e aumentando a precisão da identificação das cores (AMS, 2016).

A Figura 3 apresenta uma vista do sensor de cor RGB utilizado neste projeto para detecção das componentes nas soluções propostas.

Figura 3 - Sensor de cor RGB TCS34725



Fonte: (ADAFRUIT, 2020)

Este sensor possui 20,44 mm x 20,28 mm e é composto por um LED SMD branco de alta intensidade luminosa que, incidindo sobre a superfície de interesse, a radiação refletida incide sobre o sistema de detecção. O detector é composto por 4 conjuntos de 3 fotodiodos, sendo que 3 conjuntos empregam filtros que permitem que a radiação seja filtrada em regiões específicas do espectro, que correspondem aos sinais de vermelho (R), verde (G) e azul (B), representado na Figura 4.

Figura 4 - Detalhe do sensor de cor RGB TCS34725



Um último conjunto fornece os sinais para a luz não filtrada, ou seja, uma matriz 4x3. Uma representação esquemática ilustrando o processo para medidas em µPADs é apresentado na Figura 5. Os sinais obtidos são processados empregando um microcontrolador Arduino através das entradas analógicas que então serão convertidas para sinais digitais numa base de 16 bits. Dependendo da biblioteca selecionada, o microcontrolador envia respostas de sinais em valores de RGB (AMS, 2016).



Figura 5 - Representação do funcionamento do sensor de cor RGB TCS34725

Martinez *et al.* (2008) utilizaram µPADs para executar diversos ensaios simultâneos de detecção de glicose em urina, através da utilização de smartphones e escaneadores portáteis para comparar a intensidade de cor das amostras com o resultado de curvas de calibração. Com estes ensaios, ele pôde desenvolver um sistema para quantificar bioensaios e proporcionar um método simples e econômico para manutenção da saúde.

Em Grazioli *et al.* (2020), foram desenvolvidos equipamentos de baixo custo e de projeto simples utilizando impressoras 3D, placas de Arduino, LED e fotorresistores para analisar a capacidade antioxidante de infusões de chá. Os resultados obtidos puderam ser comparados com pesquisas utilizando espectrofotômetro e mostraram medições e resultados precisos.

Um dispositivo miniaturizado para determinação de oxalato analisando a reação entre este composto e o complexo Zr(IV)-SPADNS foi apresentado por Machado, Petruci e Silva (2021), com resultados semelhantes ao de um espectrofotômetro comercial.

Estes autores utilizaram um sensor de luz visível TSL2591 conectado a um microcontrolador e enviaram dados via tecnologia Bluetooth. Este aparelho mostrouse um importante desenvolvimento para *Internet of Things* (IoT, Internet das Coisas) na área de análises químicas *in situ*.

Para Oliveira *et al.* (2022), soluções com diferentes colorações foram utilizadas para analise ótica quantitativa através de um sensor de cor RGB. Para estas soluções foram utilizadas diferentes corantes e concentrações com o intuito de encontrar a

melhor faixa de detecção de radiação eletromagnética refletida pelas amostras. Através do método do Tiocianato para determinação colorimétrica obteve-se desempenho analítico semelhante ao obtido com espectrofotômetro comercial na determinação de ferro em amostras de solo e de polivitamínicos.

Cadeado *et al.* (2022) desenvolveu uma revisão mostrando a utilização de tecnologias da IoT (Internet das coisas) em química analítica, dentre os trabalhos citados podemos ver uma crescente utilização de dispositivos dentro da área, como Arduino e Raspberry Pi e comunicação *Wi-fi* e *Bluetooth*. Técnicas de análises ópticas são as mais comuns dentro deste meio, devido a facilidade de prototipação, portabilidade e custo.

Foi desenvolvido por Cadeado *et al.* (2022b) um dispositivo baseado num método de *Griess* para determinação colorimétrica de nitrito em água. Utilizando um sensor de cor RGB APDS 9960 para detectar a intensidade da cor produzida pela reação entre nitrito e o reagente de *Griess*, o autor obteve resultados satisfatórios ao comparar com valores pelo UV-vis e comparar informações como desvio padrão relativo com outros trabalhos da literatura.

Sustentando-se nestes principais trabalhos e outros desenvolvimentos, este trabalho busca a utilização de um sensor de cor RGB para determinação de fluoreto em amostras de água. E, para esta finalidade, foram analisadas soluções coloridas em diferentes concentrações com o intuito de encontrar uma faixa linear de operação do sensor.

CAPÍTULO III

METODOLOGIA

3.1. Preparo das soluções coloridas

Os corantes utilizados foram:

- Amarelo de Tartrazina
- Índigo
- Verde de Bromocresol (pH = 4,5)
- Vermelho Ponceau
- Fenolftaleína

Todas as soluções-estoque foram preparadas para conter uma concentração de 20 mmol L⁻¹. Os corantes amarelo de tartrazina (Merck, Alemanha), índigo (Sigma-Aldrich, Alemanha) e vermelho *ponceau* (Merck, Alemanha) foram solubilizados em água destilada para uma solução estoque de 5 mL, já no corante verde bromocresol (Merck) foi necessário um ajuste de pH para 4,5 utilizando NaOH para obtenção da cor desejada, também contendo 5 mL de solução estoque.

A solução estoque do indicador fenolftaleína (Vetec, Brasil), foi preparado de forma diferente dos corantes, onde além da água destilada, foi utilizado álcool à 60% (v/v), a qual a proporção foi para um preparo de 5 mL de solução estoque, onde continha 3 mL de álcool e 2 mL de água destilada.

Após todas as soluções estoque estarem prontas, foi realizado a diluição das mesmas, onde obteve-se soluções de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 15 mmol L⁻¹. E para a diluição da fenolftaleína foi utilizado em cada tubo, 0,5 mL de hidróxido de sódio 1,0 mol L-1 (NaOH), além da solução estoque e da água destilada.

Foi utilizada água ultrapura (18,2 MΩ cm, Gehaka, Brasil) em todos os processos, e todos os reagentes utilizados possuem pureza analítica.

3.2. Construção do dispositivo

Para a realização das medidas dos valores de RGB, construiu-se um dispositivo no qual uma plataforma de hardware livre e de placa única (Arduíno UNO), conectada à porta USB 2.0 de um microcomputador foi empregada para controle e a aquisição dos dados. As medidas foram conduzidas empregando um sensor de cor RGB (TCS34725, RGB Sensor, Adafruit®). A Figura 6 apresenta o esquema de ligação do dispositivo conectado ao Arduino UNO.





A Figura 7 apresenta o sensor acoplado ao dispositivo feito em uma impressora 3D com as dimensões do sensor (20,44 mm x 20,28 mm) e altura de 10 mm, para realização das medidas.

Figura 7 - Sensor acoplado ao dispositivo desenvolvido para realizar as medições



Os resultados são então transferidos para registros de dados empregando um microcontrolador. O LED, à base de nitreto (InGaN), possui iluminação máxima nas

faixas de espectro desejadas, entre 400 nm e 700 nm. Um filtro de bloqueio por infravermelho (IR) é integrado ao chip e localizado próximo aos fotodiodos com detecção de cores. O fabricante relata que isso minimiza o componente espectral de infravermelho e permite mais medições precisas de cores.

Este sensor pode ser alimentado diretamente pelo Arduino e o recebimento de dados é realizado pela utilização das portas analógicas ao microcontrolador. O microcontrolador (Arduino Uno) foi conectado a um computador via cabo USB (*Universal Serial Bus*), como apresenta a Figura 8, e controlado via software, IDE Arduino, disponível gratuitamente no site do Arduino. Após o salvamento da rotina o sistema foi alimentado por uma fonte externa. Empregando o software e as bibliotecas fornecidas pelo fabricante, os dados dos valores de RGB foram obtidos em cada medida.



Figura 8 - Sensor de cor RGB TCS34725 conectado ao Arduino UNO que se conecta a um computador por meio do cabo USB

3.3. Realização das medidas dos valores de RGB pelo sensor e pelo smartphone

Para se obter as medidas pelo sensor, foi utilizado uma rotina de programação criada para Arduino, que foi configurado para um tempo de integração de 50 ms e um ganho de 4 vezes para realizar leituras de forma contínua. Após conectar o dispositivo ao computador, a luz de LED do sensor é acionada, e é possível iniciar as medidas desejadas.

Para a realização da análise dos corantes e da fenolftaleína, foram utilizadas soluções-estoque e soluções diluídas. Essas soluções foram aplicadas em µPADs

com 2 cm de diâmetro, utilizando 20 µL de cada solução em cada µPAD. As medidas dos valores de RGB foram realizadas e, com esses valores, foram construídas curvas de calibração. Essas curvas possibilitam a análise das amostras e a obtenção da concentração dos corantes e da fenolftaleína presentes nas amostras.

O registro da imagem do µPAD por uma câmera de smartphone utilizando o *flash* da câmera foi realizado através de um suporte impresso em uma impressora 3D como representa a Figura 9, o. O smartphone utilizado foi o Samsung Galaxy S9 Plus, cuja câmera possui 12 Mp + 12 Mp, com resolução de 4032 x 3024 pixel.

Figura 9 - Dispositivo suporte para smartphone durante a aquisição das fotos dos µPADs



Os dados foram coletados imediatamente após a leitura do sensor em todas as medidas, a fim de garantir que não houvesse variação no tempo de exposição da solução no µPAD. As imagens foram posteriormente processadas pelo programa ImageJ para a obtenção dos valores de RGB. Por fim, foi realizada uma comparação entre os resultados obtidos pelo sensor e pelo ImageJ, para avaliar a precisão e validade dos métodos utilizados.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Apresentam-se neste capítulo os resultados obtidos, discussões e propostas para novos trabalhos. No primeiro momento foram preparadas as soluções estoque de diferentes cores, cuja concentração dessas soluções são de 20 mmol L⁻¹. Após a diluição das soluções estoque, elas foram preparadas para serem aplicadas nos µPADs e posteriormente foram realizadas as medidas de RGB em triplicata tanto pelo sensor, quanto pelo smartphone, e por fim foi realizado a análises de todos os resultados obtidos. As medidas empregando a câmera do smartphone foram realizadas para comparar os resultados obtidos empregando o sensor de cor RGB com àquelas obtidas pelo uso da câmera, usualmente empregada em medidas de análises por imagem.

4.1. Avaliação da linearidade dos valores obtidos de RGB das soluções de diferentes cores

Após obter os valores de RGB pelo sensor e pelo programa ImageJ, foram realizadas as análises da faixa de linearidade, da equação da reta e do desvio padrão relativo RSD (%) dos valores do R, do G e do B. Também foi obtido o espectro da solução em questão para melhores conclusões. Na sequência a seguir, apresenta-se as conclusões para soluções com amarelo tartrazina, índigo, verde de bromocresol (pH = 4,5), vermelho *ponceau* e fenolftaleína

4.1.1. Amarelo Tartrazina

A Tabela 1 mostra os valores obtidos pelo sensor de cor RGB através do dispositivo elaborado com a placa Arduino e as medidas foram realizadas diretamente nos µPADs de papel, após a adição da solução contendo o corante em concentrações crescentes (1 - 20 mmol L⁻¹).

Conc (mmol L^{-1})	R	G	В
1	100	91	57
2	104	92	52
3	103	92	54
4	107	92	48
5	108	92	47
6	110	93	46
7	110	93	45
8	111	92	44
9	112	92	43
10	112	92	44
15	114	92	42
20	115	91	42

Tabela 1 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução amarelo tartrazina

Por sua vez, a Tabela 2 mostra os resultados obtidos utilizando o software ImageJ.

Tabela 2 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução amarelo tartrazina

Conc (mmol L^{-1})	R	G	В
1	221,10	215,02	136,66
2	228,16	221,88	148,75
3	228,27	220,36	117,19
4	226,80	217,85	90,90
5	228,98	218,38	82,80
6	226,32	214,29	61,18
7	228,88	214,57	48,05
8	227,62	215,00	63,54
9	227,80	211,39	22,93
10	228,44	212,63	28,04
15	226,04	207,89	1,49
20	223,64	204,93	1,01

Realizando uma análise dos pontos obtidos, que estão representados na Figura 10, estudou-se uma faixa linear, onde a partir dos pontos que tiveram uma melhor linearidade construiu-se curvas de calibração com os valores do sensor e do programa ImageJ para cada componente.



A Figura 11 apresenta as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo sensor de cor RGB utilizando os dados mostrados na Tabela 1.





Em sequência, são apresentadas as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo software ImageJ na Figura 12 utilizando os dados mostrados na Tabela 2.





E, a partir das curvas apresentadas, pode-se analisar a equação da reta de cada componente, e através de um estudo de repetibilidade, apresentado no apêndice A, obteve-se o RSD (%) desses componentes. Os resultados dessa análise se encontram na Tabela 3.

Características	Componente	Sensor	Câmera
	R	2-9	-
Faixa Linear (mmol L^{-1})	G	-	2-15
	В	4-9	1-9
	R	y = 1,11x + 102,19 $R^2 = 0,9905$	-
Equação da reta	G	-	y = -1,0739x + 223,72 $R^2 = 0,9976$
	В	$y = -x + 52$ $R^2 = 1$	$y = -14,831x + 154,12$ $R^2 = 0,9879$
	R	0,49	2,48
RSD (%)	G	0,00	2,97
	В	1,70	17,82

Tabela 3 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução amarelo tartrazina

Analisando a equação da reta dos componentes, observa-se que o único componente que é linear tanto no sensor quanto na câmera é o componente B. Para uma melhor análise a respeito dessa questão, foi utilizado como comparativo o espectro do sensor de cor RGB TCS34725, representado na Figura 13.

Figura 13 - Espectro de resposta relativo do sensor de cor RGB TCS34725



Realizou-se a medida do espectro da solução de amarelo tartrazina, e posteriormente plotou-se um gráfico comparativo com a resposta do sensor, apresentado na Figura 14.



Figura 14 - Espectro de absorbância da solução de amarelo tartrazina combinado com o espectro de resposta relativa do sensor de cor RGB TCS34725

Pode-se observar que a máxima absorbância da solução, está em torno de 450 nm, nota-se que essa máxima absorbância (450 nm) é compatível com a máxima absorbância do componente B, justificando assim a sua linearidade.

Outra questão importante a ser analisada é o desvio padrão relativo (RSD), que resultou em valores bem menores no sensor em comparação a câmera, mostrando que o sensor demonstrou mais precisão nestes testes.

4.1.2. Índigo

A Tabela 4 mostra os valores obtidos pelo sensor de cor RGB através do dispositivo elaborado com a placa Arduino e as medidas foram realizadas diretamente nos µPADs de papel, após a adição da solução contendo o corante em concentrações crescentes (1 - 20 mmol L⁻¹).

Conc (mmol L^{-1})	R	G	В
1	67	91	92
2	63	91	97
3	64	91	96
4	62	90	99
5	63	90	98
6	61	89	100
7	64	89	97
8	62	89	100
9	63	89	99
10	63	88	100
15	64	88	99
20	64	87	100

Tabela 4 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução índigo

Por sua vez, a Tabela 5 apresenta os valores de R, G e B obtidos através do software ImageJ.

Tabela 5 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução índigo

Cone (mmol L^{-1})	R	G	В
1	180,92	202,32	214,80
2	165,15	193,30	212,90
3	155,90	188,81	211,05
4	146,20	182,99	212,29
5	145,96	182,14	209,46
6	138,67	177,64	210,11
7	133,24	173,32	207,40
8	133,07	171,96	206,97
9	130,34	170,85	204,20
10	120,57	161,28	199,92
15	109,44	149,41	194,13
20	100,54	136,42	187,03

A partir dos pontos obtidos que estão representados na Figura 15, realizou-se um estudo da faixa linear, onde a partir dos pontos que tiveram uma melhor linearidade construiu-se curvas de calibração para cada componente.



Na Figura 16, são apresentadas as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo sensor de cor RGB utilizando os dados mostrados na Tabela 4.

Figura 16 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução índigo utilizando o sensor de cor



Para o software, mostra-se na Figura 17, as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo ImageJ utilizando os dados mostrados na Tabela 5.



E, a partir das curvas apresentadas, pode-se analisar a equação da reta. Os resultados dessa análise e o RSD (%) desses componentes se encontram na Tabela 6.

Características	Componente	Sensor	Câmera
	R	-	3-10
Faixa Linear (mmol L^{-1})	G	1-20	1-20
	В	-	1-20
	R	-	$y = -4,4132x + 166,68$ $R^2 = 0,9502$
Equação da reta	G	$y = -0,2069x + 91,069$ $R^2 = 0,9931$	y = -3,3001x + 198,95 $R^2 = 0,9737$
	В	-	y = -1,4 711x + 217,09 $R^2 = 0,9807$
	R	1,19	7,39
RSD (%)	G	0,56	2,35
	В	0,63	0,88

Tabela 6 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução índigo

Analisando a equação da reta dos componentes, observa-se que o único componente que é linear tanto no sensor quanto na câmera, é o componente G, para uma melhor analise a respeito dessa questão, realizou-se a medida do espectro da solução índigo, e posteriormente plotou-se um gráfico comparativo com a resposta do sensor, apresentado na Figura 18.



Figura 18 - Espectro de absorbância da solução índigo combinado com o espectro de resposta relativa do sensor de cor RGB TCS34725

Pode-se observar que a máxima absorbância da solução está em torno de 620 nm, essa máxima absorbância não é compatível com a máxima absorbância do componente G, que acontece em, aproximadamente 540 nm, e sim do componente R. Mas ainda assim, uma grande quantidade do espectro de absorção do índigo sobrepõe ao canal G, por isso existe esta resposta. Como ocorre a sobreposição dos outros componentes, isso pode fazer com que a linearidade não seja precisa.

Analisando o RSD nota-se que os valores são menores no sensor em comparação a câmera, mostrando que o sensor demonstrou maior precisão em relação aos valores de RGB obtidos pela câmera.

4.1.3. Verde de Bromocresol

A Tabela 7 mostra os valores obtidos pelo sensor de cor RGB através do dispositivo elaborado com a placa Arduino e as medidas foram realizadas diretamente nos µPADs de papel, após a adição da solução contendo o corante em concentrações crescentes (1 - 20 mmol L⁻¹).

Cone (mmol L^{-1})	R	G	В
1	85	94	69
2	82	95	72
3	80	95	74
4	79	95	75
5	79	95	75
6	81	95	73
7	75	94	80
8	74	95	80
9	73	94	82
10	72	95	83
15	72	94	83
20	74	93	82

Tabela 7 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução verde de bromocresol

Por sua vez, a Tabela 8 apresenta os valores de R, G e B obtidos através do software ImageJ.

Cone (mmol L^{-1})	R	G	В
1	182,03	198,89	189,36
2	151,64	183,39	176,25
3	146,30	180,25	171,41
4	142,77	176,63	161,97
5	138,39	174,26	157,62
6	131,98	164,51	124,22
7	132,05	164,58	124,32
8	123,92	161,13	126,34
9	121,12	158,23	121,67
10	119,48	155,72	119,99
15	135,11	131,95	125,08
20	114,06	142,05	83,96

Tabela 8 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução verde de bromocresol

A partir dos pontos obtidos que estão representados na Figura 19, realizou-se um estudo da faixa linear, onde a partir dos pontos que tiveram uma melhor linearidade construiu-se curvas de calibração para cada componente.



Na Figura 20, são apresentadas as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo sensor de cor RGB utilizando os dados mostrados na Tabela 7.





Para o software, mostra-se na Figura 21, as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo ImageJ utilizando os dados mostrados na Tabela 8.



E, a partir das curvas apresentadas, pode-se analisar a equação da reta. Os resultados dessa análise e o RSD (%) desses componentes se encontram na Tabela 9.

Tabela 9 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução verde de bromocresol

Características	Componente	Sensor	Câmera
	R	2-10	2-10
Faixa Linear (mmol L^{-1})	G	-	2-10
	В	2-10	1-10
	R	y = -1,2306x + 83,988 $R^2 = 0,9935$	y = -4,137x + 159,28 $R^2 = 0,9883$
Equação da reta	G	-	$y = -3,6237x + 191,02$ $R^{2} = 0,9938$
	В	y = 1,3592x + 69,65 $R^2 = 0,9885$	y = -7,9432x + 194,78 $R^2 = 0,9864$
	R	1,03	8,42
RSD (%)	G	0,91	5,94
	В	2,16	13,79

Realizando uma análise das equações da reta dos componentes, tem-se que dois componentes são lineares tanto no sensor quanto na câmera, sendo o R e o B. Para uma melhor confirmação dessa característica, realizou-se a medida do espectro da solução verde de bromocresol, e posteriormente plotou-se um gráfico comparativo com a resposta do sensor, apresentado na Figura 22.



Figura 22 - Espectro de absorbância da solução verde de bromocresol combinado com o espectro de resposta relativa do sensor de cor RGB TCS34725

De acordo com o espectro, existem duas máximas absorbâncias na solução, onde uma está em torno de 450 nm e outra em torno de 620 nm, essas máximas absorbâncias são compatíveis com a máxima absorbância do componente B (~450 nm) e do componente R (~620 nm), se tornando verídica essa linearidade.

Analisando o RSD, nota-se mais uma vez que o sensor tem valores menores em relação aos da câmera, mostrando que os resultados do sensor são menos sensíveis

4.1.4. Vermelho ponceau

A Tabela 10 apresenta os valores obtidos pelo sensor de cor RGB através do dispositivo elaborado com a placa Arduino e as medidas foram realizadas diretamente nos µPADs de papel, após a adição da solução contendo o corante em concentrações crescentes (1 - 20 mmol L⁻¹).

Conc $(\text{mmol } L^{-1})$	R	G	В
1	67	91	92
2	63	91	97
3	64	91	96
4	62	90	99
5	63	90	98
6	61	89	100
7	64	89	97
8	62	89	100
9	63	89	99
10	63	88	100
15	64	88	99
20	64	87	100

Tabela 10 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução vermelho ponceau

Por sua vez, a Tabela 11 apresenta os valores de R, G e B obtidos através do software ImageJ.

Tabela 11 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução vermelho ponceau

Cone (mmol L^{-1})	R	G	В
1	227,85	203,90	206,75
2	230,68	186,49	191,27
3	231,00	185,82	190,40
4	231,04	172,50	176,19
5	233,82	155,58	154,42
6	233,48	152,46	152,88
7	232,86	151,64	149,79
8	231,04	157,80	160,30
9	231,68	136,54	133,02
10	232,58	141,30	136,46
15	230,25	138,94	137,13
20	230,55	118,81	108,71

A partir dos pontos obtidos que estão representados na Figura 23, realizou-se um estudo da faixa linear, onde a partir dos pontos que tiveram uma melhor linearidade construiu-se curvas de calibração para cada componente.



Figura 23 - Regiões dos µPADs com a solução vermelho ponceau

Na Figura 24, são apresentadas as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo sensor de cor RGB utilizando os dados mostrados na Tabela 10.



Para o software, apresenta-se na Figura 25, as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo ImageJ utilizando os dados apresentados na Tabela 11.





E, a partir das curvas apresentadas, pode-se analisar a equação da reta. Os resultados dessa análise e o RSD (%) desses componentes se encontram na Tabela 12.

Características	Componente	Sensor	Câmera
	R	2-8	2000 2007
Faixa Linear (mmol L^{-1})	G	2-8	2-9
	В	2-8	2-9
	R	y = 5,1786x + 103,61 $R^2 = 0,9809$	-
Equação da reta	G	y = -2,4286x + 74,31 $R^2 = 0,9899$	y = -7,635x + 203,69 $R^2 = 0,9698$
	В	y = -1,8534x + 69,009 $R^2 = 0,9962$	y = -8,9527x + 211,85 $R^2 = 0,9764$
	R	1,82	2,49
RSD (%)	G	2,03	3,64
	В	2,10	3,88

Tabela 12 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução vermelho ponceau

Realizando a análise das equações da reta de cada componente, tem-se que dois componentes são lineares tanto no sensor quanto na câmera, sendo o G e o B. Para uma melhor confirmação dessa característica, realizou-se a medida do espectro da solução vermelho *ponceau*, e posteriormente plotou-se um gráfico comparativo com a resposta do sensor, apresentado na Figura 26.





Observando o espectro, é possível ver uma banda de máxima absorbância na solução em torno de 520 nm, comparando com a resposta relativa do sensor, a máxima absorção da solução se encontra em uma sobreposição das bandas dos

componentes B e G. Por mais que esse resultado seja compatível com a análise da linearidade, o espectro se encontra entre as duas bandas de absorção, o que faz com que a exatidão da linearidade seja comprometida.

Analisando o desvio padrão relativo é possível observar que os valores tanto no sensor quanto na câmera são próximos, mas ainda sim os valores do sensor são menores, mostrando que seus resultados são mais precisos.

4.1.5. Fenolftaleína

A Tabela 13 mostra os valores obtidos pelo sensor de cor RGB através do dispositivo elaborado com a placa Arduino e as medidas foram realizadas diretamente nos µPADs de papel, após a adição da solução contendo o corante em concentrações crescentes (1 - 20 mmol L⁻¹).

Conc (mmol L^{-1})	R	G	В
1	87	84	78
2	88	83	79
3	91	81	80
4	92	79	81
5	92	78	81
6	92	78	82
7	93	77	82
8	94	75	83
9	95	75	83
10	94	75	83
15	96	72	84
20	103	65	87

Tabela 13 - Valores de RGB obtido	s pelo sensor da solução fenol	ftaleína
-----------------------------------	--------------------------------	----------

Por sua vez, a Tabela 14 apresenta os valores de R, G e B obtidos através do software ImageJ.

Conc (mmol L^{-1})	R	G	В
1	224,68	218,86	218,14
2	224,11	214,43	216,16
3	225,22	213,89	218,34
4	223,68	208,40	216,68
5	223,13	205,76	216,39
6	224,12	206,69	217,42
7	226,30	205,26	218,77
8	223,10	197,03	216,49
9	225,39	199,16	218,93
10	225,42	199,20	219,01
15	224,13	193,12	216,89
20	221,48	162,20	213,77

Tabela 14 - Valores de RGB obtidos pelo ImageJ da solução fenolftaleína

A partir dos pontos obtidos que estão representados na Figura 27, realizou-se um estudo da faixa linear, onde a partir dos pontos que tiveram uma melhor linearidade construiu-se curvas de calibração para cada componente.



Na Figura 28, são apresentadas as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo sensor de cor RGB utilizando os dados mostrados na Tabela 13.

Figura 28 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução fenolftaleína utilizando o sensor de cor RGB TCS34725



Para o software, mostra-se na Figura 29, as curvas de calibração para os três componentes medidos pelo ImageJ utilizando os dados mostrados na Tabela 14.



E, a partir das curvas apresentadas, pode-se analisar a equação da reta. Os resultados dessa análise e o RSD (%) desses componentes se encontram na Tabela 15.

Tabela 15 - Resultados obtidos após análise do sensor e da câmera da solução fenolftaleína

Características	Componente	Sensor	Câmera
	R	3-9	-
Faixa Linear (mmol L^{-1})	G	1-20	1-10
	В	1-8	-
	R	y = 0,6071x + 89,19 $R^2 = 0,9527$	-
Equação da reta	G	y = -0,9075x + 83,639 $R^2 = 0,959$	y = -2,1882x + 220,09 $R^2 = 0,9846$
	В	y = 0,7033x + 77,569 $R^2 = 0,9847$	-
	R	0,69	0,52
RSD (%)	G	0,40	0,64
	В	0,00	0,56

Analisando a equação da reta dos componentes, observa-se que o único componente que é linear tanto no sensor quanto na câmera, é o componente G, para uma melhor análise em virtude da confirmação dessa linearidade, realizou-se a medida do espectro da solução fenolftaleína, e posteriormente plotou-se um gráfico comparativo com a resposta do sensor, apresentado na Figura 30.



Figura 30 - Espectro de absorbância da solução fenolftaleína combinado com o espectro de resposta relativa do sensor de cor RGB TCS34725

Pode-se observar que a máxima absorbância da solução, está em torno de 560 nm, nota-se que essa máxima absorbância é compatível com a máxima absorbância do componente G (~550 nm). Por mais que esse resultado seja compatível com a análise da linearidade, o espectro se encontra entre as três bandas de absorção, o que faz com que a exatidão da linearidade seja comprometida.

Analisando o desvio padrão relativo, é possível observar que os valores tanto no sensor quanto na câmera são muito próximos, mas ainda sim os valores do sensor são menores, mostrando que seus resultados são mais precisos.

4.2. Solução de SPADNS-Zr e de Fluoreto

Foi preparada uma solução estoque de 200 mL de SPANDS-Zr de concentração 3,4 mmol L⁻¹. Para essa solução são necessárias duas etapas: na primeira foi adicionado 384 mg de SPADNS (Vetec, Brasil) em 100 mL de água destilada, misturou-se até a dissolução completa e reservou.

Na segunda etapa foi preparada uma solução de zircônio, onde adicionou-se 53,2 mg de cloreto de zircônio octa-hidratado (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) em 25 mL de água destilada juntamente com 19,35 mL de HCI (Scharlau, Barcelona, Espanha,

37%), misturou-se até a dissolução completa e reservou-se. Posteriormente as duas soluções foram misturadas para formar o complexo de SPADNS-Zr.

Também foi preparada uma solução estoque de 500 mL de fluoreto de concentração de 10 mg L⁻¹. Foram realizados os cálculos e, para preparar essa solução, foram adicionados 11 mg de Fluoreto de Sódio. (Vetec, Brasil) em 500 mL de água destilada e misturou-se até a dissolução completa e reservou.

Para a aplicação nos µPADs, foram preparadas 10 soluções de 2 mL cada de concentrações diferentes de SPADNS-Zr + fluoreto. As quantidades exatas de cada componente da solução estão descritas na Tabela 16.

Tabela 16 -	 Valores para a prepa 	iração das soluções a	serem aplicadas	nos µPADs
Amostras	Solução	Solução	Água destilada	Total (ml)
Amostras	de SPADNS (mL)	de Fluoreto (mL)	(mL)	
1	1,0	0,1	0,9	2,0
2	1,0	0,2	0,8	2,0
3	1,0	0,3	0,7	2,0
4	1,0	0,4	0,6	2,0
5	1,0	0,5	0,5	2,0
6	1,0	0,6	0,4	2,0
7	1,0	0,7	0,3	2,0
8	1,0	0,8	0,2	2,0
9	1,0	0,9	0,1	2,0
10	1,0	1,0	0,0	2,0

Foram realizadas as aplicações de 35 µL de solução em cada µPAD, representados pela Figura 31 e, após 20 minutos (tempo para que os µPADs estivessem completamente secos), foram realizadas as medidas dos componentes RGB.

Figura 31 - Regiões dos µPADs com a solução SPADNS-Zr + Fluoreto



Os valores obtidos através das medidas dos componentes RGB dos µPADs estão descritos na Tabela 17.

Amostras	R	G	В
1	229	129	139
2	236	133	142
3	255	133	142
4	249	141	150
5	242	139	147
6	243	133	142
7	244	132	141
8	239	135	143
9	241	137	145
10	255	141	149

Tabela 17 - Valores de RGB obtidos pelo sensor da solução SPADNS-Zr + Fluoreto

Com os valores obtidos, foram construídas curvas de calibração para os componentes R, G e B, demonstradas na Figura 32. A partir dessas curvas e das suas respectivas equações da reta, realizou-se um estudo sobre a eficiência desse teste. Figura 32 - Curvas de calibração dos componentes RGB da solução SPADNS-Zr + Fluoreto utilizando



As curvas obtidas não apresentaram correlação linear satisfatórias, como apresenta a Tabela 18. Desta forma, é necessário repetir este teste avaliando outras faixas lineares, visando a aplicação do procedimento em amostras de água.

Caracteristicas	Componente	Sensor	
Equação da reta	R	y = 1,0606x + 237,47 $R^2 = 0,1573$	
	G	y = 0,6848x + 131,53 R ² = 0,2613	
	В	y = 0,5091x + 141,2 $R^2 = 0,1812$	

Tabela 18 - Resultados obtidos após análise do sensor da solução SPADNS-Zr + Fluoreto

Preparando-se para estudos futuros, foram realizados testes isolados utilizando a solução de SPADNS-Zr de concentração 3,4 mmol L⁻¹ e a solução de fluoreto de concentração 10 mg L⁻¹. Para estes testes, adicionou-se aos µPADs a solução de SPADNS-Zr concentrado e, depois de estar completamente seco, adicionou-se a solução de Fluoreto concentrada e esperou-se secar por completo. E então os valores RGB foram medidos.

O procedimento inverso também foi realizado, com a solução de Fluoreto em um primeiro momento seguida da solução de SPADNS-Zr. E, por fim, realizou-se também a leitura de µPADs contendo somente a solução SPADNS-Zr diluída e concentrada. Todos os valores foram lidos em um primeiro momento após a secagem completa da solução e após 15 minutos desta primeira leitura. Estes valores estão descritos na Tabela 19.

SPADNS (3,4 mmol L^{-1}) + Fluoreto (10 mg L^{-1})						
Amostros		1ª Leitura		2ª Leitura	a (Após 15	minutos)
Amostias	R	G	В	R	G	В
S + F	255	129	137	255	129	137
F + S	205	100	108	184	100	109
SPADNS puro	227	101	108	201	107	117
SPADNS diluído	245	134	143	245	134	143

 Tabela 19 - Valores de RGB obtidos pelo sensor para diferentes combinações de solução SPADNS

 Zr + Fluoreto e para SPADNS puro e diluído

Observou-se que na amostra onde a sequência SPADNS-Zr/Fluoreto (S + F) e na amostra contendo somente a solução de SPADNS-Zr diluído, os valores de RGB permaneceram iguais. Por sua vez, as outras amostras, Fluoreto/SPADNS-Zr (F + S) e SPADNS puro, houve alterações nos valores de RGB.

Estes testes mostram que mudanças realizadas na abordagem das amostras podem levar a resultados diferentes. Desta forma, o tratamento prévio dos µPADs, das soluções e o tempo de intervalo para as medições devem ser objetos de estudos em trabalhos futuros.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES

Com base nos dados coletados, pode-se concluir que as duas estratégias utilizadas, a primeira envolvendo o uso de um sensor de cor RGB e a segunda, um celular, apresentaram desempenhos analíticos similares, mas o sensor possui valores mais precisos, uma vez que o desvio padrão relativo é significativamente menor em comparação com a câmera.

Além disso, o sensor possui várias vantagens em relação à câmera, como o custo, que gira em torno de 8 dólares, e toda a aparelhagem necessária para realizar as medições, que custa cerca de 100 reais. Outra vantagem importante é que, com o sensor, a conversão da imagem para o formato RGB não é necessária, pois o sensor pode ser conectado a um display LCD, realizando a conversão de forma automática, sem a necessidade de um computador. Dessa forma, o sensor apresenta uma maior portabilidade em relação à câmera.

Os resultados obtidos na análise da solução do SPADNS-Zr + fluoreto não apresentaram uma correlação linear satisfatória, sendo necessário repetir o procedimento com uma faixa de linearidade diferente para aplicar o procedimento em amostras de água. A correlação linear indica uma relação direta entre duas variáveis, portanto, se os resultados não apresentarem uma correlação linear satisfatória, isso significa que a relação entre as variáveis não é direta. Para utilizar o procedimento em amostras de água, será necessário ajustar a faixa de linearidade de forma a se adequar melhor às características das amostras de água que serão testadas futuramente.

5.1. Trabalhos futuros

Embora o prazo do presente trabalho esteja finalizando, pretende-se ainda aplicar o uso do dispositivo avaliado em amostras de águas visando a determinação de fluoreto utilizando o método de SPADNS-Zr.

CAPÍTULO VI

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAFRUIT. **RGB Color Sensor with IR filter and White LED - TCS34725**. Disponível em: https://www.adafruit.com/product/1334. Acesso em: 17 jan. 2023.

AMS. **Colour Light-to-Digital Converter with IR Filter**, 2016. Disponível em: https://ams.com/TCS34725#tab/description>

ARDUINO. **Arduino Uno Rev3 | Arduino Official Store**. Disponível em: https://store.arduino.cc/products/arduino-uno-rev3. Acesso em: 9 jan. 2023.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). **Manual de fluoretação da água para consumo humano** / Fundação Nacional de Saúde. – Brasília: Funasa, 2012. 72 p.

CADEADO, A. et al. Internet of Things as a Tool for Sustainable Analytical Chemistry: A Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2022a.

CADEADO, A. N. S. et al. A palm-sized wireless device for colorimetric nitrite determination in water. **Microchemical Journal**, v. 183, p. 108138, dez. 2022b.

CAPITÁN-VALLVEY, L. F. et al. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review. **Analytica Chimica Acta**, v. 899, p. 23–56, out. 2015.

CREVILLÉN, A. G. et al. Real sample analysis on microfluidic devices. **Talanta**, v. 74, n. 3, p. 342–357, dez. 2007.

FERNANDES, G. M. et al. Novel approaches for colorimetric measurements in analytical chemistry – A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1135, p. 187–203, out. 2020.

GONZALES, R.; WOODS, R. Processamento Digitais de Imagens, 2010.

GRAZIOLI, C. et al. 3D printed portable instruments based on affordable electronics, smartphones and open-source microcontrollers suitable for monitoring food quality. **Microchemical Journal**, v. 159, p. 105584, dez. 2020.

GRINIAS, J. P. et al. An inexpensive, open-source USB Arduino data acquisition device for chemical instrumentation. **Journal of Chemical Education**, v. 93, n. 7, p. 1316–1319, 2016.

GÓMEZ-HENS, A.; FERNÁNDEZ-ROMERO, J. M. Microfluidic Systems in Analytical Chemistry. **Encyclopedia Of Analytical Chemistry**, Córdoba, p. 1-20, 25 mar. 2017. John Wiley & Sons, Ltd. http://dx.doi.org/10.1002/9780470027318.a9591.

LIMA, A. D. J. D. Emprego De Multicomutação Na Automatização Do Método Spadns Para Determinação De Fluoreto Em Águas. São Luís: Universidade Federal do Maranhão, 2014.

MACHADO, C. C. S.; PETRUCI, J. F. DA S.; SILVA, S. G. An IoT optical sensor for photometric determination of oxalate in infusions. **Microchemical Journal**, v. 168, p. 106466, set. 2021.

MARTINEZ, A. W. et al. Simple Telemedicine for Developing Regions: Camera Phones and Paper-Based Microfluidic Devices for Real-Time, Off-Site Diagnosis. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 10, p. 3699–3707, 1 maio 2008.

NOVIANA, E. et al. Microfluidic Paper-Based Analytical Devices: From Design to Applications. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 19, p. 11835–11885, 13 out. 2021.

OLIVEIRA, G. Sensor de cores RGB para determinações colorimétricas: avaliação e análise quantitativa de soluções coloridas. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 21 fev. 2022.

OLIVEIRA, G. DE C. et al. RGB color sensor for colorimetric determinations: Evaluation and quantitative analysis of colored liquid samples. **Talanta**, v. 241, p. 123244, maio 2022.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Principles of Instrumental Analysis**. 7. ed. New York: Cengage Learning, 2018.

SODA, Y.; BAKKER, E. Quantification of Colorimetric Data for Paper-Based Analytical Devices. **ACS Sensors**, v. 4, n. 12, p. 3093–3101, 2019.

WHITESIDES, G. M. The origins and the future of microfluidics. **Nature**, v. 442, n. 7101, p. 368–373, 26 jul. 2006.

APÊNDICE

APÊNDICE A – VALIDAÇÃO DO MÉTODO UTILIZANDO A REPETIBILIDADE

A validação de método é um processo que comprova a adequação de um método analítico para a sua finalidade específica. A repetibilidade, que é uma das categorias de precisão, é um tipo de validação de método que avalia a variabilidade dos resultados quando uma pessoa usa o mesmo procedimento para analisar uma amostra várias vezes pelo mesmo método. Isso significa que a repetibilidade mede a dispersão dos resultados obtidos por um mesmo analista ao realizar múltiplas análises do mesmo material utilizando o mesmo método analítico (HARRIS; LUCY, 2017).

Foi realizado uma análise de repetibilidade sobre os testes usando o sensor RGB TCS34725 e o smartphone Samsung Galaxy S9 Plus, com o intuito de validação dos métodos. Para análise das imagens obtidas pela câmera foi realizado um tratamento da imagem digital pelo software ImageJ, para obtenção dos valores de RGB. O cálculo utilizado para obter o desvio padrão relativo (RSD%) está descrito na equação A1 e os valores obtidos estão descritos nas tabelas a seguir.

$$RSD \% = \frac{S}{M\acute{e}dia} x100 \quad (Equação A1)$$

Onde,

RSD % = Desvio Padrão Relativo S = Desvio Padrão Amostral Média = Média dos valores obtidos

• Amarelo Tartrazina

Tabela A1 – Dados da solução Amarelo Tartrazina de concentração 7 mmol L-1

Repetições	R	G	В
1	108	93	47
2	108	93	48
3	108	93	47
4	107	93	48
5	107	93	49
6	108	93	47
7	107	93	49
8	107	93	48
9	108	93	48
10	107	93	49
Média	107,5	93	48
Desvio Padrão	0,527046	0	0,816497
%	0,490276	0	1,701035

obtidos pelo sensor RGB TCS34725

Tabela A2 – Dados	da solução	Amarelo	Tartrazina de	concentração 7	7 mmol I ⁻¹
	uu soluyuo	/ (1101010			

Repetições	R	G	В
1	227,02	213,95	42,13
2	226,80	214,14	48,00
3	223,06	210,94	39,16
4	224,98	212,48	43,41
5	207,49	192,48	24,06
6	222,85	210,55	35,69
7	223,15	210,31	33,92
8	223,45	210,95	38,35
9	223,34	211,03	40,30
10	221,38	208,70	31,87
Média	222,352	209,553	37,689
Desvio Padrão	5,516369	6,225221	6,716471
%	2,480917	2,970714	17,82077

obtidos pelo smartphone usando o ImageJ

• Índigo

Tabela A3 – Dados da solução Índigo de concentração 9 mmol L-1 obtidos pelo

Repetições	R	G	В
1	60	91	100
2	59	91	101
3	60	92	100
4	61	91	99
5	60	92	100
6	59	91	100
7	59	91	101
8	59	92	101
9	59	91	100
10	59	92	100
Média	59,5	91,4	100,2
Desvio Padrão	0,707107	0,516398	0,632456
%	1,188415	0,564987	0,631193

sensor RGB TCS34725

Tabela A4 – Dados da solução Índigo de concentração 9 mmol L⁻¹ obtidos pelo

Repetições	R	G	В
1	136,77	184,04	210,24
2	120,88	177,8	208,15
3	127,49	179,43	208,17
4	117,37	175,59	206,8
5	112,03	171,87	204,5
6	124,3	179,03	207,81
7	111,13	172,42	205,22
8	123,11	176,7	206,13
9	109,4	171,2	204,74
10	111,21	172,59	205,88
Média	119,369	176,067	206,764
Desvio Padrão	8,825636	4,136316	1,821643
%	7,393575	2,349285	0,881025

smartphone usando o ImageJ

• Verde de Bromocresol

Tabela A5 – Dados da solução Verde de Bromocresol de concentração 7 mmol L⁻¹

Repetições	R	G	В
1	88	91	69
2	90	93	65
3	90	93	65
4	88	91	69
5	88	92	68
6	89	93	66
7	88	93	68
8	90	92	67
9	89	93	67
10	88	93	67
Média	88,8	92,4	67,1
Desvio Padrão	0,918937	0,843274	1,449138
%	1,034838	0,912634	2,159669

obtidos pelo sensor RGB TCS34725

Tabela A6 – Dados do corante Verde de Bromocresol de concentração 7 mmol L⁻¹

Repetições	R	G	В
1	147,95	170,15	114,46
2	172,03	180,9	106,66
3	171,83	176,11	85,51
4	171,37	179,07	95,8
5	160,67	176,21	112,25
6	161,62	176,9	113,3
7	137,5	150,1	77,03
8	143,06	157,44	87,47
9	148,16	170,29	114,58
10	171,31	179,04	95,8
Média	158,55	171,621	100,286
Desvio Padrão	13,3438	10,18657	13,83241
%	8,416146	5,935505	13,79296

obtidos pelo smartphone usando o ImageJ

• Vermelho Ponceau

Tabela A7 – Dados do corante Vermelho Ponceau de concentração 6 mmol L⁻¹

Repetições	R	G	В
hepetişees			
1	129	63	61
2	133	61	59
3	128	63	61
4	129	63	61
5	128	63	61
6	130	62	60
7	134	60	58
8	132	61	59
9	134	60	58
10	132	61	59
Média	130,9	61,7	59,7
Desvio Padrão	2,378141	1,251666	1,251666
%	1,816762	2,028631	2,096592

obtidos pelo sensor RGB TCS34725

Tabela A8	– Dados do	corante	Vermelho	Ponceau de	concentrac	ão 6	mmol I ⁻¹
rabcia Ao	Dau03 u0	coranic	VCIIICIIIO	i oncouu uc	៸៰៰៸៲៰៰៸៲៲៲៲ឩ៶		

Repetições	R	G	В
1	231,85	156,62	157,31
2	242,59	156,89	154,33
3	250,32	169,33	168,51
4	241,94	165,53	163,51
5	235,10	158,65	158,36
6	235,55	155,34	155,68
7	236,57	152,86	149,62
8	231,61	152,63	151,24
9	238,53	157,10	154,07
10	232,29	151,21	149,62
Média	237,6354	157,616	156,225
Desvio Padrão	5,916043	5,738761	6,058623
%	2,489546	3,640976	3,878139

obtidos pelo smartphone usando o ImageJ

Fenolftaleína

Tabela A9 – Dados da solução Fenolftaleína de concentração 6 mmol L-1 obtidos

Repetições	R	G	В
1	91	79	81
2	91	79	81
3	92	79	81
4	92	78	81
5	91	79	81
6	90	79	81
7	91	79	81
8	92	79	81
9	91	79	81
10	91	79	81
Média	91,2	78,9	81
Desvio Padrão	0,632456	0,316228	0
%	0,693482	0,400796	0

pelo sensor RGB TCS34725

	~		~	o 11-1	1.0.1
Tabela A10 – Dados	da soluçao	Fenolittaleina	de concentração	6 mmol L ⁻ '	obtidos

Repetições	R	G	В
1	225,82	208,91	218,94
2	223,13	206,00	216,30
3	225,36	208,74	218,64
4	225,00	208,24	218,12
5	226,83	209,97	220,12
6	224,25	209,25	217,41
7	223,56	206,41	216,80
8	224,51	208,20	217,80
9	223,60	207,67	216,58
10	223,72	206,43	216,87
Média	224,578	207,982	217,758
Desvio Padrão	1,171019	1,333973	1,212333
%	0,521431	0,641389	0,556734

pelo smartphone usando o ImageJ