

# Dispositivos em Papel e Análise por Processamento de Imagens para Determinação de Íons Ferro em Matrizes Aquosas

*Paper Devices and Image Processing for the Determination of Iron Ions in Aqueous Matrices*

Eduarda G. Santana & Vanessa N. Alves

Foi construído um dispositivo em papel para quantificação de íons Fe(III) em matrizes aquosas através do processamento de imagens digitais no Sistema RGB, onde a reação para a determinação do metal foi baseada na reação entre o íon Fe(III) e o íon tiocianato, resultando em um complexo de cor vermelho. O meio reacional foi contido em uma barreira hidrofóbica construída por carimbagem com parafina. Foram avaliados a interferência de iluminação na captura das imagens, diferentes marcas de smartphone para captura e métodos de construção do dispositivo. A exatidão do método foi avaliada através de testes de recuperação. Em condições ideais, a menor concentração detectada pelo método desenvolvido é de 2 mg L<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** *íons Fe(III); processamento de imagens; dispositivos em papel.*

A paper device was built for quantifying Fe(III) ions in aqueous matrices through digital image processing in the RGB System, where the reaction for determining the metal was based on the reaction between the Fe(III) ion and the thiocyanate ion, resulting in a red color complex. The reaction medium was contained in a hydrophobic barrier constructed by stamping with paraffin. Lighting interference in image capture, different brands of smartphone for capture and device construction methods were evaluated. The accuracy of the method was evaluated through recovery tests. Under ideal conditions, the lowest concentration detected by the developed method is 2 mg L<sup>-1</sup>.

**Keywords:** *Fe(III) ions; image processing; paper device.*

## Introdução

Ao longo da história, o uso de metais se mostra imprescindível no desenvolvimento de diversas atividades e de grande importância econômica, tal como atividades mineradoras e no setor industrial como um todo. Metais podem ser encontrados no solo, água, ar, e no nosso organismo, estando presentes na forma de macroelementos ou até mesmo microelementos, ou seja, como elementos traço.<sup>1</sup>

O crescimento populacional influencia diretamente no crescimento industrial, impulsionando setores como o agropecuário, metalúrgico e a mineração, que ocasiona no aumento da produção e consequentemente, a geração de resíduos. Muitos destes resíduos demonstram a presença de espécies metálicas em embalagens, cosméticos, produtos farmacêuticos e alimentícios.<sup>2</sup>

Para a maioria dos íons metálicos, quando presentes em concentrações baixas, não demonstram periculosidade, mas, devido a características bioacumulativas e seus malefícios para o ecossistema como um todo, é fundamental o monitoramento de suas concentrações no meio ambiente.<sup>1,2</sup> Para o monitoramento preciso de concentrações de íons metálicos presentes em determinadas amostras são comumente empregadas técnicas analíticas, cuja escolha depende das características da amostra e do analito.

Dentre as técnicas analíticas mais utilizadas para a quantificação de íons metálicos, é possível citar as técnicas de espectroscopia atômica e espectroscopia molecular, cromatografia de íons, além das técnicas eletroanalíticas. Embora clássicas e eficazes, a determinação de espécies metálicas por meio dessas metodologias se mostra laboriosa, devido a necessidade de etapas de preparação da amostra, alto custo e consumo de reagentes, mão de obra especializada, além do alto valor dos equipamentos de análise.<sup>3</sup>

Devido a sua acessibilidade ser prejudicada pelas características de análises, a procura por novas metodologias analíticas está em crescimento. Essas novas técnicas buscam por solucionar os empecilhos das técnicas clássicas, buscando o uso de menor volume

de amostra e reagentes, a portabilidade do sistema de análise possibilitando análises *in loco*, baixo custo e o fácil manuseio.<sup>4</sup>

Para quantificar elementos químicos, dispositivos alternativos demonstram variadas possibilidades de confecção e metodologias de análise, podendo ser construídos a partir de diversos materiais, dentre eles, é possível exemplificar o uso do papel, devido a suas propriedades químicas e físicas, fácil acesso e baixo custo.<sup>5</sup> As possibilidades de detectores que podem ser utilizados também são vastas, havendo grande emprego de sensores eletroquímicos, Arduino e o processamento de imagens digitais.

A detecção de analitos a partir do processamento de imagens digitais acontece através do tratamento de imagens obtidas a partir de dispositivos eletrônicos como smartphones, câmeras fotográficas e scanners. O sinal analítico é obtido através da intensidade de cor na imagem, onde é analisado a média de intensidade de cor em cada pixel que forma a imagem visualizada, em determinado sistema de cores de interesse.<sup>3</sup> Dentre os sistemas de cores utilizados para o tratamento dessas imagens, é possível destacar o sistema RGB, composto pelas cores Red, Green e Blue, que são responsáveis pelas cores observadas em telas de dispositivos eletrônicos.<sup>3</sup>

A intensidade de cada cor do sistema RGB é analisada através de um *Software*, sendo posteriormente convertida em absorvância através de tratamento matemático, por meio do logaritmo negativo do produto da divisão da intensidade média da amostra pela intensidade média do branco da amostra, como pode ser visualizado na Equação (1)<sup>6</sup>. A partir da absorvância, são aplicados os conceitos da Lei de *Lambert-Beer*, onde a quantidade de luz absorvida pelo analito será proporcional a sua concentração,<sup>7</sup> tornando possível a determinação da concentração de substâncias químicas a partir do sinal gerado pelo detector.

$$A = -\log \left( \frac{\text{Intensidade da Amostra}}{\text{Intensidade do Branco}} \right) \quad (1)$$

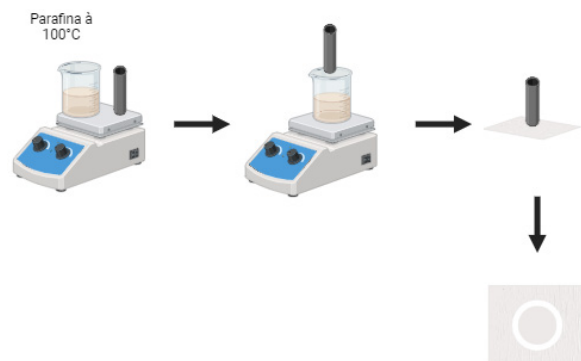
Devido à análise ser feita a partir da intensidade de cor obtida na imagem, é necessário que o analito apresente cor para a sua quantificação. Analitos que apresentam cor no seu estado fundamental são analisados em sistemas de sensores químicos diretos, isto é, a resposta analítica é gerada a partir da interação entre o estímulo aplicado e o analito. Para analitos que não apresentam cor no seu estado fundamental é necessário à sua quantificação em sistemas de sensores químicos indiretos, ou seja, a resposta analítica é gerada através da interação do analito e de um reagente específico.

A especificidade de coloração pode contribuir na determinação de elementos metálicos, pois seus íons tendem a formar variados complexos que apresentam cor dependendo do ligante, tal como o íon Fe(III). Este íon forma diversos complexos coloridos, dentre eles é possível citar o complexo com o ligante tiocianato,  $[\text{Fe}(\text{SCN})_n]^{3-n}$  ( $n = 1, 2, \dots, 6$ ) de cor vermelho intensa. A intensidade de cor desses complexos irá depender da concentração do ligante, influenciando as espécies predominantes no meio reacional.<sup>8</sup>

Dessa forma, este trabalho propõe o desenvolvimento de uma nova metodologia para a determinação de íons Fe(III) a partir da construção de dispositivo em papel e análise por meio do processamento de imagens digitais.

## Materiais e Métodos

A metodologia adotada para quantificação de íons Fe(III) é fundamentada na reação entre o íon Fe(III) e o íon tiocianato, este que no meio reacional está em concentração alta, predominando o complexo  $[\text{Fe}(\text{SCN})_6]^{3+}$ , de cor vermelho intensa.<sup>8</sup> Dispositivos em papel foram utilizados como porta amostra. O meio de reação foi contido através da construção de uma barreira hidrofóbica de parafina, pelo método de carimbagem, onde um aro metálico de 1,5 cm de diâmetro foi aquecido e mergulhado em parafina fundida e posteriormente pressionado sobre o dispositivo analítico em papel, como mostra a Figura 1.



**Figura 1.** Esquema da criação da barreira hidrofóbica de parafina utilizando método de carimbagem.

O complexo colorido foi obtido a partir da reação entre 4 gotas de soluções de Cloreto de Ferro(III) Hexahidratado nas concentrações de 2, 5, 10, 20, 30, 40 e 50  $\text{mg L}^{-1}$  para obtenção de curvas de calibração, que reagiram com 4 gotas de tiocianato de amônio 1  $\text{mol L}^{-1}$  em meio acidificado com 1 gota de ácido clorídrico 0,1  $\text{mol L}^{-1}$ , após o tempo da reação, imagens do complexo nas diferentes concentrações foram capturadas por um smartphone, a Figura 2 exhibe o dispositivo em papel e o produto reacional.



**Figura 2.** Dispositivo analítico na concentração de 40  $\text{mg L}^{-1}$  em papel de filtro quantitativo, contendo o complexo  $[\text{Fe}(\text{SCN})_6]^{3+}$ .

O processamento das imagens obtidas foi realizado utilizando-se o *software ImageJ*, onde foi avaliado a intensidade média das cores de cada canal do sistema RGB.

Foi selecionado o centro de maior homogeneidade da amostra, buscando diminuir a interferência de luz e sombra na análise. A intensidade média de cada cor do sistema RGB foi convertida em absorbância por meio da Equação (1)<sup>6</sup>.

Para otimização do método analítico foi avaliado o melhor canal RGB para o tratamento das imagens digitais, o melhor tipo de papel para a construção do dispositivo, onde foram testados papel de fibra de vidro, papel transparência para retroprojetor e papel de filtro quantitativo.

O ambiente para a captura das imagens também foi estudado. Foram capturadas imagens em ambiente de iluminação natural, onde o dispositivo foi posicionado na base de um suporte universal e o smartphone colocado sobre uma argola na distância de 3,0 cm do dispositivo. Para esse método de captura foram avaliadas imagens obtidas em diferentes horários de um mesmo dia.

Em ambiente de iluminação controlada, o dispositivo analítico foi colocado em uma caixa de MDF (15,2 cm x 10,0 cm x 10,5 cm) iluminada artificialmente com uma fita de LED (branco frio), onde o smartphone foi posicionado em uma abertura na tampa da caixa, como mostra a Figura 3. Diferentes celulares também foram utilizados, de modo a definir a influência do detector no método de quantificação de Fe(III), sendo avaliados os celulares A03s e A30, ambos da marca *Samsung*, e o celular G9 *Power*, da marca Motorola.



**Figura 3.** Caixa de MDF utilizada para as análises.

Parâmetros analíticos como exatidão e precisão foram estudados a partir de testes de recuperação utilizando adição de padrão em diferentes matrizes aquosas, sendo elas, água de represa, água de coco e água de torneira, nas concentrações de 2, 25 e 40 mg L<sup>-1</sup>. O limite de detecção nas condições otimizadas foi avaliado de maneira experimental, onde a menor concentração possível de ser analisada pelo método necessita apresentar coloração. A sensibilidade do método foi estudada como sendo igual ao coeficiente angular obtido na equação de reta para cada curva de calibração, todos os parâmetros foram analisados a partir de ensaios feitos em duplicatas para a construção das curvas.

O método desenvolvido foi comparado com a técnica clássica de espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis, para o qual foram retiradas alíquotas de 1,0 mL de soluções de Cloreto de Ferro(III) Hexahidratado nas concentrações de 2, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 mg L<sup>-1</sup>. Adicionadas as alíquotas em cubetas de quartzo, juntamente com 1,0 mL de tiocianato de amônio 1 mol L<sup>-1</sup> e 0,5 mL de ácido clorídrico 0,1 mol L<sup>-1</sup>, foi feita uma varredura para a seleção do melhor comprimento de onda para o complexo [Fe(SCN)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> de 400 a 550nm, obtendo absorção máxima do complexo em aproximadamente 480 nm.

## Resultados e Discussões

O dispositivo construído em papel demonstra eficiência na contenção do analito pela barreira hidrofóbica, esta que independe das propriedades de absorção e capilaridade de cada papel avaliado. A parafina é um material barato, de fácil obtenção, contribuindo para a acessibilidade do método, além de utilizar pouco volume de reagentes e amostra.

O melhor canal para o tratamento das imagens digitais demonstra ser o canal Green, com sua curva de calibração exibida na Figura 4, definido a partir da comparação com os canais Blue e Red, devido apresentar melhor coeficiente de correlação e sensibilidade. Os melhores parâmetros analíticos podem ser explicados pelo comprimento de onda de máxima absorção do complexo, que absorve energia em aproximadamente 480 nm, região que corresponde a

cor verde do espectro. A curva de calibração foi construída inicialmente com quatro diferentes concentrações, em uma faixa ampla de concentração, visando apenas avaliar o melhor canal do sistema RGB para posteriores análises e otimizações.

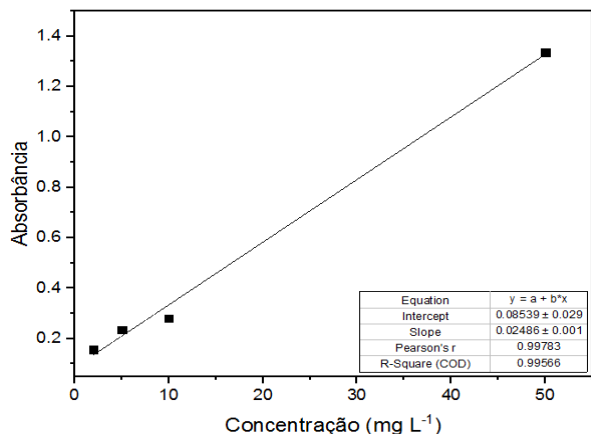


Figura 4. Curva de calibração para o canal Green.

Para os diferentes tipos de papéis avaliados, o papel de fibra de vidro demonstra inferioridade em relação aos demais, devido ao maior potencial de absorção das soluções depositadas em sua superfície, que comprometem a qualidade das imagens capturadas, além de sua elevada fragilidade, justificando os baixos valores de linearidade ( $R^2 = 0,84707$ ) e sensibilidade (0,00706) obtidos para a curva de calibração construídas utilizando esse tipo de papel.

Já os dispositivos confeccionados com papel transparência para retroprojetor foram avaliados nos sistemas de captura com iluminação natural e artificial, onde em ambiente de iluminação controlada, há a incidência de reflexos sob o analito, sobretudo nas concentrações abaixo de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . Os parâmetros analíticos obtidos para cada sistema de iluminação utilizando o papel do tipo transparência estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros analíticos baseados nas curvas de calibração obtidas em ambiente de iluminação controlada e natural.

Iluminação	$R^2$	Sensibilidade
Controlada	0,86782	0,00736
Natural	0,99197	0,02552

Nesse dispositivo, foi avaliada a interferência da variação de luz no decorrer de um dia quando utilizado o sistema de iluminação natural. Nesse ensaio não foram observadas mudanças expressivas de sensibilidade e linearidade nos diferentes horários das capturas de imagens, o que implica que a variação de luz não é um interferente para a metodologia.

Os dispositivos fabricados em papel de filtro quantitativo tiveram a detecção do analito feita em sistema de iluminação artificial, onde a imagem obtida não sofre influência significativa da iluminação como observado para os dispositivos em material do tipo transparência. A Figura 5 mostra a curva de calibração obtida, com linearidade igual à 0,98754 e sensibilidade igual à 0,04394. Devido à melhor sensibilidade obtida, os dispositivos posteriores foram construídos apenas com o papel de filtro quantitativo.

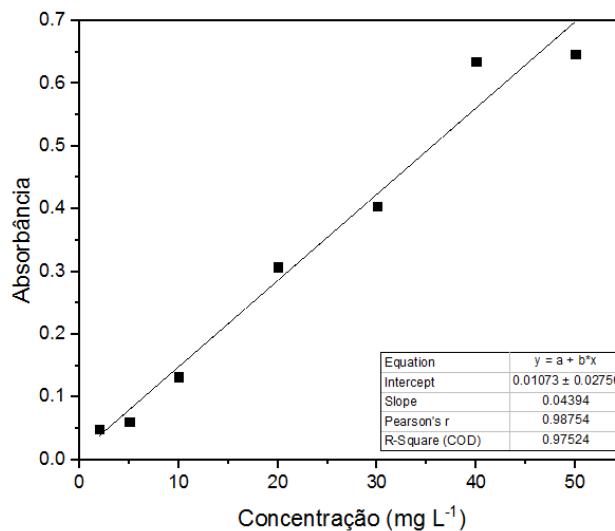


Figura 5. Curva de calibração para dispositivo construído em papel de filtro quantitativo.

A utilização de diferentes smartphones para a obtenção da imagem permite concluir que, mesmo ao mudar o detector, os parâmetros de sensibilidade e linearidade do método não demonstram variação significativa, facilitando a replicação da metodologia, uma vez que o detector não é uma limitação.

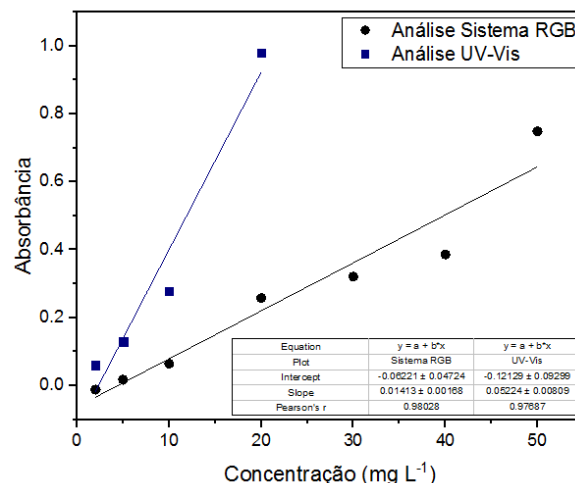
A necessidade de coloração do analito influencia diretamente no limite de detecção do método, uma vez que, em amostras de concentração inferior à 2 mg L<sup>-1</sup> não se tem quantificações com sensibilidade e linearidade pelo método proposto, devido à ausência de coloração visível em concentrações mais baixas. Os testes de recuperação realizados mostram uma boa porcentagem de recuperação para as matrizes água de torneira, água de represa e água de coco, como é mostrado na Tabela 2. Para a concentração de 2 mg L<sup>-1</sup>, o limite de detecção do método e a matriz da solução podem explicar a variação das porcentagens de recuperação obtidas.

**Tabela 2.** Porcentagem de recuperação para as matrizes Água de Torneira, Água de Represa e Água de Coco, respectivamente.

Amostra	Concentração Adicionada (mg L <sup>-1</sup> )	Concentração Encontrada (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)
Água de Torneira	2	1,77	88,5
	25	24,22	96,9
	40	42,8	107
Água de Represa	2	3,39	169,5
	25	21,94	87,8
	40	39,31	98,3
Água de Coco	2	0,01	0,5
	25	29,01	116
	40	41,37	103,4

Em comparação com o Espectrofotômetro UV-Vis, a metodologia desenvolvida demonstra uma maior faixa linear, sendo possível quantificar íons Fe(III) em concentrações de até 50 mg L<sup>-1</sup>. O processamento de imagens digitais obtidas no dispositivo em papel possui melhor linearidade ( $R^2 = 0,98028$ ) que a técnica clássica ( $R^2 = 0,97687$ ), além de pouca variação entre as sensibilidades. A Figura 6 exibe a curva de calibração comparando os dois métodos, onde a curva de calibração para as análises realizadas com o Espectrofotômetro UV-Vis exibe concentrações de 2 mg L<sup>-1</sup> à 20 mg L<sup>-1</sup>, devido a concentrações maiores apresentarem absorbâncias em desacordo com a Lei de Lambert-Beer, o que não é observado nas concentrações maiores que 20 mg L<sup>-1</sup> no

método proposto, possibilitando o processamento de imagens digitais quantificar maiores concentrações do que a técnica instrumental clássica.



**Figura 6.** Curva de calibração para comparação entre a análise feita usando o método proposto e análise feita em um Espectrofotômetro UV-Vis.

## Conclusão

O método desenvolvido contribui para a atual demanda analítica, podendo ser empregado na quantificação de íons metálicos utilizando pouco volume de amostra e de reagentes, além da possibilidade de análises *in loco*, com baixo custo e fácil manuseio. A metodologia demonstra boa sensibilidade e linearidade, e quando comparada a técnica de espectrofotometria, pouca variação de parâmetros analíticos.

Devido às suas vantagens, a determinação de íons Fe(III) através do processamento de imagens digitais aliada com dispositivos em papel se mostra como uma alternativa viável e com vasta acessibilidade.

## Referências

- VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. dos. "Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis". *Food Sci. Technol.*, v. 27, n. 4, p. 779-785, 2007. <https://www.scielo.br/j/cta/a/dHWcfH7Tvsb9HTQgmKSbQy/#>.
- SOUZA, A. K. R.; MORASSUTI, C. Y.; DEUS, W. B. "Poluição do ambiente por metais pesados e utilização de vegetais como

bioindicadores”. *Acta Biomedica Brasiliensia*, v. 9, n. 3, p. 95-106, **2018**. <https://www.actabiomedica.com.br/index.php/acta/article/view/300/247>.

3. FERNANDES, G. M.; SOUSA, J. de.; PETRUCI, J. F. da S.; BATISTA, A. D. “Paper-based analytical device for colorimetric detection of Cu<sup>2+</sup> in Brazilian sugarcane spirits by digital image treatment”. *Microchemical Journal*, v. 159, 5p., **2020**. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X20322736>.
4. CARDOSO, T. M. G.; SOUZA, F. R. de; GARCIA, P. T.; HENRY, C. S.; COLTRO, W. K.T. “Versatile Fabrication Of Paper-Based Microfluidic Devices With High Chemical Resistance Using Scholar Glue And Magnetic Masks”. *Analytica Química Acta*, v. 974, p. 63-68, **2017**. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267017303975?via%3Dihub#section-cited-by>.
5. CATE, D. M.; ADKINS, J. A.; METTAKOONPITAK, J.; HENRY, C. S. “Recent Developments In Paper-Based Microfluidic Devices”. *Analytical Chemistry*, v. 87, n. 1, p. 19-41, **2015**. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac503968p#>.
6. PAULA, V. I. de; LIMA, D. R. de S. “Uso de análise de imagens para quantificação de compostos”. *Revista Engenho*, v. 9, n. 3 p. 63-76, **2014**. [http://www.portal.anchieta.br/revistas-e-livros/engenho/pdf/revista\\_engenho\\_vol09\\_3.pdf](http://www.portal.anchieta.br/revistas-e-livros/engenho/pdf/revista_engenho_vol09_3.pdf)
7. SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUNCH, S.R., *Fundamentos de química analítica*, tradução da 8ª Edição Norte-Americana, Editora Thomson, São Paulo – SP, **2006**.
8. TOMA, H. E. *Descobrimo o mundo da química*, Instituto de Química – USP, 58p. [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3819683/mod\\_resource/content/1/KIT-Quimica.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3819683/mod_resource/content/1/KIT-Quimica.pdf).
9. YAMADA, K.; SUZUKI, K.; CITTERIO, D. “Text-displaying colorimetric paper-based analytical device”. *ACS. Sens.*, v. 2, n. 8, p. 1247-1254, **2017**. <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acssensors.7b00464#>.
10. NETO, H. A. S.; SOUSA, L. R.; COLTRO, W. K. T. “Chapter 4 – Colorimetric paper-based analytical devices”. IN: *Paper-based Analytical Devices for Chemical Analysis and Diagnostics*. Elsevier, p 59-79, **2022**. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128205341000098>
11. FILGUEIRAS, M. F.; BORGES, E. M. “Iron quantification in Dietary Supplements using four colorimetric assays”. *J. Chem. Educ.*, v. 99, n. 5, p. 2067-2078. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jchemed.1c00869>.

---

## Eduarda G. Santana<sup>1\*</sup> & Vanessa N. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Catalão, Instituto de Química, CEP: 75704-020. Catalão, Goiás, Brasil

\*E-mail: [eduardagarciasantana212@gmail.com](mailto:eduardagarciasantana212@gmail.com).