

AVALIAÇÃO DE DISPOSITIVOS DE CAPTURA DE IMAGENS DIGITAIS PARA DETECÇÃO COLORIMÉTRICA EM MICROZONAS IMPRESSAS

Fabício Ribeiro de Souza, Gerson Francisco Duarte Junior, Paulo de Tarso Garcia e Wendell Karlos Tomazelli Coltro*
Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, 74001-970 Goiânia – GO, Brasil

Recebido em 10/12/2013; aceito em 16/04/2014; publicado na web em 15/07/2014

EVALUATION OF DIGITAL IMAGE CAPTURE DEVICES FOR COLORIMETRIC DETECTION ON PRINTED MICROZONES. This report describes a study about the feasibility of using a conventional digital camera, a cell-phone camera, an optical microscope, and a scanner as digital image capture devices on printed microzones. An array containing nine circular zones was drawn using graphics software and printed onto transparency film by a laser printer. Due to its superior analytical performance, the scanner was chosen for the quantitative determination of Fe^{2+} in pharmaceutical samples. The data achieved using scanned images did not differ statistically from those attained by the reference spectrophotometric method at the confidence level of 0.05.

Keywords: analytical instrumentation; microfabrication; toner.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o uso de sistemas microfabricados tem recebido atenção especial na área da Química Analítica. Essa nova tendência instrumental oferece algumas vantagens que incluem baixo consumo de amostra, curto tempo de análise, portabilidade, capacidade de integração de múltiplas etapas analíticas em um único sistema, dentre outras. Estes sistemas podem ser fabricados em diversas plataformas incluindo vidro, poli(dimetilsiloxano) (PDMS), poli(metilmacrilato) (PMMA), poli(carbonato) (PC), papel e toner.¹⁻⁹

O uso do toner na microfabricação foi inicialmente proposto por Tan e colaboradores.¹⁰ Neste trabalho pioneiro, os autores usaram uma fotocopadora para definir um molde com linhas de toner sobre um filme de transparência. O molde confeccionado foi explorado para a fabricação de sistemas analíticos em polímeros elastoméricos a partir do uso da técnica de litografia suave. Em 2003, do Lago e colaboradores¹¹ propuseram uma tecnologia alternativa para prototipagem rápida de sistemas microfluídicos baseando-se na impressão direta de microcanais em filmes de poliéster. Essa técnica requer a projeção de uma configuração microfluídica, por meio de um programa gráfico, seguida pela impressão em uma folha de transparência, com auxílio de uma impressora laser. A instrumentação necessária para o processo de fabricação pode ser adquirida com investimento inferior a R\$ 2.000,00. A plataforma constituída de poliéster-toner (PT) vem sendo explorada para a produção de microssistemas destinados a separações eletroforéticas,¹²⁻¹⁸ purificação de proteínas,¹⁹ mistura de soluções²⁰ e extração de DNA.²¹ Recentemente, o uso desse substrato para a confecção de dispositivos dedicados a ensaios clínicos também foi reportado.²²⁻²⁴

Atualmente, os sistemas analíticos fabricados com toner integram, juntamente com os dispositivos de papel,^{25,26} a atual geração de plataformas analíticas descartáveis.⁶ Devido ao baixo custo e possibilidade de conduzir ensaios no ponto de necessidade, o uso de imagens digitais vem recebendo considerável atenção devido à facilidade de captura proporcionada por dispositivos eletrônicos comerciais como câmeras de celular, câmeras digitais, *webcams*, microscópios ópticos portáteis e *scanners* de mesa ou bancada. A detecção colorimétrica a partir da captura de imagens digitais apresenta simplicidade instrumental e vem sendo explorada em uma variedade de aplicações analíticas.²⁷⁻³⁷

Os dispositivos de captura das imagens digitais mencionados oferecem algumas vantagens que incluem facilidade no manuseio e transporte, preço acessível, robustez e capacidade de alimentação *via* bateria ou conexão USB (*Universal Serial Bus*) de computadores portáteis (laptop). Outro fator atrativo é que a transmissão das imagens capturadas pode ocorrer *via Bluetooth*, e-mail ou mensagem multimídia (MMS, *Multimedia Message System*). A associação das vantagens proporcionadas pelos dispositivos de captura de imagens digitais com as plataformas descartáveis estimula a utilização desta ferramenta instrumental para análises remotas ou em locais onde a disponibilidade de recursos é limitada.

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o uso de dispositivos de captura de imagens digitais para detecção colorimétrica em microzonas impressas em PT. O desempenho analítico foi investigado usando-se soluções do corante azul de metileno, a fim de avaliar os parâmetros analíticos. Adicionalmente, os dados obtidos com o scanner foram comparados com os resultados extraídos com a técnica de espectrofotometria na região do visível. Nessa comparação, realizou-se a determinação quantitativa de sulfato ferroso em dois medicamentos (Vitafer® e Sulferrol®). A comparação foi conduzida utilizando o método da curva de calibração descrito por Miller e Miller.³⁸

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais e reagentes

Os filmes de poliéster (modelo FP 02604) foram adquiridos junto a Filipaper (Filipaper, Rio de Janeiro-RJ, Brasil). Os papéis de filtro quantitativo com diâmetro de poro igual a 25 µm foram adquiridos junto a JProLab (São José dos Pinhais-PR, Brasil). Os reagentes azul de metileno (AM), sulfato ferroso amoniacal, 1,10-fenantroline (Fen), cloridrato de hidroxilamônio e acetato de sódio foram adquiridos junto a Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, Mo, USA). As soluções foram preparadas diariamente utilizando-se água ultrapura (resistividade 18 MΩ cm).

Amostras

Amostras de duas marcas distintas de um medicamento contendo sulfato ferroso, sendo elas Vitafer® e Sulferrol®, foram utilizadas para

*e-mail: wendell@ufg.br

validar o método proposto destinado a análise quantitativa. Para o preparo das soluções dos medicamentos, inicialmente realizou-se a abertura da amostra, na qual um comprimido de cada medicamento foi macerado e transferido para um béquer de 100 mL. Esta etapa foi realizada com 10,0 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 3,0 mol/L. Em seguida a solução foi filtrada em papel de filtro quantitativo e transferida para um balão volumétrico de 100,0 mL e o volume foi aferido com água ultrapura.

Processo de fabricação

As microzonas impressas foram fabricadas pelo processo de impressão direta, proposto por do Lago e colaboradores.¹¹ Basicamente, um arranjo de nove microzonas, distribuídas em três colunas \times três linhas, foi previamente desenhado no programa gráfico Corel Draw v. 11 e impresso em uma folha de poliéster com uma impressora a laser (LaserJet P1102w, Hewlett Packard), com resolução de 1200 dpi (*dots per inch*) e equipada com cartucho de toner modelo CE285A. As microzonas (com diâmetro de 6 mm cada) foram formadas pela região onde, teoricamente, não ocorre a deposição de toner sobre o filme de poliéster. A camada depositada pela impressora a laser garante o confinamento da solução, evitando que ocorra vazamento para as zonas vizinhas (Figura 1). Cada arranjo de microzonas foi impresso em uma área com dimensões de 30 mm de largura e 30 mm de comprimento.

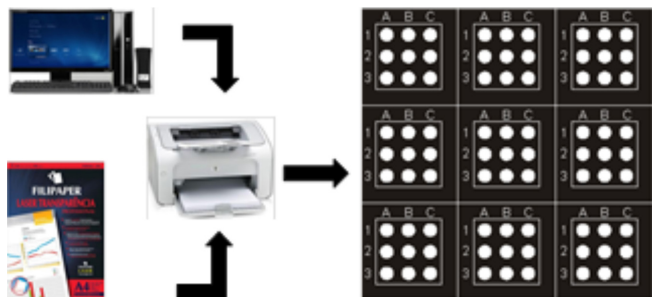


Figura 1. Representação da instrumentação necessária e procedimento para a produção das microzonas impressas

Deteção colorimétrica

Foram avaliados quatro dispositivos eletrônicos para conduzir os ensaios colorimétricos nas microzonas impressas. Os dispositivos eletrônicos utilizados foram (i) um microscópio óptico portátil (DigiMicro, modelo USB 200X, iluminado com oito LEDs brancos) equipado com câmera digital de 1,3 MP (megapixel), (ii) um celular (modelo Nokia N95) com câmera de 5,0 MP de resolução integrada, (iii) uma câmera digital (modelo Sony Cyber-shot) com 7,2 MP de resolução e (iv) o modo *scanner* de uma impressora Deskjet multifuncional (modelo F4280, Hewlett Packard).

Para a obtenção das informações colorimétricas, os dispositivos eletrônicos (i), (ii) e (iii) foram posicionados a uma distância constante de 10 cm em relação à parte superior das microzonas, ou seja, acima do lado onde o toner foi depositado. Por outro lado, o dispositivo eletrônico (iv) foi o único que promoveu a captura das imagens pelo lado inferior das microzonas, ou seja, através da base polimérica (poliéster) onde as microzonas foram impressas. Para garantir a reprodutibilidade da aquisição das imagens e minimizar os efeitos de sombra ou reflexo causado pela luz policromática, utilizou-se uma câmara de acrílico revestida com papel branco. Adicionalmente, a função *flash* dos equipamentos eletrônicos não foi utilizada na captura das imagens.

Após a captura das imagens, as mesmas foram analisadas no programa gráfico Corel Photo-Paint™ a partir do uso da ferramenta

histograma. Nesse processo, a imagem, previamente adquirida na escala de cor RGB, foi convertida para a escala de cor CMYK, com resolução de 32 bits. A escala de cor RGB representa o modo padrão de captura de imagens nos dispositivos eletrônicos. A intensidade média de pixels é a informação extraída da imagem para correlacionar a cor com a concentração do analito. Essa intensidade média é fornecida pela ferramenta histograma e representa a média das tonalidades de todos os pixels em uma área definida por uma máscara. A área selecionada engloba apenas o tamanho da microzona, usada para os ensaios colorimétricos. Na Figura 2 é representado o uso da ferramenta histograma de uma região selecionada da microzona.

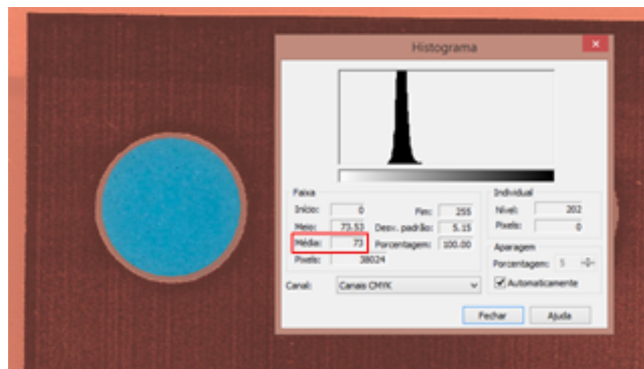


Figura 2. Exemplo da máscara definida no programa de tratamento das imagens e histograma gerado em função da intensidade da cor em cada microzona

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do desempenho analítico dos equipamentos eletrônicos

O processo de impressão direta tem-se mostrado perfeitamente aplicável na produção de microzonas em PT direcionadas para condução de ensaios químicos com detecção colorimétrica.^{22,23} No processo de impressão direta a impressora deposita uma camada de toner (espessura de $5,0 \pm 0,4 \mu\text{m}$) que forma uma barreira hidrofóbica suficiente para confinar a solução em regiões específicas (microzonas).²³

O desempenho analítico desses dispositivos comerciais foi avaliado com uma solução de AM. Para este ensaio foi preparada uma solução estoque, 100 mg/mL do corante e, posteriormente, preparadas diferentes soluções com concentração na faixa de 9,2–55,2 mg/mL. As curvas analíticas obtidas para os quatro equipamentos eletrônicos estão apresentadas na Figura 3. Todos os experimentos foram conduzidos com a adição de alíquotas de 30 μL de amostra em cada microzona. É importante mencionar que a resposta analítica apresenta comportamento linear para a faixa de volume entre 20 e 60 μL , conforme apresentado na Figura 1S (material suplementar).

Para o microscópio, *scanner* e o celular a captura das imagens foi feita utilizando-se uma resolução de 300 *dpi*, sendo que a câmera de celular utilizou 72 *dpi*. Para cada dispositivo, os limites de detecção (LD) foram calculados a partir da razão entre o valor correspondente a três vezes o desvio padrão ($3 \times \text{DP}$) do branco e o coeficiente angular (b) da curva analítica ($\text{LD} = 3 \times \text{DP}/b$). Desse modo, os valores de LD para o microscópio óptico, *scanner*, câmera de celular e câmera digital foram iguais a 5,3, 6,5, 7,2 e 9,4 mg/mL, respectivamente. Os valores para a sensibilidade analítica obtida com cada dispositivo eletrônico foram iguais a 2,09, 0,61, 1,56, e 1,69 (U.R.)/(mg mL⁻¹), para o microscópio óptico, *scanner*, câmera de celular e câmera digital, respectivamente. De acordo com esses valores, pode-se afirmar que o microscópio óptico foi o que forneceu melhor sensibilidade analítica. Por outro lado, esse mesmo dispositivo juntamente com

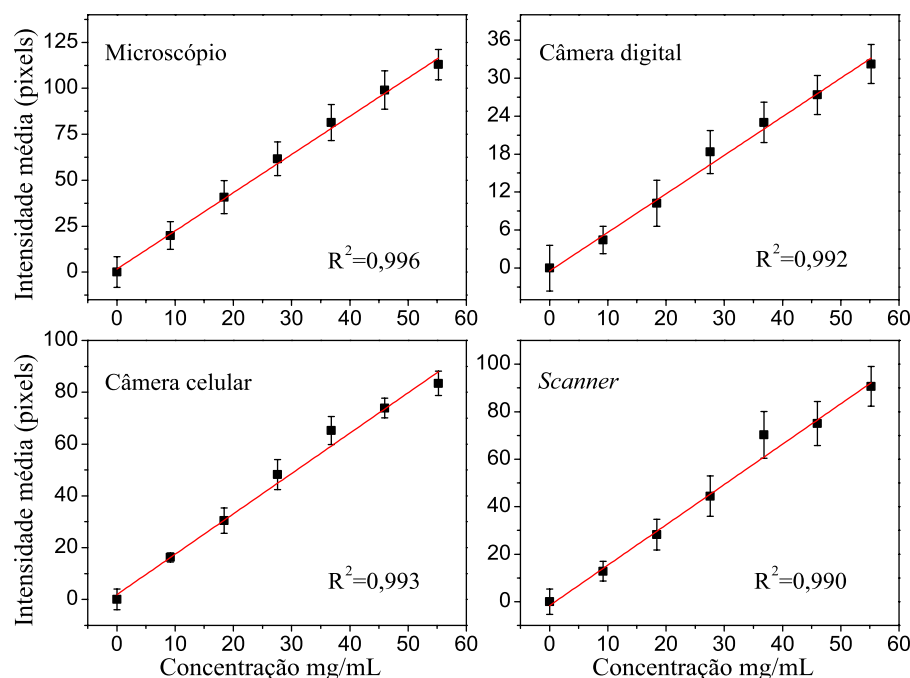


Figura 3. Curvas analíticas para cada equipamento eletrônico avaliado

a câmera digital apresentaram os maiores valores de desvio padrão relativo (DPR) variando de 5 a 13% ($n=3$).

No momento da aquisição das imagens foram observados dois fatores que afetam as condições de captura: foco e luz externa. A função foco permite ajustar a nitidez com que a imagem será capturada. Em alguns equipamentos, como câmeras digitais, por exemplo, esse ajuste ocorre automaticamente, sendo que a cada imagem obtida, ocorre um novo ajuste. Esse ajuste automático pode ser uma desvantagem, uma vez que as condições de captura da imagem podem mudar a cada novo ajuste. Esse problema pode ser resolvido desativando o ajuste automático do foco.

Porém, o fator que afeta acentuadamente a captura das imagens é a luz externa. Caso não haja o controle correto da luz que incide no dispositivo contendo a solução problema, pode ocorrer mudanças na intensidade de cor em diferentes regiões da imagem. Consequentemente, quando a imagem é analisada no programa gráfico, obtém-se desvios acentuados nas intensidades de pixels em uma região da imagem. Esse problema pode ser resolvido criando uma câmara, feita de material translúcido, para saturar a luz que incide na amostra.

Nos resultados obtidos utilizando o *scanner*, observou-se que o DPR das intensidades de cor desenvolvidas nas zonas de detecção ficou abaixo de 4% ($n=3$). Esse menor DPR encontrado é justificado pelo modo de leitura do *scanner*. Este equipamento possui uma tampa que permite o bloqueio da incidência de luz externa sobre o dispositivo analítico. Além disso, a luz necessária para a captura da imagem é fornecida por um arranjo de lâmpadas acoplado no compartimento onde se encontra o detector do tipo *charge-coupled device* (CCD) do *scanner*. Frente a essa vantagem técnica, o *scanner* foi empregado em uma avaliação mais rigorosa.

Detecção utilizando o *scanner*

A fim de avaliar o desempenho deste detector, a reprodutibilidade das leituras, a resolução das imagens capturadas e o tamanho da máscara de seleção foram sistematicamente investigados. A reprodutibilidade das imagens capturadas foi avaliada a partir de uma sequência de 50 leituras consecutivas (resolução de 300 dpi) de uma solução

de AM adicionada nas microzonas. Conforme mostrado na Figura 2S (Material Suplementar), conclui-se que as duas primeiras leituras apresentaram valores diferentes das demais sugerindo que o leitor CCD do *scanner* passa por uma estabilização nas primeiras leituras realizadas. Embora a variação observada seja apenas de uma unidade, é recomendado que as três primeiras leituras sejam descartadas para certificar a estabilidade na captura das imagens.

Para avaliar o efeito da resolução, as imagens referentes às soluções de AM adicionadas nas microzonas foram digitalizadas com resoluções ópticas iguais a 75, 100, 150, 200, 300 e 600 *dpi*. Os valores médios para a intensidade de pixels em cada resolução e o limite de confiança da medida estão apresentados na Tabela 1S (material suplementar). O limite de confiança foi calculado para as médias obtidas nas seis resoluções avaliadas, sendo este $74,2 \pm 0,7$ (U.R.) (t -Student = 2,6). Observou-se que as médias obtidas para cada resolução estão dentro do limite de confiança calculado, mostrando que para um nível de significância de 95% ($P=0,05$) não existem diferenças significativas entre as medidas realizadas nas diferentes resoluções.

Assim como a reprodutibilidade das leituras sequenciais e a resolução das imagens capturadas, o tamanho da máscara de seleção no histograma foi investigado a fim de avaliar o efeito na resposta colorimétrica em função da intensidade média dos pixels. As imagens foram capturadas fixando-se a resolução em 300 *dpi* e variando-se o tamanho da máscara de 5 a 100 unidades (com incremento de 5 unidades). A Figura 3S (material suplementar) apresenta o comportamento dos valores de intensidade de pixels em função do tamanho da máscara de seleção. A partir do cálculo do intervalo de confiança observou-se que, para um nível de confiança de 95% ($P=0,05$), existem diferenças significativas entre as medidas realizadas com máscaras de seleção de tamanhos diferentes. Portanto, no decorrer de uma análise colorimétrica baseada na captura de imagens digitais deve-se utilizar o mesmo tamanho da máscara de seleção, de modo a obter informações colorimétricas de alta confiabilidade.

Determinação de Fe^{2+} em medicamentos

Devido às vantagens apresentadas anteriormente, o *scanner* foi utilizado para captura de imagens referentes à determinação de fons

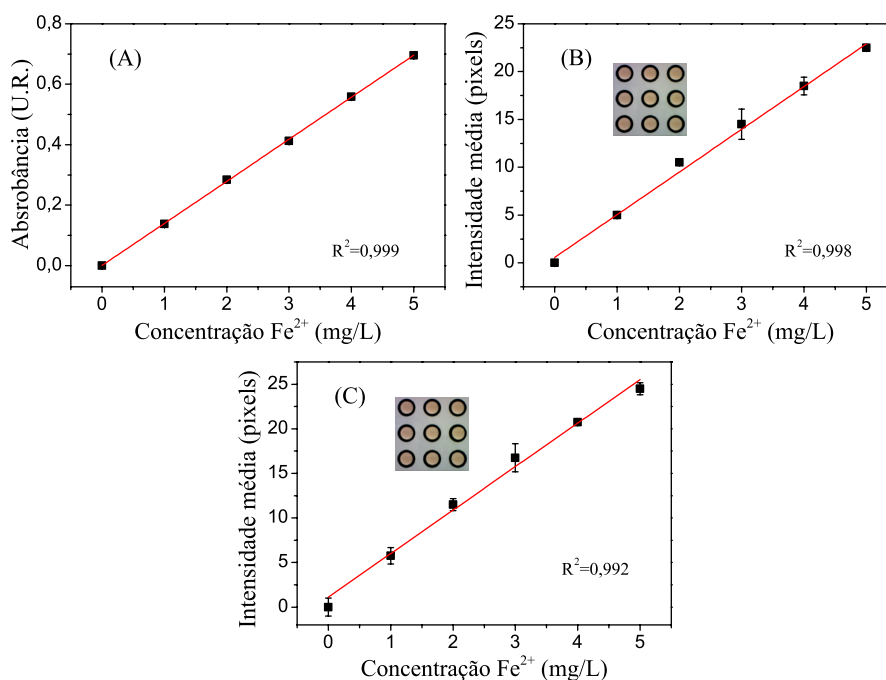


Figura 4. Curvas analíticas obtidas com (A) espectrofotômetro, (B) scanner – canal de cor CMYK e (C) scanner – canal de cor RGB. As equações obtidas das curvas foram: $y_{\text{espectrofotômetro}} = 0,0007 + 0,1391 \times [\text{Fe}^{2+}]$; $y_{\text{scanner - CMYK}} = 0,5728 + 4,4659 \times [\text{Fe}^{2+}]$; e $y_{\text{scanner - RGB}} = 1,1318 + 4,8747 \times [\text{Fe}^{2+}]$

Fe^{2+} em medicamentos. O reagente Fen é um ligante bidentado que na presença de íons Fe^{2+} forma um complexo denominado ferroína – $[\text{Fe}(\text{Fen})_3]^{2+}$, de coloração vermelho-alaranjado.³⁹ Este complexo apresenta uma boa estabilidade na faixa de pH entre 2 e 9. Porém, recomenda-se que o complexo seja formado em meio ácido (pH 3,5), evitando assim a precipitação de hidróxido de ferro.^{39,40}

O ensaio para determinação de Fe^{2+} foi conduzido de modo que pudesse ser feita a comparação do sistema de detecção proposto com uma técnica de referência (espectrofotometria na região do visível). Para o scanner, a comparação foi realizada nos canais de cores CMYK e RGB (Red, Green, Blue). A Figura 4 apresenta as curvas de calibração obtidas com as mesmas soluções analíticas no espectrofotômetro e no scanner (nos canais de cor CMYK e RGB). Mediante os dados apresentados, pode-se observar que os coeficientes de correlação quadráticos (R^2), para ambas as técnicas, foram superiores a 0,992. O LD calculado para o procedimento executado por meio da análise espectrofotométrica foi igual a 0,09 mg/L. Por outro lado, os LDs encontrados para a análise das imagens digitais capturadas com o scanner foram 0,50 mg/L e 0,67 mg/L, nos canais CMYK e RGB, respectivamente.

A partir dos dados obtidos com as curvas analíticas, as concentrações de sulfato ferroso foram determinadas nos medicamentos Vitafer® e Anemifer®, cujos valores estão apresentados na Tabela 1. Baseando-se nos valores de referência fornecidos pelos fabricantes (109 mg/drágea para o Vitafer® e 190 mg/drágea para o Anemifer®), os erros percentuais encontrados com ambas as técnicas variaram de 9 a 13%, para o Vitafer®, e de 16 a 22% para o Anemifer®. Os valores elevados para os erros percentuais encontrados podem estar associados com o processo de abertura das amostras, podendo promover a oxidação de Fe^{2+} a Fe^{3+} . A exatidão do método proposto foi avaliada por um ensaio de recuperação, por meio da adição de padrão interno em dois níveis de concentração (1,0 e 2,0 mg/mL). Os percentuais de recuperação para as análises das imagens capturadas com o scanner variaram de 94 a 96%.

Após o ensaio de determinação das concentrações de sulfato ferroso nos medicamentos, o sistema de detecção proposto foi comparado

Tabela 1. Concentrações de sulfato ferroso determinadas nas amostras de Vitafer® e Anemifer® por espectrofotometria e imagens digitais

	Vitafer mg/drágea	Erro (%)	Anemifer mg/drágea	Erro (%)
Espectrofotometria	119	9	149	-22
Scanner - CMYK	123	13	157	-17
Scanner - RGB	123	13	160	-16

com um método de referência (espectrofotometria). A comparação entre as duas técnicas se deu pelo método da curva de ajuste,³⁸ no qual foram preparadas 10 soluções padrões, cada uma com determinada concentração de Fe^{2+} . A curva de ajuste foi construída a partir da leitura de cada concentração empregando os dois modos de detecção. No tratamento da imagem obtida pelo scanner (imagens capturadas com 300 dpi de resolução) foram utilizados os canais de cor RGB e CMYK. As curvas de correlação entre os modos de detecção estão apresentadas na Figura 5.

Para o canal de cor CMYK a equação da curva de ajuste foi: $y = -0,9 \pm 3,5 + 1,1 \pm 0,5x$. Para o canal de cor RGB a equação da curva foi: $y = -0,7 \pm 2,9 + 1,1 \pm 0,4x$. Em uma regressão linear perfeita é esperado obter valores para o coeficiente linear e angular iguais a 0 e 1, respectivamente. Para as duas curvas de correlação foram calculados os limites de confiança para o coeficiente linear e angular. Pode-se notar que o intervalo de confiança para o coeficiente linear inclui o valor 0 e o intervalo de confiança para o coeficiente angular inclui o valor 1. Isso permite dizer que para um nível de confiança de 95% ($P=0,05$), o método proposto na análise das imagens digitais (utilizando o scanner nos canais de cor RGB e CMYK) não difere significativamente do método espectrofotométrico convencional.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que os dispositivos eletrônicos avaliados neste trabalho possuem elevado

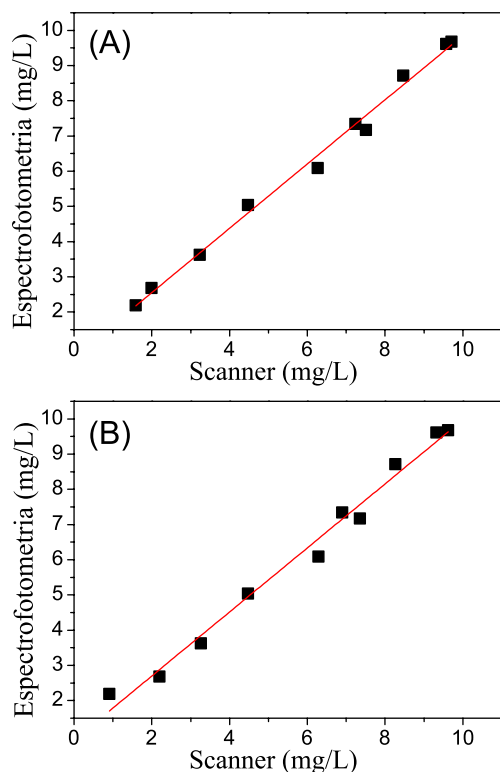


Figura 5. Curva de correlação comparando o método de detecção proposto com o método de referência (espectrofotometria). Na construção da curva utilizou-se 10 soluções padrões, cada uma contendo determinada concentração de Fe^{2+} . As imagens foram analisadas nos canais de cor (A) RGB e (B) CMYK

potencial de aplicação como detectores colorimétricos em microzonas impressas. A utilização desses equipamentos comerciais apresenta algumas vantagens relacionadas à acessibilidade, à portabilidade e ao baixo custo. Esses fatores favorecem a utilização dos sistemas portáteis para conduzirem análises remotas, nas quais um resultado preliminar, mesmo que qualitativo, pode ser fundamental para um diagnóstico preventivo. Além disso, todos os dispositivos colorimétricos podem ser utilizados para monitorar ensaios colorimétricos em microzonas impressas e interconectadas por canais microfluídicos.²²

Dentre os equipamentos eletrônicos avaliados como detector colorimétrico, o *scanner* foi o que apresentou melhor desempenho analítico. Além disso, após análise estatística, foi possível mostrar que o *scanner* não forneceu resposta analítica com diferenças significativas ($P=0,05$) de um espectrofotômetro. As barreiras hidrofóbicas criadas pela deposição de uma camada de toner (espessura de $6 \pm 1 \mu\text{m}$) foram suficientes para manter a solução confinada nas zonas impressas, sem que ocorresse vazamento da solução.

A plataforma impressa em PT é extremamente barata e pode ser facilmente produzida em laboratórios ou centros de pesquisa com recursos financeiros limitados. Baseado nos ensaios analíticos apresentados, a metodologia instrumental desenvolvida pode ser explorada no ensino de graduação para demonstrar a análise quantitativa de ferro em medicamentos com alíquotas da ordem de 10-50 μL . Essa iniciativa pode estimular o aprendizado dos alunos na área da química analítica instrumental, bem como o interesse no processamento do sinal analítico a partir do monitoramento da intensidade da cor desenvolvida por meio de uma reação química.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Dados complementares relacionados ao efeito do volume de

amostra na resposta analítica, à reprodutibilidade das leituras colorimétricas, à influência do tamanho da máscara de seleção e à avaliação da resolução das imagens capturadas estão disponíveis em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – processo No. 478911/2012-2 – à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação e Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanalítica (INCTBio) pelo financiamento do projeto e pelas bolsas concedidas. Os autores também agradecem aos Professores Dr. S. A. S. Machado e Dr. A. E. de Oliveira pelas discussões e sugestões referentes às análises estatísticas e das imagens digitais.

REFERÊNCIAS

- Dittrich, P. S.; Tachikawa, K.; Manz, A.; *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 3887.
- Coltro, W. K. T.; Piccin, E.; Carrilho, E.; De Jesus, D. P.; Da Silva, J. A. F.; Da Silva, H. D. T.; Do Lago, C. L.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 1986.
- West, J.; Becker, M.; Tombrink, S.; Manz, A.; *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 4403.
- Arora, A.; Simone, G.; Salieb-Beugelaar, G. B.; Kim, J. T.; Manz, A.; *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 4830.
- Coltro, W. K. T.; De Jesus, D. P.; Da Silva, J. A. F.; Do Lago, C. L.; Carrilho, E.; *Electrophoresis* **2010**, *31*, 2487.
- Kovarik, M. L.; Ornoff, D. M.; Melvin, A. T.; Dobes, N. C.; Wang, Y.; Dickinson, A. J.; Gach, P. C.; Shah, P. K.; Allbritton, N. L.; *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 451.
- Nge, P. N.; Rogers, C. I.; Woolley, A. T.; *Anal. Chem.* **2013**, *113*, 2550.
- Duan, C.; Wang, W.; Xie, Q.; *Biomicrofluidics* **2013**, *7*, 026501.
- Kovarik, M. L.; Ornoff, D. M.; Melvin, A. T.; Dobes, N. C.; Wang, Y.; Dickinson, A. J.; Gach, P. C.; Shah, P. K.; Allbritton, N. L.; *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 451.
- Tan, A. M.; Rodgers, K.; Murrihy, J. P.; O'Mathuna, C.; Glennon, J. D.; *Lab Chip* **2001**, *1*, 7.
- Do Lago, C. L.; Da Silva, H. D. T.; Neves, C. A.; Brito-Neto, J. G. A.; Da Silva, J. A. F.; *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3853.
- Coltro, W. K. T.; Da Silva, J. A. F.; Carrilho, E.; *Electrophoresis* **2008**, *29*, 2260.
- Coltro, W. K. T.; Da Silva, J. A. F.; da Silva, H. D. T.; Richter, E. M.; Furlan, R.; Angnes, L.; Do Lago, C. L.; Mazo, L. H.; Carrilho, E.; *Electrophoresis* **2004**, *25*, 3832.
- Gabriel, E. F. M.; Duarte Junior, G. F.; Garcia, P. T.; De Jesus, D. P.; Coltro, W. K. T.; *Electrophoresis* **2012**, *33*, 2660.
- Liu, A. L.; He, F. Y.; Hu, Y. L.; Xia, X. H.; *Talanta* **2006**, *68*, 1303.
- Lu, Y.; Hu, Y. L.; Xia, X. H.; *Talanta* **2009**, *79*, 1270.
- Da Silva, E. R.; Segato, T. P.; Coltro, W. K. T.; Lima, R. S.; Carrilho, E.; Mazo, L. H.; *Electrophoresis* **2013**, *34*, 2107.
- Yu, H.; He, F. Y.; Lu, Y.; Hu, Y. L.; Zhong, H. Y.; Xia, X. H.; *Talanta* **2008**, *75*, 43.
- Yu, H.; Lu, Y.; Zhou, Y.; Wang, F.; He, F.; Xia, X.; *Lab Chip* **2008**, *8*, 1496.
- Liu, A.; He, F.; Wang, K.; Zhou, T.; Lu, Y.; Xia, X.; *Lab Chip* **2005**, *5*, 974.
- Duarte, G. R. M.; Price, C. W.; Augustine, B. H.; Carrilho, E.; Landers, J. P.; *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 5182.
- De Souza, F. R.; Alves, G. L.; Coltro, W. K. T.; *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 9002.
- Oliveira, K. A.; de Oliveira, C. R.; da Silveira, L. A.; Coltro, W. K. T.; *Analyst* **2013**, *138*, 1114.

24. Kim, A. R.; Kim, J. Y.; Choi, K.; Chung, D. S.; *Talanta* **2013**, *109*, 20.
25. Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Butte, M. J.; Whitesides, G. M.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 1318.
26. Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Wiley, B. J.; Gupta, M.; Whitesides, G. M.; *Lab Chip* **2008**, *8*, 2146.
27. Wang, S.; Zhao, X.; Khimji, I.; Akbas, R.; Qiu, W.; Edwards, D.; Cramer, D. W.; Ye, B.; Demirci, U.; *Lab Chip* **2011**, *11*, 3371.
28. Lee, D.; Chou, W. P.; Yeh, S. H.; Chen, P. J.; Chen, P.H.; *Biosens. Bioelectron.* **2011**, *26*, 4349.
29. Iqbal, Z.; Bjorklund, R. B.; *Talanta* **2011**, *84*, 1118.
30. García, A.; Erenas, M. M.; Marinetto, E. D.; Abad, C. A.; Orbe-Paya, I.; Palma, A. J.; Capitán-Vallvey, L. F.; *Sens. Actuators, B* **2011**, *156*, 350.
31. Lu, Y.; Shi, W.; Qin, J.; Lin, B.; *Electrophoresis* **2009**, *30*, 579.
32. Lima, M. B.; Andrade, S. I. E.; Barreto, I. S.; Almeida, L. F.; Araújo, M. C. U.; *Microchem. J.* **2013**, *106*, 238.
33. Tórres, A. R.; Lyra, W. S.; de Andrade, S. I. E.; Andrade, R. A. N.; da Silva, E. C.; Araújo, M. C. U.; Gaião, E. N.; *Talanta* **2011**, *84*, 601.
34. Godinho, M. S.; de Oliveira, A. E.; *Microchem. J.* **2010**, *96*, 42.
35. Lyra, W. S.; dos Santos, V. B.; Dionízio, A. G. G.; Martins, V. L.; Almeida, L. F.; Gaião, E. N.; Diniz, P. H. G. D.; Silva, E. C.; Araújo, M. C. U.; *Talanta* **2009**, *77*, 1584.
36. Godinho, M. S.; Pereira, R. O.; Ribeiro, K. O.; Schmidt, F.; de Oliveira, A. E.; Oliveira, S. B.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 1485.
37. Gaião, E. N.; Martins, V. L.; Lyra, W. S.; de Almeida, L. F.; da Silva, E. C.; Araújo, M. C. U.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, *570*, 283.
38. Miller, J. N.; Miller J. C.; *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 6th ed., Pearson: Harlow, 2010.
39. Cambuim, K. B.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal da Paraíba, Brasil, 2009.
40. Porpino, K. K. P.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal da Paraíba, Brasil, 2009.

AVALIAÇÃO DE DISPOSITIVOS DE CAPTURA DE IMAGENS DIGITAIS PARA DETECÇÃO COLORIMÉTRICA EM MICROZONAS IMPRESSAS

Fabício Ribeiro de Souza, Gerson Francisco Duarte Junior, Paulo de Tarso Garcia e Wendell Karlos Tomazelli Coltro*
Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, 74001-970 Goiânia – GO, Brasil

Efeito do volume de amostra na resposta analítica

Uma das limitações referentes ao uso das microplacas impressas está diretamente relacionada com o volume de amostra adicionado em cada microzona. Ao adicionar uma alíquota da amostra à microzona, a gota formada assume um formato geométrico similar ao de uma calota esférica¹ ou simplesmente uma semi-circunferência. Nesse contexto, a altura da gota define o comprimento do caminho óptico. Portanto, a variação do volume adicionado às zonas interfere diretamente na resposta analítica. Para um melhor entendimento sobre esse comportamento, alíquotas entre 10 e 70 μL de uma solução de azul de metileno na concentração de 30 mg/mL foram adicionadas em microzonas definidas com diâmetro de 6 mm. A Figura 1S apresenta a intensidade média de pixels obtida em função das diferentes alíquotas.

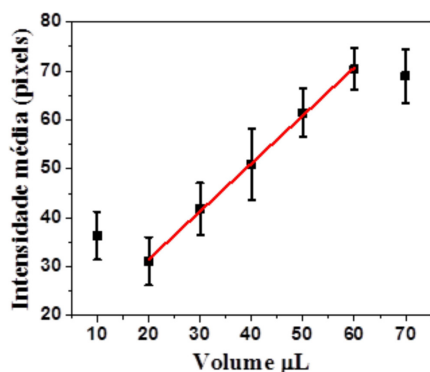


Figura 1S. Avaliação do efeito do volume de amostra na resposta analítica do sistema colorimétrico usando-se um microscópio óptico

Como pode ser observado, há uma boa correlação linear entre as alíquotas de 20 e 60 μL . No entanto, para os volumes extremos, ocorre um desvio relacionado ao preenchimento incompleto da microzona ou ao vazamento para zonas vizinhas. Para a alíquota de 10 μL , pode-se afirmar que esse volume não foi suficiente para preencher totalmente a microzona. Como consequência, a resposta analítica nesse volume foi afetada devido a interferência da leitura na região sem amostra. Por outro lado, a adição do volume de 70 μL provocou um vazamento da solução para a vizinhança das microzonas. Com isso, ocorreu a redução na altura da gota e, consequentemente, a diminuição na intensidade de pixels da leitura. Portanto, do ponto de vista prático, a resposta colorimétrica nas microzonas impressas com diâmetro de 6 mm deve ser conduzida com a adição de alíquotas entre 20 e 60 μL . A resposta analítica pode ser também afetada pelo diâmetro da microzona, conforme reportado por Oliveira e colaboradores.²

Reprodutibilidade das leituras colorimétricas

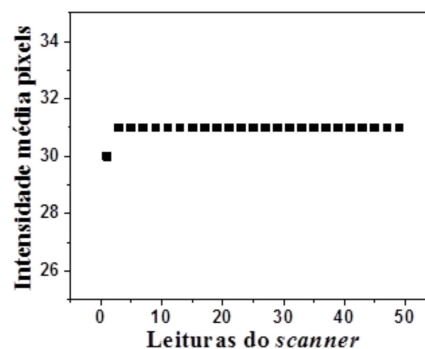


Figura 2S. Informações colorimétricas durante 50 leituras consecutivas. Cada ponto representa duas leituras consecutivas do detector

Influência do tamanho da máscara de seleção

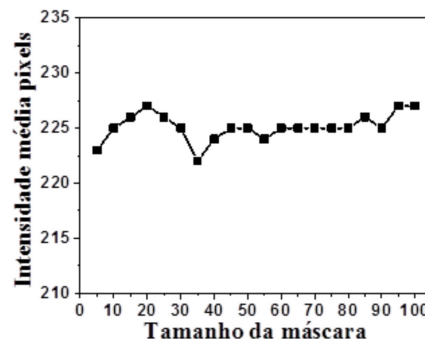


Figura 3S. Variação da intensidade de pixels com o tamanho da máscara utilizada

Avaliação da resolução das imagens capturadas

Tabela 1S. Intensidade dos pixels nas diferentes resoluções

Resolução (dpi)	75	100	150	200	300	600
Intensidade des (U.R.)	74,8 \pm 1,0	73,6 \pm 0,7	74,8 \pm 1,0	73,6 \pm 0,8	73,8 \pm 1,0	74,8 \pm 1,0

REFERÊNCIAS

- Hu, H.; Larson, R. G.; *J. Phys. Chem. B*, **2002**, *106*, 1334.
- Oliveira, K. A.; de Oliveira, C. R.; da Silveira, L. A.; Coltro, W. K. T.; *Analyst* **2013**, *138*, 1114.

*e-mail: wendell@ufg.br