

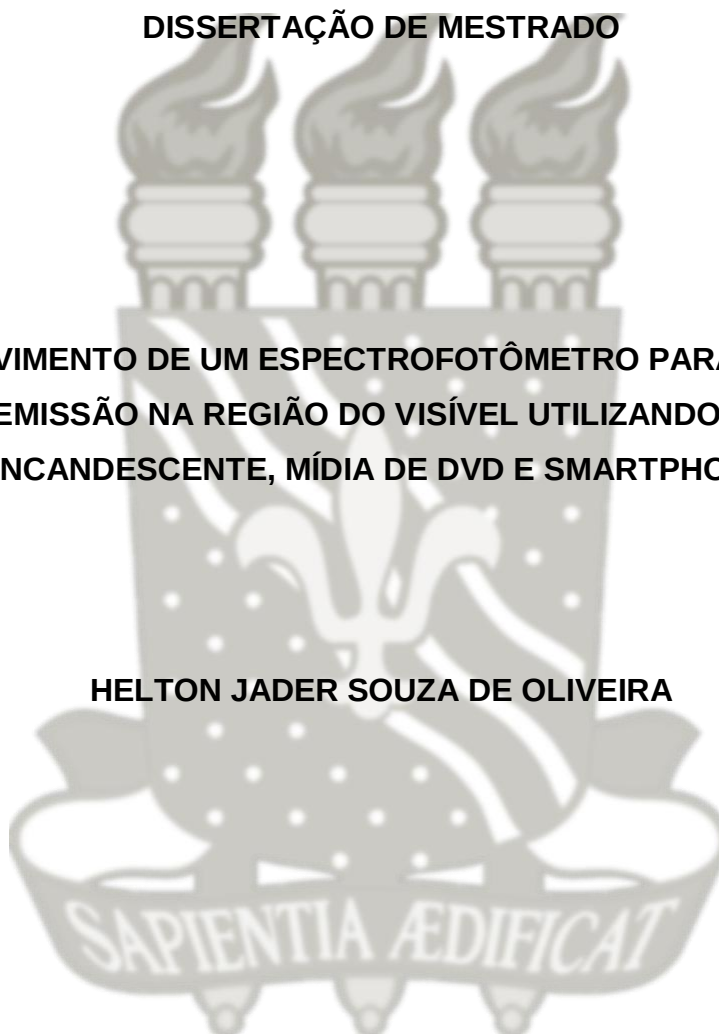


**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO DE UM ESPECTROFOTÔMETRO PARA MEDIDAS DE
ABSORÇÃO/EMIÇÃO NA REGIÃO DO VISÍVEL UTILIZANDO MINI LÂMPADA
INCANDESCENTE, MÍDIA DE DVD E SMARTPHONE**

HELTON JADER SOUZA DE OLIVEIRA



João Pessoa – PB – Brasil

Agosto/2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO DE UM ESPECTROFOTÔMETRO PARA MEDIDAS DE
ABSORÇÃO/EMISSÃO NA REGIÃO DO VISÍVEL UTILIZANDO MINI LÂMPADA
INCANDESCENTE, MÍDIA DE DVD E SMARTPHONE**

HELTON JADER SOUZA DE OLIVEIRA*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida

Coorientador: Prof. Dr. Valdomiro Lacerda Martins

*Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

João Pessoa – PB – Brasil

Agosto/2015

O48d Oliveira, Helton Jader Souza de.

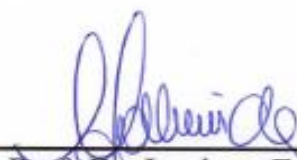
Desenvolvimento de um espectrofotômetro para medidas de absorção/emissão na região do visível utilizando mini lâmpada incandescente, mídia de DVD e smartphone / Helton Jader Souza de Oliveira.- João Pessoa, 2015.

93. : il.

Orientador: Luciano Farias de Almeida

Desenvolvimento de um espectrofotômetro para medidas de absorção/emissão na região do visível utilizando mini lâmpada incandescente, mídia de DVD e smartphone.

Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Helton Jader Souza de Oliveira e aprovada pela banca examinadora em 27 de agosto de 2015.

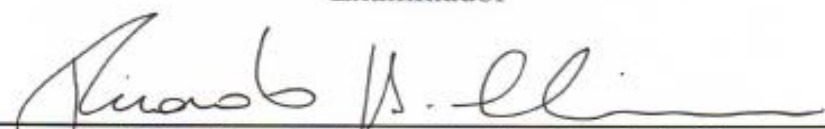


Prof. Dr. Luciano Farias de Almeida
Orientador/Presidente

Prof. Dr. Valdomiro Lacerda Martins
2º. Orientador



Prof. Dr. Sérgio Ricardo Bezerra dos Santos
Examinador



Prof. Dr. Ricardo Alexandre Cavalcanti de Lima
Examinador

Dedico este trabalho a meus pais, a todos meus familiares, aos meus orientadores e amigos, e a todos que de alguma forma me incentivaram, apoiaram, ensinaram e ajudaram a desenvolver esta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por me ajudar em todos os momentos, mostrar os caminhos certos, por me dar força interna, por ter me contemplado com a graça de atravessar mais uma etapa acadêmica, com a qual adquiro maior conhecimento para que, assim, eu possa ser mais um instrumento de serviço à sociedade e prover todas as minhas necessidades.

A minha mãe, Helenice Souza, meu pai, Joaquim Carnaúba (*in memoriam*) por todo companheirismo, incentivo, carinho, apoio, por me ensinarem a tomar decisões importantes na minha vida, em cada fase da vida, exercitando o meu senso de responsabilidade quanto aos resultados dos meus atos, assim fazendo-me crescer em humanidade.

Ao meu irmão, Marcos Carnaúba, e minha irmã Helma Janielle, e aos meus sobrinhos, Caio e Priscilla e cunhada Walckenise pelos conselhos, pela paciência, apoio, por todo amor.

A minha mãe-irmã Maria José por todo carinho e apoio.

A todos meus familiares.

Ao meu professor orientador, Luciano Farias de Almeida, e a meu coorientador, Valdomiro Lacerda Martins, pelas valiosas orientações, ensinamentos, sugestões, atenção, amizade, compreensão, pelas oportunidades de trabalho e ajuda ao longo dos dois anos de mestrado.

Ao professor Edvan Cirino da Silva pelos seus ensinamentos, constantes discussões, contribuições acadêmicas e científicas e sugestões bastante valiosas para que eu obtivesse um bom êxito no trabalho.

A todos os professores que contribuíram com meu aprendizado desde a graduação até o presente momento.

Ao grupo de Instrumentação em geral do LAQA, mas especialmente a Pedro Lemos, Julys Pablo, Eduardo Lima, Osmundo, pela ajuda, pela amizade, ensinamentos e os momentos de descontração.

Ao professor Mário César Ugulino de Araújo por ceder gentilmente as instalações do LAQA e pelas conversas futebolísticas na hora da descontração.

Aos amigos do LAQA, Márcio Rennan, Lucas Alfredo, Jonathan Pádua, Amália, Ivson, Flaviano, Maurício Monteiro, Willy Castro, Welma Vilar, Urijatan, Aline Santos, Maria Ivanda, Adenilton Camilo, Dayvison Ribeiro, Cleison Eloi, Fátima Sanches, Karla Daniele, Mayara, Janete Clair, Daniel Jackson, Hebert, Francisco Cunha, Sofacles, Renato, Inakã Barreto, Marcelo Lima e Stéfani, Taynna Kevla, Marcelo Silva por toda amizade, ajuda com empréstimo de alguns utensílios de trabalho e pelos momentos de conversas rápidas.

A todos os demais membros do LAQA;

Aos meus amigos Helivaldo Diógenes, Juliana Kelly, Laís Chantelle, Suelen Alves e todos de outros laboratórios pelo DQ, ou de qualquer parte da UFPB, ou pelos que já passaram no meu caminho, e oportunizaram conversas no sentido de ultrapassar aos desafios da vida, o que reitera a certeza do sentimento de amizade;

Aos membros da Banca de qualificação, Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva e Prof. Dr. Ricardo Alexandre Cavalcanti de Lima, pela contribuição e pela compreensão;

A todos os amigos que acreditam em mim.

Ao Programa de Pós-Graduação do DQ/CCEN/UFPB.

A Universidade Federal da Paraíba.

Aos funcionários do DQ/CCEN/UFPB.

A CAPES pela bolsa concedida para o desenvolvimento dessa pesquisa.

*“O que vale na vida não é o ponto de partida e
sim a caminhada. Caminhando e semeando, no
fim terás o que colher.”*

(Cora Coralina)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.2 OBJETIVOS	19
1.2.1 Objetivo Geral	19
1.2.2 Objetivos Específicos	20
1.3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
1.3.1 A Radiação Eletromagnética e suas Propriedades	20
1.3.2 Absorção Molecular no UV-Vis	23
1.3.3 Espectrofotometria UV-Vis: Instrumentação	24
1.3.3.1 Componentes de um Espectrofotômetro e suas Características	26
1.4 DISCOS ÓPTICOS COMO ELEMENTOS DISPERSORES	32
1.5 EMISSÃO EM CHAMA	34
1.6 IMAGENS DIGITAIS	36
1.7 MODELOS DE CORES E SEU USO EM ANÁLISE QUÍMICA.....	38
1.7.1 Modelo de Cor RGB.....	39
1.7.2 Modelo de Cores HSV	41
1.7.2.1 Tonalidade ou Matiz (H)	42
1.7.2.2 Saturação (S)	42
1.7.2.3 Valor ou Brilho.....	43
2 EXPERIMENTAL	44
2.1 DESENVOLVIMENTO DO INSTRUMENTO.....	44
2.1.1 Montagem do espectrofotômetro.....	44
2.2 DIMENSÕES CRÍTICAS NA MONTAGEM DO <i>SpectroPhone</i>	46
2.3 CONSTRUÇÃO DO <i>SpectroPhone</i>	47
2.4 FONTES DE RADIAÇÃO.....	48
2.4.1 Câmara de difusão de luz	49
2.4.2 Grade de difração	50
2.4.3 Detector.....	51
2.5 FUNCIONAMENTO DO <i>SpectroPhone</i>	51
2.6 SOFTWARE DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DE DADOS DO <i>SpectroPhone</i>	52
2.7 Processamento, calibração e análises	54
2.8 ESTABILIDADE DA FONTE DE RADIAÇÃO	58

2.9 VALIDAÇÃO DO <i>SpectroPhone</i>.....	58
2.9.1 Validação/ parâmetro de desempenho	58
2.9.1.1 Limite de Detecção (LOD).....	59
2.9.1.2 Faixa Dinâmica	59
2.9.1.2.1 Limite de Quantificação (LOQ)	59
2.9.1.2.2 Limite de Linearidade (LOL)	60
2.10 Tratamento estatísticos de curva analítica	60
2.10.1 Testes estatísticos para validação dos resultados analíticos.....	63
2.10.1.1 Aplicação do teste <i>t</i> emparelhado baseado no teste de hipóteses	63
2.10.1.2 Aplicação do teste <i>t</i> emparelhado baseado no conceito de intervalo de confiança.....	64
2.11 Aplicações analíticas	65
2.11.1 Aquisição das amostras	65
2.11.2 Reagentes e soluções.....	65
2.11.3 Material e equipamento.....	66
2.11.4 Preparo de amostras.....	66
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	67
3.1 ESTUDO DAS FONTES DE RADIAÇÃO	67
3.2 TRATAMENTO DAS IMAGENS ESPECTRAIS	73
3.3 CONVERSÃO DE COMPRIMENTO DE ONDA/CALIBRAÇÃO	77
3.4 APLICAÇÕES DO <i>SpectroPhone</i>	78
4 CONCLUSÕES	85
4.1 PROPOSTAS FUTURAS.....	86
REFERÊNCIAS.....	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Regiões do espectro eletromagnético com destaque para a região do visível ^[79]	21
Figura 2 – Representação gráfica da interação entre os vetores campo elétrico (E) e campo magnético (B) em uma onda eletromagnética com comprimento de onda λ . S representa o vetor de <i>Poynting</i> , que define a direção de propagação da REM. ^[80] ..	21
Figura 3 – Padrão de interferência gerado pela passagem de ondas plano-polarizadas através de uma fenda ^[35]	22
Figura 4 – Componentes básicos de um instrumento para espectrometria de absorção. Esse diagrama esquemático é referente aos instrumentos multicanais, como por exemplo, instrumentos com arranjo de fotodiodos. Adaptado ^[38]	25
Figura 5 – Espectro de emissão de uma lâmpada de filamento de tungstênio ^[81]	27
Figura 6– Espectro de emissão do LED branco ^[82]	28
Figura 7–Representação do mecanismo de difração de uma rede tipo Echellette ^[37]	30
Figura 8 – Comparação entre a tecnologia de trilhas utilizada no CD e no DVD ^[83] .	33
Figura 9 – Imagem real e sua representação em imagem digitais.	37
Figura 10 – Cores primárias aditivas e cores primárias subtrativo ^[84]	39
Figura 11 – Cubo do Modelo de cor RGB ^[85]	40
Figura 12 – Sistema de cores HSV ^[86]	42
Figura 13 – Vista superior dos módulos do <i>SpectroPhone</i> , suas dimensões e configurações.	44
Figura 14 – Vista em perspectiva dos módulos <i>SpectroPhone</i> no modo de absorção, ilustrando os encaixes dos módulos (a), (b) e (c) e o posicionamento do dispositivo dispersor de luz (d), do suporte da cubeta (e), da fenda (f), haletas internas (g) e das lâmpadas incandescentes (h).	46
Figura 15 – Carregador portátil para celular com alimentação das lâmpadas incandescentes usadas como fonte de radiação. Em detalhe, uma foto do tipo de lâmpada usada.	48
Figura 16 – Dimensões da câmera de difusão da luz.	49
Figura 17 – Diagrama ilustrativo dos procedimentos para corte do DVD.	50
Figura 18 – Espectro ideal, gerado com grade de difração comercial e o espectro gerado pelo fragmento de DVD.	51

Figura 19 – Fotografias capturadas da tela do aplicativo Android desenvolvido.	52
Figura 20 – Espectro do LED branco	67
Figura 21 – Ilustrando o Princípio de Huygens-Fresnel adaptada da fonte [9].....	68
Figura 22– Espectro da lâmpada incandescente	68
Figura 23 – Regiões selecionadas para análise das imagens digitais dos espectros das fontes de radiação utilizadas nos ensaios.	69
Figura 24 – Avaliação da estabilidade das fontes de radiação e de suas configurações. Legenda: LED (Azul), 2 lâmpadas 5,3 V (cinza) e 1 lâmpada 9V (laranja).	72
Figura 25 – Espectro obtido na configuração duas lâmpadas alimentadas com 5,3 V e a seleção da região adequada para análise dos pixels.	74
Figura 26 – Variação de R (linha vermelha), G (linha verde), B (linha azul) e vRGB (linha tracejada) sobre o espectro obtido.....	75
Figura 27 – Espectro de transmitância de filtro passa banda UV, a partir de câmeras digitais (linha fixa) e peça DVD (linha pontilhada).	76
Figura 28 – Resultados de calibração de comprimento de onda. (a) espectro de emissão de sódio 5,0 mg L ⁻¹ pelo <i>SpectroPhone</i> (b) Espectro de absorção de permanganato de potássio 23,7 mg L ⁻¹ obtido pelo espectrofotômetro HP (linha fixa) e pelo <i>SpectroPhone</i> (linha tracejado).	78
Figura 29 – Gráficos de absorbância versus concentração para amostra de Fe(II) utilizando (a) <i>SpectroPhone</i> (b) Espectrofotômetro HP.....	79
Figura 30 – Gráficos de intensidade de sinal versus concentração de Sódio utilizando (a) <i>Spectrophone</i> (b) Fotômetro em Chama Digimed.	80
Figura 31 – Espectro de emissão a partir de um conjunto de cinco soluções de teste de sódio numa faixa de 0,5 a 4,0 mgL ⁻¹ . Imagens espectrais para sinal de sódio de sódio são combinados abaixo de cada pico correspondente.	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Equações para a ANOVA dos dados experimentais adaptados aos modelos lineares.	60
Tabela 2 – Valores de LOD, LOQ e LOL obtido a partir do Spectrophone em seus modos de absorção e emissão e de instrumentos comerciais.	81
Tabela 3 – Concentrações de Fe^{2+} determinados através do uso do espectrofotômetro (HP) e <i>SpectroPhone</i>	82
Tabela 4 – Teores de sódio em soluções de soro fisiológico e amostras de águas naturais usando o fotômetro comercial Digimed e o <i>SpectroPhone</i>	84

LISTA DE SIGLA E ABREVIATURAS

MDF – chapa de fibra de madeira de média densidade (do inglês “*medium density fiberboard*”).

DVD – disco digital versátil (do inglês: “*digital versatile disc*”).

Pixel – elemento de imagem (do inglês “*picture element*”).

RGB – Vermelho-Verde-Azul (do inglês: “*Red-Green-Blue*”).

HSV – Matiz-Saturação-Valor (do inglês: “*Hue-Saturation-Value*”).

ANOVA – análise de variância (do inglês “*Analysis Of Variance*”).

LED – diodo emissor de luz LED (do inglês “*Light-Emitting Diode*”).

CD – disco compacto (do inglês “*compact disc*”).

LDR – resistor dependente da luz (do inglês “*light dependent resistor*”).

PC – computador pessoal (do inglês “*personal computer*”).

EAM-UV/VIS – Espectrometria de Absorção Molecular na Região Ultravioleta-Visível.

FES – Fotometria de Emissão em Chama (do inglês: “*Flame Emission Spectrometry*”).

REM - radiação eletromagnética.

UV-VIS – ultravioleta-visível.

TPU – poliuretano termoplástico (do inglês “*thermoplastic polyurethane*”).

CMOS – semicondutor metal-óxido complementar (do inglês “*complementary metal-oxide semiconductor*”).

LOL – limite de linearidade (do inglês “*limit of linearity*”).

LOQ – limite de quantificação (do inglês “*limit of quantification*”).

LOD- limite de detecção (do inglês “*limit of detection*”).

MP – megapixel.

RSD – desvio- padrão relativo (do inglês “*relative standard deviation*”).

ROI – região de interesse (do inglês “*region of interest*”).

E.V.A – etil vinil acetato.

$||V_{RGB}||$ – norma do vetor RGB.

$||v_{rgb}||^{\circ}$ – norma do vetor rgb do branco

BMP – mapa de bits (do inglês: “*bitmap*”).

IUPAC – União Internacional De Química Pura e Aplicada (do inglês: “*International Union of Pure and Applied Chemistry*”).

DIB-FES – Espectrometria de Emissão em Chama Baseada em Imagens Digitais (do inglês: “*Digital Image-Based Flame Emission Spectrometry*”).

BIT – Dígito binário (do inglês “ *Binary Digit*”).

FWHM – largura total à meia altura (do inglês: “*full width at half maximum*”).

HSB – Matiz-Saturação-Brilho (do inglês: “Hue-Saturation-Brightness”).

h – constante de Planck.

c - velocidade da luz.

Hz – Hertz.

nm – nanômetros.

ν - frequência.

MLR – Regressão Linear Múltipla.

E – Campo elétrico.

B – Campo magnético.

η - Índice de refração do meio.

RESUMO

Título: Desenvolvimento de Espectrofotômetro para Medidas de Absorção/Emissão na Região do Visível Utilizando Mini Lâmpada Incandescente, Mídia de DVD e Smartphone.

Autor: Helton Jader Souza de Oliveira.

Um espectrofotômetro para medidas de absorção/emissão, simples, parcialmente portátil e modo duplo parcial para experimentos quantitativos foi construído usando materiais baratos e disponíveis é proposto neste trabalho. O instrumento, aqui chamado de *SpectroPhone* é composto por módulos confeccionados em MDF, uma mídia de DVD como rede de difração, duas mini lâmpadas incandescentes branca como fonte de radiação e um Smartphone para adquirir imagens e realizar tratamento de dados, como detector. Os pixels de uma região produzida em uma imagens digital fornecem informações qualitativas e quantitativas após a aplicações do HSV e conceitos do modelo de cor RGB, respectivamente. Um simples algoritmo baseado em HSV foi desenvolvido para a conversão dos valores do matiz (H) em seu λ correspondentes. Seu desempenho analítico foi avaliado por meio de análises quantitativas baseados em curvas analíticas, cujos modelos foram validados por meio da análise de variância (ANOVA). O *SpectroPhone* foi aplicado na determinação de Fe^{2+} no modo de absorção em amostras farmacêuticas, e Na^+ , no modo de emissão em soro fisiológico e em água naturais. Para fins de comparação, um espectrofotômetro comercial para o modo de absorção e um fotômetro em chama comercial para o modo de emissão foram empregados para construir as curvas analíticas do instrumento de referência. Aplicando o teste *t* pareado ao nível de 95% de confiança para os resultados de concentrações obtidas com os instrumentos, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa apresentando alta precisão e exatidão. O *SpectroPhone* pode ser considerado uma boa alternativa instrumental para medições espectrométricas, não apenas limitada para fins didáticos e acadêmicos.

Palavras-chave: Espectrofotômetro portátil, DVD, modelo de cor HSV, smartphone, imagens digitais.

ABSTRACT

Title: Development of a portable spectrophotometer for absorption/emission measurement in the visible region using mini lamps Incandescent, DVD Media and Smartphone.

Author: Helton Jader Souza de Oliveira.

A spectrophotometer for absorption measurements / emission, simple, portable and as partially partial dual mode for quantitative experiments was constructed using cheap and available materials is proposed in this paper. The instrument, here called *SpectroPhone* consists of modules made of MDF, one DVD as a diffraction grating media, two mini white incandescent lamps as radiation source and a Smartphone to acquire images and perform data processing, such as detector. The pixels of a region produced in a spectral images provide qualitative and quantitative information after the application of the concepts and HSV color model RGB, respectively. A simple algorithm based on HSV was developed for the conversion of the hue values (H) in their corresponding λ . Its analytical performance was assessed by quantitative analysis based on analytical curves, specimens of which have been validated by analysis of variance (ANOVA). The *SpectroPhone* was applied to the determination of Fe^{2+} in the absorption mode in pharmaceutical samples, and Na^+ , in emission mode and in natural saline water. For comparison purposes, a commercial spectrophotometer for absorption mode and a photometer for commercial flame emission mode were used to construct the calibration curves of the reference instrument. Applying the paired t test at 95% confidence for the results of concentrations obtained with the instruments, it is observed that there was no statistically significant difference showing high precision and accuracy. *SpectroPhone* can be considered a good alternative to instrumental spectrometric measurements, not just limited to educational and academic purposes.

Keywords: Portable Spectrophotometer, DVD, HSV color model, smartphone, digital images.

1 INTRODUÇÃO

Mesmo no século XXI, muitas pesquisas, laboratórios didáticos e de rotina, principalmente os localizados em países pobres ou alguns emergentes, apresentam problemas em relação aos seus recursos financeiros limitados^[1]. Neste fato, é notável uma tendência crescente nas pesquisas com o objetivo de projetar instrumentos simples e de baixo custo que poderiam fornecer informações químicas qualitativa ou quantitativa confiáveis. Alguns desses instrumentos foram aplicados em uma ampla gama de profissionais como os ambientalistas, na monitorização de parâmetros ambientais ^[2-4], professores de ensino médio^[1,5], universidades, análises clínicas^[6-8], etc. Espectrofotômetros portáteis têm sido amplamente desenvolvidos e descritos na literatura^[2, 8-12] beneficiados pelos recentes avanços em tecnologias ópticas, microcontroladores, eletrônicos e de imagem, que fornecem características técnicas que coincide em instrumentos comerciais globais.

Espectrofotômetros com diferentes níveis de complexidade são relatados na literatura. Neste contexto, os autores fazem uso de LED's e lanternas como fontes de radiação ^[3-5, 9, 10,14, 15], CDs ^[9], DVDs ^[16-18] e grades comerciais usados ^[19] como elementos dispersivos; conjuntos ópticos com base no uso da lente ^[19], e menos usuais como detectores de LDR ^[20-23], webcam^[24-26], câmera digital ^[16,27], sendo também microcontrolado ^[9,28], controlado pelo PC ^[15, 29] ou *smartphone* ^[30-33].

O desenvolvimento de instrumentos compactos e portáteis, tendo em vista a facilidade de transporte, manuseio, manutenção, simplicidade de operação e aplicação em análises *in situ* é uma tendência crescente na instrumentação analítica. Atualmente, existem vários instrumentos portáteis comerciais projetados para análises químicas de diversos parâmetros físico-químicos nas mais variadas amostras, utilizando a Espectrometria de Absorção Molecular no Ultravioleta-visível (EAM-UV-Vis) e fotometria de Emissão em Chama (FES). Entretanto, grande parte destes instrumentos é importada e tem grande valor tecnológico agregado e, além disso, a manutenção destes instrumentos são custosos pois requerem os serviços de técnicos ou engenheiros especializados.

Na internet, em especial no site YouTube™, vários internautas têm compartilhado vídeos nos quais são apresentados e descritos instrumentos para registro de espectros de fontes luminosas, os espectrógrafos. Estes instrumentos são produzidos com os mais diversos tipos de materiais (papel, madeira, plástico,

etc.) e fazem uso de uma mídia de DVD como elemento dispersor de radiação e de um dispositivo de filmagem/fotografia oriundo de uma câmera fotográfica ou *smartphone*. Eles são apresentados seguindo a filosofia “*Do It Yourself*”, ou seja, a própria pessoa que acessa o vídeo recebe instruções de montagem e testes, como um vídeo tutorial. Entretanto, a facilidade de montagem apresentada no vídeo contrasta com a complexidade do programa computacional necessário ao seu funcionamento e também de sua calibração. Isto é de se esperar, uma vez que não há relações matemáticas diretas que associem o comprimento de onda de uma radiação eletromagnética com as propriedades dos *pixels* formadores de uma imagem digital. De fato, nos vídeos disponíveis no referido site não são apresentados os programas de análise de imagens e nem mesmo os *links* para descarregar seus arquivos executáveis, frustrando o internauta que esperava ter em mãos um espectrógrafo funcional e de montagem rápida. Outro ponto a ser observado é que a grande maioria dos instrumentos apresentados são apenas espectrógrafos e não espectrofotômetros, perdendo assim seu potencial no campo da Espectroanalítica.

Neste trabalho, é proposta a construção e desenvolvimento de um espectrofotômetro portátil de absorção molecular denominado *SpectroPhone*, o qual opera na região visível do espectro eletromagnético (400 a 700 nm) e faz uso de uma lâmpada incandescente de alta luminosidade como fonte de radiação. Neste instrumento, o espectro visível é gerado através da reflexão da luz proveniente de uma lâmpada incandescente em um fragmento de mídia de DVD fixado em ângulo e distância apropriados para que ocorra a difração/reflexão do feixe de luz. Um programa escrito em ActionScript 3.0, na plataforma Adobe Flash CS6 foi elaborado para o tratamento das imagens digitais obtidas, o qual também executou a função de geração de espectros de absorção molecular e emissão atômica além de cálculos para quantificação de espécies químicas absorventes na região do visível.

Com o uso de um conjunto óptico simples e nenhum circuito eletrônico de alta complexidade (desconsiderando o *smartphone* usado), foi montando um instrumento que apresenta características de dispositivos portáteis, tais como: dimensões reduzidas, gerenciamento por dispositivo móvel (*smartphones*, *tablet*) ou *notebook* e aplicabilidade em análises *in situ*.

Por fazer uso de uma cubeta de vidro ou acrílico e utilizar dispositivos eletrônicos de baixo custo e fácil aquisição, os custos finais do instrumento devem

chegar a R\$ 800, um valor bastante inferior em comparação com instrumentos disponíveis no comércio incluindo o *smartphone*. Além disso, o aparelho apresenta o espectro de absorção das espécies em estudo fazendo com que o analista possa utilizar os dados obtidos em métodos de calibração univariados ou multivariados, possibilitando assim, o uso de técnicas quimiométricas. Este instrumento se mostrou capaz de gerar espectros na região do visível com resolução próxima à de instrumentos comerciais disponíveis no mercado. Por não utilizar partes móveis, fontes de radiação de alta potência elétrica, dispositivos ópticos sofisticados e por ser gerenciado por dispositivos portáteis, este instrumento é facilmente aplicável em análises de campo, em laboratórios de pesquisa, análises de rotina e em laboratórios didáticos de nível médio e superior. Sua resolução no comprimento de onda da radiação emitida será suficiente para executar medições com grande precisão.

O instrumento proposto pode também fornecer espectros de emissão de fontes luminosas com precisão e grande sensibilidade, podendo fornecer, até mesmo, informações quantitativas dentro da região visível a partir de chamas geradas em fotômetros de chama ou mesmo em absorção atômica. Os custos de produção do instrumento aliados às suas características técnicas o tornam uma opção muito atraente frente a instrumentos comerciais, principalmente para instituições de ensino e/ou microempresários do ramo de produtos químicos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Este trabalho consiste no desenvolvimento e validação de um espectrofotômetro de absorção molecular e medidas de análise parcial de emissão em chama na região do visível baseado na utilização de imagens digitais, capaz de obter espectros de absorção molecular e de emissão em chama na região de 400 a 700 nm, parcialmente portátil, compacto, de alta resolução, de simples operação e de baixo custo de aquisição e manutenção.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver o espectrofotômetro: dimensionamento e ajustes iniciais dos componentes;
- Investigar acerca da intensidade da luz gerada pela fonte, do ângulo de reflexão do feixe de radiação e das distâncias entre elemento dispersor e a fonte de luz e entre o elemento dispersor e a câmara do celular tipo *smartphone*;
- Desenvolver um programa em ActionScript 3.0, na plataforma Adobe Flash CS6, para controle, aquisição e tratamento de dados do instrumento;
- Realizar calibrações, testes e ajustes finais do instrumento;
- Obter os parâmetros de desempenho do instrumento;
- Aplicar o instrumento desenvolvido e validado em análises de soluções-padrão de espécies absorventes e amostras através de métodos de referências.

1.3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.3.1 A Radiação Eletromagnética e suas Propriedades

A radiação eletromagnética (REM) interage com a matéria através de diferentes processos e para uma melhor compreensão desta interação, é necessário entender as principais propriedades ondulatórias e corpusculares da luz. Isaac Newton (1642-1727) descobriu que, se a luz branca (do sol) é passada através de um prisma, ela se desdobra em diversas cores (arco-íris), gerando assim o espectro visível da radiação eletromagnética, em destaque na Figura 1.

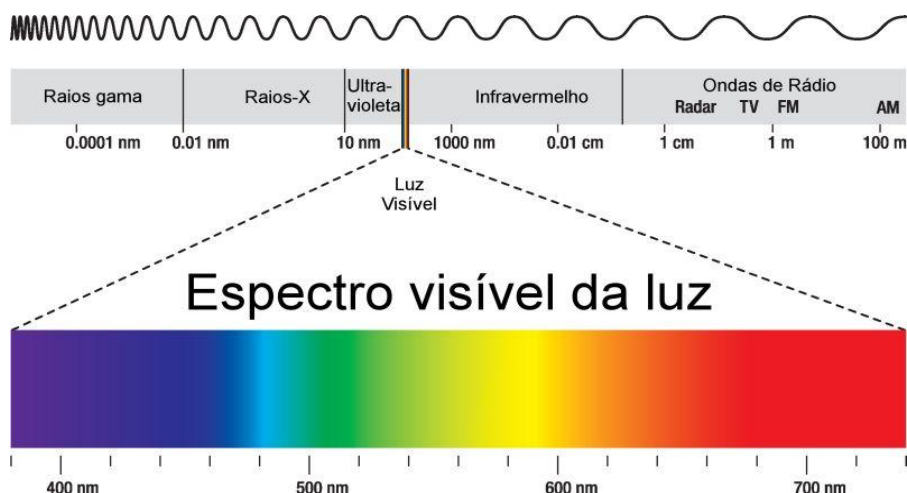


Figura 1 – Regiões do espectro eletromagnético com destaque para a região do visível [79]

O espectro eletromagnético é composto por uma grande faixa ordenada de comprimentos de onda (ou energia) dividida em regiões, de acordo com o tipo de transição energética (eletrônica, vibracional, rotacional ou combinações entre elas). Dentre estas regiões, merecem destaque as regiões do ultravioleta (UV) e do visível (Vis), em decorrência do grande número de métodos analíticos que são baseados em medidas de absorção/emissão de radiação nestas regiões. A região do visível recebe esse nome por poder ser detectada pelo olho humano, possuindo comprimentos de onda (λ) que variam de 400 nm a 700 nm.

Segundo a física clássica, uma radiação eletromagnética é resultante da combinação de um campo elétrico (E) e um campo magnético (B), ambos oscilando em planos perpendiculares entre si, como pode ser visto na Figura 2 [34].

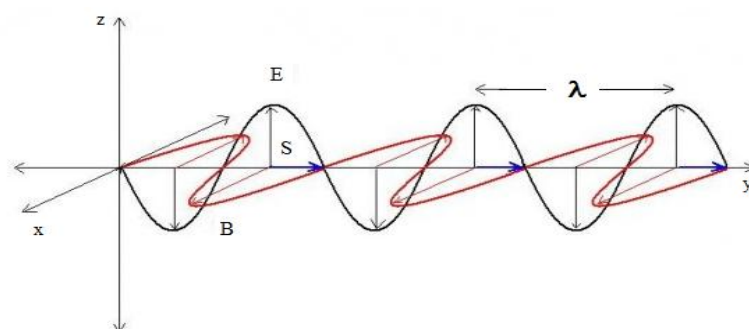


Figura 2 – Representação gráfica da interação entre os vetores campo elétrico (E) e campo magnético (B) em uma onda eletromagnética com comprimento de onda λ . S representa o vetor de *Poynting*, que define a direção de propagação da REM. [80]

Uma onda eletromagnética é caracterizada por um comprimento de onda (λ) que é a distância entre duas cristas consecutivas da onda e também por sua frequência (ν), que é o número de oscilações por unidade de tempo (segundo), λ e ν são expressos normalmente em nm e Hz, respectivamente. Sua velocidade de propagação é máxima no vácuo e é dada por $c = 2,998 \times 10^8$ m/s, e para meios materiais, esta velocidade é atenuada em função do índice de refração do meio (η) na razão c/η . A refração é um fenômeno decorrente da passagem de um feixe de luz entre diferentes meios. Como consequência dessa passagem, haverá uma modificação na velocidade e na trajetória deste feixe, de forma a manter válida a lei da conservação de energia. A reflexão e a difração também são importantes fenômenos associados ao caráter ondulatório da REM. Entre estas, a difração apresenta maior importância por ser a base de funcionamento de dispositivos ópticos destinados a fracionar um feixe de luz em suas componentes de diversos comprimentos de onda, que são os monocromadores de grade de difração. Este fenômeno é descrito na Figura 3 ^[35].

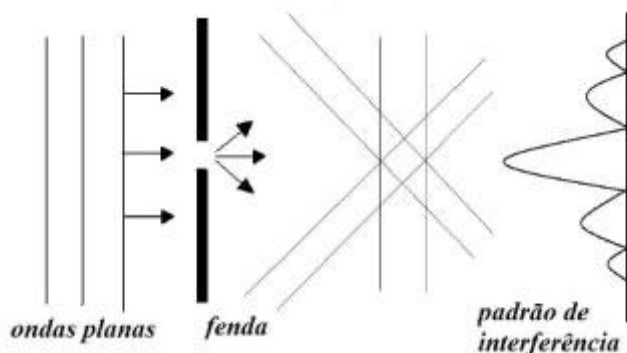


Figura 3 – Padrão de interferência gerado pela passagem de ondas plano-polarizadas através de uma fenda ^[35].

A difração é resultante da interação entre feixes de luz que seguem diferentes caminhos, ocorrendo assim, interferências destrutivas e construtivas entre estes feixes. Isto gera um padrão de interferência no anteparo, onde haverá regiões iluminadas (interferência construtiva) e regiões de escuro (interferência destrutiva). Quando um dispositivo monocromador é acoplado a uma fenda, apenas um comprimento de onda é detectado em um anteparo, porém, na prática, uma pequena faixa de comprimentos de onda é selecionada em função da resolução do dispositivo monocromador ^[34].

A luz também apresenta propriedades corpusculares e pode ser interpretada de acordo com a Teoria dos Quanta, proposta por Max Planck, através do conceito de fótons ou “pacotes de luz” com carga zero e massa de repouso nula, proposto por Einstein no início do século XX, consequência direta da quantização da energia. A energia de um fóton depende diretamente da frequência e é calculada através da equação de Planck, $E = h\nu$, onde h é a constante de Planck, dada por $6,63 \times 10^{-34}$ Js [36].

Outra importante característica corpuscular da luz reside na capacidade de absorção de fótons por moléculas. Este tipo de interação envolve a absorção de luz pela matéria através da incorporação da energia do fóton à estrutura das moléculas absorventes. Um elétron presente em um orbital molecular ϕ pode ser excitado para um orbital molecular mais energético ϕ^* através da absorção de um fóton que tem energia $h\nu$ igual à diferença de energia entre os dois orbitais. Desta forma, ao absorver o fóton, as moléculas absorventes passam do estado fundamental (estado energético mais baixo) para um estado excitado (estado energético mais alto).

Quando a energia do fóton é maior ou menor do que a quantidade de energia necessária para a transição $\phi \rightarrow \phi^*$, o fenômeno de absorção não ocorre. Como o estado excitado é metaestável, a molécula retorna ao estado fundamental após aproximadamente 10^{-8} segundos, com o retorno ao estado fundamental e liberação da energia absorvida na forma de calor, uma vez que o fóton não é direcional.

Estas diferenças de energia nos orbitais moleculares são geradas por alterações nos estados eletrônicos, vibracionais e/ou rotacionais das moléculas. Assim são formadas as bandas de absorção molecular. Estas transições já têm seus mecanismos conhecidos e bem elucidados à luz da Teoria Atômica moderna, a qual teve grande contribuição para a espectroscopia e seu desenvolvimento.

1.3.2 Absorção Molecular no UV-Vis

Os métodos espectroanalíticos são baseados na medida da quantidade de radiação emitida ou absorvida por espécies moleculares ou atômicas. Entre estes, merece destaque a Espectrometria de Absorção Molecular no UV-Vis, que é baseada na absorção de REM no ultravioleta e no visível, importantes faixas do espectro devido à grande quantidade de informações químicas que podem ser exploradas analiticamente. Os grupos químicos capazes de absorver REM são

chamados de cromóforos, grupos de átomos em uma molécula responsáveis por sua cor, que apresentam estrutura eletrônica capaz de absorver fótons. Em geral, esses grupos são sistemas conjugados π ou complexos metálicos [37].

Nestas técnicas, as quantificações são baseadas na Lei de Beer-Lambert, a qual estabelece que a magnitude da atenuação da radiação incidente (P_0) é uma função da concentração dos centros absorventes e da extensão do caminho sobre o qual ocorre a absorção (caminho óptico). Quando um feixe paralelo de REM monocromática passa por uma solução absorvente com espessura b (cm) e com concentração C (mol L^{-1}), a potência radiante incidente do feixe (P_0) é atenuada na solução e emerge dela com potência P . Assim, a transmitância (T) da solução pode ser definida como a razão (P/P_0) da radiação incidente transmitida pela solução. A absorbância (A) tem relação com a transmitância, sendo expressa pela equação $A = -\log T$, e varia linearmente com a concentração, de acordo com a equação $A = \epsilon bC$, onde ϵ é um coeficiente de proporcionalidade denominada absorvidade molar; b é o caminho óptico e C é a concentração da espécie absorvente. O valor de ϵ depende do comprimento de onda do fóton incidente, da estrutura eletrônica do cromóforo, do solvente e da temperatura. Um elevado valor de ϵ indica que o cromóforo possui grande capacidade de absorver radiação eletromagnética em um dado comprimento de onda [37].

1.3.3 Espectrofotometria UV-Vis: Instrumentação

Basicamente, os componentes dos instrumentos usados na espectroscopia de absorção são muito semelhantes em sua função e em seus requisitos de desempenho, quer sejam projetados para a radiação ultravioleta (UV), visível (Vis) ou infravermelho (IV). Quanto à sua montagem, os instrumentos para absorção molecular no UV-Vis podem ser de feixe único ou simples, de duplo feixe ou multicanais e podem diferir substancialmente em seus conjuntos ópticos e na eletrônica utilizada, como será discutido mais adiante. Em geral, os instrumentos espectrométricos para estas regiões apresentam cinco componentes: 1) uma fonte de energia radiante; 2) um sistema seletor de comprimento de onda; 3) um ou mais recipientes para a amostra; 4) um transdutor de radiação; 5) uma unidade de leitura e processamento do sinal. Na figura 4 é apresentada uma representação simplificada de um instrumento espectrométrico.



Figura 4 – Componentes básicos de um instrumento para espectrometria de absorção. Esse diagrama esquemático é referente aos instrumentos multicanais, como por exemplo, instrumentos com arranjo de fotodiodos. Adaptado ^[38].

Os instrumentos espectrométricos são baseados no tipo de seletor de comprimento de onda empregado, podendo ter como base em prismas (em desuso), os filtros de interferência/absorção e as redes de difração. Em geral, o termo “espectrofotômetro” é usado para designar um instrumento que faz uso de uma rede de difração como elemento monocromador.

Nos espectrofotômetros de feixe único, o procedimento de obtenção de espectros de absorção envolve inicialmente o registro de um espectro do ruído de fundo (*background*) ou do solvente ou do ar (a serem utilizados como branco). Arquia-se o mesmo e, em sequência, se obtém o espectro da amostra e se efetua a subtração dos dois. O resultado deve ser o espectro da amostra tendo-se o solvente (ou ar) como branco. O procedimento de calibração consiste em ajustar o nível de 100% de transmitância (zero de absorbância) do equipamento com uma cubeta contendo todos os componentes da solução a ser medida, menos a substância de interesse (“branco”), e o nível 0% de transmitância com o obturador do aparelho fechado. As leituras das amostras serão feitas em relação ao branco, substituindo-o pelas amostras ^[38].

Os espectrofotômetros de duplo feixe possuem um componente denominado obturador eletromecânico (*chopper*), que tem a finalidade de alternar a passagem da luz pela cela de amostra e referências. Os sinais elétricos gerados pelos detectores são amplificados e comparados pelo sistema eletrônico gerando um espectro de absorbância ou transmitância da amostra subtraído do espectro de referência. Para equipamentos de duplo feixe, a radiação proveniente do monocromador é igualmente dividida em dois feixes, que incidem em dois compartimentos, o de referência e o da amostra. O ajuste inicial é feito colocando-se o “branco” nos dois

compartimentos e regulando-se o aparelho para absorbância zero, e as leituras são feitas substituindo-se o "branco" do compartimento da amostra pelas amostras a serem medidas ^[38].

Um espectrômetro é um instrumento que utiliza um monocromador em conjunto com um transdutor para converter a energia radiante em sinais elétricos. Já os espectrofotômetros são instrumentos que permitem a medida da razão entre as potências de dois feixes, uma exigência para se medir a transmitância/absorbância.

Os fotômetros diferenciam-se por empregarem um filtro para seleção de comprimentos de onda em conjunto com um transdutor de radiação. Um das grandes vantagens apresentadas pelos espectrofotômetros está em sua capacidade de registrar espectros de absorção/emissão. Já os fotômetros têm como vantagens a simplicidade e o baixo custo.

1.3.3.1 Componentes de um Espectrofotômetro e suas Características

1.3.3.1.1 Fonte de REM: a fonte de energia radiante deve gerar um feixe de radiação que seja suficientemente potente para permitir sua detecção. Deve gerar também radiação contínua, isto é, deve emitir todos os comprimentos de onda na região espectral utilizada. Além disso, sua potência radiante deve permanecer constante para que as medidas sejam reproduzíveis. Os tipos de fontes mais usadas nos instrumentos para medidas na região UV-Vis são:

- Lâmpada de filamento de tungstênio: incandescente, produz emissão contínua na faixa de 350 a 2500 nm;
- Lâmpada de quartzo-iodo: também conhecida por lâmpada halogênea. Sua principal vantagem é que seu tempo de vida útil é consideravelmente maior que o das lâmpadas de filamento de tungstênio. As fontes de radiação incandescentes são muito aplicáveis na região do infravermelho e do visível, devido a seu padrão de emissão (Figura 5). Elas emitem radiação eletromagnética mais intensamente em comprimentos de onda maiores (acima de 650 nm) do espectro visível mas são pouco eficientes para cobrir a faixa do ultravioleta, devendo assim, operar em temperaturas mais elevadas para apresentar sensibilidade apreciável no início da faixa do ultravioleta (até 340 nm);

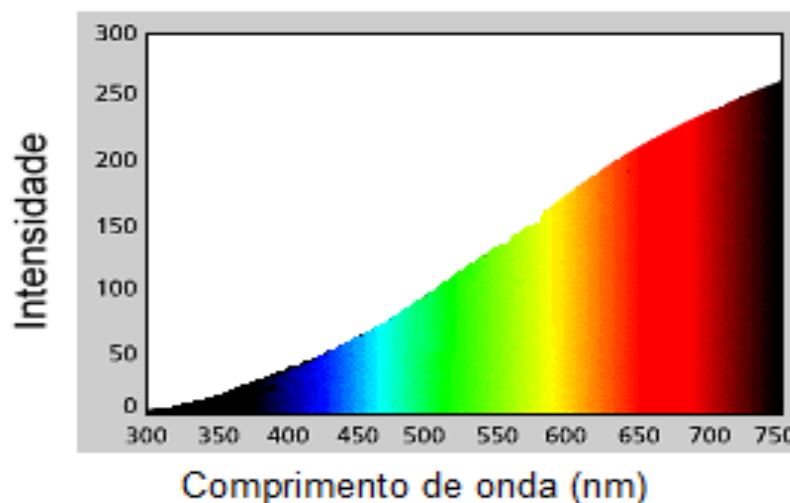


Figura 5 – Espectro de emissão de uma lâmpada de filamento de tungstênio ^[81].

- Lâmpada de descarga de hidrogênio ou de deutério: é a mais usada para emissão de radiação UV. Ao aplicar uma alta tensão em um par de eletrodos fechados em um tubo de vidro com uma janela de quartzo, preenchido com gás hidrogênio (H_2) ou deutério (D_2) sob baixa pressão, produz-se uma descarga de elétrons que excitam outras moléculas gasosas a níveis energéticos mais altos. Quando os elétrons voltam a seus estados fundamentais, emitem radiação contínua de 180 a 370 nm;
- LED (diodo emissor de luz): o LED é um dispositivo semicondutor emissor de luz com estreita faixa espectral, podendo em muitos casos ser utilizado como fonte de luz monocromática. Seu funcionamento se pauta na união de dois cristais, formando uma junção p-n, que permite a condução da corrente elétrica em um único sentido e sua conversão em luz ^[36]. O funcionamento do LED se baseia na injeção de elétrons em uma junção p-n de semicondutores dopados. Ao atravessar a barreira de potencial desta junção um par elétron-lacuna se recombina, ocasionando a extinção mútua e ocorre a formação de uma onda eletromagnética de comprimento de onda característico do material ^[39]. Para se produzir LEDs que emitam em diferentes faixas espectrais, pode-se utilizar como elemento dopante, o alumínio, o arsênio, o fósforo e outros; cada qual alterando significativamente as características do cristal e, conseqüentemente, produzindo cores diferentes de luz no visível, bem como diferentes comprimentos de onda no infravermelho ^[39]. Em comparação com

as lâmpadas incandescentes utilizadas como fonte de luz em diversos equipamentos, os LEDs são mais econômicos, pois consomem menos energia, e em decorrência do baixo consumo, não aquecem e têm uma durabilidade média de 50.000 horas ^[36]. O LED branco que emite radiação cujo espectro é semelhante ao apresentado na Figura 6.

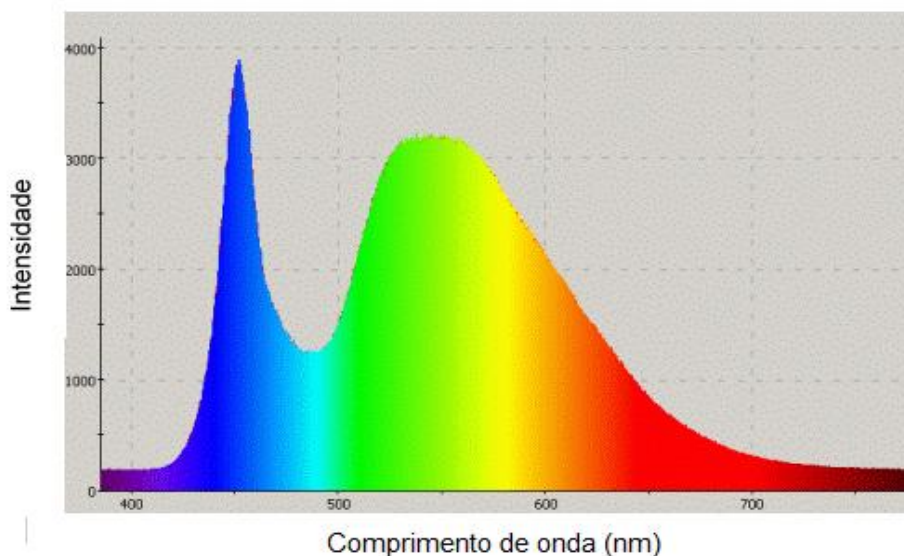


Figura 6– Espectro de emissão do LED branco ^[82].

1.3.3.1.2 Recipientes de amostras: também chamados de cubetas, são construídos com faces óticas perfeitamente polidas, planas, paralelas e devem ser transparentes para a faixa espectral de interesse, permitindo que o feixe passe através da amostra com o mínimo de atenuação por reflexão. Existem hoje no mercado diversos modelos de cubetas com formatos (retangulares, cilíndricas e para análise em fluxo), materiais (quartzo, vidro e acrílico) e caminhos óticos variados (1, 5, 10, 20 e maiores que 50 mm). Em geral, são utilizadas cubetas de quartzo ou sílica fundida em medições na região UV, pois o vidro absorve significativamente radiações abaixo de 380 nm ^[37].

1.3.3.1.3 Monocromadores: um monocromador é um dispositivo óptico usado para isolar um feixe de luz, em um dado comprimento de onda, que está sendo usado na medição, dentro de uma banda o mais estreita possível, e que é absorvida pelo cromóforo em solução. A largura de banda é a largura da banda de radiação em unidades de comprimento de onda tomada à meia altura do pico. A banda de

passagem de um monocromador define a qualidade do dispositivo. Quanto menor a largura de banda melhor a qualidade do monocromador em isolar um comprimento de onda, promovendo maior obediência à Lei de Beer. Os tipos clássicos de monocromadores são: Czerney-Turner (ou de rede) e Bunsen (de prisma). O monocromador mais utilizado em espectroscopia UV-Vis é aquele baseado em redes de difração refletoras e é constituído de uma fenda de entrada de um elemento de dispersão de radiação e de uma fenda de saída (Czerney-Turner). O elemento de dispersão pode ser um prisma ou uma rede de difração [37].

1.3.3.1.3.1 Monocromador prismático: a radiação policromática procedente da fonte de radiação passa pela fenda de entrada e incide sobre a face de um prisma, sofrendo refração. Os prismas de quartzo são indicados para trabalhar na região ultravioleta, embora tenham mais dispersão que o vidro. Na região do visível são empregados prismas de vidro. Os prismas de quartzo apresentam desvantagens de serem altamente refringentes e opticamente ativos [37].

1.3.3.1.3.2 Monocromador reticular: o principal elemento de dispersão dos monocromadores reticulares é a rede de difração. A rede de difração consiste em uma placa transparente ou refletora (cristal, acrílico, platina ou uma superfície aluminizada) com inúmeras ranhuras paralelas e equidistantes (entre 600 e 1400 nm). Na Figura 7 é apresentada uma representação do mecanismo de difração de uma rede do tipo Echelette [37].

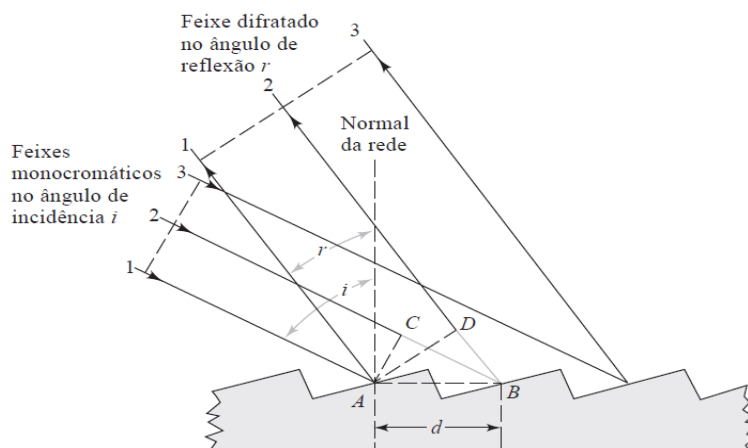


Figura 7—Representação do mecanismo de difração de uma rede tipo Echellette ^[37].

A rede do tipo Echellette é construída de forma em que as ranhuras apresentem faces relativamente largas a partir das quais a reflexão ocorre, bem como faces estreitas que não são utilizadas. Essa geometria fornece uma difração muito eficiente da radiação. Como mostrado na figura 7, um feixe paralelo de radiação monocromática incide sobre a superfície com um ângulo i em relação à normal da rede. O feixe incidente é constituído por três feixes paralelos que criam uma frente de onda. O feixe difratado é refletido com um ângulo r , o qual depende do comprimento de onda da radiação e é definida pela Equação 1 ^[37]:

$$n_{\lambda} = d \cdot (\sin i + \sin r) \quad (1)$$

Onde: n = ordem de difração; λ = comprimento de onda; d = distância entre ranhuras sucessivas; i = ângulo de incidência; r = ângulo de difração.

As redes de difração possuem resolução maior que a dos prismas e podem ser utilizadas em todas as regiões espectrais, além disso, a dispersão resultante desta rede é linear.

1.3.3.1.4 Detector: Para a obtenção da informação espectroscópica, a potência radiante transmitida, fluorescente ou emitida deve ser detectada de alguma forma e

convertida em uma propriedade mensurável. Um detector é o dispositivo que indica a ocorrência de algum fenômeno físico [37].

É fundamental que os detectores fotossensíveis possuam uma sensibilidade de acordo com a intensidade luminosa existente no ambiente em que o espectrofotômetro irá atuar, e sua resposta à excitação recebida deve ser linear. Sua resposta elétrica deverá ser amplificada e indicada por um galvanômetro analógico ou digital, ou outro dispositivo similar como em um gráfico que registra a transmitâncias em porcentagem e/ou absorbância em função do comprimento de onda [40].

1.3.3.1.5 Processamento do sinal e sistema de leitura: Um processador de sinais ordinariamente é um dispositivo eletrônico que amplifica o sinal elétrico proveniente de um detector; pode efetuar a conversão de sinais, variar sua fase e filtrá-lo para remover ruídos indesejados. O processador de sinal pode também ser utilizado para efetuar operações matemáticas sobre o(s) sinal(is), tais como diferenciação, integração, ou conversão logarítmica. Muitos tipos de dispositivos de leitura são encontrados nos instrumentos modernos. Os mostradores digitais, escalas de potenciômetros, registradores, tubos de raios catódicos e os monitores tela plana dos microcomputadores são alguns exemplos [37].

O uso de *smartphones* com fins analíticos, apesar de ser um campo de estudo recente, é amplamente explorado em pesquisas nos últimos cinco anos, de acordo com uma recente revisão [41]. A ampla disponibilidade de *smartphones* equipados com câmeras de alta definição com tecnologia CMOS tem sido explorado como detector para instrumentos fotométricos portáteis. Muitos autores fazem uso de programas computacionais disponíveis na internet para o processamento das imagens e obtenção de informação espectral. Estes programas voltados para Espectroscopia em tempo real (RSpec [62], VSPEC [63], ImageJ [64], etc.) foram desenvolvidas principalmente para aplicações em astronomia e pode ser usado para obter os espectros de absorvância/emissão através de análise matemática de arquivos de imagem. Contudo, os códigos-fonte destes programas são de difícil acesso e usam o modelo de cores em tons de cinza.

Os *smartphones* são caracterizados por apresentarem alto desempenho e poder de processamento devido aos seus processadores rápidos e suficiente memória RAM disponível, o que permite que eles suportem aplicativos sofisticados.

Além disso, a maioria dos *smartphones*, assim como muitos celulares convencionais são equipados com câmeras de alta resolução. As câmeras internas de telefones celulares podem substituir o detector para obtenção de imagens digitais capturadas no decorrer de reações colorimétricas ou fluorimétricas ^[41]. As câmeras de *smartphone* têm estímulos de uniformização em análise óptica de ensaios colorimétricos; funções integradas de balanceamento de cor otimizadas para fotografia em luz ambiente. Recentemente, tem havido várias abordagens para tratar de questões relacionadas com a variação de luz ambiente durante testes colorimétricos ^[42].

GARCÍA et al. (2011) ^[43] apresentou uma plataforma de telefone móvel portátil para análise química. Esta plataforma é baseada na utilização da câmara incorporada para captar a imagem utilizando um único sensor químico colorimétrico, enquanto que um processo desenvolvido por medida da aplicação de software esta imagem para a obtenção do seu valor característico H (tonalidade), que está relacionada com a concentração do analito.

IQBAL et al. (2011) ^[44] analisou amostras de água e areia feita por medidas de refletância usando um telefone celular. A tela do telefone serviu como fonte de luz e sua câmera de frontal, como detector.

GONG et. al. (2013) ^[45] usaram um telefone celular para a estimativa de rendimento de Citrus com técnicas de processamento de imagem, propondo um novo método para estimar a produção de Citrus duas semanas antes da temporada de colheita de uma árvore individual via processamento de imagem usando um telefone móvel Android.

GÓMEZ-ROBLEDO et.al. (2013) ^[46] avaliou se um telefone celular, que tem todos requisitos para capturar e processar imagens digitais, também pode ser capaz de fornecer uma avaliação da cor do solo sob iluminação controlada.

1.4 DISCOS ÓPTICOS COMO ELEMENTOS DISPERSORES

Os CD e DVD são compostos por uma camada de plástico transparente com revestimento de policarbonato. Quando este revestimento é separado das outras camadas do disco, eles comportam-se como rede de difração. Isto é porque o plástico é gravado por microsulcos quase invisíveis a olho nu ^[47].

Os CDs e DVDs mostram uma exibição de cores quando a luz branca cai sobre eles. Isto é devido a informações digitais (onde alterna as ranhuras que são superfícies lisas e refletoras) nos discos que formam as linhas espaçadas que atuam como uma grade de difração refletora. Estas linhas são espaçadas em 1600 nm em um CD e 740 nanômetros em um DVD, como mostra a Figura 8. Estas ranhuras não refletem tanta luz sozinhas, como as porções do disco que separam totalmente. Nestes trechos a luz refletida sofre interferência construtiva em certas direções. Portanto, quando a luz branca é refletida a partir do disco de cada comprimento de onda da luz pode ser visto em um determinado ângulo em relação à superfície do disco produzir um espectro de luz ^[48].

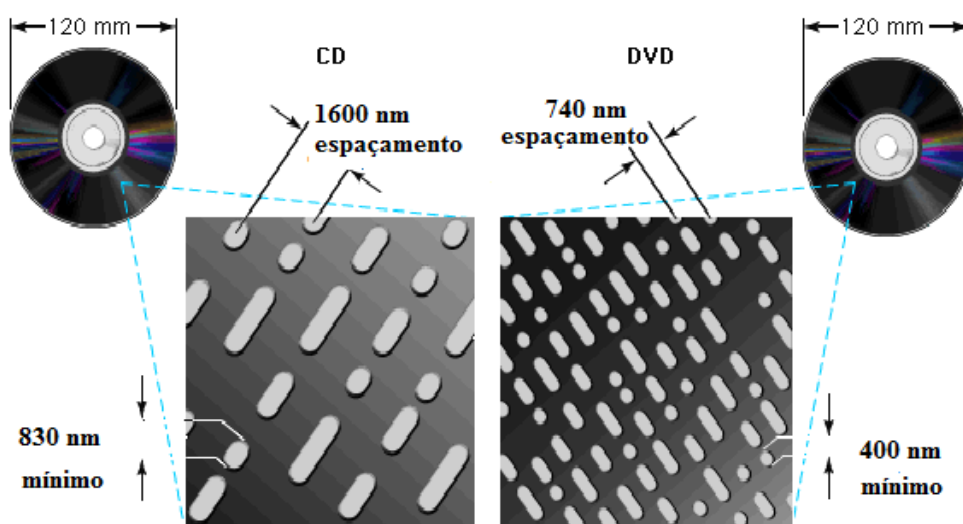


Figura 8 – Comparação entre a tecnologia de trilhas utilizada no CD e no DVD ^[83].

VÉRAS Neto et al. (José Germano Vêras Neto, 2008) ^[49] propôs um espectrofotômetro baseado em LED branco em conjunto com um fragmento de mídia de CD usado como elemento dispersor de radiação. Apesar da aplicação bem sucedida na análise simultânea e multicomponente de corantes alimentícios, este instrumento apresenta partes móveis e não apresenta todas as características de um instrumento portátil. Recentemente, na literatura, foram publicados muitos trabalhos que visam sobre o uso desta estratégia para seleção de radiação, sendo que a grande maioria dos instrumentos desenvolvidos é voltada para a área educacional ou sob forma de espectrógrafos aplicados no ensino de física.

FUMITAKA (2008) ^[50] melhorou o design do espectroscópio de DVD e tornou fácil para capturar a luz e lidar com espectros de absorção, usando um espectroscópio de DVD do tipo periscópio, podendo observar e fotografar os espectros na região do visível com grande resolução que pode ser feito utilizando materiais e de software que podem ser obtidos facilmente e de forma barata. EKO et al. (2011) ^[16] projetaram um espectrofotômetro simples usando papelão, um DVD, uma câmera digital de bolso, um tripé e uma computador, quase nenhum dos instrumentos descritos na literatura foi plenamente explorado em termos de sua potencialidade analítica e nem foram validados através de comparação estatística de dados com relação a instrumentos comerciais. Além disso, as respostas analíticas baseadas em tratamento de imagens digitais geram curvas de calibração não lineares, o que pode incrementar erros nas medições.

Muitos espectrofotômetros com base no uso de grades CD/DVD são aplicados para fins espectrográficos e didáticos. Mesmo apresentando características operacionais e espectrais comparáveis àquelas de instrumentos comerciais, estes projetos bem sucedidos não foram explorados para a análise quantitativa. A primeira tentativa foi publicado por Lema e colaboradores ^[51]. Eles desenvolveram um espectrofotômetro caseiro para o ensino de ciências biológicas e aplicou-o para quantificação de amidos e proteínas. Construíram curvas de calibração para ambos os analitos e descritos procedimentos analíticos utilizados para todos, no entanto, o instrumento foi elaborado para ser introdutório e semi-quantitativa, nenhum processo de validação ou resultados foi apresentado.

1.5 EMISSÃO EM CHAMA

A emissão de luz por parte de espécies químicas excitadas também apresenta a informação química útil em análise quantitativa. Entre as técnicas de emissão óptica optou-se a fotometria de emissão em chama (FES), na qual espécies químicas em seu estado fundamental absorvem energia de uma fonte externa e seus elétrons saltam para um nível eletrônico de maior energia. Permanecem nesse estado por frações de segundo e imediatamente perdem esta energia absorvida, retornando a um nível de menor energia ou ao estado fundamental. Esta desativação produz a emissão de radiação eletromagnética de comprimento de onda para as espécies químicas. O interessante da FES em relação ao escopo desta

dissertação é a emissão de luz na região do visível, pelas espécies excitadas na chama. Esta emissão é constituída normalmente de linhas espectrais ou bandas (no caso da emissão de cálcio em chama) na região visível, úteis na análise qualitativa e quantitativa.

A intensidade da radiação emitida pelas espécies químicas excitadas na chama é diretamente proporcional à concentração das mesmas. A relação entre a concentração e a emissão pode ser expressa pela equação 2:

$$P = k \cdot c \quad (2)$$

Onde: P= intensidade da radiação emitida; k= constante de proporcionalidade; c= concentração

Quando as linhas ou bandas de emissão são selecionadas por mon cromadores, o método é denominado de Espectroscopia de Emissão de Chama ^[40] e, quando a seleção é feita por filtros de interferência ou de absorção, o método é designado como Fotometria de Chama.

Os espectros de emissão de linhas são originados pela excitação dos átomos separados. Quando as espécies químicas são atomizadas em um meio gasoso, os átomos comportam-se de forma independente, produzindo um espectro de uma série de linhas finas com aproximadamente 0,001 nm de largura. O espectro de emissão de cada elemento tem comprimentos de ondas definidos, o que permite a caracterização deste elemento pela localização de suas linhas de emissão no espectro eletromagnético. Vários elementos presentes em uma amostra, quando excitados eletronicamente, emitem individualmente seu espectro característico. É importante salientar que os comprimentos de onda emitidos são idênticos aos comprimentos de onda absorvidos por fontes de radiação específicas destes elementos.

Já os espectros de banda são constituídos de bandas formadas por linhas espectrais muito próximas umas das outras que não são distinguidas pelo sistema seletor de radiação do instrumento. São resultantes da emissão de pequenas moléculas ou radicais gasosos presentes nas fontes de emissão a partir de transições entre numerosos níveis vibracionais quantizados superpostos presentes os níveis de energia eletrônica da molécula. Na verdade, em uma molécula, existem

várias linhas de emissão resultantes das excitações vibracionais e, ainda, uma multiplicidade de linhas procedentes da emissão provocada também pela excitação de inúmeros níveis rotacionais, embora a diferença entre os níveis rotacionais. A radiação emitida pela excitação das espécies poliatômicas próximas sempre envolve uma transição do mais baixo nível vibracional do estado eletrônico excitado para um dos vários níveis vibracionais do estado fundamental.

A coloração da chama, oriunda de espectros de linhas ou de bandas pode ser registrada por qualquer dispositivo fotográfico e, por conseguinte, se tornar uma fonte útil de informações químicas qualitativas e quantitativas.

LYRA et al. (2009) ^[52] desenvolveram um método espectrométrico de emissão em chama baseado em imagens digitais (DIB-FES). Um modelo matemático foi proposto para construção das curvas analíticas e estimar os parâmetros de desempenho desenvolvido. Esta abordagem consiste na decomposição da imagem em seus componentes individuais R, G e B e seus valores foram usados para definir um vetor posição no espaço tridimensional RGB. A norma deste vetor é então adotado como o valor baseado no RGB (resposta analítica), e revelou-se linearmente relacionado com a concentração do analito. O método foi aplicado na determinação de lítio em comprimidos antidepressivos, sódio em soro fisiológico e cálcio em águas.

LYRA et al. (2011) ^[25] propôs um método de espectrometria de emissão em chama baseada em imagem digitais (DIB-FES) para determinação indireta do diclofenaco de sódio, dipirona sódica e gluconato de cálcio em formas de injetáveis. O método DIB-FES proposto utiliza imagens digitais obtidas a partir de uma webcam, com base no sistema RGB, onde oferece uma maneira simples e barata de quantificar estas substâncias orgânicas utilizando a radiação emitida pelos metais alcalinos e alcalinos-terrosos presentes nas suas fórmulas.

LYRA et al. (2014) ^[53] propõe a regressão Linear Múltipla (MLR) e espectrometria de emissão baseada em imagem digitais (DIB-FES) para superar a interferência espectral inerente à Espectrometria de Emissão em chama (FES), quando sódio e cálcio estão presentes na mesma amostra, onde os metais na chama de ar-butano emitem radiação que é revelada na imagens digitais captadas por uma webcam (detector), a partir do sistema RGB.

1.6 IMAGENS DIGITAIS

As imagens digitais são formados após o registro através de um dispositivo eletrônico, onde ocorre a conversão de uma imagem real em uma imagem analógica (monocromática ou colorida), este processo de conversão é denominado transdução optoeletrônica, que representa a redução da dimensionalidade da imagem. A transdução optoeletrônica baseia-se na conversão de energia luminosa incidente sobre o objeto em sinal elétrico, que são configurados de modo a fornecer a imagem analógica. Porém, as imagens analógicas capturadas por dispositivos eletrônicos não podem ser processadas por computadores, a não ser em termos de matrizes de números digitais. Portanto, precisam passar por um processo de digitalização que consiste na criação de uma matriz $m \times n$ pontos (Figura 9), onde cada ponto é denominado pixel ou elemento de imagem, e cada pixel representa o nível de sinal naquele ponto. Para um determinado pixel, 256 níveis de cores podem ser obtidos, variando no intervalo de 0- 255 [54,55].

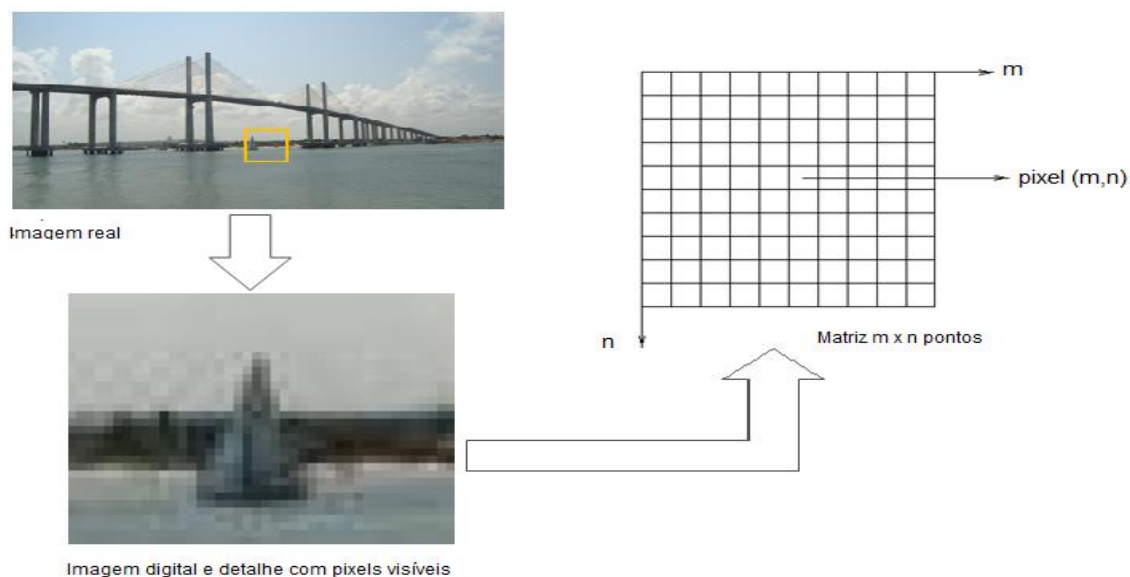


Figura 9 – Imagem real e sua representação em imagens digitais.

BENEDETTI, et. al. (2015) [56] propuseram um método analítico de baixo custo para a quantificação de etanol em bebidas com base na combinação de um ensaio de mancha e um método colorimétrico baseada em imagem digital (DIB).

ASSAD, et. al. (2002) [57] para eliminar divergências na interpretação dos resultados e agilizar os atuais métodos de detecção de fraudes em café torrado e

moído, foi estabelecido um método baseado na análise por imagem e fundamentado no princípio de que diferentes materiais de origem orgânica, como o pó de café, podem apresentar refletâncias distintas em diferentes comprimentos de onda do espectro eletromagnético. Partiu-se da hipótese de que o pó de café adulterado, quando submetido a uma fonte artificial de iluminação, apresenta uma refletância, nos canais vermelho (R), verde (G) e azul (B), diferente em relação à do pó de café não-adulterado.

KOHL, et. al. (2006) ^[58] descreve um experimento simples em que o princípio da absorção pode ser demonstrada através de análise de imagem digital a cores.

1.7 MODELOS DE CORES E SEU USO EM ANÁLISE QUÍMICA

Inicialmente o uso de imagens digitais nas ciências analíticas fazia parte do cotidiano apenas da microscopia. Hoje em dia é perceptível a importância do uso de imagens digitais, seja como detector analítico ^[59] seja como meio de obtenção de informações úteis em outros campos do conhecimento ^[60]. Sob este aspecto é incontestável a grande revolução que o emprego das imagens digitais provocou não apenas nas ciências da saúde (por meio de diagnóstico por imagens), nas ciências biológicas e na química, mas nas ciências como um todo com auxílio de uma alta tecnologia.

Todo modelo de cor tem como finalidade principal especificar as cores de modo padronizado e de fácil assimilação por parte de quem usará este modelo. Um modelo de cor é uma especificação de um sistema de coordenadas tridimensionais e um subespaço dentro desse sistema, onde cada cor é representada por um ponto ^[61].

O desenvolvimento da maioria dos modelos de cor foi orientado para utilização em periférico de saída de microcomputadores (monitores coloridos e impressoras) ou aplicação na manipulação de cores (criação de gráficos para animação).

As informações espectrais de imagens digitais podem ser obtidos através de funções presente no software com base em modelos matemáticos de sistemas de cores como RGB, HSV, CIElab, CIEXYZ ^[65]. Os modelos de cores HSI (matiz, saturação, intensidade) e HSV (matiz, saturação, valor) são os mais utilizados para o tratamento de imagens em cores ,enquanto que para o processamento de imagem

mais utilizados são RGB e HSI. Os modelos CIE são baseiam-se na percepção da cor pelo sistema visual humano e foram melhoradas através de décadas para ser completamente independente de qualquer dispositivo ou outro meio de transmissão ou reprodução. Estes modelos são mais elaboradas e não tão fácil de implementar em programação de software. Por outro lado, o modelo HSV é o mais simples do que o CIE e podem fornecer resultados satisfatórios para a representação das cores espectrais.

Os modelos de cores mais usados consistem naquelas baseados nas definições do RGB (Red- vermelho, Green- verde e Blue- azul), CMY (Cyan-ciano, Magenta- magenta e Yellow- amarelo), HSI (Hue- matiz ou tonalidade, Saturation- saturação e Intensity- intensidade), HSV (Hue- matiz ou tonalidade, Saturation- saturação e Value- valor), entre outros. Porém neste trabalho apenas o RGB e o HSV serão abordados e detalhados nas seções seguintes.

1.7.1 Modelo de Cor RGB

O sistema RGB são cores aditivas formadas por vermelho, verde e azul, também denominados de primárias, como mostrando na Figura 10(a), que o olho humano pode perceber, em diferentes níveis de radiação ^[66]. O sistema RGB está relacionado com os fenômenos de absorção e reflexão da luz, pois as cores que são perceptíveis ao olho humano estão diretamente relacionadas à luz que um objeto é capaz de refletir ^[61].

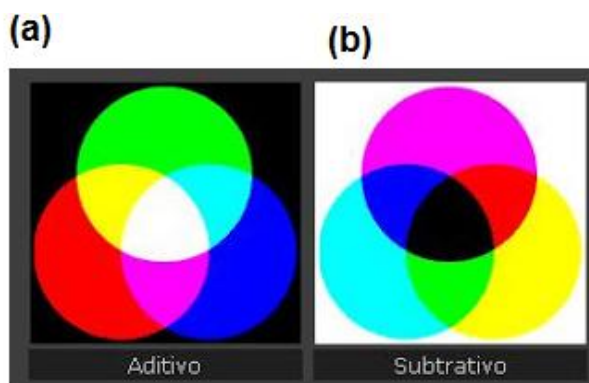


Figura 10 – Cores primárias aditivas e cores primárias subtrativo ^[84].

A mistura das cores dominantes, também chamadas de primárias aditivas, em diferentes combinações e níveis variados de intensidade pode gerar praticamente todas as cores existentes no espectro da região do visível. Se a luz refletida contém a máxima intensidade das cores vermelha (R), verde (G) e azul (B), o olho humano, através da retina, converte a informação em estímulo elétrico e a transmite para o cérebro, o qual interpreta que a cor do branco, e se não existe luz, é percebido o preto [65].

Combinando duas cores aditivas primárias será produzida uma cor secundária (ou primária subtrativa) como mostrando na Figura 10(b). As cores secundárias (ciano, magenta e amarelo) são as cores complementares ao vermelho, verde e azul, respectivamente. O princípio de percepção de cores pelo olho humano tem sido copiado e explorado pelos fabricantes de *scanners* a cores e monitores de vídeo. O método de interpretação da cor usado pelos dispositivos é baseado diretamente na resposta do olho humano aos estímulos das radiações vermelha, verde e azul.

O sistema de cores RGB, este pode ser representado por vetores nas dimensões de um cubo unitário (Figura 11), que é um sistema de coordenadas cartesianas, em que os valores de R, G e B assumem valores que vão de 0 a 255 (em resolução de 8 bits).

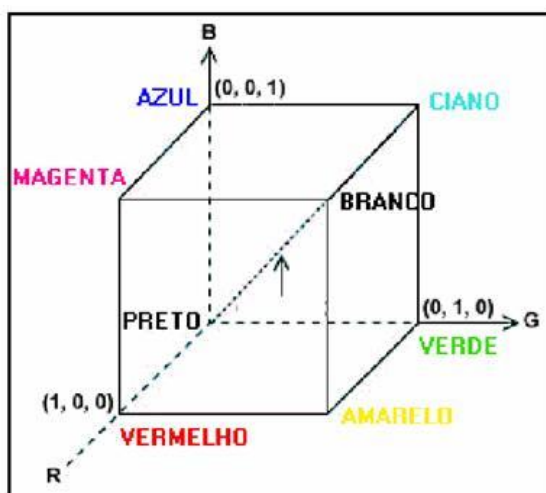


Figura 11 – Cubo do Modelo de cor RGB [85].

Neste cubo, os eixos R, G e B representam a contribuição de cada cor primária aditiva com intensidades variando na faixa 0-255 (8 bits), na formação das demais cores, ou seja, com 256 níveis de intensidade totalizando 16,7 milhões de cores. Cada par de eixos gera um plano em que são representadas as cores

secundárias (contribuição equitativa de duas cores primárias) no vértice de cada plano. A interseção dos três planos define a cor preta, localizada na origem do sistema com vértice $(0,0,0)$, que indica a ausência de cores (não há contribuição de nenhuma das cores primárias aditivas) ao contrário da cor branca (mistura equitativa das três cores primárias com intensidade máxima), correspondendo ao ponto de coordenadas $(1,1,1)$. A escala de cinza é indicado pela linha da diagonal principal deste cubo estendida da cor preta até a cor branca ^[67].

Uma imagem digital pode ser analisada em termos de valores RGB de seus pixels e depois ter esses valores convertidos em um dado modelo de cor adequado a aplicação analítica. No caso de um espectrofotômetro é necessário associar, através de uma função adequada, os valores dos parâmetros do sistema usado com os comprimentos de onda das cores espectrais.

Embora estas funções definam bem de acordo com a visão humana, ainda não há uma relação matemática direta entre os parâmetros das funções e comprimentos de onda, sendo necessário, efetuar uma calibração no modelo matemático gerado a partir da matriz de pixels da imagem analisada utilizando fontes de luz de referência e um espectrofotômetro para comparar os comprimentos de onda obtidos.

1.7.2 Modelo de Cores HSV

O modelo HSV é a abreviatura para o sistema de cores formadas pelas decomposição de três canais: matiz ou tonalidade (Hue- H), saturação (Saturation- S), e valor (Value-V).

Também chamado de cônico, este modelo também é uma recodificação do modelo RGB. O vértice corresponde à cor branca que também é projetado sobre o mesmo plano no qual os vértices equatoriais são projetados. O sólido de cor gerado nessa operação é um cone (Figura 12). Entretanto a saturação (S) é definida como a distância radial do eixo central, no qual um valor dentro da escala de cinza é gradativamente modificado até atingir uma cor pura (variando também de 0 a 1) e a altura do cone é denominado de valor ou brilho, o qual é definido como acréscimo de branco de uma cor, também variado de 0 a 1.

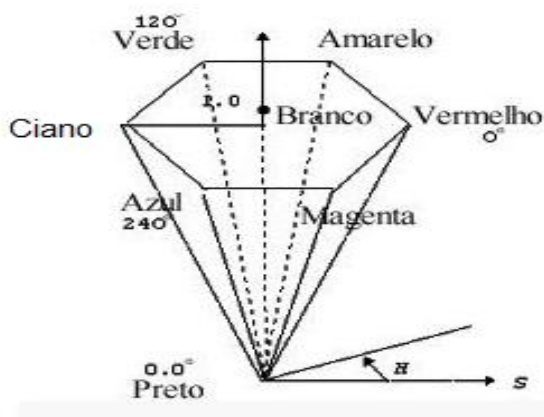


Figura 12 – Sistema de cores HSV ^[86].

Esse sistema também é conhecido como HSB (Hue, Saturation e Brightness) - matiz ou tonalidade, saturação e brilho, respectivamente). Esse sistema de cores define o espaço de cor descrito abaixo, utilizado seus três parâmetros:

1.7.2.1 Tonalidade ou Matiz (H)

É a medida do comprimento de onda médio da luz que ele reflete ou emite, definindo a cor do objeto, ou seja, traz a informação da cor em si, definindo se ela é vermelha, verde, amarela, etc. Seus valores variam de 0° a 360° .

1.7.2.2 Saturação (S)

A saturação indica a pureza da cor, de modo que quanto menor seu valor, menos se percebe a presença do matiz cor, de tal forma que as cores que apresentam saturação 0 constituem o conjunto de escala de cinza. Quanto maior seu valor, mais “pura” é a cor da imagem. Este parâmetro expressa o intervalo de comprimento de onda ao redor do comprimento de onda médio no qual a energia é refletida ou transmitida. Sua faixa de valores é de 0 a 100%.

1.7.2.3 Valor ou Brilho

O valor determina o brilho, sendo que cores claras possuem altos valores de V, ao passo que cores escuras possuem baixos valores de V, onde o brilho da cor varia de 0 a 100 %.

2 EXPERIMENTAL

2.1 DESENVOLVIMENTO DO INSTRUMENTO

2.1.1 Montagem do espectrofotômetro

O *SpectroPhone* é composto de 3 módulos distintos apresentados na Figura 13. Para possibilitar seu uso em duas diferentes técnicas espectrométricas (emissão e absorção), o *SpectroPhone* foi projetado usando um sistema de encaixe multimodular.

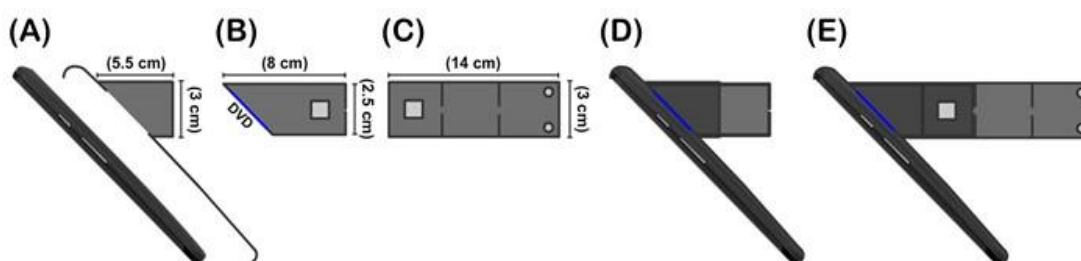


Figura 13 – Vista superior dos módulos do *SpectroPhone*, suas dimensões e configurações.

Cada módulo foi denominado de: Módulo de fixação no smartphone (A); Módulo de emissão (B); Módulo de absorção (C). Em (D) e (E) são apresentadas as configurações para medições no Modo de Emissão e no Modo de absorção, respectivamente. A luz oriunda da chama (de um fotômetro comercial) ou das lâmpadas passa pela fenda óptica presente no módulo de emissão, a qual tem largura de 0,5 mm aproximadamente, e segue até o fragmento de mídia dispersor, passando pela cubeta somente no modo de absorção.

O módulo de fixação do smartphone (Figura 13 A) consiste de um suporte oco conectado a uma “capa” de celular de poliuretano termoplástico (TPU). O suporte é feito em MDF com dimensões aproximadas de 5,5 cm x 3,0 cm x 3,0 cm (comprimento x largura x altura), onde este suporte tem o seu eixo central perfeitamente alinhado com a lente da câmera. Foram feitos dois suportes ocos de MDF com aproximadamente as mesmas dimensões para fixar em capas diferentes totalizando duas capas de poliuretano rígida compatível com os modelos dos *smartphones* utilizados que foram o Motorola RAZR D1 e o Moto G segunda

geração. O conjunto foi projetado e fixado de modo a impedir o deslocamento da câmera do *smartphone* em qualquer direção, garantindo que as imagens geradas mantenham as mesmas coordenadas espaciais (em pixels) em todas as fotografias tiradas.

A aquisição de dados é realizada pela câmara do smartphone através de um fototransdutor CMOS (complementary metal-oxide-semiconductor) com as configurações padrão de fábrica foram mantidos, a fim de evitar qualquer distorção nas imagens geradas, assim como o seu tratamento das imagens e os cálculos de quantificação através do uso de um software desenvolvido especialmente para este instrumento, e que será descrito em maiores detalhes em seção posterior.

No módulo de emissão com a dimensão aproximada de 8,0 cm x 2,5 cm x 2,5 cm (comprimento x largura x altura) (Figura 13 B) estão localizados o fragmento de mídia de DVD, com um ângulo de inclinação de 45 graus, e a fenda óptica. Responsáveis pela geração do espectro da radiação incidente e pela atenuação desta. Neste módulo, também se localiza o suporte da cubeta. Entretanto, no modo de leitura por emissão, a cubeta não é inserida no suporte e a fenda fica exposta na face oposta à do fragmento de DVD. O ângulo e o posicionamento do fragmento de DVD são parâmetros críticos para o perfeito funcionamento do *SpectroPhone* e foram descritos na seção 2.5 em maior profundidade. O módulo B é acoplável com os módulos A e C, devido a ser um pouco estreito do que os últimos, o que permite a conexão perfeita entre eles.

No módulo de absorção com a dimensão aproximada de 14,3 cm x 3,0 cm x 3,0 cm (comprimento x largura x altura) (Figura 13 C), estão localizadas a fonte de radiação eletromagnética e as haletas de difusão de luz. Este módulo encaixa perfeitamente no módulo de emissão, permitindo que a radiação eletromagnética oriunda das lâmpadas passe através da fenda e da cubeta, alcançando posteriormente a rede de difração. As configurações de acoplamento dos módulos para cada modo de operação são apresentados nas Figuras 13 D e 13 E. Na Figura 14, é apresentada uma ilustração em perspectiva dos módulos *SpectroPhone*.

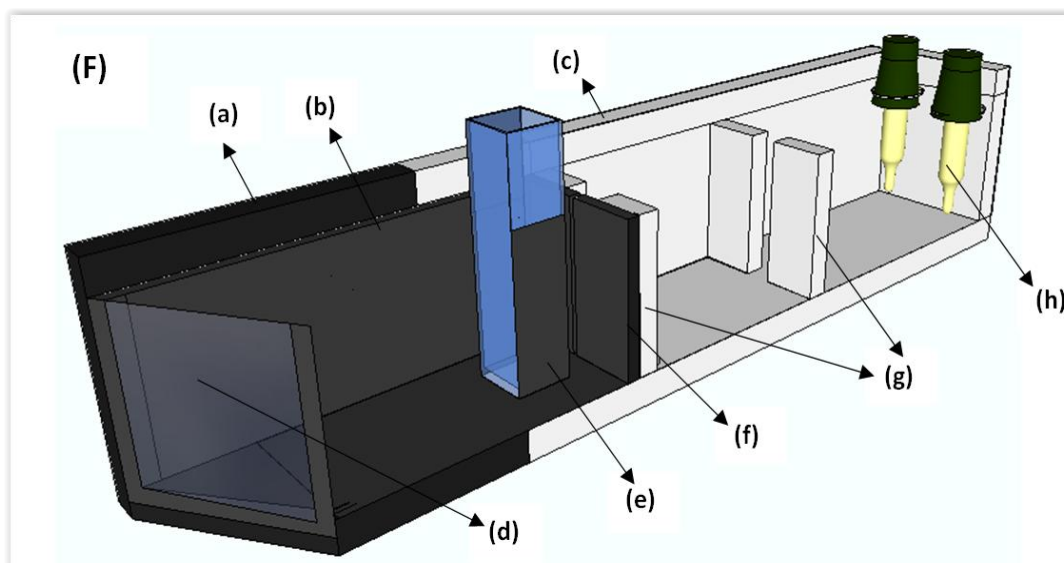


Figura 14 – Vista em perspectiva dos módulos *SpectroPhone* no modo de absorção, ilustrando os encaixes dos módulos (a), (b) e (c) e o posicionamento do dispositivo dispersor de luz (d), do suporte da cubeta (e), da fenda (f), haletas internas (g) e das lâmpadas incandescentes (h).

Suas superfícies internas foram pintadas de preto, para impedir a entrada e reflexão de radiação espúria. O molde do suporte da cubeta é composto de duas trilhas laterais de MDF cobertas com emborrachado E.V.A (ETIL VINIL ACETATO) preto e um suporte quadrado na parte de baixo da peça, de modo a permitir a entrada da cubeta em apenas uma posição possível e impedir sua movimentação durante o uso do equipamento. O módulo de absorção Figura 14(c), também produzido em MDF, porém com toda a sua parte interna pintada de branco, maximizando a reflexão da luz em seu interior, constituindo assim, uma **câmara de difusão de luz**. É utilizado somente em medidas de absorção molecular e em seu interior foram fixadas haletas dispostas como obstáculos os quais fazem com que a luz das lâmpadas apresente um padrão de fonte de radiação não pontual.

2.2 DIMENSÕES CRÍTICAS NA MONTAGEM DO *SpectroPhone*

Comumente, distâncias e ângulos são variáveis a serem otimizadas em sistemas ópticos, neste trabalho estes foram o ponto de partida. Para os ensaios iniciais foi utilizando um LED ultra brilhante branco como fonte de radiação. O caminho óptico de luz da lâmpadas para cortar DVD não deve ser muito longo, nem muito curto, principalmente devido a perdas significativas de energia radiante (caso

muito tempo) e devido à alta saturação nos sensores da câmera CMOS (caso muito curto). Assim, com os ensaios realizados foi encontrado um comprimento total de 19,5 centímetros, em relação ao maior lado de módulos montados, pois apresentaram resultados satisfatórios. Além disso, este comprimento não comprometeu a estabilidade mecânica da estrutura do *SpectroPhone*.

As faixas de gravação do DVD foram cortadas para serem alinhadas o mais paralelo possível em direção a fenda, produzindo uma imagem espectral de modo que cada coluna de pixels da região recortada apresenta apenas um valor da matriz e conseqüentemente, apenas um comprimento de onda correspondentes. Era uma condição fundamental para a reprodutibilidade no cálculo de λ e sua atribuição em espectros gerados.

A grade de difração de DVD foi colocada a um ângulo exato de modo que a primeira ordem de feixes difratados sairá aproximadamente perpendicular à grade. Com $\theta=45^\circ$ a distribuição de cores em imagens espectrais que verificou-se ser homogêneo, muito próximos aos apresentados no modelo cônico HSV e até mesmo no diagrama de cromaticidade. Como consequência, os cálculos de comprimento de onda baseados em valores de matiz foram realizados com elevada precisão. Além disso, a primeira ordem de difração garante maior sensibilidade e faixa dinâmica para análise quantitativa em ambos os modos de absorção/ emissão, intensidades de cor mais altas, uma vez rende valores $||v_{RGB}||$ mais elevados.

A largura da fenda deve ser grande o suficiente para fornecer sensibilidade adequada nas medidas, principalmente para o modo de emissão, em que a chama de emissão do fotômetro de chama apresenta baixo consumo de energia radiante. Para fendas $< 0,5$ milímetros valores de LOD e LOQ aumentaram significativamente e faixa dinâmica $< 3,0 \text{ mgL}^{-1}$. Resolução espectral satisfatória e melhorias significativas em dados quantitativos foram alcançados usando fenda de largura 1,0 mm, obtivemos uma média de resolução espectral em torno de 0,5.

2.3 CONSTRUÇÃO DO *SpectroPhone*

Durante a construção do *SpectroPhone*, priorizaram-se materiais baratos e facilmente encontramos em casas comerciais (os acessórios utilizados tiveram um orçamento de aproximadamente R\$ 800,00, tanto em infraestrutura quanto nos

dispositivos utilizados, incluindo o *smartphone*), um valor bastante inferior em comparação com instrumentos disponíveis no comércio.

Optou-se por uma configuração instrumental de feixe simples pela sua simplicidade estrutural, considerando-se também que seja uma alternativa economicamente viável, confiável, portátil (*handheld*) e com medidas rápidas para análises químicas espectrométricas, não apenas limitada para fins didáticos e acadêmicos.

2.4 FONTES DE RADIAÇÃO

No estudo das fontes de radiação do espectrofotômetro, foram realizados ensaios com LEDs brancos de alta intensidade e lâmpadas incandescentes de forma a estudar e eleger a melhor fonte de radiação em função de seus espectros de emissão. Nestes ensaios, as fontes de luz foram acopladas no instrumento e seus espectros foram registrados e analisados posteriormente. O *SpectroPhone* foram utilizadas duas lâmpadas incandescentes, oriundas de um pisca-pisca natalino, alimentadas por um carregador de bateria portátil conforme ilustrado na Figura 15, que produz uma tensão de 5,3 V e a corrente consumida pelas lâmpadas é de aproximadamente 0,2 A.



Figura 15 – Carregador portátil para celular com alimentação das lâmpadas incandescentes usadas como fonte de radiação. Em detalhe, uma foto do tipo de lâmpada usada.

2.4.1 Câmara de difusão de luz

As dimensões críticas são: o ângulo do fragmento de DVD (θ) entre os módulos A e B; largura da fenda e o caminho óptico da fonte de luz. Um diagrama do *SpectroPhone* mostrando as suas peças principais, as dimensões e distâncias usadas na construção desta câmara é apresentado na Figura 16. A disposição física dos obstáculos inseridos ao longo do caminho da radiação e suas dimensões foram baseadas no princípio de Huygens-Fresnel ^[68], o qual descreve a forma de propagação de ondas. Com uma configuração física adequada à radiação oriunda das fontes padrão similar às fontes puntiformes (lâmpadas de bulbo) assume um padrão de radiação com feixes de luz paralelos, simulando o efeito físico de uma lente colimadora. Este também é um aspecto crítico no funcionamento do *SpectroPhone*.

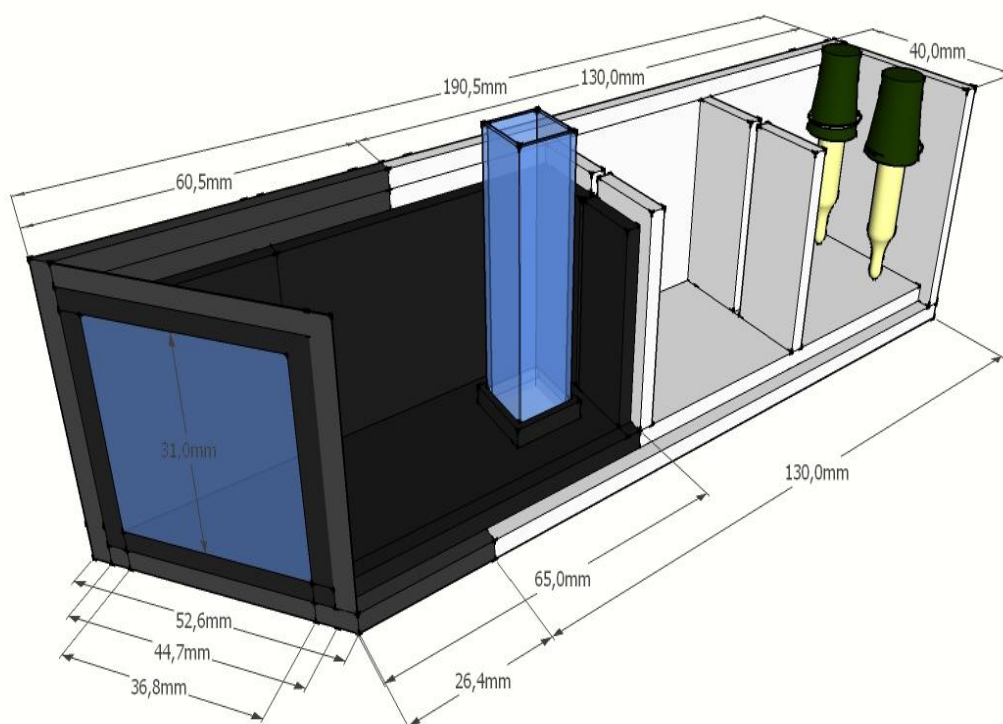


Figura 16 – Dimensões da câmara de difusão da luz.

2.4.2 Grade de difração

Foi usado um fragmento de DVD virgem como grade de difração, as pistas de gravação são círculos espaçados por 0,74 mm, o que produz uma grade cerca de 1350 linhas mm^{-1} . Inicialmente, para que este fragmento possa ser usado como rede de difração é necessário retirar a película reflexiva presente na face de leitura do DVD. Para tanto, um pedaço de fita isolante foi firmemente aderido na face de leitura e logo após efetuar um puxão rápido. O procedimento é repetido até que seja obtida a área sem película necessária para o corte do fragmento. Para a preparação da grade de difração, tomamos o cuidado especial no procedimento para evitar danos de toques acidentais usando luvas de látex e cobrimos a superfície da bancada com o pano para evitar arranhões.

Em forma retangular de 4,47 centímetros x 3,10 centímetros. O processo de corte do DVD foi realizado de acordo o diagrama esquemático na Figura 17.

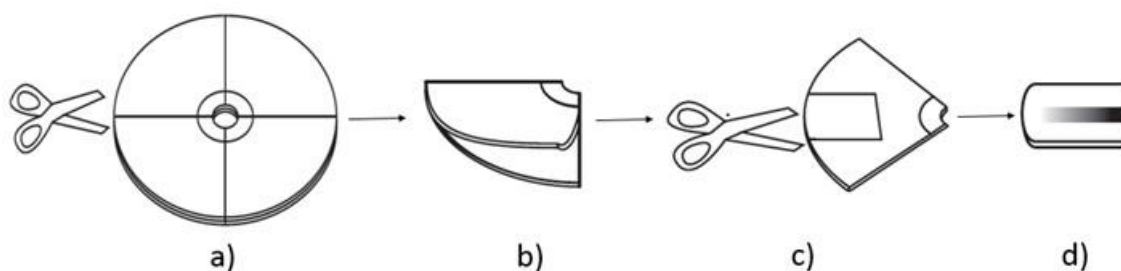


Figura 17 – Diagrama ilustrativo dos procedimentos para corte do DVD.

Os procedimentos foram: a) corte inicial b) separação da camada reflexiva c) corte da região do espectro d) posição de encaixe do módulo II. Vale salientar que o passo “b” pode ser efetuado antes do passo “a”, sem que haja prejuízos à qualidade do fragmento.

Antes de iniciar o corte do fragmento, foi removida completamente a camada reflexiva do disco. Após isto, o DVD foi cortado em quatro quadrantes. Em uma grade de difração ideal (ou nas comerciais) as ranhuras se apresentam paralelas, o que não se observa no DVD, onde suas ranhuras têm formato circular (Figura 18), buscando reduzir o efeito da curvatura das ranhuras na geração dos espectros, seu corte é efetuado na área mais externa do DVD, onde a curvatura das ranhuras é menor e se apresentam maior paralelismo.



Figura 18 – Espectro ideal, gerado com grade de difração comercial e o espectro gerado pelo fragmento de DVD.

2.4.3 Detector

O sistema de detecção é constituído por um sensor de radiação eletromagnética, CMOS (Complementary Metal - Oxide- Semiconductor) da câmera de um smartphone com resolução de 5 MP (2592 x 1944 pixels).

2.5 FUNCIONAMENTO DO *SpectroPhone*

O software de controle altamente intuitivo desenvolvido aqui permitiu o acesso rápido aos modos de medição, desta forma, nenhum treinamento especializado é necessário para começar a operação. Inicialmente, recomenda-se ligar o software e, em seguida, selecionar o modo de medição pelo botão correspondente em conjunto na tela de controle.

Para o modo de absorção, o operador deve conectar os três módulos A, B e C e ligar as lâmpadas por um conector de ligação à bateria recarregável de 9,0 V e espere 5 minutos para estabilizar a linha de base. Uma cubeta de acrílico ou vidro de 10 milímetros preenchido com o branco deve ser inserido no recipiente e colocado no *Spectrophone* e, em seguida, toque no botão BLANK (BRANCO) e o software mostra o espectro do branco. Ao tocar neste botão, três fotos sucessivas são tiradas automaticamente e as imagens digitais obtidas são processadas para a aquisição do espectro do branco. As medidas subsequentes de amostras ou soluções-padrão são realizadas de maneira semelhante, ao tocar no botão SAMPLE (AMOSTRA), com posterior armazenamento dos espectros adquiridos.

Para o modo de emissão, o operador deve conectar os módulos A e B e a extremidade do módulo B deve ser acoplada a uma pequena janela da chaminé do fotômetro de chama. Todo *Spectrophone* deve ser adequadamente apoiado (suporte universal), a fim de manter a mesma posição durante as medições. Finalmente, o

operador deve aspirar a solução (branco/solução-padrão/amostras) para ser analisada e, em seguida, toque no botão correspondente (branco ou de amostra). É digno de nota que as condições de medição são realizadas em conformidade as instruções do fabricante do instrumento.

2.6 SOFTWARE DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DE DADOS DO *SpectroPhone*

O software de controle do *SpectroPhone* foi desenvolvido na plataforma Adobe Air para Android, programado em ActionScript 3.0 e exportado como uma aplicação no Android cujas interfaces são mostrados na Figura 19, desenvolvimento para definir o modo de funcionamento do *SpectroPhone*, obtenção dos dados espectrais a partir de uma imagem obtida pela câmera do *smartphone*, tratamento de dados para imagens e geração de espectros de determinadas espécies absorventes. O algoritmo desenvolvido apresenta uma interface intuitiva e fácil compreensão.

Este software acessa as unidades internas da câmera do *smartphone* podendo assim adquirir imagem digital a partir de propriedades de radiação difratada e da imagem recortada do RGB. As imagens foram capturadas e armazenadas no formato de mapa de bits, “BMP” (do inglês: Bit Map). Neste tipo de formato de arquivo de imagem a qualidade máxima da imagem (16,7 milhões de cores) é preservada, pois não utiliza nenhum tipo de compressão de dados.

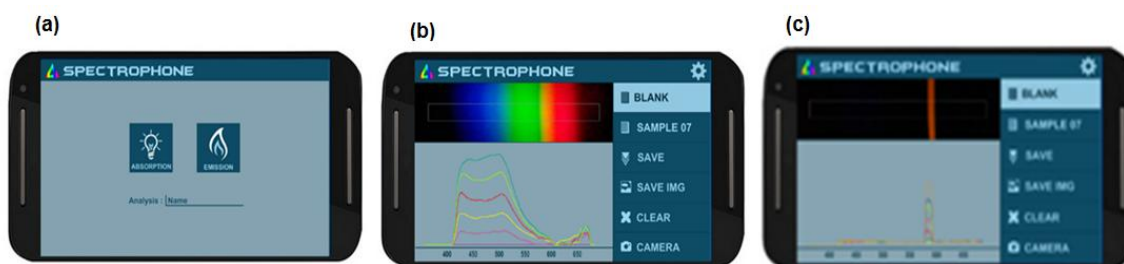


Figura 19 – Fotografias capturadas da tela do aplicativo Android desenvolvido.

Na figura 19 (a) apresenta o menu principal: exibe opções dos modos de análise (absorção e emissão) e o nome da análise de entrada. Em 19(b) é apresentada a tela principal do modo de absorção, com seus botões de controle, a imagem espectral obtida pela câmara e o espectro obtido. Em 19 (c) é apresentada

a tela principal do modo de emissão, com seus botões de controle, a imagem espectral obtida pela câmara e o espectro obtido.

Uma vez definido o tipo de análise, na tela seguinte, o usuário tem as opções de análise, BLANK (para fazer a leitura do branco), SAMPLE (para fazer a leitura das amostras), a opção SAVE (de salvar os dados obtidos), SAVE IMG (salvar a imagem do espectro), CLEAR (limpar todos os dados) e CAMARA (ligar/desligar a câmara). Além de ser exibido dinamicamente o espectro obtido a cada nova análise, os dados deste espectro são automaticamente salvos na memória do *smartphone*, podendo ser importados posteriormente. É importante ressaltar que ao longo de toda a análise o foco da câmera é mantido constante, mantendo a posição e dimensões espaciais (em pixels) da imagem obtida inalterados.

A região recortada da imagem digital é representada por uma série composta por uma série composta por 60 linhas e 695 colunas (60 x 695) num total de 41.700 pixels, onde cada linha representa uma informação qualitativa, ou seja, um determinado comprimento de onda do espectro. E de acordo com a média dos valores de RGB ao longo de 60 pontos que compõem cada linha da imagem é obtida a informação quantitativa, a intensidade luminosa em cada linha, ou seja, em cada comprimento de onda.

Como a câmara fornece imagens a cores de 24 bits, cada pixel tem 8 bits para cada principal canal de cor (vermelho, verde e azul). Em seguida, o software realiza a verificação dos pixels (coluna-a-coluna) na região recortada de cada imagem. Em seguida, ele recupera os valores dos componentes individuais de cada pixel em R, G e B. Depois disso, o software cria uma nova matriz contendo uma linha com valores médios de todas as colunas (1x 695) para R (Red-vermelho), G (Green-Verde) e B (Blue- azul) e, em seguida, executa os cálculos dos valores médios de Hue ($\bar{H}$), de acordo com a Equação 3 ^[78].

A tonalidade ou matiz (coordenadas H no espaço de cor HSV) é a característica de imagem que estará relacionada com a concentração do analito. Enquanto o espaço de cor RGB é o mais amplamente utilizado na análise química, com a finalidade de determinação da concentração no espaço de cor HSV, obtido a partir de uma transformação das coordenadas RGB, é mais adequado e, assim, será utilizado, especificamente a componente H (Hue). Concretamente, o HSV é facilmente obtido a partir de coordenadas RGB normalizados, cujos valores máximos

e mínimos são indicados como máximo e mínimo, respectivamente, apenas aplicando as seguintes transformações não-lineares:

$$H = \begin{cases} 0, & \text{se } M\acute{A}X = MIN \\ 60^\circ \cdot \frac{G - B}{M\acute{A}X - MIN}, & \text{se } M\acute{A}X = R \text{ e } G \leq B \\ 60^\circ \cdot \frac{G - B}{M\acute{A}X - MIN} + 360^\circ, & \text{se } M\acute{A}X = R \text{ e } G > B \\ 60^\circ \cdot \frac{B - R}{M\acute{A}X - MIN} + 120^\circ, & \text{se } M\acute{A}X = G \\ 60^\circ \cdot \frac{R - G}{M\acute{A}X - MIN} + 240^\circ, & \text{se } M\acute{A}X = B \end{cases} \quad (3)$$

$$S = \frac{M\acute{A}X - MIN}{M\acute{A}X} \quad (4)$$

$$V = M\acute{A}X \quad (5)$$

Deve-se notar, a partir das equações (3) - (5), que estas transformações são independentes da imagem ou a maneira como ele foi adquirido. Além disso, enquanto as componentes RGB são relacionados com a contribuição de cada cor primária para cada pixel, o significado das coordenadas de cor HSV é bastante diferente e, portanto, o valor H, que é um ângulo, contém a maior parte da informação de cor. Devido a isso, a componente H foi usado para a determinação da concentração em análise espectrométrica.

2.7 Processamento, calibração e análises

O aplicativo desenvolvido utiliza os dados obtidos pelo sensor da câmara do *smartphone* e a imagem gerada para efetuar os cálculos de absorbância e emissão em função de informações de cores dos pixels, a depender da análise definida.

A região da imagem escolhida para obtenção dos valores do RGB busca representar uma faixa do espectro em que se observa uma variação gradual dos comprimentos de onda de forma mais significativa e linear. Para obter o eixo das abscissas, a informação quantitativa é dependendo do modo *SpectroPhone*. Para o

modo de emissão, resposta analítica é dada pela norma do vetor médio, calculado para cada coluna ^[52]. Esse valor de intensidade é obtido por meio da norma do vetor definido em função dos valores médios de R, G e B para o valor da média de RGB, seguido a equação 6:

$$||v_{RGB}|| = \sqrt{\bar{R}^2 + \bar{G}^2 + \bar{B}^2} \quad (6)$$

Onde $\bar{R}$, $\bar{G}$ e $\bar{B}$, são os valores médios de R, G e B, respectivamente.

A calibração entre o valor da norma do RGB, e o comprimento de onda correspondente é realizada de duas maneiras distintas, a calibração via software e a calibração química, respectivamente. A primeira calibração é via software, que relaciona valor de comprimento de onda com o parâmetro Hue, do modelo HSV. Vale a ressalva que a faixa de 270° a 360° do valor de Hue correspondente à mistura entre o Magenta e o Vermelho, o que impossibilita de se trabalhar nessa faixa já que não se trata de valores correspondentes a comprimentos de onda monocromáticos. Assim se trabalha com valores de HSV na faixa de 0 a 270°, relacionando estes com os valores de comprimento de onda.

Esta expressão é válida quando as coordenadas espaciais de RGB estão no intervalo [0,1] e atribuído o valor mais alto de R, G e B para uma variável chamada MAX e o valor mínimo para uma variável chamada MIN. Em seguida, o cálculo de λ correspondente ao pixel i é realizada para cada coluna, como uma função da sua função da sua relação linear com o H, de acordo com equação linear 7:

$$\lambda_i = \lambda_{Max} - \frac{(\Delta\lambda \bar{H}_i)}{\Delta H} \quad (7)$$

Onde $\bar{H}_i$ representa a tonalidade média do pixel i, λ_{Max} é o comprimento de onda máximo na região do visível, $\Delta\lambda$ é o intervalo de comprimento de onda (dado por $\lambda_{Max} - \lambda_{Min}$) e ΔH é o intervalo de valores de matiz ou tonalidade correspondente a cores espectrais. Onde $-\Delta\lambda / \Delta H$ é a inclinação da reta e λ_{Max} é a intercepção da curva. Esta equação empírica baseia-se no modelo de cor de HSV e

os seus parâmetros (exceto $\bar{H}_1$) são obtidos por meio de processo de calibração. Finalmente, com base na última matriz em λ é, então, registrado e gera o eixo das ordenadas de um espectro.

Assumindo que o número de fótons emitidos pela fonte de radiação, em cada comprimento de onda, é proporcional ao número de fótons detectados pelos sensores RGB em cada fototransdutor do sensor, temos uma relação de proporcionalidade linear entre a $\|v_{RGB}\|$ e a radiação emitida por um determinado analito [52]. Para o cálculo absorção, podemos afirmar que $\|v_{RGB}\|$ é diretamente proporcional à potência radiante da luz incidente que passa através de uma mídia absorvente e $\|v_{RGB}\|^\circ$ é proporcional à potência do feixe emergente, porém quando se trata da absorbância de uma determinada espécie, a equação 8 como a forma homóloga a Lei de Beer- Lambert pode ser escrita como:

$$A = -\log \frac{\|v_{RGB}\|}{\|v_{RGB}\|^\circ} \quad (8)$$

Onde $\|v_{RGB}\|$ é a norma do vetor RGB obtido pela passagem da radiação através do meio absorvente e $\|v_{RGB}\|^\circ$ a norma do vetor RGB relacionado com a intensidade da luz emitida. Neste caso, observa-se uma relação não linear entre os valores de $\|v_{RGB}\|$ e $\|v_{RGB}\|^\circ$, na verdade apresentando como uma relação exponencial. É importante observar que o cálculo envolve o logaritmo decimal da razão de duas raízes quadradas, o que explicaria a relação exponencial observada. Como as normas de vetores são baseados em variáveis de raiz quadrada (ver equação 6), uma relação linear entre absorbância baseado no RGB (A^*) e a concentração (C) pode ser obtido através da aplicação de raiz quadrada na Equação 8, assim, para solucionar o problema em questão obtemos o valor da absorbância seguindo a equação 9:

$$A^* = \sqrt{-\log \frac{\|v_{RGB}\|}{\|v_{RGB}\|^\circ}} \quad (9)$$

Esta equação foi testada empiricamente, uma vez que não é um conhecido e/ou derivável correlação matemática entre $\|V_{RGB}\|$ e a concentração do analito (C).

Sendo A^* proporcionalmente linear a absorvância de uma determinada espécie no meio absorvente obedecendo agora a premissa de que:

$$A^* = kC \quad (10)$$

Para a redução do ruído no sinal, sempre são realizadas três leituras do espectro e os dados do $\|V_{RGB}\|$ são uma média destas leituras. Além disso, os dados do espectro passam por uma suavização via média móvel com ponto central, com $n=2$.

A segunda calibração busca avaliar e corrigir possíveis desvios da relação entre Hue e comprimento de onda. Para tanto foram avaliados os espectros de emissão de lâmpadas de mercúrio e sódio.

Uma vez que a foto é tirada, uma ROI (região de interesse) é selecionada uma imagem digital e gerando uma matriz de pixels (60 x 695). Os valores médios de RGB são calculados para cada coluna desta ROI, e, em seguida, uma nova matriz de pixel (1 x 695) é obtido. Em seguida, os valores de H são calculadas usando a equação 3 para todas as 695 colunas da matriz formada. A equação para a conversão de H para λ (equação 7) é aplicado na matriz à base de H, gerando um espectro de comprimento de onda com os seus valores correspondentes. No entanto, na prática, a correspondência entre os valores de H e comprimentos de onda não é semelhante com o espectro, devido a faixas de cores espaçadas não linearmente distribuídas. Este problema foi superado pelo feito de calibração utilizando fontes de radiações cujos picos são bem conhecidos (por exemplo, lâmpadas fluorescentes ou de descarga). Neste momento, utilizou-se como referência para calibração as lâmpadas de comprimento de onda no intervalo espectral de (430-630 nm) que foi dividida em quatro faixas de calibração (430-490 nm); (490-510 nm); (510-580 nm) e (580- 630 nm). Os valores nominais do comprimento de onda para cada lâmpada foram mais próximo possível do centro de cada faixa.

Para a calibração, o instrumento deve ser definido no modo de emissão e as lâmpadas alimentado com 5,0 V e corrente de 50 mA. A distância do *Spectrophone*

e a lâmpada deve ser inferior a 5,0 cm, a fim de fornecer uma energia radiante suficiente para efetuar a aquisição da imagens espectrais. Em seguida, o usuário tirar uma foto da lâmpada acesa e a imagem espectral é obtida e processada e escrita por uma sub-rotina para automatizar este procedimento depois de pressionar um botão chamado “calibrar”. Os picos detectados no espectro gerado são comparados com os valores no comprimento de onda nominais registrados na memória e, em seguida, a calibração é realizada por interpolação linear aplicada nas faixas de calibração. Recomenda-se que a calibração ser feito pelo menos uma vez por mês usando uma imagem espectral (a partir de lâmpadas de calibração) salva na memória.

2.8 ESTABILIDADE DA FONTE DE RADIAÇÃO

A estabilidade foi monitorada pela intensidade luminosa da fonte de radiação realizada por intermédio da corrente gerada quando as radiações das lâmpadas incandescentes incidiam no detector. O período de monitoramento da estabilidade da fonte foi de três horas tempo aproximado para descarregamento da bateria recarregável de 9 V e do carregador de bateria de celular portátil, com intervalos de medição de 30 segundos, realizado através do aplicativo.

2.9 VALIDAÇÃO DO *SpectroPhone*

2.9.1 Validação/ parâmetro de desempenho

A validação é o processo que confere validade a um método, instrumento ou equipamento, cujas especificações são aceitas como corretas, conferindo confiabilidade aos resultados obtidos ^[69]. Neste processo, por meio de evidências objetivas se comprova que os requisitos para uma determinada aplicação ou uso específico são atendidos.

Ter um resultado validado significa que o procedimento, que inclui desde as condições de operação do equipamento até a sequência analítica, seja aceito como correto. Para isso estabelecem-se níveis de exigência que podem definir a aprovação do produto ou espécie em estudo ^[70].

Os parâmetros de validação levantados para avaliação do desempenho analítico do instrumento foram: Limite de Detecção (LOD), faixa Dinâmica (Limite de Quantificação (LOQ) e Limite de Linearidade (LOL) e tratamento estatísticos de curva analítica.

2.9.1.1 Limite de Detecção (LOD)

É a menor quantidade medida de um analito presente na amostra que pode ser detectada, sem necessariamente ser quantificada em condições experimentais definidas, que pode ser determinado por dado procedimento e com certo grau de confiança. Varia de acordo com o método utilizado. Na prática é calculado com base no desvio padrão de medida do branco ^[38].

O limite de detecção pode ser expresso pela equação 11:

$$\text{LOD} = \frac{3 \times s}{S} \quad (11)$$

Onde: s = desvio-padrão da resposta; S = o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do método).

2.9.1.2 Faixa Dinâmica

E a faixa útil de um método analítico, ou seja, é faixa que se estende da menor concentração em que as medidas quantitativas são realizadas (limite de quantificação, LOQ- Limit of Quantitation), até a concentração em que ocorre um desvio da linearidade (limite de linearidade, LOL- Limit of linearity) ^[38].

2.9.1.2.1 Limite de Quantificação (LOQ)

É definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis sob as condições experimentais adotadas. Pode ser estimado por meio da relação sinal/ruído, do desvio padrão e por processos estatísticos ^[38].

O limite de quantificação (LOQ) pode ser expresso pela equação 12:

$$LOQ = \frac{10xs}{S} \quad (12)$$

Onde: s = desvio-padrão da resposta; S = o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do método).

2.9.1.2.2 Limite de Linearidade (LOL)

É o ponto máximo da curva de calibração em que a resposta continua linear [38].

2.10 Tratamento estatísticos de curva analítica

Em análises químicas, o modelo de calibração pode usado para determinar a concentração do analito de maneira satisfatória apenas se for capaz de descrever o comportamento dos valores experimentais. Portanto, o modelo referido não pode apresentar evidências de falta de ajuste e deve demonstrar uma significativa regressão estatística. Desta forma, a validação do modelo de calibração é geralmente realizada por meio de uma análise de variância (ANOVA) [71,72]. A Tabela 1 apresenta as equações para (ANOVA) de dados experimentais adaptados para modelos lineares.

Tabela 1 – Equações para a ANOVA dos dados experimentais adaptados aos modelos lineares.

Fonte de Variação	Soma Quadrática (SQ)	Graus de liberdade (gl)	Média Quadrática (MQ)
Regressão	$\sum n_i[(y_e)_i - y_m]^2$	p-1	$SQ_{reg}/(p-1)$
Resíduo	$\sum \sum [y_{ij} - (y_e)_i]^2$	n-p	$SQ_r/(n-p)$
Falta de Ajuste	$\sum n_i[(y_e)_i - y_{im}]^2$	m-p	$SQ_{faj}/(m-p)$
Erro Puro	$\sum \sum [y_{ij} - y_{im}]^2$	n-m	$SQ_{ep}/(n-m)$
Total	$\sum \sum (y_{ij} - \bar{y})^2$	n-1	

O índice i indica o nível da variável X ; o índice j refere-se às medidas repetidas da variável Y em um dado nível de X ; p = número de parâmetros do polinômio do modelo de calibração; n = número total de medidas; m = número de níveis da variável independente X .

A validação de modelos lineares consiste na análise dos resíduos, falta de ajuste e significância da regressão. Na análise dos resíduos deixados pelo modelo, verifica-se o comportamento dos erros de previsão em relação aos dados experimentais. Nos gráficos dos resíduos é possível identificar o tipo de erro associado aos dados. Dessa forma, se os resíduos apresentam algum perfil ou estrutura sistemática, haverá uma falta de ajuste do modelo postulado.

Para corrigir o problema da falta de ajuste do modelo, não necessariamente incluímos o termo quadrático na relação funcional.

A ausência de falta de ajuste está relacionado aos resíduos se distribuírem aleatoriamente em torno do zero, evidenciado apenas a presença de erros aleatórios.

Os resíduos (ε) são calculados de acordo com a Equação 18:

$$\varepsilon = y_i - \hat{y} \quad (18)$$

Onde: y_i = resposta analítica obtida experimentalmente e $\hat{y}$ = resposta analítica prevista pelo modelo de calibração.

No teste de falta de ajuste ^[71,72], compara-se a razão entre a média quadrática devida à falta de ajuste (MQ_{faj}) e a média quadrática associada ao erro puro (MQ_{ep}) com o valor do ponto da distribuição F correspondente aos respectivos graus de liberdade e nível de confiança adotado (geralmente de 95%). Se a razão (MQ_{faj}/MQ_{ep}) for menor que o valor de F , então o modelo adotado não apresentará evidência estatística de falta de ajuste. Do contrário, o modelo apresentará falta de ajuste no nível de confiança adotado.

No teste de significância estatística de regressão ^[72], compara-se a razão entre a média quadrática devida à regressão (MQ_{reg}) e a média quadrática residual (MQ_r) com o valor do ponto da distribuição F referente aos graus de liberdade de MQ_{reg} e MQ_r no nível de confiança adotado. Se a razão for maior que o valor de F (de pelo menos cinco vezes como recomendado na literatura ^[71], indicará a existência de uma relação (linear, quadrática, etc, conforme postulado do modelo)

estatisticamente significativa entre a varável y e x . Quanto maior for a razão MQ_{reg}/MQ_r em comparação com o valor de F , mais significativa será a relação. Em caso contrário, a relação entre y e x assumida pelo modelo não terá nenhuma significância estatística.

2.10.1 Testes estatísticos para validação dos resultados analíticos

Para validar os resultados das determinações realizadas utilizando o *SpectroPhone* e pelo espectrofotômetro UV-Vis para o modo de absorção e o fotômetro em chama para o modo de emissão foram aplicados testes estatísticos para fins de comparação, tais como: teste t emparelhado baseado no teste de hipóteses e teste t emparelhado baseado no conceito de intervalo de confiança [72].

2.10.1.1 Aplicação do teste t emparelhado baseado no teste de hipóteses

O teste de hipótese é, comumente, usado na formulação do teste t emparelhado para avaliar se há diferenças sistemáticas estatisticamente significativas entre os resultados dos dois instrumentos. Neste trabalho, os resultados referem-se às concentrações de amostras de produtos farmacêuticos e águas naturais, ambas em mg.L^{-1} , obtidas no *SpectroPhone* e de referência.

Para implementar o teste t emparelhado, calculou-se as diferenças (d_i) entre os valores de concentração para cada par de resultados assim como a média dessas diferenças ($\bar{d}$). Além disso, assumindo-se que se Δ é a diferença média verdadeira entre os resultados dos métodos, pode-se testar a hipótese nula (H_0) de que $\Delta = 0$. Sendo assim, o teste t emparelhado no teste de hipótese pode ser baseado na equação 19:

$$t = \frac{\bar{d} - 0}{\frac{s_d}{\sqrt{n}}} \quad (19)$$

Onde n é o número de amostras analisadas por ambos os métodos e s_d é o desvio padrão das diferenças (par-a-par) sendo obtido pela equação 20.

$$s_d = \sqrt{\frac{\sum (d_i - \bar{d})^2}{n-1}} \quad (20)$$

Depois do cálculo do valor de t , este foi comparado a um valor crítico de t_{crit} para o número de graus de liberdade (ν) dado por $\nu = n-1$ e nível de confiança desejado. Normalmente, adota-se o nível de 95% de confiança como um compromisso entre confiança estatística e a precisão. Caso o valor de t seja maior que o de t_{crit} a hipótese nula é rejeitada. O que revela uma diferença sistemática significativa entre os resultados no nível de confiança adotado. Isto significa que há uma probabilidade menor que 2,5% (em cada cauda) ou de 5% no total das diferenças nos valores advirem de erros aleatórios [72]. Caso contrário, não há diferença sistemática estatisticamente significativa entre os resultados dos métodos analíticos.

2.10.1.2 Aplicação do teste t emparelhado baseado no conceito de intervalo de confiança

O conceito de intervalo de confiança pode também fundamentar a aplicação do teste t emparelhado de modo análogo ao teste de hipóteses. Isto significa que foi necessário encontrar também a média ($\bar{d}$) das diferenças (d_i) entre os valores de cada par de resultados. Supondo que Δ representa o valor populacional da média das diferenças entre os resultados dos métodos, o intervalo de confiança.

A aplicação do teste t emparelhado baseado no conceito de intervalo de confiança pode ser expresso pela equação 21:

$$\Delta = \bar{d} \pm t_{\nu} \frac{s_d}{\sqrt{n}} \quad (21)$$

Onde n é o número de amostras, s_d é o desvio padrão da média das diferenças e t é o ponto da distribuição de Student correspondente ao número de graus de liberdade ($\nu = n-1$) e nível de confiança adotado [72]. A interpretação do intervalo de confiança é realizada da seguinte maneira:

- se intervalo incluir o valor “zero”, então existe diferença sistemática estatisticamente significativa entre os resultados dos dois métodos. Neste caso, a hipótese nula deve ser aceita e a média das diferenças ($\bar{d}$) deve ser um ponto da distribuição t com média populacional $\Delta = 0$;

- se ocorrer o contrário, isto é, o intervalo não contiver o valor “zero”, então existe diferença sistemática significativa entre os resultados dos métodos ao nível de confiança estatística considerado.

2.11 Aplicações analíticas

O instrumento desenvolvido foi avaliado nos dois modos de medição (Absorção e Emissão) em análises de amostras de produtos farmacêuticos e águas naturais. A análise de referência para as amostras de medicamentos contendo sulfato ferroso (para o modo de absorção) e amostras de soro fisiológico e águas naturais (para o modo de emissão) foram realizadas por meio de curvas analíticas. Estas curvas foram obtidas utilizando a média de absorbância máxima do sinal analítico de cinco replicatas.

2.11.1 Aquisição das amostras

As amostras de medicamentos contendo Sulfato Ferroso foram adquiridas em farmácias de João Pessoa-PB e de Recife-PE no período de fevereiro/2015 a março/2015 e amostras de águas naturais foram coletadas de um rio local e duas barragens em Abril/2015. Ao todo foram 14 amostras, sendo 3 xaropes de sulfato ferroso, 4 polivitamílicos, 2 amostras de soro fisiológico e 5 amostras de águas naturais.

2.11.2 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analíticos e água deionizada ($>18\text{M}\Omega\text{ cm}^{-1}$) foi usada para preparação de todas soluções.

A solução estoque de $125,0\text{ mgL}^{-1}$ de Fe^{2+} foram preparadas por dissolução de $0,1558\text{ g}$ de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{ H}_2\text{O}$ (Vetec Química Fina, 99,0%, P.A. ACS) em $2,5\text{ mL}$ de H_2SO_4 (Microquímica, 98,0%, P.A. ACS) num balão volumétrico de 250 mL [73]. As soluções padrão apresentam concentrações que variam entre $0,5$ e 15 mgL^{-1} e foram preparadas por diluição apropriada da solução estoque. Uma solução de $2,0\text{ mol L}^{-1}$ de acetato de sódio foi preparada por dissolução de $27,22\text{ g}$ de acetato de sódio ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Vetec Química Fina, 99,0% P.A. ACS) em um balão

volumétrico de 100,0 mL, para o ajuste das soluções de Fe^{2+} a pH 5,5 [73]. Uma solução 0,25 % (m/v) de 1,10-fenantrolina ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, Vetec Química Fina, 99,0%, PA) foi preparada como reagente cromogênico do Fe^{2+} . Uma solução de 0,40 mol L^{-1} de permanganato de potássio padronizado (KMnO_4 , Sigma Aldrich, >99,0%, PA) foi usado para ensaios de calibração.

As soluções de calibração de Na^+ (0,5-10 mgL^{-1}) foram preparadas através de diluições apropriadas de uma solução de 1000 mgL^{-1} a partir de uma ampola Titrisol (Merck).

2.11.3 Material e equipamento

Todas as análises realizadas pelo *SpectroPhone* tiveram sua performance analítica comparada com equipamentos comerciais. Por efeito de comparação, foram utilizados um espectrofotômetro UV-Vis com arranjo de fotodiodos Hewlett Packard, modelo HP 8453 e um fotômetro de chama Digimed modelo NK-2004 como instrumento de referência.

2.11.4 Preparo de amostras

As amostras foram diluídas levando em consideração a concentração de cada analito, buscando enquadrar (ou melhor, interpolar) o centro da faixa linear de concentração obtido para aquela espécie de uma determinada análise. Para os ensaios de absorção molecular, as amostras foram diluídas para a concentração de 5,0 ppm de Fe^{2+} , com a diluição apropriada a partir da concentração apresentada nos rótulos dos fármacos. Nos ensaios de emissão atômica as amostras de soro fisiológico foram diluídas para uma concentração de 3,0 ppm de Na^+ , novamente o cálculo do fator de diluição levou em conta as informações contidas nos rótulos dos medicamentos e as de águas naturais foram filtradas antes da análise.

As amostras de produtos farmacêuticos: xaropes, polivitamínicos e de soro fisiológico, foram analisadas sem qualquer tratamento específico, sendo suficiente uma simples diluição em água de acordo com as informações contidas nos rótulos dos medicamentos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 ESTUDO DAS FONTES DE RADIAÇÃO

Uma vez estabelecidos os detalhes construtivos do *SpectroPhone*, partiu-se para o estudo da fonte de radiação mais adequada à proposta do trabalho. Foram estudadas duas fontes de radiação diferentes em diferentes condições: um LED branco, uma matriz de LEDs brancos e lâmpadas incandescentes de pisca-pisca natalino, as quais foram submetidas a diferentes configurações (ou associações) de ligação, utilizado para medições de absorção molecular, onde a fonte de radiação tem um papel chave, apresentando a estabilidade do sinal emitido, de alta intensidade e originando um espectro contínuo.

Além disso, neste caso particular, os LEDs dissipam um baixo consumo de energia, possui uma alta emissão, alta durabilidade e não apresentam uma banda uniforme a fim de garantir a portabilidade. Desse modo, realizamos uma investigação sobre a fonte de radiação adequada para atingir os requisitos acima.

Inicialmente, foi detectado um problema com relação ao paralelismo dos feixes de radiação que alcançam a grade de difração. Ao utilizar uma única fonte de luz, o padrão de imagens do espectro desta fonte apresenta uma largura (em pixels) muito pequena (Figura 20), o que prejudica significativamente a obtenção dos espectros a partir do tratamento matemático destas imagens.

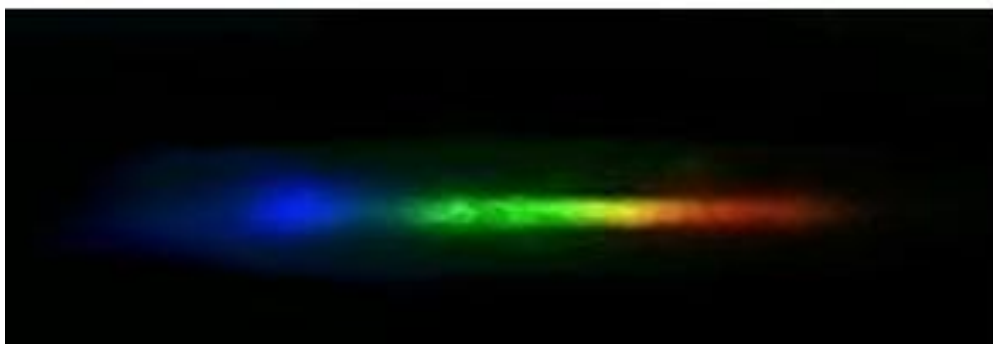


Figura 20 – Espectro do LED branco

Para corrigir esse problema, foi utilizado um princípio da física denominado de Princípio de Huygens-Fresnel, no qual cada ponto de uma frente de onda inicial

pode ser considerado como uma fonte secundária de ondas esféricas que se estendem em todas as direções com a mesma velocidade, frequência e comprimento de onda do processo ^[68], mostrando na Figura 21.

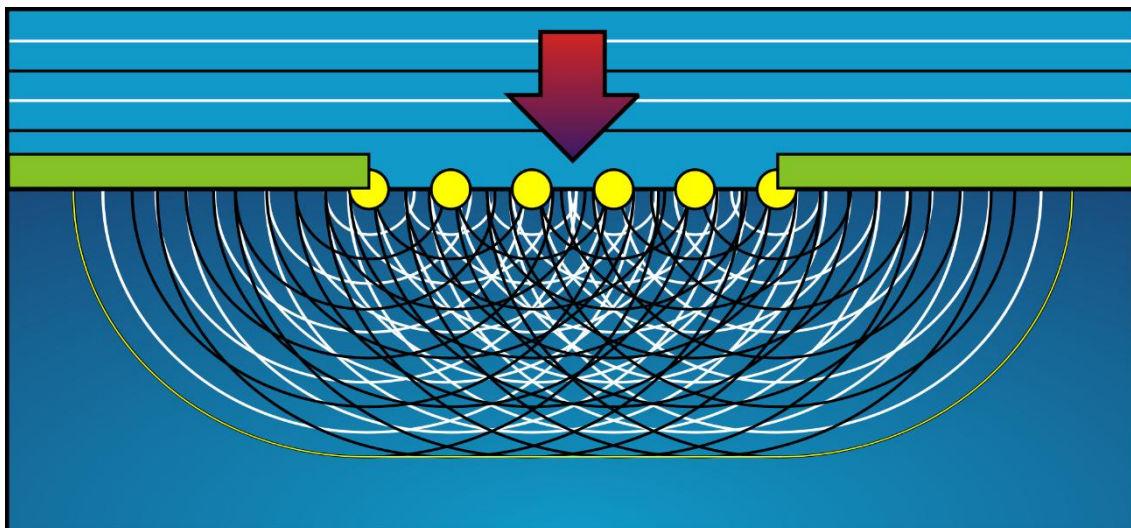


Figura 21 – Ilustrando o Princípio de Huygens-Fresnel adaptada da fonte [9]

Com base nesse princípio foi idealizada a implantação de um conjunto de barreiras no caminho do feixe de luz, de modo a minimizar o comportamento não pontual do mesmo. Por este motivo foram inseridas haletas internas dispostas de modo a aumentar a difusão da luz dentro da câmara do módulo de absorção (câmara de difusão). Como resultado, houve um alargamento considerável da imagem espectral, conforme apresentado na Figura 22.



Figura 22– Espectro da lâmpada incandescente

O efeito da ação destas haletas sobre a trajetória do feixe é similar àquele obtido através do uso de uma lente colimadora. Desta forma, com uma fonte de luz extensa, a quantidade de pixels da subimagem selecionada para tratamento

matemático é maior e, com isso, diminuem os erros nos cálculos dos comprimentos de onda para cada cor do espectro.

A fonte de luz ideal deve apresentar uma resposta contínua e uniforme em toda a região espectral do visível, ou seja, seria uma fonte com luz perfeitamente branca. Com essa premissa, foram estudados os espectros de LEDs brancos e de lâmpadas incandescentes, buscando a fonte mais próxima do ideal. Todos os espectros obtidos são apresentados na Figura 23.

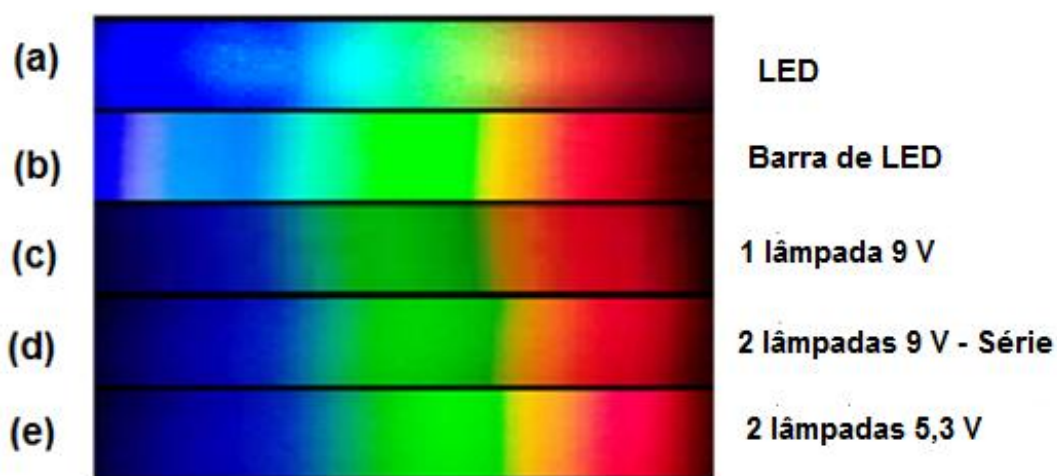


Figura 23 – Regiões selecionadas para análise das imagens digitais dos espectros das fontes de radiação utilizadas nos ensaios.

Em termos de consumo de energia elétrica e eficiência luminosa, os LEDs apresentam à primeira vista as características mais desejáveis, pois dissipam correntes elétricas muito baixas e apresentam alto rendimento quântico de emissão. Além disso, sua vida útil é de aproximadamente 50.000 horas, ou seja, o LED é a fonte de radiação com a maior durabilidade.

Entretanto, ao analisar os espectros gerados pelos LEDs brancos e pela matriz de LEDs, verifica-se que estes espectros não apresentam uma banda uniforme ao longo da faixa do espectro visível (Figuras 23a e 23b). Esta observação matriz de LEDs é resultante da combinação de comprimentos de onda de emissão compostos pelas cores vermelho (R), verde (G) e azul (B). No entanto, é importante notar que a intensidade de emissão de cada componente (R, G e B) varia significativamente ao longo do espectro, o que compromete a linearidade da banda espectral e a torna pouco ideal.

Na Figura 23a, usando de apenas um LED, podemos notar supressões de cor e curvaturas de fronteira na imagem difratada, principalmente em ciano e verde para regiões vermelhas, que apresentam fronteiras curva. Além disso, amarelo e laranja foram completamente suprimidas e seus comprimentos de onda correspondentes estavam faltando no espectro. Ela provoca graves problemas em valores de LOD/LOQ/ LOL para análise quantitativa em algumas regiões do espectro (ciano e amarelo).

Para contornar este problema, uma matriz de LED branco foi usado como fonte de radiação e a sua imagem espectral é mostrado na Figura 23b. De fato, a imagem espectral apresenta o comportamento esperado de uma vasta fonte de luz, com feixes paralelos marcantes na grade. Parecia ser a melhor opção, devido à maior quantidade de luz fornecida pela matriz de LED, mas o seu espectro de emissão também não é homogênea, fazendo com que os mesmos problemas em valores de LOD/LOQ/LOL em algumas regiões do espectro (ciano e amarelo).

Um LED é uma fonte luz pontual, assim as seus feixes emitidos não são focalizados/colimado, o que significa que os feixes colide nas faixas do DVD com ângulo de incidência diferente para a grade. Como consequência, as interações destrutivas entre feixes paralelas não afeta o padrão de interferência e, portanto, a imagem é difratada.

As lâmpadas incandescentes são apresentadas como uma alternativa viável para a substituição do LED como fonte de luz, uma vez, que seus espectros são semelhantes ao espectro solar (luz branca) e tem intensidade de emissão praticamente constante no visível. Por outro lado, as lâmpadas têm baixa eficiência de energia, uma vez que a maior parte da energia consumida é dissipada na forma de calor. Foram estudadas configurações que minimizassem as perdas térmicas e maximizassem a eficiência de emissão. Para tanto, foram testadas o uso de uma só lâmpada alimentada a 9,0 V; duas lâmpadas ligadas em série com 9,0 V e duas lâmpadas alimentadas com 5,3 V e seus espectros são apresentados nas Figuras 23c, 23d e 23e, respectivamente.

Com apenas uma lâmpada fornecida com 9,0 V (Figura 23c) o espectro apresenta grande intensidade de sinal comparável à da matriz de LED branco, entretanto, a vida útil da lâmpada sofre uma diminuição drástica (2 ou 3 horas), transformando inviável sua utilização. Além disso, as regiões de cores secundárias (amarelo e ciano) apresentaram valores muito baixos, diminuindo assim a relação

sinal-ruído (S/N) sobre estas regiões causando perda no LOQ/LOD/LOL. Duas lâmpadas associadas no circuito em série e alimentado com 9,0 V (Figura 23d) apresentam mais intensidade de cor em relação a usar uma lâmpada, no entanto, os melhores resultados foram obtidos usando duas lâmpadas alimentado com 5,3 V (Figura 23e). Além disso, o espectro obtido nesta configuração se aproxima bem do espectro ideal. Na configuração uma só lâmpada alimentada a 9,0 V, houve um grande aumento na intensidade de emissão com uma banda uniforme em toda a região do visível. Entretanto, a vida útil da lâmpada caiu muito, chegando a, no máximo, três horas de uso, onde, na última hora, a intensidade começava a cair significativamente e finalmente ocorria a queima da lâmpada. Na tentativa de aumentar a vida útil da lâmpada foi testada a configuração duas lâmpadas ligadas em série com 9,0 V, onde, por se tratar de um circuito em série, a queda de tensão em cada lâmpada era 4,5 V, o que aumentou em cinco vezes sua vida útil. Contudo, a luminosidade caiu consideravelmente, fator que afeta diretamente o limite de detecção das medidas, uma vez que menos fótons atingem o detector da câmera. Por fim, uma configuração intermediária entre uma só lâmpada alimentada a 9,0 V e a duas lâmpadas ligadas em série com 9,0 V foi testada. Nesta configuração, as duas lâmpadas com tensão de 5,3 V, com isso, houve um sensível aumento de sua luminosidade, mantendo constante a vida útil destas, uma vez que a corrente que circula em cada uma é quase a metade consumida na configuração de uma só lâmpada alimentada a 9,0 V.

Desta forma, a configuração de duas lâmpadas e alimentada com 5.3 V foi selecionada e adotada para a fonte de radiação do *SpectroPhone*. É importante salientar que todos os espectros foram obtidos através do aplicativo de controle e tratamento de dados desenvolvido para este protótipo.

Em termos de estabilidade dos LEDs ou lâmpadas incandescentes são bons candidatos a serem uma fonte de radiação. Dado que a utilização de LEDs foi descartado pelas razões discutidas acima. Como esperado, os LEDs produz sinais altamente estáveis em contraste com o sinal de ruído da utilização de uma lâmpada alimentada com 9,0 V, que também está presente um desvio negativo significativo. Mesmo apresentado ligeiramente uma magnitude inferior $\|v_{RGB}\|$ do que os LEDs, duas lâmpada provou ser a melhor opção para a apresentação de estabilidade mais perto apresentado pelos LEDs.

Outro estudo foi feito com o objetivo de analisar a estabilidade das fontes de radiação estudadas. Para tanto, o sinal de intensidade luminosa das fontes de radiação estudadas, como mostra a Figura 24, foi monitorada, usando o aplicativo desenvolvido, durante um período de 01 (uma) horas de funcionamento, com intervalos de medições de 30 segundos.

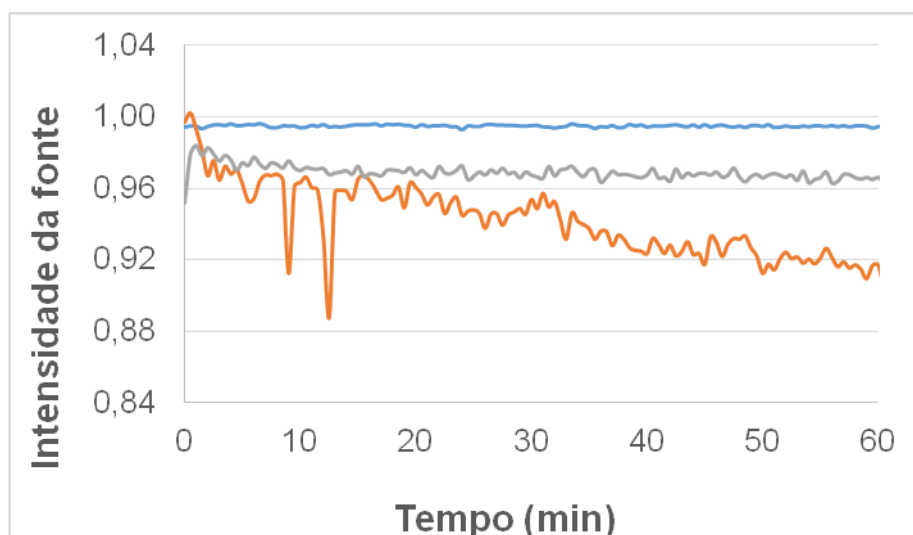


Figura 24 – Avaliação da estabilidade das fontes de radiação e de suas configurações. Legenda: LED (Azul), 2 lâmpadas 5,3 V (cinza) e 1 lâmpada 9V (laranja).

Na Figura 24, observa-se que a variação temporal da intensidade luminosa (*drift*) apresenta uma grande queda quando usada à configuração uma só lâmpada alimentada a 9,0 V, o que é coerente com o estudo anterior, uma vez que a duração das lâmpadas nesta configuração é muito baixa. Já para o LED (e matriz de LED), bem como para a configuração de duas lâmpadas alimentadas com 9,0 V o sinal é mantido praticamente constante durante um tempo consideravelmente longo para medidas espectrofotométricas. Constata-se desta forma que, usando a configuração de duas lâmpadas alimentadas com 5,3 V na fonte de radiação do instrumento proposto, há estabilidade suficiente para utilizá-lo em análises por 2 ou 3 horas continuamente por causa da carga do carregador portátil.

3.2 TRATAMENTO DAS IMAGENS ESPECTRAIS

O primeiro tratamento aplicado às imagens espectrais é a seleção da região a ser cortada a partir de cada imagem capturada; esta região é daqui em diante chamado de ROI (Região de interesse) e será utilizado para ser utilizado para de construção de espectros.

O ROI é gerada uma matriz de pixels cujas coordenadas são as mesmas para todas as imagens capturadas, uma vez que esta região é definida apenas uma vez bidimensional. Isso só é possível se todas as dimensões ajustados e otimizados são mantidos constantes. O principal critério para a seleção do ROI é baseado em inspeção visual para a uniformidade de distribuição de cores sobre a imagem espectral, atributos geralmente se reuniram na região central de imagem (Figura 25).

A região da imagem a ser usada para análise é muito importante, uma vez que o fragmento de DVD (rede de difração) por ter uma geometria esférica, e suas ranhuras também apresentam esta geometria. Para minimizar a curvatura observada no espectro utilizando um fragmento de DVD, um corte na parte exterior foi feito, onde o ângulo observado das suas ranhuras seja menor. Ainda no espectro tende a aparecer curvado em ambas extremidades, assim, melhor região da imagem a ser escolhida para a seleção é a central do espectro em que nenhuma curvatura é significativa é observada na imagem.

As placas de difusão dentro do módulo C foram execuções importante papel para a melhoria da uniformidade de distribuição de cor através de um alargamento da região de cor em imagens espectrais. Com a utilização dessas placas que deram colunas com 60 pixels (Figura 25), o que é suficiente para alcançar $\|V_{RGB}\|$ com vários graus de liberdade, aumentando a precisão para a conversão RGB para λ . Sem placas de difusão, a região de cor apresentou apenas 6 pixels (Figura 20) e a média dos valores RGB foram mais suscetíveis ao pixels espúrias (picos devido unicamente a flutuações estatísticas sobre sensores de imagem CMOS) a partir da câmera.

A luz emitida pelas lâmpadas é difundido no módulo C, passa pelas fendas das placas e submetido a processos de interferências, paralelização do feixe resultante que atinge o fragmento do DVD. Como consequência, a fonte de radiação pontual atua como uma extensa fonte provavelmente devido à Princípio de Huygens-

Frasnel. Este princípio estabelece que todos os pontos em uma frente de onda pode ser considerada uma nova fonte de ondas esféricas dirigido para a frente ^[74].

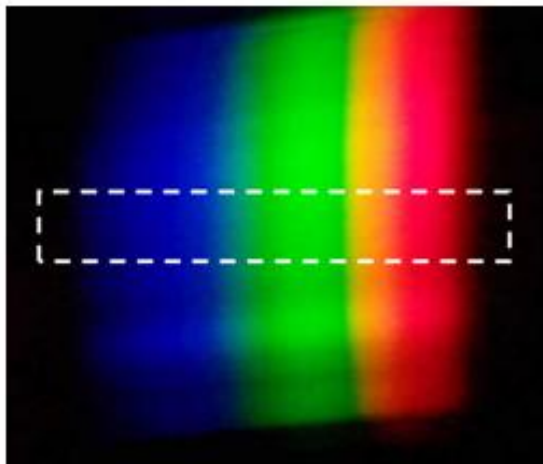


Figura 25 – Espectro obtido na configuração duas lâmpadas alimentadas com 5,3 V e a seleção da região adequada para análise dos pixels.

Como pode ser visto na Figura 26, os valores de R (linha vermelha), G (linha verde), B (linha azul) e $\|v_{RGB}\|$ (linha tracejada) pode variar ao longo do espectro visível. A intensidade das cores primárias (vermelho, verde, azul) são mais elevados do que a intensidade das cores secundárias (ciano e amarelo), que são formados pela contribuição de dois valores de cores primárias. Na região correspondente às suas cores secundárias existem lacunas quanto à intensidade de uma cor primária diminui e a intensidade de outras cores aumenta. Tais lacunas impedem a utilização dos valores máximos de R, G e B, por exemplo, à base de fotômetros de imagem digital ^[75], devido à introdução de erros significativos nas regiões de cores secundárias. Portanto, a norma vetor RGB foi utilizada para o processamento de sinais, que têm uma maior intensidade e é menos susceptível a ruído. Estas vantagens surgem porque os valores de R, G e B são tomados em consideração para o cálculo da norma do vetor RGB.

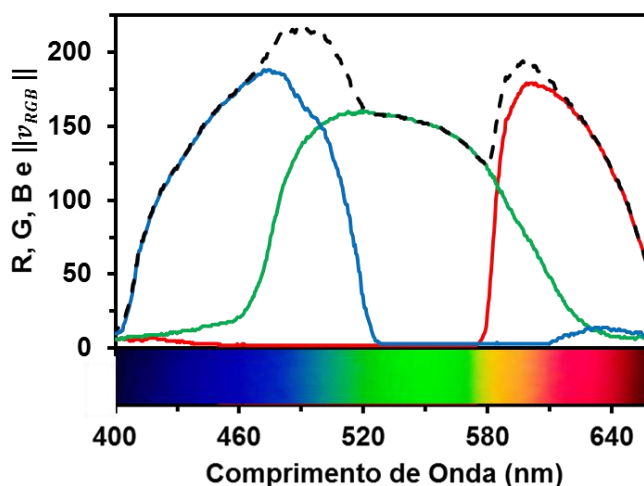


Figura 26 – Variação de R (linha vermelha), G (linha verde), B (linha azul) e $\|v_{RGB}\|$ (linha tracejada) sobre o espectro obtido.

Alguns filtros ópticos estão presentes em câmaras de *smartphones* e câmeras digitais para o melhoramento das imagens e alguns destes bloqueia a radiação ultravioleta e infravermelha, como pode ser visto na figura 27 (linha fixa). O espectro de transmitância para um filtro de uma webcam HD (Multilaser 16 MP, modelo Wc044) é mostrado na Figura 27. Este filtro é semelhante ao que equipa a câmera do smartphone usados aqui. A faixa de transmitância alcançado para o filtro foi 390-630 nm, caracterizando-a como um tipo de banda de comprimento de onda correspondentes a região visível. A grade de DVD também apresenta uma absorção significativa na região 500-650nm (Figura 27- linha tracejada). Essa absorção provoca uma ligeira diminuição nos valores $\|v_{RGB}\|$, principalmente na região do amarelo ao laranja. Ao interpretar os histogramas individuais para os canais R, G e B e a resultante $\|v_{RGB}\|$ apresentado na Figura 27, é possível chegar a esta conclusão.

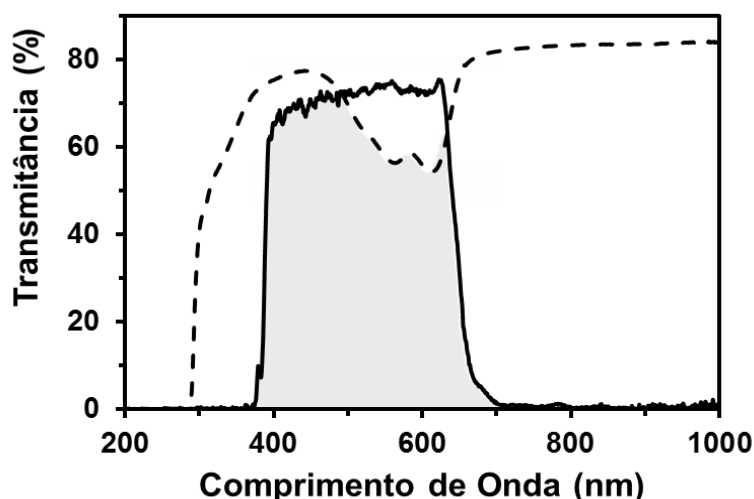


Figura 27 – Espectro de transmitância de filtro passa banda UV, a partir de câmeras digitais (linha fixa) e peça DVD (linha pontilhada).

A partir de histogramas (figura 27) é de possível salientar que apresentam baixo desempenho no *SpectroPhone* para determinados valores de comprimento de onda. Na verdade, o comportamento individual dos canais R, G e B produz limitações para comprimentos de onda de soluções em regiões de arestas coloridas (400-420 nm e 650-670 nm). O baixo nível de iluminação abaixo de 420 nm e acima 660 nm faz com que os pixels azuis e vermelhos tornam mais escuros, como pode ser visto na imagem espectral no histogramas na Figura 26. Os pixels escuros produz baixos valores de RGB e, consequentemente, baixa $||v_{RGB}||$, além disso, esses pixels são distribuídas aleatoriamente uma vez que o dispositivo CMOS não é capaz de distinguir bem as suas propriedades de cor. Como consequência, ele insere grande incerteza em ambos os dados de comprimento de onda (qualitativo) e $||v_{RGB}||$ (quantitativo). Desse modo, a faixa dinâmica do comprimento de onda pode ser estimado como [430 nm; 630 nm), o que confirma a cegueira relativa da câmara para comprimentos de onda inferiores a 400 nm e superior do que 640 nm, mostrado na Figura 26.

Todos os dados espectrais discutidos até agora deu apoio a escolher $||v_{RGB}||$ como variável quantitativa, proposto pela primeira vez por LYRA e colaboradores ^[52]. Devido à sua natureza tristimulus, $||v_{RGB}||$ fornece a magnitude da resposta muito acima da faixa dinâmica de comprimento de onda e provou ser menos suscetíveis a imagem latente de ruído.

Portanto, com os valores de Hue na faixa de 0 a 270° são relacionados com os comprimentos de onda, e na faixa de 430-630 nm, a partir da utilização da seguinte equação empírica, como discutimos no capítulo 2, obtemos um seguinte resultados da expressão:

$$\lambda = 630 - \frac{(h * 200)}{270}$$

Onde 630 nm o comprimento de onda máximo na faixa no visível, o 200 é o intervalo de comprimento de onda e 270 é faixa de valores de matiz (Hue) correspondentes às cores espectrais, onde o magenta não entra por ser uma cor não espectral.

3.3 CONVERSÃO DE COMPRIMENTO DE ONDA/CALIBRAÇÃO

A calibração do *SpectroPhone* foi feita em duas fases: a primeira fase de calibração, realizada por software, que considera a distribuição de cores do espectro visível deve ser igual à distribuição observada pela mudança no valor de Hue no sistema HSV. No entanto, os comprimentos de onda de cores não são uniformemente distribuídos no espectro visível [76]. Para ultrapassar esta inconveniência, uma calibração foi realizada comparando-se os espectros obtidos pelo *SpectroPhone* para espectros de elementos químicos conhecidos em diferentes intervalos. Linhas de emissão de lâmpadas de mercúrio foram usadas 435-489 nm e 511-546 nm, o duplete de sódio foram utilizados em cerca de 589 nm e todos estes foram utilizados para calibrar a faixa de 490-510 nm.

O desempenho do método de calibração foi avaliada para os espectros obtidos nos modos de (emissão e de absorção) através de ensaios qualitativos utilizando 5,0 mg L⁻¹ de sódio e 23,7 mg L⁻¹ de soluções de permanganato de potássio (Figura 28). A emissão do pico encontrado para o sódio foi de 589,24 ± 0,47 nm (n=5) e largura total a meia altura (FWHM) de 14,67 ± 0,54 nm (n=5). Na Figura 28 (a), apenas um pico é observado para o duplete de sódio característico, onde as linhas D1 e D2 estavam em compromisso devido à menor resolução no modo de emissão.

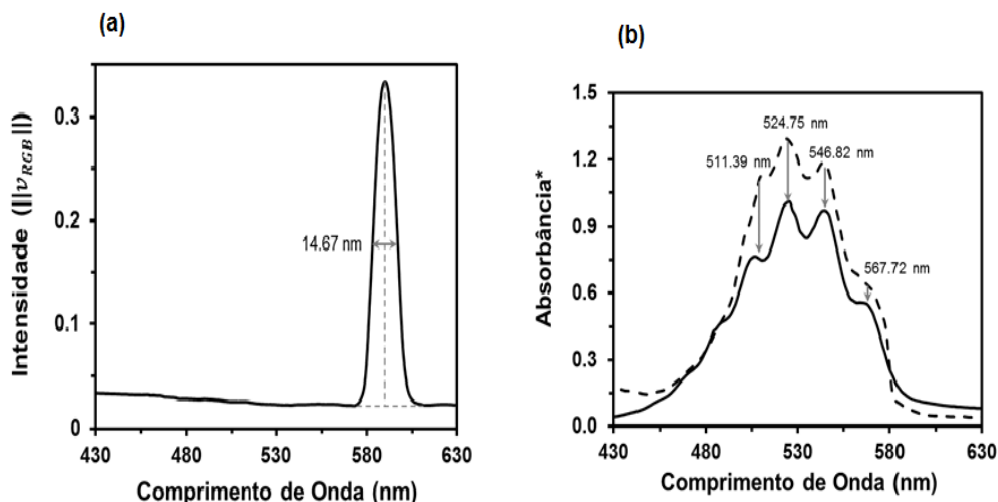


Figura 28 – Resultados de calibração de comprimento de onda. (a) espectro de emissão de sódio 5,0 mg L⁻¹ pelo *SpectroPhone* (b) Espectro de absorção de permanganato de potássio 23,7 mg L⁻¹ obtido pelo espectrofotômetro HP (linha fixa) e pelo *SpectroPhone* (linha tracejado).

O espectro de uma solução de permanganato de potássio (Figura 28 (b)), o comprimento de onda máximo de absorção foi $524,75 \pm 0,58$ nm contra 525,0 nm obtidas usando o espectrofotômetro UV-VIS. Os restantes picos tiveram alta concordância com os do instrumento de referência, com notável semelhança espectral. Os valores de absorção mais elevadas dos *SpectroPhone* foram, provavelmente, devido ao comportamento quadrático de $\|v_{RGB}\|$ na proporção $\|v_{RGB}\| / \|v_{RGB}\|^\circ$.

Tanto no modo de calibração para a emissão utilizando o sódio, e modo de absorção utilizando o permagnato de potássio, observou-se uma boa correlação entre o comprimento desejado e os valores obtidos com o *Spectrophone*. Além disso, em ambos os casos os desvios-padrão para os valores de comprimento de onda obtidos por *Spectrophone* no modo emissão e no modo de absorção foram 0,47 e 0,57 nm (n=10), respectivamente. Estes resultados indicam uma boa repetibilidade e eficiência durante o processo de calibração de tais modos.

Todos os resultados comprovados que adotaram estratégia de calibração corrigiu as pequenas distorções em H para λ conversão para o calculo do comprimento de onda, uma vez que os erros relativos para estimar comprimentos de onda foram sempre perto de 0,1%.

3.4 APLICAÇÕES DO *SpectroPhone*

O desempenho analítico de *SpectroPhone* foi avaliado pela quantificação de Fe^{2+} em amostras farmacêuticas de xaropes e polivitamínicos (modo de absorção) e de sódio em soro fisiológico e amostras de águas naturais (modo de emissão). Todos os resultados foram comparados com o uso de instrumentos comerciais. Todas as quantificações foram realizadas usando a técnica da curva de calibração. O *SpectroPhone* foi aplicado apenas para a quantificação (em modo de emissão) de Na^+ , porque Ca e K, devido a razões desconhecidas até o momento, não apresentou sinais analíticos apreciáveis devido a baixa autonomia energética.

Para a determinação de ferro em amostras de medicamentos usando o *SpectroPhone* (no modo de absorção), a equação de regressão foi $A = 0,2028C + 0,2125$ (a 515 nm), em que A é a resposta analítica e C é concentração analítica em mgL^{-1} de Fe^{2+} . O coeficiente de correlação linear quadrada (R^2) foi 0,9991 ($n=5$) no intervalo entre 0,5-6,0 mgL^{-1} (0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 6,0 mgL^{-1}). Para a mesma determinação, também a 515 nm, utilizando o instrumento comercial, a equação de regressão foi de $A = 0,1848 C - 0,0008$. O coeficiente de correlação linear quadrada foi 1,000 ($n=5$) na mesma faixa.

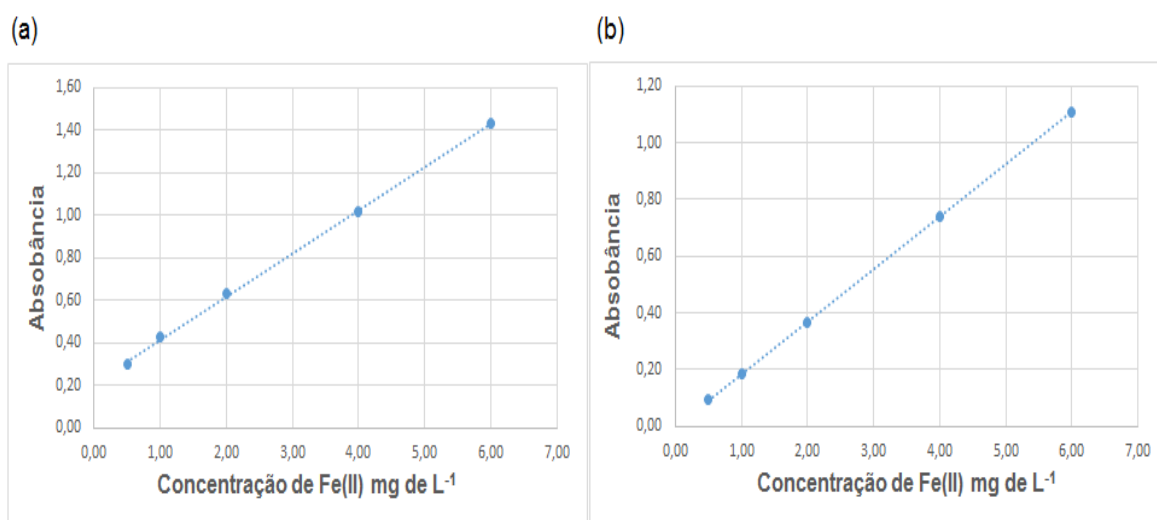


Figura 29 – Gráficos de absorbância versus concentração para amostra de Fe(II) utilizando (a) *SpectroPhone* (b) Espectrofotômetro HP.

Para a determinação de sódio em amostras de soro fisiológico e águas naturais usando *SpectroPhone* (em modo de emissão), a equação de regressão foi $A = 0,0823 C + 0,0083$, em que A é a resposta analítica e C é a concentração analítica em mgL^{-1} de Na^+ . O coeficiente de correlação linear quadrado (R^2) foi 0,9994 ($n=5$) no intervalo entre 0,5 a $4,0 \text{ mgL}^{-1}$ (0,5; 1,0; 1,5; 3,0 e $4,0 \text{ mgL}^{-1}$). Pelo mesmo processo, utilizando o instrumento comercial, a equação de regressão foi $A = 0,2198C + 0,1148$ e o coeficiente de correlação foi de 0,9994 ($n = 5$) na mesma faixa.

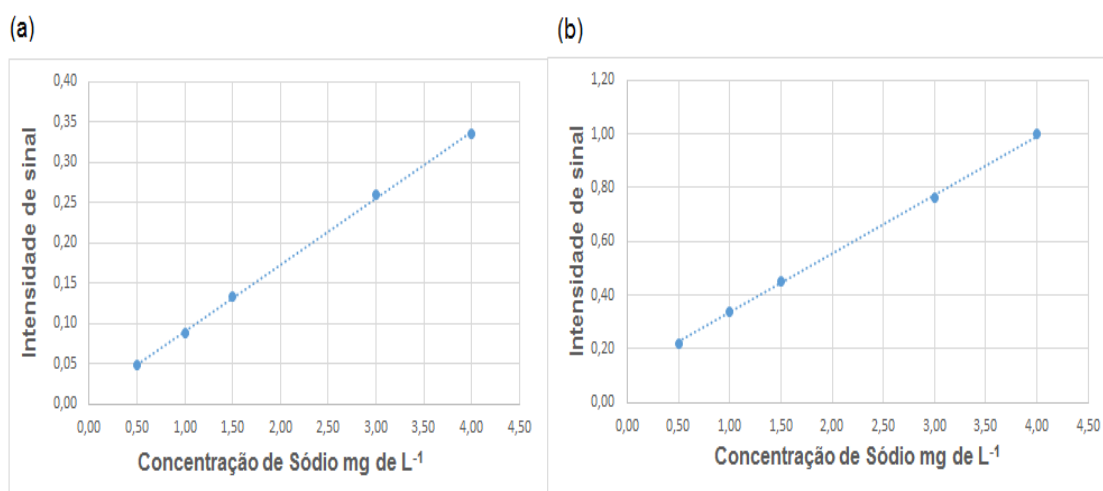


Figura 30 – Gráficos de intensidade de sinal versus concentração de Sódio utilizando (a) *Spectrophone* (b) Fotômetro em Chama Digimed.

Todas as curvas analíticas foram estatisticamente validadas pela análise de variância (ANOVA), não apresentando significativa falta de ajuste para os modelos propostos a um nível de confiança de 95%.

Os limites de detecção (LOD), de quantificação (LOQ) e linearidade (LOL), tanto para o *SpectroPhone* e os instrumentos comerciais foram estimados com base nos critérios estabelecidos pela União Internacional de Química Pura e aplicada (IUPAC) [77]. LOD foi avaliada como 3 vezes o desvio-padrão da medida do branco, LOQ como sendo 10 vezes o desvio padrão da medida do branco e LOL das curvas em branco foi atestada através do teste de falta de ajuste. Estudos do LOL foram realizados na faixa entre 0,5 a $15,0 \text{ mgL}^{-1}$ de Fe^{2+} (0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0; $15,0 \text{ mgL}^{-1}$) e 0,5 a $10,0 \text{ mgL}^{-1}$ de Na^+ (0,5; 1,0; 1,5; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0 e $10,0 \text{ mgL}^{-1}$). A **Tabela 2** apresenta valores de LOD, LOQ e LOL.

Tabela 2 – Valores de LOD, LOQ e LOL obtido a partir do Spectrophone em seus modos de absorção e emissão e de instrumentos comerciais.

Analito	Modo	Instrumento	LOD (10^{-2}mg L^{-1})	LOQ (10^{-2}mg L^{-1})	LOL (mg L^{-1})
Fe (II)	Absorção	HP	2,110	7,740	10.0
		<i>SpectroPhone</i>	2,320	7,030	7.0
Sódio	Emissão	Digimed	4,313	14,370	8.0
		<i>SpectroPhone</i>	1,690	5,641	5.0

Valores de LOD e LOQ não apresentaram diferenças significativas entre *SpectroPhone* e instrumento comercial para a determinação de Fe^{2+} . À grande estabilidade das fontes de luz em ambos os instrumentos proporciona um baixo desvio em sinais do branco. As diferenças de LOL para medidas de absorção estão diretamente associadas às características intrínsecas dos detectores, processamento de dados e, principalmente, para o poder radiante da fonte de luz. No caso do *Spectrophone*, a sua fonte de luz emite muito menos energia de radiação do que a lâmpada do espectrofotômetro HP 8453, o que diminui a faixa de cores existentes na imagens espectrais capturadas pela câmera CMOS. A alta absorção de luz com um determinado comprimento de onda promove uma mudança de cor para valores de RGB inferiores, nesta condição, a quantidade de pixels espúrios tende a aumentar, tornando valores de RGB maior do que devem afetar diretamente o vetor norma RGB, diminuindo, assim, a faixa dinâmica do *SpectroPhone*.

Para a medição das emissões, LOD, LOQ e LOL eram claramente diferentes para ambos *Spectrophone* e fotômetro de chama. Mesmo com as condições operacionais do instrumento comercial altamente controlada, a chama é um ambiente ruidoso, devido à sua natureza. Este ruído é amplificado em conjunto com sinal de emissão e, conseqüentemente, resulta em variações sensatas sobre a linha de base e, em seguida, em LOD e LOQ. Esta mesma chama foi usada para medições no *Spectrophone* em modo de emissão, no entanto, seu ruído não afeta tanto a repetibilidade dos valores $\|v_{\text{RGB}}\|$. Cada medição de emissões é realizado a partir de imagem espectral gerado a partir de um alvo da chama, desta forma os valores RGB dos pixels são fixos. O valor de LOL para o *Spectrophone* é menor do

que o obtido para o fotômetro comercial. Isso se deve ao fato de que a potência da energia radiante que alcança o detector da chama do fotômetro é maior que a luz detectada pela câmera CMOS. Outra fonte de perda de luz emitida está relacionada com a absorção do fragmento do DVD na região entre 500-600 nm (ver Figura 25), que contém o duplete de sódio. Ele afeta fortemente a faixa de valores $||V_{RGB}||$. Além disso, para a concentração do Na^+ superior a $5,0 \text{ mgL}^{-1}$, foi observada a saturação de cor amarela, tornando a variar os valores da $||V_{RGB}||$ de forma não linear com a concentração.

A tabela 3 apresenta os resultados para o *SpectroPhone*, e o instrumento de referência para as determinações de Fe^{2+} em formulações farmacêuticas de xaropes e polivitamínicos.

Tabela 3– Concentrações de Fe^{2+} determinados através do uso do espectrofotômetro (HP) e *SpectroPhone*

Amostra	Valores estimados (mg L^{-1})	
	HP	<i>SpectroPhone</i>
01	$3,60 \pm 0,01$	$3,59 \pm 0,01$
02	$4,76 \pm 0,01$	$4,80 \pm 0,02$
03	$4,08 \pm 0,02$	$4,09 \pm 0,01$
04	$3,49 \pm 0,01$	$3,49 \pm 0,01$
05	$2,93 \pm 0,03$	$2,97 \pm 0,02$
06	$4,07 \pm 0,01$	$4,10 \pm 0,01$
07	$3,63 \pm 0,02$	$3,66 \pm 0,01$
R.S.D.	0,30%	0,34%

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os resultados para a maioria das amostras a um nível de confiança de 95% quando aplicado o teste *t* emparelhado. O desvio-padrão relativo (RSD) era menos de 0,30 e

0,34%, para o *SpectroPhone* e o instrumento comercial, respectivamente, a partir de cinco repetições.

A precisão global observado pela comparação dos resultados entre referência e o *SpectroPhone* revelou que a Lei de Beer foi devidamente obedecida pela utilização da equação proposta para o cálculo de absorção.

Na Figura 31, mostra-se um conjunto de espectros de emissão obtidos para diferentes concentrações de sódio usando o *SpectroPhone* em modo de emissão.

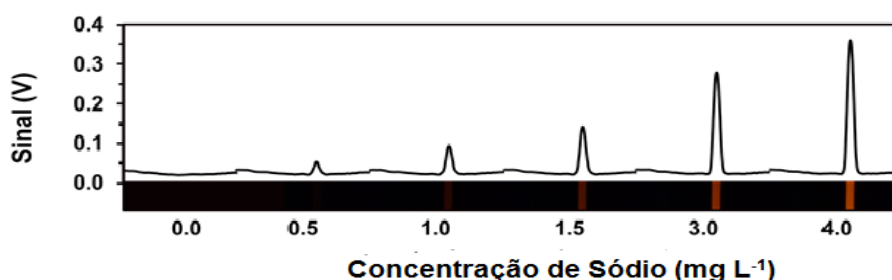


Figura 31 – Espectro de emissão a partir de um conjunto de cinco soluções de teste de sódio numa faixa de 0,5 a 4,0 mgL⁻¹. Imagens espectrais para sinal de sódio de sódio são combinados abaixo de cada pico correspondente.

A largura total à meia altura (FWHM) deste pico é de $14,67 \pm 0,54$ nm, é evidente que um valor elevado para aplicações de espectrografia e, como discutido anteriormente, é causada principalmente pela largura da fenda. No entanto, a perda de FWHM é compensada pela alta precisão de quantificação.

Em seguida, analisou-se duas amostras de soro fisiológico e cinco amostras de água natural com o *Spectrophon* calibrado e o fotômetro de chama comercial para determinação de Na⁺, e comparamos estes resultados na Tabela 4.

Tabela 4 – Teores de sódio em soluções de soro fisiológico e amostras de águas naturais usando o fotômetro comercial Digimed e o *SpectroPhone*.

Amostra	Valores estimados (mg L ⁻¹)	
	Digimed	<i>SpectroPhone</i>
Soro Fisiológico		
01	3,16 ± 0,12	3,17 ± 0,10
02	3,03 ± 0,10	3,03 ± 0,05
Água Natural		
01	1,32 ± 0,17	1,30 ± 0,07
02	0,78 ± 0,03	0,74 ± 0,03
03	1,38 ± 0,03	1,32 ± 0,02
04	2,01 ± 0,07	1,95 ± 0,04
05	1,52 ± 0,03	1,52 ± 0,13
R.S.D.	3,4 %	2,6 %

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os resultados para a maioria das amostras a um nível de confiança de 95% quando da aplicação do teste t empareado. O desvio-padrão relativo global (R.S.D) foi inferior a 3,4 e 2,6%, para o instrumento *SpectroPhone* e comercial, respectivamente, a partir de cinco repetições.

O *SpectroPhone* apresentou maior precisão, o que se torna claro quando olharmos para o valores de R.S.D (n=5) do conjunto.

Os baixos valores de R.S.D obtidos neste estudo utilizando o *SpectroPhone* pode ser justificado pela natureza multivariada dos dados valores de R, G e B [52].

Outro aspecto importante está na menor susceptibilidade às pequenas variações de intensidade de luminosidade causadas pela instabilidade da chama, as quais são amenizadas no tratamento matemático das imagens espectrais.

4 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi desenvolvido um espectrofotômetro denominado *SpectroPhone* com um design simples, de modo duplo (absorção/emissão) parcial, usando MDF, um fragmento de DVD como grade de difração, mini lâmpadas incandescentes e um smartphone tem sido discutido e testado. As principais vantagens do *SpectroPhone* são: fácil de construir, barato, automático, calibrado para correspondência de comprimento de onda, manutenção fácil, portátil no modo de absorção, parcialmente portátil para o modo de emissão e de alta reprodutibilidade nas medições de absorção e emissão em chama. Como desvantagens : o modo de emissão funciona apenas com o sódio, de baixa resolução espectral para o modo de emissão e baixa autonomia energética. É digno de enfatizar que a autonomia em modo de emissão não depende do uso de baterias, sendo limitando apenas pela carga do *smartphone*.

A calibração do *SpectroPhone* foi avaliada em duas formas a primeira fase de calibração, realizada por software, que considera a distribuição de cores do espectro real é igual à distribuição observada pela mudança no valor de Hue, na escala do HSV. E a segunda calibração foi realizada no espectro utilizando substâncias absorventes para testar a eficiência da primeira calibração.

A norma do vetor RGB prova mais uma vez ser um confiável parâmetro quantitativo com base em cores em ambos os modos de operação. Além disso, o modelo proposto com base na absorção $\|V_{RGB}\|(A^*)$ apresentou correlação linear com alta concentração de analitos, fato demonstrado por meio de análise empírica. O método automático de calibração de comprimento de onda com base em valores de Hue rendeu uma alta correlação de comprimento de onda entre referência e a medida. Qualquer técnico/aluno inexperiente pode facilmente utilizar o *SpectroPhone* nas aplicações, isso porque o instrumento é bastante intuitivo e de simples operação.

A avaliação da performance do *SpectroPhone* foi realizada por meio de análises baseadas em curvas analíticas que foram validadas mediante a aplicação da ANOVA. No modo de absorção foi realizada em amostras de xaropes e polivitamínicos na determinação de Fe(II), no modo de emissão foi realizadas em amostras de soro fisiológico e amostras de água natural na determinação do Na⁺. O instrumento proposto permitiu a obtenção de resultados similares aos obtidos por

instrumentos comerciais. A aplicação do teste t emparelhado revelou que não existe diferença sistemática estatisticamente significativa ao nível de 95% de confiança, entre os resultados obtidos por os instrumentos.

Os resultados aqui relatados demonstram que o *SpectroPhone* fornece resultados confiáveis comparáveis aos obtidos a partir de instrumentos comerciais milhares de vezes mais caros. Desta forma o projeto *SpectroPhone* proposto pode ser adotada como uma boa alternativa instrumental para medições espectrométricas, não apenas limitados para fins didáticos e acadêmicos, tendo em vista sua performance e potencialidade analítica, e medidas rápidas.

4.1 PROPOSTAS FUTURAS

Como propostas de trabalhos que poderão ser desenvolvidas, destacam-se as seguintes possibilidades:

- Acoplar um isqueiro para o modo de emissão do *SpectroPhone*;
- Avaliar a performance do *SpectroPhone* por meios de análises multivariadas;
- Ampliar faixa espectral do equipamento, para a realização de análises no Ultravioleta e Infravermelho.

REFERÊNCIAS

- [1] MOTT, J.R.; MUNSON, P.J.; KREUTER, R.A.; CHOCHAN, B.S.; SYKES, D.G., Design, Development, and Characterization of an Inexpensive Portable Cyclic Voltammeter, *J Chem Educ*, 91(2014) 1028-36.
- [2] WEN, X.D.; YANG, S.C.; ZHANG, H.Z.; WANG, J.W., Determination of trace bismuth by using a portable spectrometer after ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction, *Anal Methods-Uk*, 6(2014) 8773-8.
- [3] TEDETTI, M.; JOFFRE, P.; GOUTX, M.; Development of a field-portable fluorometer based on deep ultraviolet LEDs for the detection of phenanthrene- and tryptophan-like compounds in natural waters, *Sensor Actuat B-Chem*, 182(2013) 416-23.
- [4] CZUGALA, M.; FAY, C.; O'CONNOR, N.E.; CORCORAN, B., BENITO-LOPEZ, F.; DIAMOND, D., Portable integrated microfluidic analytical platform for the monitoring and detection of nitrite, *Talanta*, 116(2013) 997-1004.
- [5] WIGTONI, B.T.; CHOCHAN, B.S.; MCDONALD, C.; JOHNSON, M., SCHUNK, D., R. KREUTER R., et al., A Portable, Low-Cost, LED Fluorimeter for Middle School, High School, and Undergraduate Chemistry Labs, *J Chem Educ*, 88(2011) 1182-7.
- [6] ZHAO, S.S.; BUKAR, N.; TOULOUSE, J.L., PELECHACZ, D., ROBITAILLE, R., PELLTIER, J.N, et al., Miniature multi-channel SPR instrument for methotrexate monitoring in clinical samples, *Biosensors and Bioelectronics*, 64(2015) 664-70.
- [7] VAN DEN BESSELAAR, A.M.H.P., VAN DER MEER, F.J.M., ABDOEL, C.F., WITTEVEEN, E., Analytical accuracy and precision of two novel Point-of-Care systems for INR determination, *Thromb Res*, 135(2015) 526-31.
- [8] BANACH, N.M., RUST, M.J., R. PRIEFER, R, A Portable Spectrophotometer-Based Breathalyzer for Point-of-Care Testing of Diabetic Patients, *Northeast Bioengin C*, (2013) 245-6.
- [9] VERAS, G., SILVA, E.C., LYRA, W.S., SOARES, S.F.C., GUERREIRO, T.B., SANTOS, S.R.B., A portable, inexpensive and microcontrolled spectrophotometer based on white LED as light source and CD media as diffraction grid, *Talanta*, 77(2009) 1155-9.
- [10] SCHNABLE, J.G., GROCHOWSKI, P.J., WILHELM, L., HARDING, C., KIEFER, M, ORR, R.S., Portable LED-array VIS-NIR spectrophotometer/nephelometer, *Field Anal Chem Tech*, 2(1998) 21-8.
- [11] SAKUDO, A.; KATO, Y.H.; KURATSUNE, H.; IKUTA, K., Non-invasive prediction of hematocrit levels by portable visible and near-infrared spectrophotometer, *Clin Chim Acta*, 408(2009) 123-7.

- [12] MA, J., YANG, B., BYRNE, R.H., Determination of nanomolar chromate in drinking water with solid phase extraction and a portable spectrophotometer, *J Hazard Mater*, 219(2012) 247-52.
- [13] BAKER, A.; WARD, D.; LIETEN, S.H.; PERIERA, R.; SIMPSON, E.C.; SLATER, M, Measurement of protein-like fluorescence in river and waste water using a handheld spectrophotometer, *Water Res*, 38(2004) 2934-8.
- [14] WEGO, A., Accuracy simulation of an LED based spectrophotometer, *Optik*, 124(2013) 644-9.
- [15] PESSOA-NETO, O.D., SANTOS, V.B., VICENTINII, F.C., SUAREZ, W.T., ALONSO-CHAMARRO, J., FATIBELLO, O., et al., A low-cost automated flow analyzer based on low temperature co-fired ceramic and LED photometer for ascorbic acid determination, *Cent Eur J Chem*, 12(2014) 341-7.
- [16] WIDIATMOKO E., WIDAYANI, BUDIMAN M., ABDULLAH, M., KHAIRURRIJAL. A. simple spectrophotometer using common materials and a digital câmera, *Physics Education*, v. 46, n. 3 , pp. 332-339, May 2011.
- [17] WAKABAYASHI, F., Resolving spectral lines with a periscope-type DVD spectroscopy, *J Chem Educ*, 85(2008) 849-53.
- [18] VANDERVEEN, J.R, MARTIN, B.,OOMS, K.J. ,Developing Tools for Undergraduate Spectroscopy: An Inexpensive Visible Light Spectrometer, *J Chem Educ*, 90(2013) 894-9.
- [19] LIU, Y.D., XIONG, S.S., LIU, D.L., Applications of Near Infrared Reflectance Spectroscopy Technique (NIRS) to Soil Attributes Research, *Spectrosc Spect Anal*, 34(2014) 2639-44.
- [20] MATIAS, F.A.A., VILA, M.M.D.C., TUBINO, M., A simple device for quantitative colorimetric diffuse reflectance measurements, *Sensor Actuat B-Chem*, 88(2003) 60-6.
- [21] SOMBATSOMPOP, N., INTAWONG, N.S., INTAWONG, N.T., Design and construction of photo-conductive light pressure sensor for highly viscous fluids, *Sensor Actuat a-Phys*, 102(2002) 76-82.
- [22] SCHRODLE, S., BUCHNER, R., KUNZ, W., Automated apparatus for the rapid determination of liquid-liquid and solid-liquid phase transitions, *Fluid Phase Equilibr*, 216(2004) 175-82.
- [23] LAU, K.T., SHEPHERD, R., DIAMOND, D., DIAMOND, D., Solid state pH sensor based on light emitting diodes (LED) as detector platform, *Sensors-Basel*, 6(2006) 848-59.
- [24] URAPEN, R., MASAWAT, P., Novel method for the determination of tetracycline antibiotics in bovine milk based on digital-image-based colorimetry, *Int Dairy J*, 44(2015) 1-5.

- [25] LYRA, W.D.; SANCHES, F.A.C.; CUNHA, F.A.D.; DINIZ, P.H.G.D.; LEMOS, S.G.; SILVA, E.C.; et.al. Indirect determination of sodium diclofenac, sodium dipyrone and calcium gluconate in injection drugs using digital image-based (webcam) flame emission spectrometric method. *Anal. Methods*, n. 3, pp.1975-1980, 2011.
- [26] WONGWILAI, W., LAPANANTNOPPAKHUN, S., GRUDPAN, S., GRUDPAN, K., Webcam camera as a detector for a simple lab-on-chip time based approach, *Talanta*, 81(2010) 1137-41.
- [27] BENEDETTI, L.P.D., SANTOS, V.B., SILVA, T.A., BENEDETTI, E.; MARTINS, V.L., FATIBELLO, O., A digital image-based method employing a spot-test for quantification of ethanol in drinks, *Anal Methods-Uk*, (2015) 4138-44.
- [28] SANTOS, V.B, GUERREIRO, T.B., FARIA, R.C., FATIBELLO, O., SUAREZ, W.T, Construction and Application of a Portable Microcontrolled Turbidimeter for the in Situ Determination of Sulfate, *Quim Nova*, 35(2012) 802-7.
- [29] SUAREZ, W.T., PESSOA-NETO, O.D., SANTOS, V.B., NOGUEIRA, A.R.D, FARIA, R.C., O. FATIBELO, O., et al., A Compact Miniaturized Flow System Based on Low-Temperature Co-fired Ceramic Technology Coupled to LED Mini-photometer for Determination of Dipyrone in Pharmaceutical Formulations, *J Brazil Chem Soc*, 24(2013) 847.
- [30] FRONCZEK, C.F., PARK, T.S., HARSHMAN, D.K., NICOLINI, A.M., YOON, J.Y., Paper microfluidic extraction and direct smartphone-based identification of pathogenic nucleic acids from field and clinical samples, *Rsc Adv*, 4(2014) 11103-10.
- [31] AHMED, H.A., AZZAZY, H.M.E., Power-free chip enzyme immunoassay for detection of prostate specific antigen (PSA) in serum, *Biosens Bioelectron*, 49(2013) 478-84.
- [32] WEI, Q.S., NAGI, R., SADEGHI, K., FENG, S., YAN, E., KI, S.J., et al., Detection and Spatial Mapping of Mercury Contamination in Water Samples Using a Smart-Phone, *Acs Nano*, 8(2014) 1121-9.
- [33] KWON, H., PARK, J., AN, Y. , SIM, J.; PARK, S., A smartphone metabolomics platform and its application to the assessment of cisplatin-induced kidney toxicity, *Anal Chim Acta*, 845(2014) 15-22.
- [34] HALLIDAY, D.; RESNIK R.; DENNETH, S. **Física 3. v. 2; 5ª Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2004.**
- [35] DARTORA, C.A.; NOBREGA, K.Z; MATIELLI, M.H.K; CAMPOS, F.K.R.; SANTOS FILHO, H.T. S. Conceitos básicos sobre a difração e a dispersão de ondas eletromagnéticas. **Rev. Bras. Ensino Fís.** v.33, n. 1, São Paulo, Jan/ Mar.2011. Disponível (online) em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbef/v33n1/07.pdf>>. Acesso em: 20 mar 2015.
- [36] HALLIDAY, D.; RESNICK, R.; WALKER, J. **Fundamentos de física.** 8ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009.

- [37] SKOOG; WEST; HOLLER; CROUCH. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª edição norte-americana. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006.
- [38] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A., **Princípios de Análise Instrumental**, 5ª ed., Bookman: São Paulo, 2002.
- [39] BROWN, T. L.; LEMEY JÚNIOR, H. E.; BURTEN, B. E.; BURDGE, J. R. **Química: A ciência Central**. 9ª ed. São Paulo: Editora Pearson Prentice Hall Brasil, 2008.
- [40] VINADÉ, M. E. C.; VINADÉ, E. R. C. **Métodos espectroscópicos de análise quantitativa**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005.
- [41] AZZAZY, H.M.E.; ELBEHER, Ali H.A. Clinical laboratory data: acquire, analyze, communicate, liberate. **Clinica Chimica Acta**, v. 438, pp. 186-194, 2015.
- [42] YETISEN, A. K.; MARTINEZ-HURTADOA, J.L.; GARCIA-MELENDEZ, A.; CRUZ, F. V.; LOWEA, C. R. A smartphone algorithm with inter-phone repeatability for the analysis of colorimetric tests. **Sensors and Actuators B**. n.196, pp. 156-160, 2014.
- [43] GARCÍA, A., ERENAS M.M, MARINETTO, E.D., ABADA, C.A., ORBE-PAYA, I.; PALMA, A.J.,CAPITÁN-VALLEY, L.F., Mobile phone platform as portable chemical analyzer, *Sensors and Actuators B* 156 (2011) 350–359.
- [44] IQBAL, Z, BJORKLUND, R.B., Colorimetric analysis of water and sand samples performed on a mobile phone, *Talanta* 84 (2011) 1118–1123.
- [45] GONG, A., YU, J., HE, Y., QIU, Z., Citrus yield estimation based on images processed by an Android mobile phone, *biosystems engineering* 115 (2013) 162 e 170.
- [46] GÓMEZ-ROBLEDO, L., CAPITÁN-VALLVEY, L.F., LÓPEZ-RUIZ, N., SÁNCHEZ- MARAÑÓN, M., MEGOSA, M., Using the mobile phone as Munsell soil-colour sensor: An experimete under controlled illumination conditions, *Computers and Electronics in Agriculture* 99 (2013) 200–208.
- [47] THEREMINO System: Theremino Spectrometer Technology. August 15, 2014.
- [48] NATIONAL Nanotechnology Infrastructure Network. **CDs and DVDs as Diffraction Gratings**. Disponível (online) em: http://www.nnin.org/sites/default/files/files/Karen_rama_TG_part1_0.pdf>. Acesso em: 23/04/2015, 15:30 min.
- [49] VÉRAS NETO, J. G. **Um Espectrômetro Microcontrolado Baseado em LED Branco como Fonte de Radiação e Mídia de CD como Grade de Difração**. 2008. 116p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

[50] WAKABAYASHI, F., Resolving spectral lines with a periscope-type DVD spectroscope, *J Chem Educ*, 85(2008) 849-53.

[51] LEMA, M.A., ALJINOVIC, E.M., and LOZANO, M.E, Laboratory Exercises Using a Homemade Spectrophotometer in Teaching Biosciences, *BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY EDUCATION*, Vol. 30, No. 2, pp. 106–110, 2002.

[52] LYRA, W. S.; SANTOS, V. B.; DIONÍZIO, A. G. G.; MARTINS, V. L.; ALMEIDA, L. F.; GAIÃO, E. N.; DINIZ, P. H.; SILVA, C. E.; ARAÚJO, M. C. Digital image-based flame emission spectrometry. **Talanta**, n. 77, pp. 1584-1589, 2009.

[53] LYRA, W.S., ALMEIDA, L. F.; CUNHA, F. A. S; DIAS, P. H. D. G.; MARTINS, V. L.; ARAÚJO, M. C. U. Determination of sodium and calcium in powder milk using digital image-based flame emission spectrometry. **Anal. Methods**, n. 6, pp. 1044-1050, 2014.

[54] MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H. **Processamento Digital de Imagens**. Rio de Janeiro: Brasport, 1999.

[55] QUEIROZ, J.E.R.; GOMES, H.M. Introdução ao Processamento Digital de Imagens. **Revista RITA**: instruções para preparação de documentos em Word, v. 8, n. 1, 31p. 2001.

[56] BENEDETTI, L.P.S., SANTOS, V.B., SILVA, T. A., FILHO, E.B., MARTINS, V.L., FATIBELLO- FILHO, O., A digital image-based method employing a spot-test for quantification of ethanol in drinks, *Analytical Methods*, 2015, **7**, 4138-4144.

[57] ASSAD, E.D., SANO, E.E., CUNHA, S.A.R., CORREA, T.B.S., RODRIGUES, H.R., Identificação de impurezas e misturas em pó de café por meio de comportamento espectral

[58] KOHL, S.K., LANDMARK, J.D., STICKLE, D.F., Demonstration of Absorbance Using Digital Color Image Analysis and Colored Solutions, *Journal of Chemical Education* • Vol. 83 No. 4 April 2006, p. 644-646.

[59] BYRNE, L., BARKER, J.; PENNARUN- THOMAS, G., DIAMOND, D; EDWARDS, S. Digital imaging as a detector for generic analytical measurements. **Trends Anal. Chem.** v. 19, 8th ed, pp.517-522, 2000.

[60] GELADI, P.; GRAHN, H. Multivariate image analysis. 2nd Ed. New York: Wiley, 1996.

[61] GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Processamento de imagens digitais**. São Paulo: Edgard Blucher, 2000.

[62] T. Field, RSpec Real-time Spectroscopy, <http://www.rspecastr.com>, 2011.

[63] V. Desnoux, Visual Spec, <http://www.astrosurf.com/vdesnoux>, 2015.

[64] ImageJ, National Institutes of Health ImageJ, <http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html> 2015.

- [65] BERNES, R. S., Principles of colour technology, 3rd ed, Wiley: New York, 2000.
- [66] BATISTA, L. V. **Introdução ao Processamento Digital de Imagens**. 2005. Disponível (online) em:<<http://www.di.ufpb.br/leonardo/pdi/PDI2005.pdf>>. Acesso em: 30 abr 2015.
- [67] LYRA, W. S. Espectrometria de Emissão em Chama Baseada em Imagens Digitais. 2008. 89p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.
- [68] BARBOSA, V.C.; BREITSCHAFT, A.M.S.; MENDONÇA, J.P.R.F.; MOREIRA, L. M.M.; MORAES, P.C.G. Uma visualização do princípio de Huygens-Fresnel na obtenção de um padrão de difração. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, São Paulo, v. 34, n. 3, pp. 3301-3305, jul/set. 2012.
- [69] LEITE, F. Validação em análise química. 5^a Ed. Campinas: Editora Átomo, 2008.
- [70] SILVA, P. H. F., Leite: aspectos de composição e propriedades, Química Nova na Escola, 6: 3, 1997.
- [71] PIMENTEL, M. F. e BARROS NETO, B. B., Calibração: uma revisão para químicos analíticos, Química Nova, 19: 268, 1996.
- [72] BARROS NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S. e BRUNS, R. E. Como fazer experimentos. 4^a Ed., Editora bookman: Porto Alegre, 2010.
- [73] MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. J. K. **Vogel: Análise Química Quantitativa**, 6^a ed. Rio de Janeiro: LTC- Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2002.
- [74] DEPASSE, F., PAESLER, M. A., COURJON, D., VIGOUREUX, J.M., Optics Letters, 20(1995) 234-6.
- [75] VASHIST, S.K., VAN OORDT, T., SCHNEIDER, E.M., ZENGERLE, R., VON STETTEN, F., LUONG, J.H.T., A smartphone-based colorimetric reader for bioanalytical applications using the screen-based bottom illumination provided by gadgets, Biosens Bioelectron, 67(2015) 248-55.
- [76] COSKUN, I., AKAR, F, ÇETIN, Ö., A new digital image steganography algorithm based on visible wavelength, Turk J Elec Eng & Comp Sci, 21(2013) 548-564.
- [77] MCNAUGHT, A. D.; ANDREW, W.; IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 1997.
- [78] Fraser, B.; Murphy, C.; Bunting, F.; *Real world color management*, 2nd ed, Peachpit Press: USA, 2005.
- [79] CARVALHO, T., **Espectro Eletromagnético**. Disponível (online) em: <<http://www.infoescola.com/fisica/espectro-eletromagnetico/>>. Acesso em: 20 abr 2015, 09:00hs.

[80] KÍTOR, G.L., **Radiação Eletromagnética**. Disponível (online) em <<http://www.infoescola.com/fisica/radiacao-eletromagnetica/>>. Acesso em: 21 abr 2015, 15:00hs.

[81] Spectral Power Distribution, SPD, <http://www.lrc.rpi.edu/education/learning/terminology/spectralpowerdistribution.asp>. Acesso em: 22 abr 2015, 17:00 hs.

[82] Lighting Terminology, http://www.ikatech.net/index.aspx?lang=eng&fn=technical_language. Acesso em 23 abr 2015, 20:00 hs

[83] Armazenamento de informações: DVD vs CD, <http://www.gta.ufrj.br/grad/01_1/dvd/dvd_cd.htm. Acesso em 24 abr 2015, 10:30hs.

[84] Site: <http://umblogparadesign.blogspot.com.br/2010/04/sf-impressao-que-luz.html>. Acesso em 24 abr 2015, 20:30hs.

[85] Página Dinâmica para Aprendizado do Sensoriamento Remoto, Formação das cores <http://www.ufrgs.br/engcart/PDASR/formcor.html>>. Acesso em 25 abr 2015, 09:00hs.

[86] Site: <http://gasparbrogueira.web44.net/metodologia.html>. Acesso em 26 abr 2015, 10:00hs.

