

Desenvolvimento de Método Simples e Rápido para Detecção Colorimétrica de Nanopartículas de Dióxido de Titânio (TiO₂)

Palavras-Chave: nanopartículas, dióxido de titânio, imagens digitais

Autores:

Mateus Queiroz Marchesi [IQ Unicamp]

Reverson Fernandes Quero (co-orientador) [IQ Unicamp]

Prof. Dr. Dosil Pereira de Jesus (orientador) [IQ Unicamp]

INTRODUÇÃO:

Estudos na área de nanotecnologia vêm apresentando forte crescimento nos últimos anos, com interesse tanto do setor acadêmico quanto do industrial, o que é demonstrado pela estimativa de que o mercado global de nanomateriais alcance 55 bilhões de dólares até 2022^[1] (Figura 1).

A grande demanda por nanomateriais é devido a suas propriedades físicas e químicas únicas ou melhoradas em comparação a materiais não nanoestruturados, o que permite seu emprego: em armazenamento de energia; em construção; em componentes eletrônicos; na indústria farmacêutica; no setor aeroespacial, entre outros^[1].

Os nanomateriais apresentam grande variedade, sendo uma delas as nanopartículas (NPs), que possuem muitas definições distintas, mas uma comumente aceita é “materiais que possuem pelo menos uma dimensão entre 1 e 100 nm” (ISO/TR 18401:2017 - *Nanotechnologies*). Existem muitas variações de NPs quanto a tamanho, morfologia e composição química, e uma delas são as NPs de TiO₂.

NPs de TiO₂ são fotocatalisadores, são resistentes à corrosão e possuem grande área superficial, características que permitem sua aplicação em tintas, em cosméticos (como protetores solares), como aditivo em alimentos, dentre outras. No entanto, sua crescente utilização está se tornando tão ampla que despertou a preocupação dos possíveis impactos que podem causar à saúde humana e ao meio ambiente^[2], sendo, pois, necessário o desenvolvimento de métodos analíticos para sua caracterização e determinação.

As NPs de TiO₂ interagem com enedióis, como o ácido salicílico (AS), formando um complexo de Transferência de Carga Ligante-Metal (LMCT, do inglês *Ligand-to-Metal Charge Transfer*), que absorve radiação no espectro visível, promovendo coloração amarela^[3], como mostra o esquema na Figura 2.

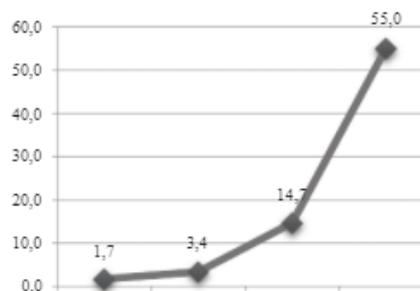


Figura 1: estimativa do crescimento do mercado global de nanomateriais até 2022. Adaptado da referência [1].



Figura 2: ilustração da interação das NPs de TiO_2 com AS, formando um complexo de coloração amarela. Adaptado da referência [3].

Tendo em vista esta possibilidade do desenvolvimento de coloração e a necessidade de métodos de análises para essas NPs, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de um método colorimétrico rápido e simples para caracterização e determinação de NPs de TiO_2 , com auxílio de câmeras de *smartphones* e do aplicativo *PhotoMetrix*[®] para tratamento das imagens digitais. Além disso, dispositivos produzidos por impressão 3D foram utilizados para otimizar as condições de captura de imagens. Como o trabalho encontra-se ainda em

andamento, serão apresentados os principais resultado obtidos referentes ao aparato experimental e uso do aplicativo para medida de intensidade de cor.

METODOLOGIA:

1. Teste de precisão da câmera com uso do *PhotoMetrix*[®].

PhotoMetrix[®] é um aplicativo de celular desenvolvido em 2014 por *Gilson Helfer et al.*^[4], que permite construir curvas analíticas a partir da intensidade de cor de imagens de soluções padrão coloridas, capturadas pela câmera do *smartphone*, e correlacionar com as concentrações dessas soluções. As curvas construídas são salvas no aplicativo, podendo ser utilizadas para realizar análises colorimétricas, o que já possibilitou a determinação de fluoreto e fósforo em água natural e tratada^[5], determinação indireta de iodo em biodiesel^[8], e outras aplicações^[6].

A intensidade da cor da imagem é medida a partir de seus parâmetros RGB (*Red, Green e Blue*, do inglês), que compõem modelo de cores de mesmo nome. Esses parâmetros, geralmente, são expressos pelo vetor RGB ($RGB = (R, G, B)$), cujas coordenadas podem assumir valores inteiros entre 0 e 255.

O *PhotoMetrix*[®] mede os valores dos parâmetros RGB das fotos dos padrões, converte-os em uma variável chamada *Intensidade do Sinal* e a correlaciona com a concentração dos padrões para montar a curva analítica. Nesse sentido, é importante avaliar quais condições experimentais causam variações nos valores desses parâmetros.

Utilizando o programa *Photoshop Versão 14.0 (Adobe, Califórnia, EUA)*, foi criada uma imagem com cores avermelhadas de valores RGB conhecidos (Figura 3.a).

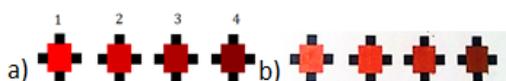


Figura 3: (a) imagem digital com cores para teste de captura de imagens. (b) impressão da imagem digital em folha de papel.

Os vetores RGB escolhidos no *Photoshop* para cada cor são $RGB_1 = (255, 0, 0)$, $RGB_2 = (215, 0, 0)$, $RGB_3 = (175, 0, 0)$ e $RGB_4 = (135, 0, 0)$. Após isso, a imagem foi impressa em folha sulfite A4 para testes com o *PhotoMetrix*[®] (Figura 3.b).

Experimento 1: em um ambiente sem iluminação, um suporte foi utilizado para fixar um *smartphone* de modelo *Moto G5S Plus* acima da folha de papel com as imagens, a aproximadamente 3,5 cm de distância, a fim de minimizar a movimentação e vibração da câmera, que pode comprometer a qualidade da foto a ser obtida. Uma lâmpada foi posicionada de modo a iluminar a folha de sulfite, evitando, assim, a variação de luminosidade. O esquema segue na Figura 4.

Nessas condições, foram obtidas sete fotos para cada uma das quatro cores (totalizando 28 imagens), seus valores de RGB foram obtidos, avaliados pelo teste de Dixon^[7] para eliminação de *outliers* e os intervalos de confiança estimados (todos os dados estatístico são avaliados a 95% de confiança).

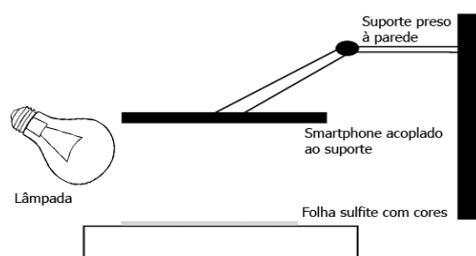


Figura 4: esquema do aparato experimental para captura de imagens. Figura meramente ilustrativa.

Experimento 2: para avaliar a influência da iluminação ambiente, foi realizado o mesmo procedimento, exceto que a lâmpada foi desligada e as janelas do ambiente foram abertas, de modo a permitir a entrada de luz solar. O dia estava nublado e houve variação luminosa durante as medidas.

Experimento 3: para avaliar o efeito da movimentação da câmera, o experimento 1 foi repetido, porém as fotos foram obtidas com o *smartphone* em mãos, de modo que a câmera capturava imagens levemente transladadas, mas tentou-se capturá-las mantendo a posição original tanto quanto possível.

2. Construção de curvas analíticas com o *PhotoMetrix*[®].

Uma solução de corante alimentício avermelhado foi preparada com concentração desconhecida (C_o), e seis outras foram feitas a partir da diluição da primeira, de modo a obter padrões com concentrações 100%, 80%, 60%, 40%, 20% e 0% (branco) em relação a solução estoque C_o . Um volume de 15 mL de cada uma delas foram transportados para copinhos plásticos (Figura 5) para a captura de fotos.



Figura 5: soluções padrão de corante alimentício. Da esquerda para a direita, as concentrações são 0%, 20%, 40%, 60%, 80% e 100% de C_o .

Foi montado um aparato experimental composto por um LED e um dispositivo fabricado em poli(ácido lático) (PLA) produzido por impressão 3D (Figura 6 a)). As marcações em preto no dispositivo servem para controle das posições de cada componente do aparato, para que as fotos não sejam tiradas de diferentes posições e ângulos. O dispositivo é posicionado acima do

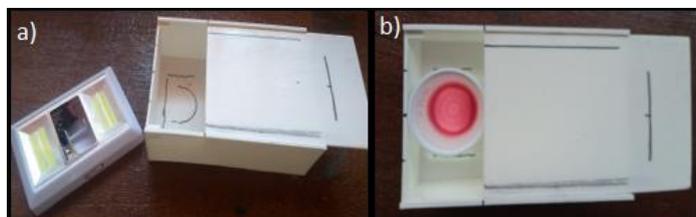


Figura 6: a) LED e dispositivo de impressão 3D. b) arranjo experimental com LED ligado abaixo do dispositivo e solução padrão em posição para captura de imagem.

LED, para que a luz proveniente seja espalhada homogênea para a solução, além de diminuir a forte intensidade luminosa, que poderia impedir a detecção de diferentes absorvâncias. O *smartphone* é posicionado em cima da tampa do dispositivo para tirar a foto da solução.

Após isso, utilizou-se o *PhotoMetrix*[®] para capturar as imagens dos padrões, tendo

escolhido, arbitrariamente, o valor $C_o = 1$, de modo que os padrões tenham concentrações 1,0; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 e 0,0 (a linearidade das medidas não deve ser alterada pela escala de concentração utilizada). O aplicativo gera as curvas analíticas automaticamente e, no total, foram geradas três curvas. As soluções padrão também foram utilizadas como amostras (no modo amostragem do *PhotoMetrix*[®]) a fim de avaliar se curvas obtidas preveem corretamente suas concentrações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os resultados dos Experimentos 1 e 2 encontram-se, respectivamente, nas Tabelas 1 e 2:

| Cor | R | G | B |
|-----|------------|------------|------------|
| 1 | 183 ± 1 | 84 ± 1 | 69 ± 1 |
| 2 | 146 ± 2 | 73 ± 1 | 58 ± 1 |
| 3 | 123 ± 1 | 73,8 ± 0,7 | 59,3 ± 0,9 |
| 4 | 96,6 ± 0,7 | 67,4 ± 0,7 | 53 ± 1 |

Tabela 1: valores de RGB para as cores sob iluminação invariável e com minimização de movimentação/vibração na câmera. Não houve presença de outliers.

| Cor | R | G | B |
|-----|------------|--------|-------------|
| 1 | 127 ± 2 | 84 ± 1 | 112,4 ± 0,9 |
| 2 | 88,4 ± 0,7 | 75 ± 2 | 108,4 ± 0,7 |
| 3 | 118 ± 10 | 84 ± 2 | 87,2 ± 0,6 |
| 4 | 102 ± 6 | 87 ± 3 | 93 ± 4 |

Tabela 2: valores de RGB para as cores sob iluminação ambiente (variável) e com minimização de movimentação/vibração na câmera. Valores em vermelho tiveram outliers descartados.

Sob luminosidade variável (dados da Tabela 2), temos $R_2 < R_3$, no entanto, pelos valores do experimento 1 (dados da Tabela 1), era esperado observar $R_2 > R_3$. Além disso, ao comparar as

médias de R_3 e R_4 pelo teste $t^{[7]}$, verifica-se que elas não diferem significativamente, sendo que era esperado $R_3 > R_4$. Esses dois fatos indicam o comprometimento das médias das medidas, causado pela variação da iluminação.

Além disso, os resultados apresentam diferentes precisões entre si, segundo o teste $F^{[7]}$, o que não ocorre com as precisões do experimento 1. Em relação ao parâmetro R da cor 1 ($R_1 = 127 \pm 2$), suas medidas foram feitas sob luminosidade que não variou perceptivelmente a olho nu, mas sua precisão, segundo o teste F, mostrou-se significativamente diferente da precisão de R da cor 4 do Experimento 1 ($R_4 = 96,6 \pm 0,7$), o que indica que não é necessário variação de luminosidade acentuada para que as medidas tenham sua precisão comprometida.

Após essa análise, pode-se concluir que a variação da luminosidade ambiente compromete as medidas de cores e, portanto, não se deve tomar medidas com o *PhotoMetrix*® sob tal condição.

O experimento 3 foi feito utilizando suporte e lâmpada diferentes dos dos experimentos 1 e 2, portanto o experimento 1 foi refeito com essas novas condições para que seus resultados pudessem ser comparados aos do experimento 3, que se encontram nas Tabelas 3 e 4, a seguir:

| Cor | R | G | B |
|-----|-------------|------------|------------|
| 1 | 162,7 ± 0,7 | 83,1 ± 0,6 | 79,1 ± 0,6 |
| 2 | 147,1 ± 0,3 | 84,0 ± 0,5 | 78,4 ± 0,5 |
| 3 | 127,6 ± 0,5 | 83,3 ± 0,7 | 77,6 ± 0,5 |
| 4 | 109,0 ± 0,7 | 79,6 ± 0,5 | 75,2 ± 0,4 |

Tabela 3: valores de RGB para as cores sob iluminação invariável e com minimização de movimentação/vibração na câmera. Não houve presença de outliers.

| Cor | R | G | B |
|-----|-------------|------------|------------|
| 1 | 161,3 ± 0,9 | 83 ± 2 | 81 ± 2 |
| 2 | 150,4 ± 0,5 | 83,4 ± 0,7 | 78,0 ± 0,5 |
| 3 | 129 ± 1 | 83,6 ± 0,9 | 78,9 ± 0,8 |
| 4 | 109,3 ± 0,5 | 81 ± 1 | 77,1 ± 0,8 |

Tabela 4: valores de RGB para as cores sob iluminação invariável com movimentação/vibração na câmera. Resultados em vermelho tiveram outliers descartados.

Alguns valores de parâmetros têm suas médias alteradas levemente, de modo que o teste t para comparar duas médias não as difere significativamente, como ocorre, por exemplo, no parâmetro R_4 dos dois experimentos. Porém, algumas médias se diferem significativamente, como o parâmetro R_3 , o que mostra a interferência da movimentação.

Quanto às precisões das medidas, a maioria são pouco alteradas, de modo que não são significativamente diferentes segundo o teste F (como ocorre com R_1), mas outras não passam no teste (como ocorre com G_1).

Levando em conta que a movimentação da câmera pode ser fonte de erros tanto nos valores das médias quanto das precisões (além de poder gerar *outliers* no conjunto de medidas), é recomendável que capturas de imagens com o *PhotoMetrix*® sejam feitas com a imobilização do *smartphone*.

As duas primeiras curvas analíticas geradas encontram-se na Figura 7. Uma primeira observação a ser feita é a constância do padrão entre os pontos: apesar das equações de reta

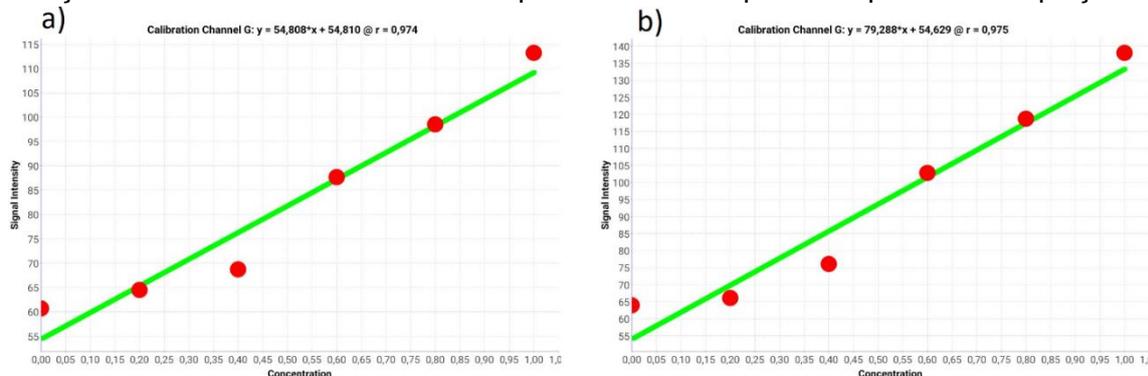


Figura 7: a) curva analítica 1, $R^2 = 0,974$. Medidas tomadas com presença de iluminação da lâmpada do cômodo. b) curva analítica 2, $R^2 = 0,975$. Medidas tomadas com presença de iluminação ambiente.

serem diferentes (devido às diferentes intensidades luminosas da lâmpada e da luz solar), as posições relativas foram mantidas, sugerindo que, se a iluminação de fundo for menos intensa que a do LED, a linearidade dos pontos é pouco alterada. As soluções padrão também foram utilizadas

como amostras (modo amostragem do aplicativo) para testar as curvas, e verificou-se que apenas as de concentração 0% e 40% apresentaram grande erro, o que já se mostra um resultado promissor para futuro aprimoramento do método. Uma segunda observação é que os pontos correspondentes a essas duas concentrações, em ambas as curvas, apresentam erro maior que o esperado, o que aponta a possível presença de erros sistemáticos.

Tendo isso em vista, tais soluções foram preparadas novamente e construiu-se uma terceira curva analítica (Figura 8), que apresentou coeficiente de determinação $R^2 = 0,994$, um excelente resultado, apesar das condições experimentais não serem extremamente controladas como poderiam ser em laboratório.

Tal resultado é grande incentivo para o desenvolvimento do método, uma vez que as condições experimentais ainda podem ser melhoradas: em laboratório, poder-se-á construir dispositivos 3D mais práticos e que sofram menos interferência de luminosidade exterior; utilizar vidrarias com maiores precisões para a preparação das soluções e trabalhar com soluções de NPs com valores de concentração conhecidos.

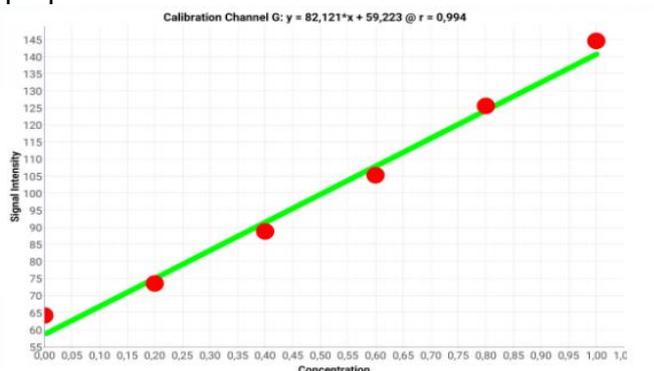


Figura 8: curva analítica 3, $R^2 = 0,994$. Medidas tomadas com presença de iluminação ambiente.

CONCLUSÕES:

Foram realizados experimentos para avaliar interferentes das medidas das imagens, cujos resultados permitiram concluir que a movimentação da câmera e iluminação variável precisam ser minimizadas. Com isso, foi constatada a necessidade de construir um aparato com dispositivo de impressão 3D e um LED, que minimizaram tais interferentes, de modo que o aplicativo gerou curvas analíticas com alta relação linear entre os pontos. Conclui-se que os resultados obtidos são promissores para a continuidade do trabalho, que envolverá as análises colorimétricas de NPs TiO_2 .

BIBLIOGRAFIA

1. Inshakova, E. and O. Inshakov, *World market for nanomaterials: structure and trends*. **International Conference on Modern Trends in Manufacturing Technologies and Equipment (Icmtmte 2017)**, 2017. 129.
2. Xu, F., *Review of analytical studies on TiO_2 nanoparticles and particle aggregation, coagulation, flocculation, sedimentation, stabilization*. **Chemosphere**, 2018. 212: p. 662- 677.
3. Tseng, P.J., et al., *A facile colorimetric assay for determination of salicylic acid in tobacco leaves using titanium dioxide nanoparticles*. **Analytical Methods**, 2014. 6(6): p. 1759-1765.
4. Helfer, G. A., Magnus, V. S., Böck, F. C., Teichmann, A., Ferrão, M. F., & da Costa, A. B. *PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices*. **Article J. Braz. Chem. Soc**, 2017. 28(2), 328–335.
5. Pappis, C., Librelotto, M., Baumann, L., Betina, A., Roberta, P., Santos, O., Damé, I., Gilson, T., Helfer, A., Alexis, E., Adilson, L., & da Costa, B. *Point-of-use Determination of Fluoride and Phosphorus in Water through a Smartphone using the PhotoMetrix® App*. **J. Anal. Chem**, 2019. 6(25), 58–66.
6. Böck, F. C., Helfer, G. A., da Costa, A. B., Dessuy, M. B., Ferrão, M. F. (2020). *PhotoMetrix and colorimetric image analysis using smartphones*. **Journal of Chemometrics**. 2020.
7. Miller, James N.; Miller, Jane C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 6ª ed. Pearson, 2010.
8. Soares, S., Lima, M. J. A., & Rocha, F. R. P. (2017). *A spot test for iodine value determination in biodiesel based on digital images exploiting a smartphone*. **Microchemical Journal**, 2017. 133, 195–199.