

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**MARCELA EDUARDA JANUARIO**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO COLORIMÉTRICO UTILIZANDO  
IMAGENS DIGITAIS CAPTURADAS POR SMARTPHONES PARA A  
QUANTIFICAÇÃO DE UREIA NO SUOR**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PONTA GROSSA**

**2021**

**MARCELA EDUARDA JANUARIO**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO COLORIMÉTRICO UTILIZANDO  
IMAGENS DIGITAIS CAPTURADAS POR SMARTPHONES PARA A  
QUANTIFICAÇÃO DE UREIA NO SUOR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química, do Departamento Acadêmico de Engenharia Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Marcos André Bechlin

**PONTA GROSSA**

**2021**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

### DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO COLORIMÉTRICO UTILIZANDO IMAGENS DIGITAIS CAPTURADAS POR SMARTPHONES PARA A QUANTIFICAÇÃO DE UREIA NO SUOR

por

Marcela Eduarda Januario

Monografia apresentada no dia 03 de Dezembro de 2021 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Prof. Dr. Marcos André Bechlin  
(UTFPR)

---

Prof. Dr. Matheus Pereira Postigo  
(UTFPR)

---

Prof Dr. Cesar Arthur Martins Chornobai  
(UTFPR)

---

Prof Dra. Juliana de Paula Martins  
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Química

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do curso.

## AGRADECIMENTOS

O primeiro agradecimento é, sem dúvidas, a minha família. Minha base e porto seguro. Não há palavras suficientes para comportar tamanha gratidão que sinto por tê-los ao meu lado, por me apoiarem em todos os momentos de seus jeitos particulares, e por acreditarem em mim, principalmente quando me faltava confiança. Se hoje os desafios não parecem tão assustadores e são recebidos com um saudoso sorriso, foi porque vocês me levantaram e me mostraram que a alegria pode ser encontrada até mesmo nas horas mais escuras, por aqueles que lembrarem de acender a luz. Vocês são a minha.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos André Bechlin, pela compreensão, apoio, amizade, e, principalmente, por me proporcionar a liberdade criativa e confiança para trilhar meu próprio caminho como pesquisadora. Os primeiros passos dessa longa, mas bela, caminhada serão possíveis graças a você, espero deixá-lo orgulhoso.

Agradeço aos colaboradores do Laboratório de Análises Clínicas Oscar Pereira, e em especial a minha amiga Meirielly, pelo fornecimento dos reagentes e amostras utilizados para a condução dos experimentos, possibilitando que meu trabalho saísse do papel.

Agradeço ao Prof. Dr. Matheus Pereira Postigo por acreditar na ideia, apoiando e contribuindo para a elaboração do projeto desde o início, mostrando que ideias bem intencionadas na mão de pessoas dedicadas, podem chegar a resultados que façam uma grande diferença no mundo em que vivemos.

A meus amigos, Kauanne, Gabrielly, Cliceu, Camilla, Bruna e Ana. Não há pessoas nesse mundo que compreendam mais minha caminhada durante os anos de graduação, que vocês, meus cúmplices. Obrigada por me lembrarem constantemente do meu potencial, até mesmo quando eu não conseguia enxergá-lo. Vocês me inspiram todos os dias a continuar acreditando em milagres, pois encontrá-los certamente deve ser uma obra do divino em todas as suas formas, e não um acaso.

E por fim, agradeço a todos que de alguma maneira contribuíram em minha jornada, uma pessoa é uma composição das várias histórias que encontra no caminho, obrigada por fazerem parte da minha.

Essa é sua jornada, sua batalha. Seja  
bravo. Encontre seu dom. Use-o para  
salvar o que você ama.  
(LOWRY, Lois; **O Filho**, 2012)

## RESUMO

JANUARIO, Marcela Eduarda. **Desenvolvimento de método colorimétrico utilizando imagens digitais capturadas por smartphones para a quantificação de ureia no suor.** 2021. 52 p. Trabalho de Conclusão de Curso Bacharelado em Engenharia Química - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2021.

A colorimetria por imagens digitais (CID) é uma ferramenta analítica baseada na correlação entre a composição cromática de imagens, obtidas por meio de dispositivos de captura de imagens, como câmeras fotográficas, celulares e *scanners*, e a concentração dos analitos. Para tanto, faz-se necessária a escolha de um espaço de cores, os quais são modelos matemáticos que utilizam matrizes e equações para descrever as cores, como o CMYK (*Cyan, Magenta, Yellow, Key*) e o RGB (*Red, Green, Blue*), sendo o último mais utilizado devido a sua simplicidade e ampla utilização. Por ser um campo de pesquisa emergente, a temática de diversos estudos compreende a validação da utilização do método, com destaque para as direcionadas ao setor da saúde. A quantificação de biomarcadores utilizando CID demonstrou um grande potencial, contribuindo para o diagnóstico, monitoramento e tratamento de doenças graves, como a glicose no caso da diabetes, e a creatinina e ureia no caso da doença renal crônica (DRC), objeto de estudo deste trabalho. A DRC é uma doença causada por uma lesão no tecido dos rins, e caracterizada pela diminuição na filtração glomerular. Foi proposta a utilização das imagens digitais empregando *smartphones* como instrumento de captura para quantificar ureia no suor, visando oferecer uma forma de análise barata, simples, rápida e eficiente, de diagnóstico e monitoramento da DRC. Condições interferentes, como luminosidade, curvas de calibração e reprodutibilidade foram otimizadas, e parâmetros de análise foram estabelecidos de forma bem sucedida. Com o emprego de um gradiente de calibração, construído com medidas em um aparelho com maior resolução, o método demonstrou ser aplicável a aparelhos com configurações inferiores. A aplicabilidade do método em situações reais de diagnóstico teve seu caráter qualitativo e semiquantitativo validado pela análise com amostras de suor sintético com diferentes concentrações de ureia, utilizando o método da variação (método *slope*).

**Palavras-chave:** Colorimetria. Imagens digitais. Smartphones. Suor. Doenças renais.

## ABSTRACT

JANUARIO, Marcela Eduarda. **Development of a colorimetry tool using digital images captured by smartphones as a source to quantify urea in sweat.** 2021. 52 p. Work of Conclusion Course Graduation in Chemical Engineering - Federal Technology University - Paraná. Ponta Grossa, 2021.

Digital image colorimetry (DIC) is an analytical tool based in the correlation, linear or non-linear, between the chromatic composition of images obtained through image capturing devices, such as *smartphones* and *scanners*, and the concentration of the desired analytes. For that, a color space, mathematic models that use matrices and equations to describe colors, like the CMYK (Cyan, Magenta, Yellow, Key) and the RGB (Red, Green, Blue), the latter being the most applied due to its simplicity and wide range of use, must be chosen. As this is still an emerging research field, lots of studies are conducted to evaluate the effectiveness of the method, with an emphasis on the ones directed to the healthcare sector. The quantification of biomarkers using DIC have great potential, as it can contribute to the diagnose, monitoring and treatment of severe diseases, like glucose for diabetes, and creatinine and urea for the Chronic Kidney Disease (CKD), object of study of this paper. The CKD is a disease caused by an injury on the kidney's tissue, and characterized by the decrease of the glomerular filtration (GF). In this paper the use of digital images using smartphones as a tool to quantify urea in sweat, aiming to offer a low cost, simple, fast and efficient, analysis methodology to diagnose and monitor the CKD. Interfering conditions, such as luminosity, calibration curves and reproducibility were optimized, and analysis parameters were successfully established. Using a calibration gradient, developed with the measures of a device with higher resolution, the method was applicable to devices with inferior configurations. The applicability of the method to real diagnose scenarios had its qualitative and semiquantitative character validated through the analysis of synthetic sweat solutions with different concentrations of urea, using the slope method.

**Keywords:** Colorimetry. Digital Images. Smartphones. Sweat. Kidney diseases.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Espectro eletromagnético completo com as subdivisões espectrais da região visível.....	15
Figura 2 – Representação de imagem digital monocromática dentro dos eixos convencionais .....	17
Figura 3 - Separação dos canais RGB de uma imagem colorida, e suas respectivas representações em tons de cinza, sendo a) Vermelho b) Verde e c) Azul.....	19
Figura 4 - Cubos de Cores RGB .....	20
Figura 5 - Observação da reação entre ureia e urease em forma de solução .....	28
Figura 6 - Observação da reação entre ureia e urease no papel filtro .....	29
Figura 7 - Teste de área e camadas .....	30
Figura 8 - Reação conduzida com: papel circular e papel quadrado .....	31
Figura 9 - Tampa de fechamento da cabine e fixação do LED .....	34
Figura 10 - Projeto da cabine de captura, onde: a) carcaça; b) trilho móvel com orifício de captura; c) gaveta de inserção da amostra; d) suporte de apoio ao trilho; e) tampa com estrutura para colagem da fita de LED; f) orifícios de inserção do conector da fonte; g) orifício de inserção do interruptor.....	34
Figura 11 – Projeto finalizado.....	35
Figura 12 - a) Projeto impresso, e b) em funcionamento.....	35
Figura 13 - Curva de calibração construída com imagens sob influência de iluminação externa.....	36
Figura 145 - Curva de calibração construída com imagens capturadas na cabine ...	36
Figura 15 - Curva de calibração <i>Samsung Galaxy J5</i> .....	38
Figura 16 - Gradiente de calibração (5 – 250 mmol/L) .....	39
Figura 17 - Curvas de calibração do celular <i>Samsung Galaxy J5</i> com valores corrigidos .....	39
Figura 18 - Curva de calibração utilizando o método da variação .....	40



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estágios da Doença Renal Crônica.....	21
Tabela 2 - Composição do reagente R1.....	24
Tabela 3 – Composição química do suor humano e de soluções de suor sintético ..	27
Tabela 4 - Comparativo entre medidas dentro e fora da cabine .....	37
Tabela 5 - Parâmetros RGB das amostras de suor sintético .....	41
Tabela 6 - Intervalos de variação para as concentrações de ureia.....	42

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Parâmetros de impressão recomendados .....	33
---	----

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Lei de Lambert-Beer .....	16
Equação 2 - Matriz digital de uma imagem exemplo .....	17
Equação 3 - Reação de decomposição da ureia sob presença da urease .....	23
Equação 4 - Curva de calibração G .....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

### LISTA DE ABREVIATURAS

A	Ampere
mL	Mililitros
Min	Minutos
M	Metro
m <sup>2</sup>	Metro Quadrado
MP	Mega Pixel
nm	Nanômetro
µL	Microlitro

### LISTA DE SIGLAS

CCD	Charge Coupled Device
CID	Colorimetria por imagens digitais
CMYK	Cyan, Magenta, Yellow, Key
CRM	Certified Reference Material
DRC	Doença Renal Crônica
FAAS	Flame Atomic Absorption Spectrometry
FG	Função glomerular
LED	<i>Light-Emitting Diode</i>
RGB	<i>Red, Green, Blue</i>

### LISTA DE ACRÔNIMOS

Pixel	<i>Picture Element</i>
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
1.1 OBJETIVOS .....	14
1.1.1 Objetivo geral .....	14
1.1.2 Objetivos específicos .....	14
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>15</b>
2.1 A LUZ E O ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO .....	15
2.2 COLORIMETRIA .....	16
2.3 IMAGENS DIGITAIS .....	16
2.3.1 O modelo RGB de cores .....	19
2.4 A SAÚDE COMO OBJETO DE ESTUDO .....	20
2.4.1 A Doença Renal Crônica .....	20
2.4.2 Oportunidades em países emergentes e subdesenvolvidos .....	21
2.5 QUANTIFICAÇÃO DE UREIA COMO BIOMARCADOR RELACIONADO A DOENÇAS RENAIAS .....	22
2.6 SUOR .....	23
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
3.1 PREPARO DOS MATERIAIS .....	24
3.1.1 Reagentes .....	24
3.1.2 Otimização das condições de imobilização .....	25
3.2 DEFINIÇÃO DE CONDIÇÕES DE ANÁLISE .....	25
3.3 CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO .....	26
3.3.1 Captura das imagens .....	26
3.3.2 Determinação dos parâmetros RGB .....	26
3.3.3 Quantificação do analito .....	26
3.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO .....	27
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
4.1 PREPARO DOS MATERIAIS E OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ANÁLISE .....	28
4.1.1 Impregnação de reagentes .....	28
4.1.2 Projeto da cabine de captura .....	32
4.2 CALIBRAÇÃO .....	37
4.3 VALIDAÇÃO COM AMOSTRAS DE SUOR SINTÉTICO .....	41
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Apesar da saúde ser um tópico muito presente em discussões relacionadas ao desenvolvimento humano, é em momentos como o aparecimento da pandemia do COVID SARS-19, que a fragilidade dos sistemas de saúde é salientada, de modo que não apenas a atenção, como investimentos, é direcionada mais intensamente para a busca por novas soluções nesta área.

Nesse sentido, o avanço do desenvolvimento de tecnologias voltadas para a saúde, tanto no sentido instrumental quanto metodológico, tem movimentado e impulsionado o investimento no setor, de forma a garantir que essas possam contribuir na busca pela manutenção da vida humana. A medicina genética e nuclear, e a utilização da nanotecnologia na medicina, são exemplos da contribuição da tecnologia para soluções em saúde (PADUA FILHO, 2014).

Dentre as várias áreas da tecnologia, uma que vem se desenvolvendo nos últimos anos consiste no emprego de imagens digitais para diversas finalidades, inclusive relacionados a saúde. A possibilidade de capturar imagens digitais e posteriormente desenvolver metodologias de tratamento e quantificação empregando dispositivos eletrônicos vem ganhando espaço, pois, além da velocidade de processamento e transferência de dados, facilitados pela evolução dos componentes utilizados para sua construção (câmeras, processadores, memória, entre outros), fazem dos aparelhos facilitadores de diversas análises, como detecções ópticas e eletroquímicas. Por esse fator, o uso dos *smartphones* são o ponto focal de muitos estudos, possuindo grande disponibilidade, e oferecendo também diversas configurações e funcionalidades, sendo adaptáveis a diversas situações.

Quando comparado a métodos tradicionais de análise, o potencial da utilização dos *smartphones* como instrumento de trabalho, em se tratando do setor da saúde, está no fato de viabilizar um diagnóstico mais completo e ágil, graças a possibilidade de realizar as análises em campo, sem a necessidade de equipamentos robustos e pessoal especializado na operação.

Essa metodologia de atendimento é interessante para melhorar os tratamentos aplicados a doenças que exigem monitoramento constante, como a diabetes, e recentemente também tem sido observada a necessidade de medidas contra o aumento da prevalência da Doença Renal Crônica (DRC) e distúrbios renais,

principalmente pela quantidade de pessoas não diagnosticadas, sendo um fator de preocupação a nível global.

A prevenção da DRC e dos distúrbios renais, por meio do diagnóstico precoce, acompanhamento da evolução e o tratamento são a melhor maneira de evitar que levem a estados mais graves, que além de colocarem o paciente em situação debilitada, tem altos custos financeiros (KIRSZTAJN, 2006). Tal prevenção pode ser feita por meio do acompanhamento dos níveis de ureia, que ocorre pela sua quantificação no sangue.

Sendo assim, propor formas não invasivas de quantificar o analito são um campo de estudo muito popular, pois, pode facilitar a realização de exames, algo interessante para o público de pessoas idosas e crianças, que muitas vezes tem dificuldade em realizar as coletas sanguíneas; e também flexibilizar os momentos em que a coleta das amostras é realizada, como por exemplo se associada a biossensores aderidos a pele (BUDDHADEV *et al*, 2020).

Diante de todos os fatos apresentados, a utilização dos *smartphones* como instrumentos de medição demonstra um grande potencial de aplicação no monitoramento de doenças, algo interessante para o setor da saúde como um todo, mas especialmente para países emergentes e subdesenvolvidos, sendo uma solução viável econômica e funcionalmente.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Desenvolver uma metodologia de quantificação de ureia no suor, por meio de colorimetria por imagens digitais capturadas utilizando *smartphones*, como ferramenta de auxílio no diagnóstico e monitoramento de distúrbios renais.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Preparar as soluções utilizadas para a quantificação do analito de interesse e imobilizar os reagentes em papel filtro;
- Estudar as fontes de interferência e definir as condições de análise;
- Capturar as imagens digitais e construir as curvas de calibração;

- Estabelecer os parâmetros de desempenho analítico do método;
- Verificar a aplicabilidade da ferramenta em situações reais.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

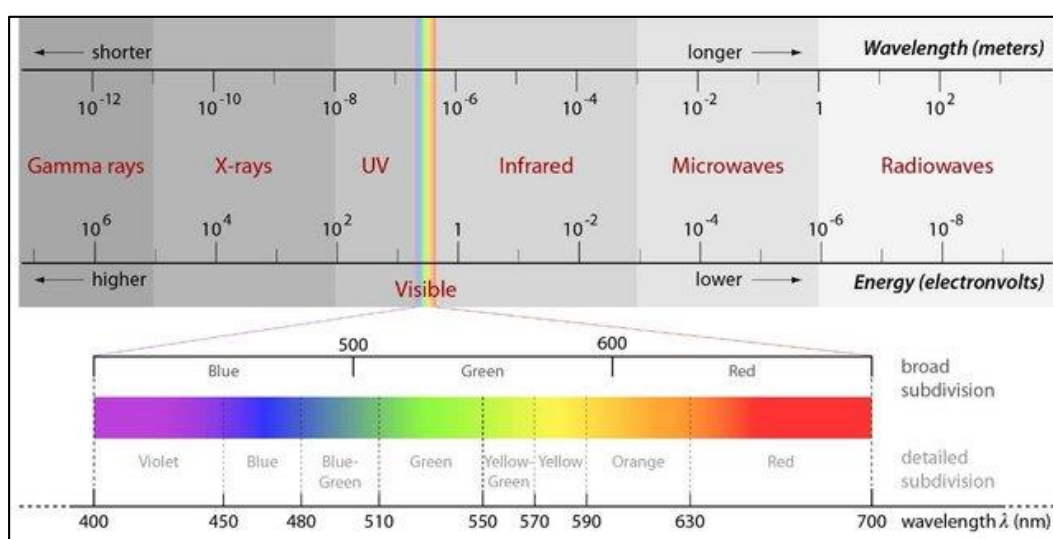
### 2.1 A LUZ E O ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO

O comportamento onda-partícula da luz torna seu conceito difícil de compreender, mas resumidamente, trata-se de um conjunto de ondas eletromagnéticas que não precisam de meio físico para se propagarem e transportam quantidades de energia específicas de acordo com suas características.

Como tem caráter oscilativo, seu comprimento de onda é determinado pela distância entre dois pontos na mesma fase, e o número de ondas que passam por um ponto do espaço em determinado intervalo temporal, define sua frequência.

A ordenação da energia eletromagnética em função do comprimento ou frequência resulta na composição do espectro eletromagnético, que possui também subdivisões espectrais com características específicas para cada região, determinadas pela origem da energia, de sua interação com o objeto sob qual incide, e de sua transparência em relação a atmosfera (MORAES, 2002).

**Figura 1 - Espectro eletromagnético completo com as subdivisões espectrais da região visível**



Fonte: VERHOEVE (2017).



## 2.2 COLORIMETRIA

A colorimetria, também conhecida como métodos espectrométricos, consistem em técnicas baseadas na interação entre radiação e matéria, e que visam fazer a descrição e quantificação relativa das cores em termos de intensidade de porções específicas do espectro visível (FERREIRA, 2018).

Nessas análises, os conceitos da lei de Lambert-Beer, base matemática para medidas de absorção da radiação por amostras em diferentes estados físicos nas regiões ultravioleta, visível e infravermelho do espectro (ROCHA E TEIXEIRA, 2004), demonstram como é possível que a variação na concentração de um analito possa ser quantificada pela medida da absorbância ( $A$ ) de um componente em uma faixa de frequência da luz visível, sendo proporcional a absortividade molar ( $\epsilon$ ), ao caminho óptico percorrido pelo meio absorvente ( $b$ ), e a concentração do analito ( $C$ ), conforme observado na Equação 1.

### Equação 1 - Lei de Lambert-Beer

$$A = \epsilon * b * C$$

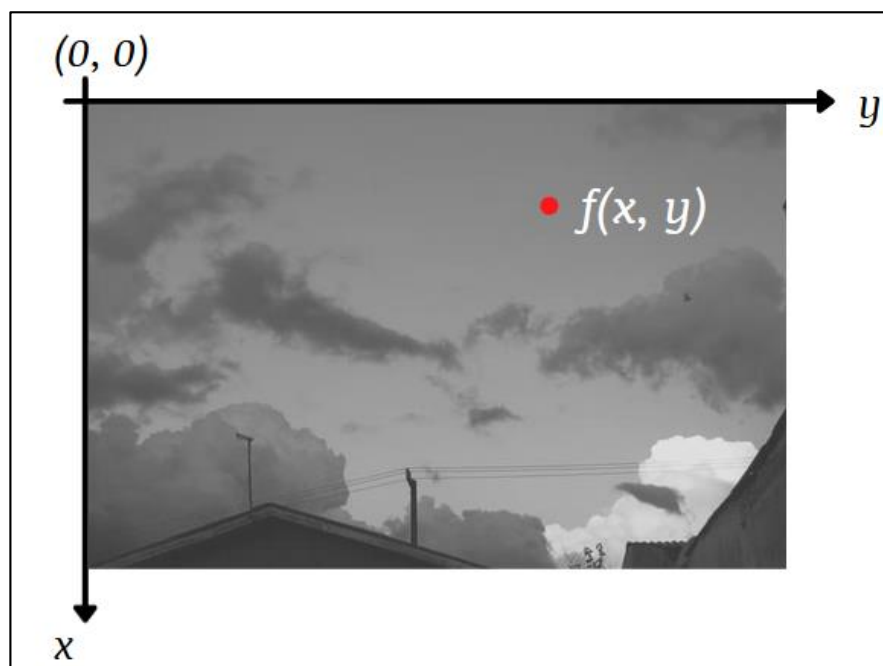
Fonte: CANASSA *et al.* (2018).

Os métodos colorimétricos podem ser divididos em colorimetria visual, na qual as concentrações de analitos de interesse podem ser quantificadas por meio da observação nas mudanças de cores; e na colorimetria fotoelétrica, na qual células fotoelétricas são utilizadas para fazer a detecção.

## 2.3 IMAGENS DIGITAIS

As imagens digitais são uma forma de representação de valores de intensidade por meio de funções bidimensionais, cujas coordenadas espaciais e valores são proporcionais ao brilho da imagem em determinado ponto ( $x, y$ ), sendo este ponto armazenado em uma matriz, como exemplificado na Equação 2, e denominado como “elemento de imagem”, mais conhecido como *pixel* (*picture element*).

Figura 2 – Representação de imagem digital monocromática dentro dos eixos convencionais



Fonte: Autoral (2021).

**Equação 2 - Matriz digital de uma imagem exemplo**

$$f(x, y) = \begin{bmatrix} f(0, 0) & f(0, 1) & \dots & f(0, i - 1) \\ f(1, 0) & f(1, 1) & \dots & f(1, i - 1) \\ \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ f(k - 1, 0) & f(k - 1, 1) & \dots & f(k - 1, i - 1) \end{bmatrix}$$

Fonte: Autoral (2021).

As imagens podem ser monocromáticas, onde há apenas um plano, ou coloridas, onde há três ou mais planos, obtendo-se então um espaço ou modelo de cores, no qual haverá a especificação em sistemas de diferentes dimensões de coordenadas, e um subespaço destes sistemas, onde cada cor é representada por um ponto (GONZALEZ & WOODS, 2002).

Devido a dinamicidade da representação das imagens digitais dentro do espaço de cor ser muito maior que dos métodos tradicionais de colorimetria e espectrofotometria, possibilita as imagens digitais serem utilizadas para a otimização da sensibilidade de detecção e aplicação dentro da química analítica (FIRDAUS, 2017; FATONI, 2013).

A colorimetria por imagens digitais (CID) consiste na análise da concentração de analitos utilizando as imagens digitais, mecanismo possível pela incidência da luz

nos sensores de dispositivos capazes de capturar imagens, como *scanners*, *webcams* e *smartphones*, onde a variação das pigmentações serão detectadas dentro das matrizes do espaço de cores. Então, por meio dos valores de *pixels* das colorações detectadas, pode ser estabelecida uma relação com a concentração do analito por meio de equações matemáticas (PHADUNGCHAROEN *et al.*, 2019).

A metodologia CID se tornou um tópico popular em diversos setores de pesquisas devido a sua portabilidade, acessibilidade e por proporcionar alta velocidade de processamento de dados. (FAN *et al.*, 2021).

A flexibilidade de aplicação da ferramenta pode ser observada pela grande quantidade de estudos em diversos setores, como, por exemplo, no alimentício, onde pode-se citar o trabalho de Peng *et al.* (2019), o qual desenvolveu uma metodologia para quantificar cálcio em água e alimentos após microextração líquido-líquido; no ambiental, onde Emmanuel *et al.* (2020) desenvolveu uma aplicação de celular onde os parâmetros do espaço RGB (*red*, *blue* and *green*) foram utilizados para estimar a concentração de compostos contaminantes de água; e no setor da saúde, com Kap *et al.* (2021) reportando a aplicação de diferentes versões da metodologia para monitorar os níveis de glicose em pacientes diabéticos.

Os três exemplos de aplicação revelam a ampla quantidade de oportunidades para emprego deste método, sendo possível observar pontos em comum altamente relevantes: o instrumento empregado na captura e processamento das imagens em todos os casos foram diferentes modelos de *smartphone*, apresentando a tendência na busca pela otimização dos métodos de análise.

Os *smartphones* são uma das tecnologias com velocidade de disseminação mais elevada a nível global. A adoção não linear e contínua dos aparelhos apresenta uma intensidade maior em países desenvolvidos, mas há evidências de que até mesmo em países emergentes ocorre a taxas elevadas, como é o caso da África do Sul, que de 2011 a 2014, passou de 15% para aproximadamente 40% (KAHIHARA, 2014).

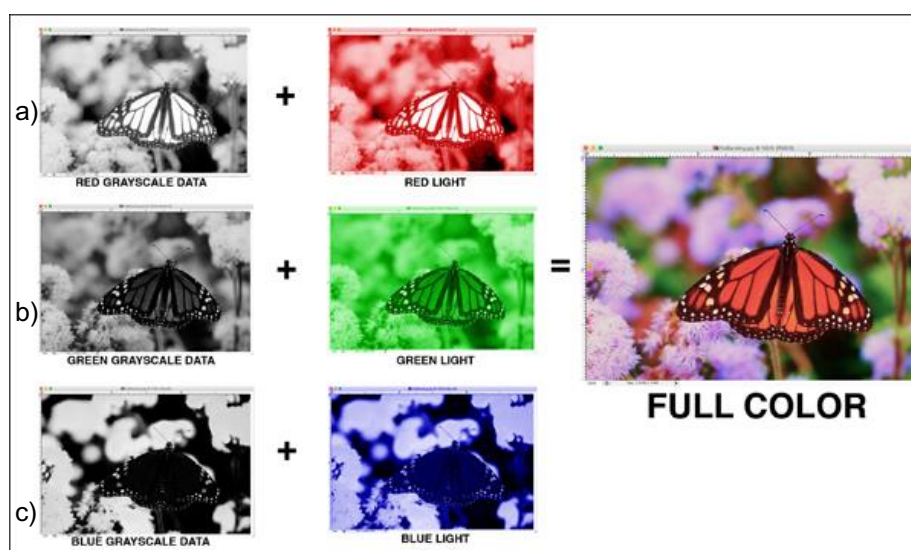
Segundo Tibes (2014), a popularização dos *smartphones*, junto às constantes atualizações e otimizações em seus sistemas e componentes, e ao fato de serem portáteis e de manuseio intuitivo, torna-os uma alternativa interessante em relação a outros equipamentos utilizados em análises colorimétricas.

Ainda, outra tendência observada nos exemplos é a utilização do espaço RGB, mostrando que sua simplicidade é um fator de atração e, também pelo fato de ser o modelo de cores utilizado pela maioria dos equipamentos eletrônicos.

### 2.3.1 O modelo RGB de cores

O modelo RGB (*red, green, blue*) é baseado em coordenadas cartesianas e na teoria dos três estímulos de Young-Helmholtz, que propõe a percepção das cores pelo olho humano graças a estímulos dos três pigmentos visuais presentes nas cores da retina: vermelho, verde e azul (SLOCUM, 1999; MAZUR, 2013).

**Figura 3 - Separação dos canais RGB de uma imagem colorida, e suas respectivas representações em tons de cinza, sendo a) Vermelho b) Verde e c) Azul**

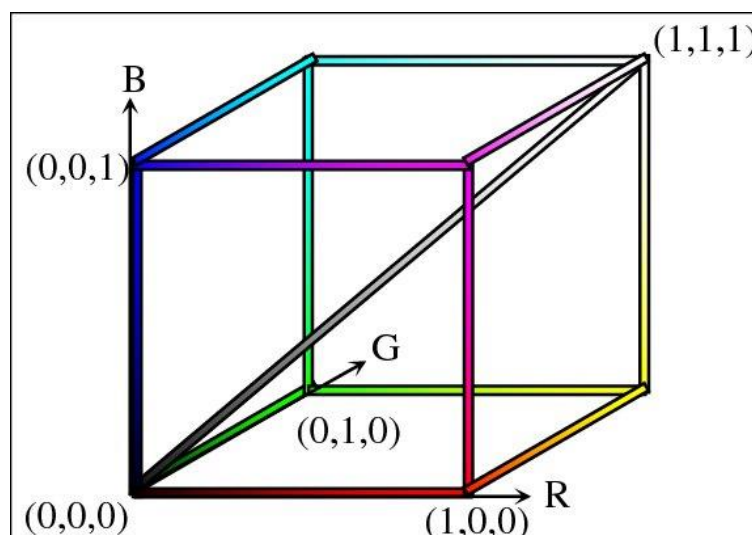


Fonte: MCNAMARA (2018).

Nesse modelo, cores do espectro visível com base em variações de intensidade das três cores primárias aditivas possuem uma matriz correspondente, R para vermelho, G para verde, e B para azul, no qual serão armazenados os valores de intensidade de radiação, 8 bits para cada canal, totalizando 256 níveis para a região do espectro visível (KOYA, 2011).

O subespaço de cores é representado na forma de um cubo, no qual cada um dos eixos ortogonais representará uma das cores primárias, e a diagonal representará o cinza, indo de preto (0, 0, 0) ao branco (1, 1, 1), todos contribuindo para a composição da cor de determinado ponto do cubo (FAN *et al.*, 2021).

Figura 4 - Cubos de Cores RGB



Fonte: LIMA *et al.* (2005).

Quando imagens digitais são representadas no modelo RGB, os valores da função descritiva da imagem será um vetor com 3 componentes, relacionadas as matrizes R, G e B, que irão representar determinada cor.

## 2.4 A SAÚDE COMO OBJETO DE ESTUDO

### 2.4.1 A Doença Renal Crônica

Os rins são os órgãos responsáveis, principalmente, pela excreção e purificação, sendo importantes colaboradores para a manutenção das condições de homeostase, ou seja, equilíbrio entre condições internas e com o meio externo, necessárias para o bom funcionamento do corpo (SEELEY *et al.*, 2003).

Nesse contexto, o monitoramento e manutenção da função renal, caracterizada majoritariamente pela filtração glomerular (FG), é essencial, pois o aparecimento de distúrbios pode desencadear impactos em todos os demais órgãos, levando a outras complicações como, por exemplo, doenças cardiovasculares.

Um dos distúrbios renais mais preocupantes da atualidade devido a quantidade de subdiagnósticos e avanços assintomáticos (SESSO, 2006), é a Doença Renal Crônica (DRC), uma lesão irreversível do tecido renal com 5 estágios de diagnóstico, conforme apresentado na Tabela 1, que, somada a diminuição progressiva da FG (valores inferiores a 15 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>), pode levar a quadros de

anemia, acidose metabólica, falência renal, e até mesmo ao óbito (BASTOS *et al.*, 2010).

**Tabela 1 - Estágios da Doença Renal Crônica**

<b>Estágio</b>	<b>Descrição</b>	<b>RFG (mL/min/1,73 m<sup>2</sup>)</b>
I	Lesão renal com RFG normal ou aumentando	≥ 90
II	Lesão renal com leve diminuição do RFG	60 – 89
III	Lesão renal com moderada diminuição do RFG	30 – 59
IV	Lesão renal com acentuada diminuição do RFG	15 – 29
V	Falência renal funcional ou em TRS	<15

**Fonte: BASTOS *et al.* (2004).**

Como é uma doença com muitos fatores relacionados a natureza fisiológica e estilo de vida de cada pessoa, a prevenção da DRC consiste na prevenção primária, por meio da observação de sintomas e avaliação da condição de saúde por testes clínicos.

A detecção precoce da DRC, com adoção do tratamento adequado e monitoramento, pode não apenas retardar sua progressão e preservar a saúde do paciente, mas também poupá-lo dos altos custos financeiros relacionados ao tratamento de estágios mais avançados da doença (ROMÃO JR, 2004).

#### 2.4.2 Oportunidades em países emergentes e subdesenvolvidos

O fenômeno da mercantilização da saúde consiste na inclusão do setor de saúde como um mercado e produto (DOS SANTOS, 2013), revelando o impacto do capitalismo nos modelos de gestão da saúde, sendo necessário então observar também o contexto socioeconômico.

A relação entre o poder aquisitivo de países desenvolvidos e seus gastos significativos com a saúde, e o funcionamento de forma efetiva de seus sistemas públicos de saúde permanece desproporcional (KAPLAN E PORTER, 2011). No entanto, há uma tendência no desenvolvimento de tecnologias direcionadas diretamente para a iniciativa privada, sendo o ponto onde a discrepância com países em desenvolvimento e subdesenvolvidos pode ser observada mais fortemente (SELL, 2019).

Além disso, grande parte das inovações tecnológicas não é adaptada para a realidade que a maioria dos países em desenvolvimento e subdesenvolvimento enfrentam em suas rotinas de atendimento, revelando a dificuldade não apenas em ter acesso a tecnologias, e recursos para utilizá-las, mas também para fazer a manutenção necessária para mantê-las em funcionamento.

Diante desse cenário, o papel do pesquisador volta-se para a busca de novas formas de utilização de recursos já existentes nestes países, objetivando soluções igualmente eficientes, mas com custo menor (DE OLIVEIRA *et al.*, 2017), estando o desenvolvimento de metodologias baseadas na CID muito alinhadas com estes princípios.

## 2.5 QUANTIFICAÇÃO DE UREIA COMO BIOMARCADOR RELACIONADO A DOENÇAS RENAIIS

A ureia é o produto metabólico do catabolismo de produção de proteínas do corpo humano. A concentração de ureia no suor para uma pessoa saudável varia de 0 a 50  $\mu\text{M}$ , e valores acima de 100  $\mu\text{M}$  podem caracterizar distúrbios na atividade renal, sendo então um importante biomarcador (HUANG *et al.*, 2002). Altas concentrações de ureia nos fluidos corpóreos podem caracterizar a uremia, condição em que substâncias tóxicas produzidas no fígado após a digestão de proteínas se acumulam devido a filtração dos rins estar prejudicada (AL-TAMER *et al.*, 1997).

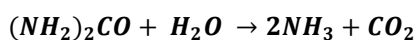
Os métodos para quantificação da ureia no suor, como o LC-MS (WANG *et al.* 2017) e o HPLC (CZAUDERNA E KOWALCZYK, 2012), costumam ter sua aplicação limitada pelos custos do equipamento e sua manutenção, além do treinamento para sua utilização.

Nesse contexto, o método colorimétrico proposto por Zhang *et al.* (2019) para quantificação de ureia em saliva, baseando-se na reação enzimática da ureia com a urease utilizando vermelho de fenol ou vermelho de metila como indicadores, apresenta vantagens pois apresenta resultados positivos quanto a sensibilidade e tem baixo custo.

O método colorimétrico para quantificação de ureia foi inicialmente proposto por Orsonneau *et al.* (1992), onde consumo do composto resulta na liberação de íons amônio e dióxido de carbono (Equação 3) e, conseqüentemente, em um aumento do pH quando a reação acontece (Equação 4), alterando a coloração do meio, podendo

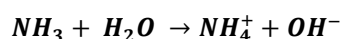
ser relacionada a concentração por meio de leituras espectrofotométricas na região do visível em, aproximadamente, 570 nm.

**Equação 3 - Reação de decomposição da ureia sob presença da urease**



**Fonte: DE ALMEIDA (2008).**

**Equação 4 – Caráter básico da amônia em meio aquoso**



**Fonte: DE ALMEIDA (2008).**

## 2.6 SUOR

O suor, um fluido corporal secretado pelas glândulas sudoríparas, tem um papel importante na manutenção da homeostase do corpo, pois é possível realizar regulação da temperatura corporal por meio de sua evaporação (ROBINSON E ROBINSON, 1954).

A composição e volume de suor excretado pelo corpo pode variar conforme a intensidade da atividade física performada, e das condições do ambiente (HUANG *et al.*, 2002). De forma resumida, o suor é composto majoritariamente por água, eletrólitos, sais, e compostos bioquímicos (HUANG *et al.*, 2002).

Tradicionalmente, as amostras sanguíneas e de urina são as mais empregadas para a avaliação das condições corporais e controle de metabólitos. No entanto, apesar da eficiência, a repetição dos procedimentos de coleta para um monitoramento constante traz muitos inconvenientes e desconforto para as pessoas passando pela avaliação clínica, havendo também o perigo de infecção no caso de sensores instalados para a coleta do sangue (MITSUBAYASHI, 1994).

Portanto, o suor, que já havia sido objeto de estudos clínicos devido a sua composição representativa para a análise de diferentes condições corporais, como no diagnóstico da fibrose cística (FELLMANN, 1985) e da histamina (GARDEN, 1966), teve seu horizonte de aplicação expandido.



### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 PREPARO DOS MATERIAIS

Como o objetivo é desenvolver um método com fácil aplicação em campo, é necessário que a reação possa ser ativada de maneira prática no próprio paciente. Assim, para que posteriormente seja desenvolvido um dispositivo a ser aderido na pele, os reagentes foram imobilizados em papel filtro.

##### 3.1.1 Reagentes

Para a condução das análises, os reagentes padrão utilizados no Laboratório Oscar Pereira foram utilizados de acordo com as instruções constantes na Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) da marca Beckman Coulter.

Para a quantificação da ureia empregou-se o reagente identificado como R1, pelo fabricante (Beckman Coulter, California, EUA) o qual tem sua composição apresentada na Tabela 2.

**Tabela 2 - Composição do reagente R1**

<b>Composto</b>	<b>Valor (mmol/L)</b>
Urease	≥ 17,76 <sup>a</sup>
Tampão Tris	100
α-Oxoglutarato	≥ 9,8
ADP	≥ 2,6
EDTA	2,65
GLDH	≥ 0,16 <sup>a</sup>
Difosfato tetrassódico	10

**Fonte: Adaptado de Beckman Coulter (2012).**

Notas:

<sup>a</sup> KU/L

Em todos os testes realizados empregou-se no preparo dos reagentes e soluções água ultrapura.

Indicador vermelho de fenol foi preparado pela dissolução de, aproximadamente, 0,1 g em pequeno volume de álcool etílico, sendo a solução resultante avolumada para 100 mL com água ultrapura.

Solução estoque 500 mmol/L de ureia foi preparada pela dissolução de, aproximadamente, 3 gramas de ureia P.A. (Neon, Brasil) em 100 mL de água ultrapura.

Para preparo da solução de suor sintético foram pesados 5 gramas de NaCl P.A. (Neon, Brasil), a este adicionaram-se 16,6 mL de ácido acético glacial (Synth, Brasil) e o volume foi ajustado para 100 mL com água ultrapura. Posteriormente, o pH foi ajustado para 6,6 empregando  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentrado (Neon, Brasil).

### 3.1.2 Otimização das condições de imobilização

Visando otimizar as condições de imobilização da urease no papel filtro realizaram-se testes de impregnação. Preparou-se solução contendo 30  $\mu\text{L}$  da solução de reagente R1, contendo a enzima urease e 10  $\mu\text{L}$  do indicador vermelho de fenol.

Volumes de 10, 15 e 20  $\mu\text{L}$  foram então dispensados sobre papel filtro cortado nas dimensões de 1,0 x 1,0 cm; 1,5 x 1,5 cm e círculos com 0,5 cm de diâmetro. Além disso, realizaram-se testes com camadas simples e duplas de papel filtro sobrepostas. Os papéis foram então postos em dessecador e a secagem foi monitorada por 1 hora para observar a homogeneidade na distribuição dos reagentes, bem como a umidade remanescente, sendo a partir destes resultados fixadas as condições de imobilização dos reagentes no papel filtro.

### 3.2 DEFINIÇÃO DE CONDIÇÕES DE ANÁLISE

Como se trata de um experimento onde as condições de coleta da imagem podem ter grande interferência nos resultados obtidos, serão estabelecidas condições padrão de análise, de modo a minimizar a ação dos fatores interferentes.

Para que a captura de imagem seja a mesma independente do aparelho utilizado, será desenvolvida uma estrutura de apoio que possibilite sua adequação espacial, assim como a distância até a amostra a ser analisada.

Quanto a luminosidade, as imagens serão capturadas sob iluminação natural, e com a incidência de luz branca, para que se possa mensurar a interferência e propor maneiras de tratar os resultados para minimizá-la.

### 3.3 CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO

Curvas de calibração externa serão preparadas diariamente nas concentrações de 5, 20, 50, 100 e 250 mmol/L de ureia por meio da diluição da solução estoque empregando água ultrapura. Volumes de 10  $\mu$ L de cada padrão será dispensado sobre o papel filtro contendo os reagentes (urease e vermelho de fenol) previamente imobilizados e, após um tempo de reação sob temperatura ambiente, será conduzida a fase de captura das imagens.

#### 3.3.1 Captura das imagens

Para testar a eficiência da metodologia proposta, serão empregados dois aparelhos *smartphone* diferentes para capturar as imagens: um modelo *Samsung Galaxy M51*, com câmera CCD de 64 MP, e um modelo *Samsung Galaxy J5*, com câmera CCD de 13 MP.

#### 3.3.2 Determinação dos parâmetros RGB

Os parâmetros RGB empregados para análise das imagens serão definidos empregando o aplicativo *RGB Color Detector*, de *The Programmer*, disponível de forma gratuita na *Play Store* dos celulares *Samsung*.

#### 3.3.3 Quantificação do analito

A estimativa da concentração de ureia nas amostras foi determinada por meio da medição da variação das medidas (método do *slope*), onde a resposta do sensor quanto a determinado canal (RGB) é dividida pelo intervalo de tempo entre as coletas.

A primeira imagem foi capturada decorrido 1 minuto da aplicação da amostra no papel, e a segunda imagem foi capturada 2 minutos após a primeira. Quatro pontos

aleatórios foram escolhidos para a medição dos parâmetros RGB em cada imagem. Determinou-se a diferença entre a média dos valores dos canais em cada intervalo de tempo e dividiu-se o resultado por 120 segundos para estimar a concentração de ureia na amostra.

Os dados foram processados no software *Microsoft Office Excel*.

### 3.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

Para validação do método como ferramenta de diagnóstico proposta, foram preparadas soluções de suor sintético com concentrações conhecidas de ureia, sendo uma dentro da faixa esperada para uma pessoa sem indicativo de distúrbios renais (16 mmol/L), e outra acima do limite normal (116 mmol/L).

Na Tabela 3 podem ser observadas diferentes composições de suor sintético comparadas ao suor real, levantadas por Chin *et al.* (2009). A referência utilizada para análise será a estabelecida pelo *British Standard* (BS EN1811, 1999).

**Tabela 3 – Composição química do suor humano e de soluções de suor sintético**

Componente (g/L)	Suor humano	ISO 3160-2	EN 1811
NaCl	5,84 – 8,65	20	5
KCl	0,067 – 1,012	-	-
NH <sub>4</sub> Cl	-	17,5	-
Ureia	0,768 – 3,420	5	1
Ácido Acético	-	2,5	1
Ácido Láctico	0,60 – 3,60	15	-
pH	4,0 – 6,8	Ajustado para 4,7 com NaOH	Ajustado para 6,6 com NH <sub>4</sub> OH

**Fonte: Adaptado de Chin *et al.* (2009).**

A reação entre as soluções preparadas e os reagentes será realizada, e serão medidos os parâmetros RGB, observando a capacidade da curva de calibração construída em apontar a faixa correta de concentração, possibilitando a averiguação de índices anormais do analito.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 PREPARO DOS MATERIAIS E OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ANÁLISE

#### 4.1.1 Impregnação de reagentes

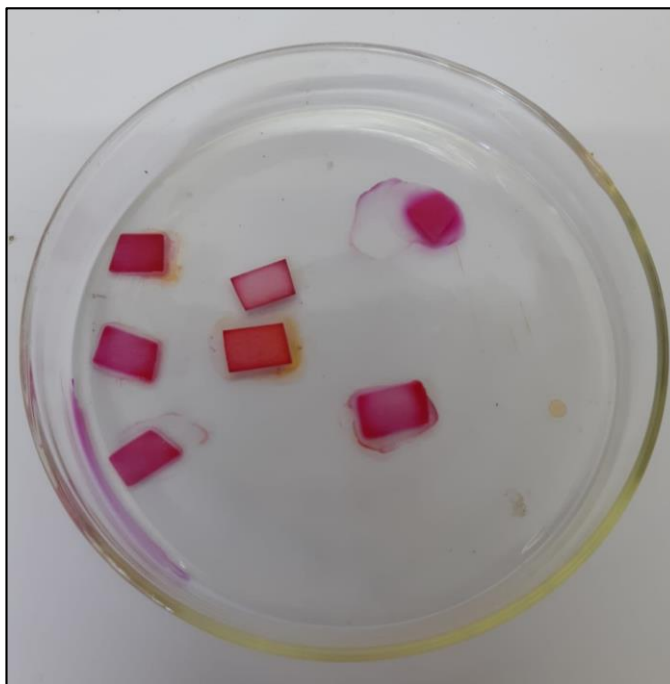
Para iniciar o processo de otimização, testes iniciais foram feitos para verificar a possibilidade de imobilizar os reagentes. Para tal, 10  $\mu\text{L}$  do reagente foram imobilizados no papel filtro, sendo acrescidos de 10  $\mu\text{L}$  de solução contendo 50 mmol/L de ureia, posteriormente. Os resultados obtidos foram comparados com os obtidos pela mesma reação preparada em um tubo de ensaio.

**Figura 5 - Observação da reação entre ureia e urease em forma de solução**



**Fonte: Autoral (2021).**

**Figura 6 - Observação da reação entre ureia e urease no papel filtro**

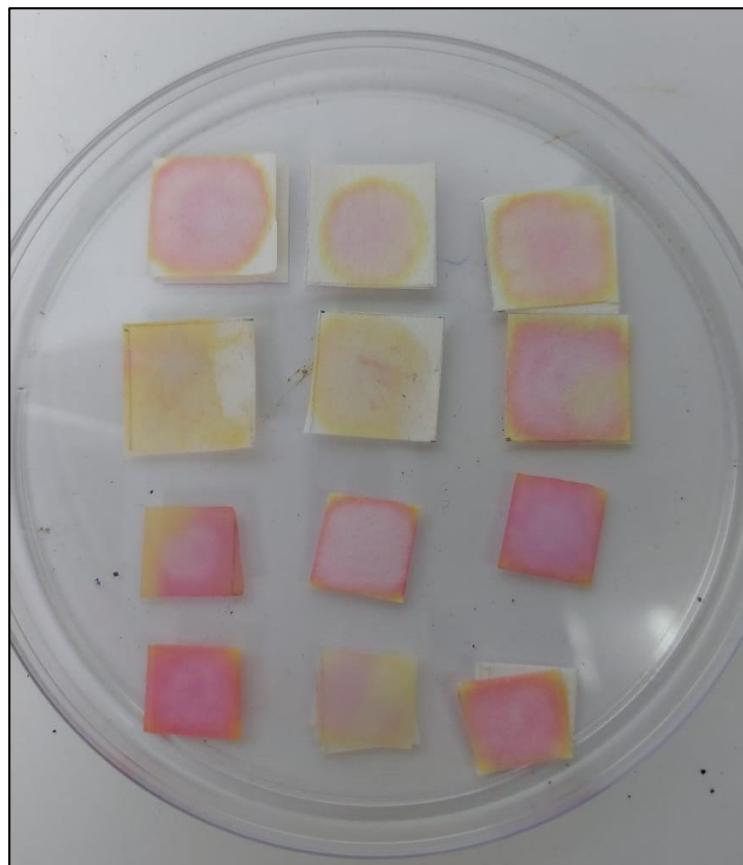


**Fonte: Autoral (2021).**

A mudança de coloração (amarelo para vermelho) no reagente imobilizado no papel filtro correspondeu ao observado na solução, sendo demonstrado a efetividade da reação no reativo imobilizado em papel filtro.

Ainda, a influência de alguns fatores como a gramatura do papel filtro utilizado, a quantidade de reagente e amostra colocadas sob o papel, puderam ser observadas neste primeiro teste, devido a dispersão não homogênea da cor, bem como o tempo de secagem, passando a ser também tópicos de estudo da etapa de impregnação.

Para determinar o tamanho do papel filtro a ser utilizado para obtenção de melhores resultados, foi realizado um teste com duas medidas diferentes: 1,0 x 1,0 cm e 1,5 x 1,5 cm, e também a possibilidade de utilizar uma camada dupla do papel filtro. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 7, onde na primeira linha e segunda linha de cima para baixo estão os papéis de 1,5 x 1,5 cm com dupla e simples camada, respectivamente. Na terceira e quarta linha os papéis de 1,0 x 1,0 cm com simples e dupla camada, respectivamente.

**Figura 7 - Teste de área e camadas**

**Fonte: Autoral (2021).**

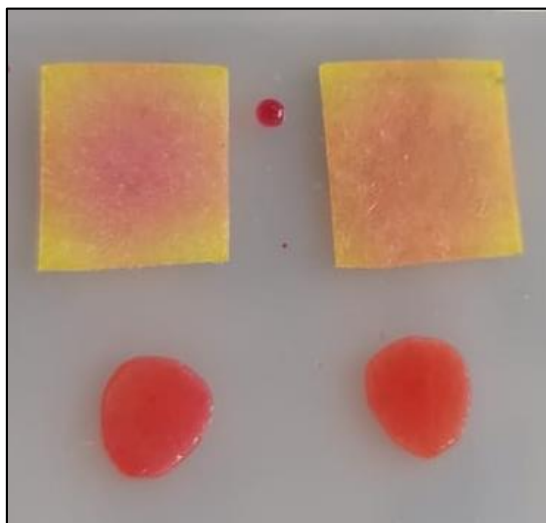
Apesar de comportar melhor os reagentes e amostra, a distribuição não uniforme nos testes com camada dupla dificultou o processo de medição dos parâmetros RGB, algo não observado no filtro de camada única. Ainda assim, observa-se a necessidade de escolher um material de gramatura adequada para a impregnação.

Quanto ao tamanho, observou-se que se a área de distribuição for muito grande, um grande volume de reagente precisará ser imobilizado para que a reação apresente um resultado homogêneo em toda a região analítica. Como não há controle sobre a dispersão do reagente no papel, isso se dá de forma desigual, ficando mais concentrado em alguns locais, o que causa um resultado visual não coerente quando a amostra é adicionada, impossibilitando a medição.

A forma do papel também mostrou ser um fator importante considerando os diversos pontos de medição necessários para a quantificação, pois enquanto no papel

quadrado ocorreu um acúmulo da solução nas bordas, reduzindo a área de análise, no papel redondo a distribuição se deu de forma mais uniforme.

**Figura 8 - Reação conduzida com: papel circular e papel quadrado**



**Fonte: Autoral (2021).**

Zhang *et al.* (2019), onde um biossensor com diversas camadas foi elaborado empregando a técnica de litografia para criar reservatórios para os reagentes e condução da amostra. Já Soni *et al.* (2018) fizeram o uso da laminação como técnica de preparo, e entre as camadas preparadas, houve o emprego de um *mesh* para auxiliar na distribuição da amostra, garantindo uma reação de forma mais uniforme.

Assim, apesar de vários parâmetros de imobilização terem sido observados e otimizados, foi constatado que para efetivamente desenvolver um biossensor com os reagentes imobilizados, há a necessidade de empregar métodos mais robustos de impregnação.

Contudo, fixou-se como condição otimizada para continuidade dos estudos o emprego do papel filtro de camada única circular com diâmetro de 0,5 cm. Sobre este foram imobilizados 10  $\mu$ L de urease misturada com o indicador vermelho de fenol. Após, 1 hora de secagem em dessecador os papéis resultantes foram empregados para construção das curvas de calibração e demais testes.

Além disso, foi observado que após longos períodos de tempo entre a impregnação e utilização, a alteração na coloração do reagente impregnado não correspondia com o observado em outros testes. Kurakay *et al.* (2005) estabelece que



a resposta de biossensores é dependente na atividade enzimática, e como constatado por Jha *et al.* (2005), a urease é uma enzima instável, sendo necessário então conduzir estudos sobre a melhor forma de preparar o biossensor, além de fatores a serem controlados no processo de modo que a enzima não seja inativada.

#### 4.1.2 Projeto da cabine de captura

As diferenças de luminosidade, ponto focal e área de atingimento do flash reforçaram a necessidade de projetar uma cabine de captura a fim de reduzir o efeito destas interferências.

As dimensões foram escolhidas fazendo um média de tamanho entre diversos aparelhos celulares, assim como a distância necessária para que a câmera possa focar em determinado ponto.

Para tornar a cabine adaptável aos diferentes posicionamentos de câmera dos aparelhos, foi projetado um trilho móvel, de modo que o orifício que permite a captura de imagens da parte interior da cabine possa ser movido de acordo com a necessidade do usuário.

A impressão foi realizada em impressora 3D empregando o material PETG, sendo a carcaça externa na cor preta a fim de evitar a interferência de luz externa dentro da cabine. Para evitar interferências pela interação com a amostra, o corpo da bandeja de amostra foi impresso na cor branca, e fixado na tampa utilizando adesivo epóxi (sendo possível também utilizar cianoacrilado).

Para garantir melhor aderência, as todas as peças foram impressas com a maior área plana em contato com a mesa. Nenhuma das peças exigiu suporte de impressão, com excessão do corpo principal (cabine), que deve ter suportes para as aberturas (bandeja de amostra, conector da fonte e interruptor). Os parâmetros de impressão recomendados foram resumidos no Quadro 1.

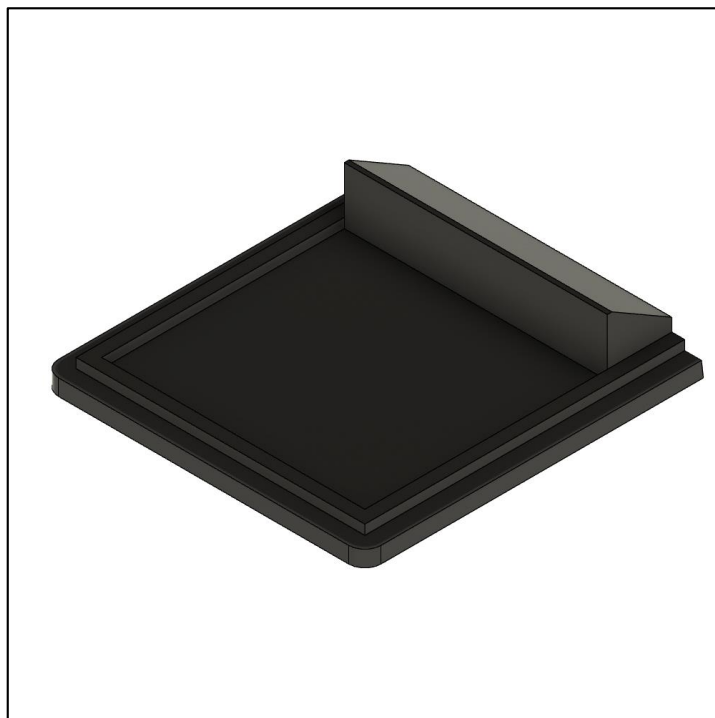
**Quadro 1 - Parâmetros de impressão recomendados**

<b>Parâmetro</b>	<b>Recomendação</b>
Material	PETG, PLA, ABS
Velocidade (mm/s)	60
Altura de camada (mm)	0,2
Número de paredes	3
Preenchimento (%)	20
Padrão de preenchimento	Grade ou zigzag
Temperatura	De acordo com o filamento (recomenda-se não usar a temperatura mínima do material, para que haja boa adesão entre as camadas)
Raft	Não
Suportes	Somente na caixa principal

**Fonte: Autoral (2021).**

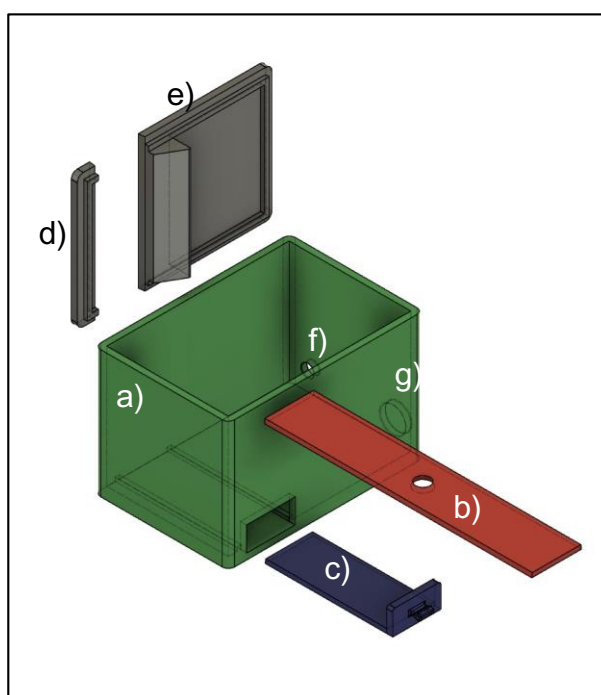
Na tampa da cabine foi criado uma estrutura na qual uma pastilha de LED branco (contendo 3 LEDs) foi fixada a fim de iluminar a gaveta de inserção da amostra, incidindo em um ângulo de 45° (Figura 9). A conexão dos componentes do sistema de iluminação da cabine foi feita utilizando fios de cobre, e utilizando um conector fêmea para a fonte de alimentação de 12 A, acionada por um interruptor bola (20 mm).

**Figura 9 - Tampa de fechamento da cabine e fixação do LED**

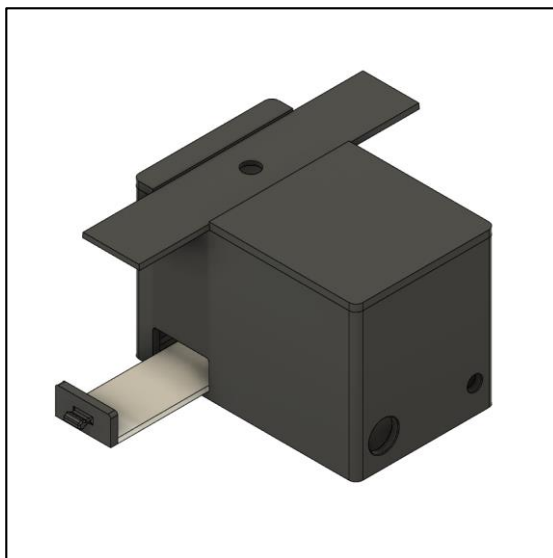


Fonte: Autoral (2021).

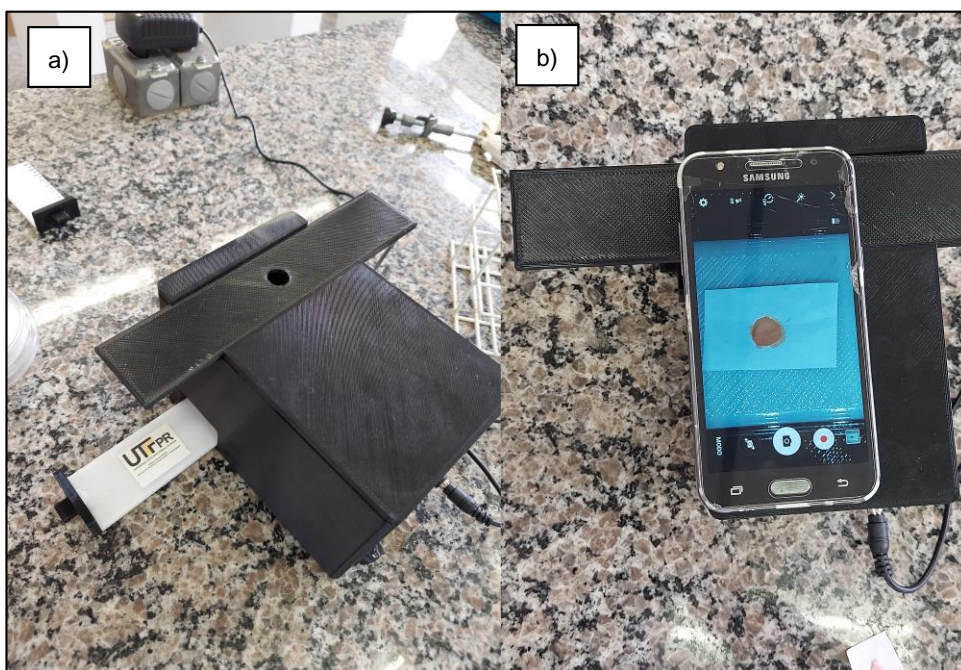
**Figura 10 - Projeto da cabine de captura, onde: a) carcaça; b) trilho móvel com orifício de captura; c) gaveta de inserção da amostra; d) suporte de apoio ao trilho; e) tampa com estrutura para colagem da fita de LED; f) orifícios de inserção do conector da fonte; g) orifício de inserção do interruptor**



Fonte: Autoral (2021).

**Figura 11 – Projeto finalizado**

Fonte: Autoral (2021).

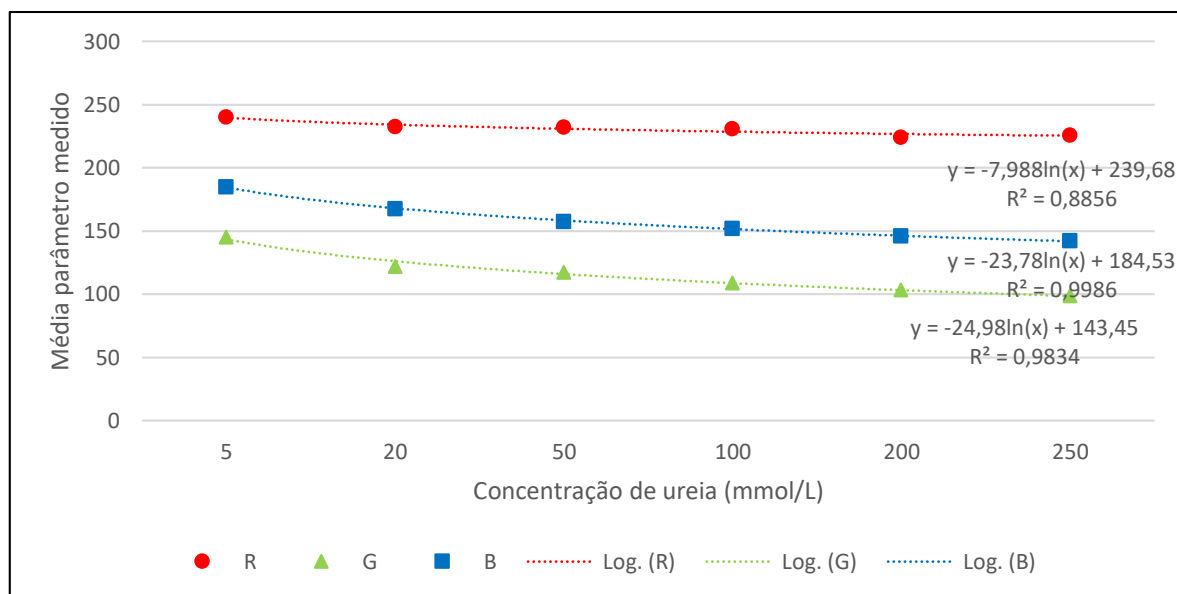
**Figura 12 - a) Projeto impresso, e b) em funcionamento**

Fonte: Autoral (2021).

Para avaliar o impacto na mudança das condições de iluminação, construíram-se curvas de calibração no intervalo de 5 a 250 mmol/L de ureia, empregando as condições de impregnação previamente otimizadas, sob condições de iluminação

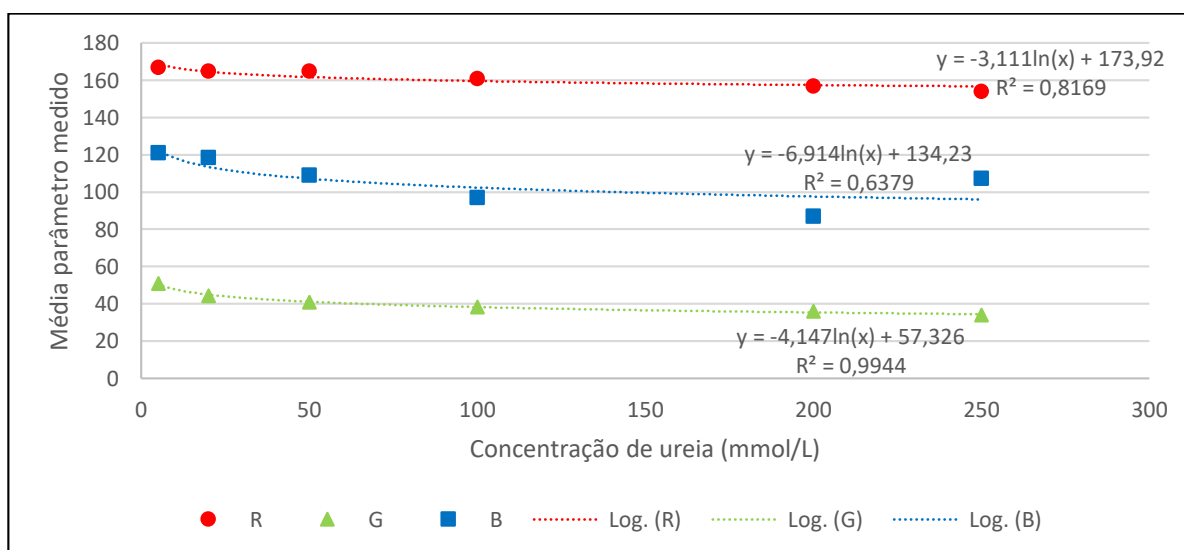
externa e dentro da cabine. Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 13 e 14, para a iluminação externa e dentro da cabine, respectivamente.

**Figura 13 - Curva de calibração construída com imagens sob influência de iluminação externa**



Fonte: Autoral (2021).

**Figura 145 - Curva de calibração construída com imagens capturadas na cabine**



Fonte: Autoral (2021).

Comparando as curvas de calibração, observa-se que o canal B sofreu o maior distúrbio dentro da cabine, enquanto os parâmetros R e G passaram a ter um melhor ajuste. Para compreender a influência no canal B, foram coletadas medidas

de um pedaço de papel em branco dentro e fora da cabine, como sugerido por Nelis *et al.* (2020), conforme a Tabela 4, que revelaram o canal como o mais afetado entre os três existentes.

**Tabela 4 - Comparativo entre medidas dentro e fora da cabine**

<b>Parâmetro</b>	<b>Dentro da cabine</b>	<b>Fora da cabine</b>	<b>Diferença entre leituras</b>
R ( <i>red</i> )	184	185	1
G ( <i>green</i> )	195	184	11
B ( <i>blue</i> )	207	186	21

**Fonte: Autoral (2021).**

A tecnologia empregada nos LEDs, fonte luminosa da cabine, ainda não é capaz de reproduzir com fidelidade a cor luz branca devido a mistura de parâmetros nos diversos canais necessária para atingir a tonalidade desejada (MUTHU *et al.*, 2002), resultando em possíveis ganhos em algum dos canais, o que justifica os resultados observados no experimento.

Devido à menor influência sofrida pela mudança na iluminação, sensibilidade adequada para representar as mudanças de tonalidade, e, por consequência, possibilitar a quantificação das concentrações do analito, algo não observado no canal R, fazem o canal G o mais adequado para emprego na quantificação da ureia.

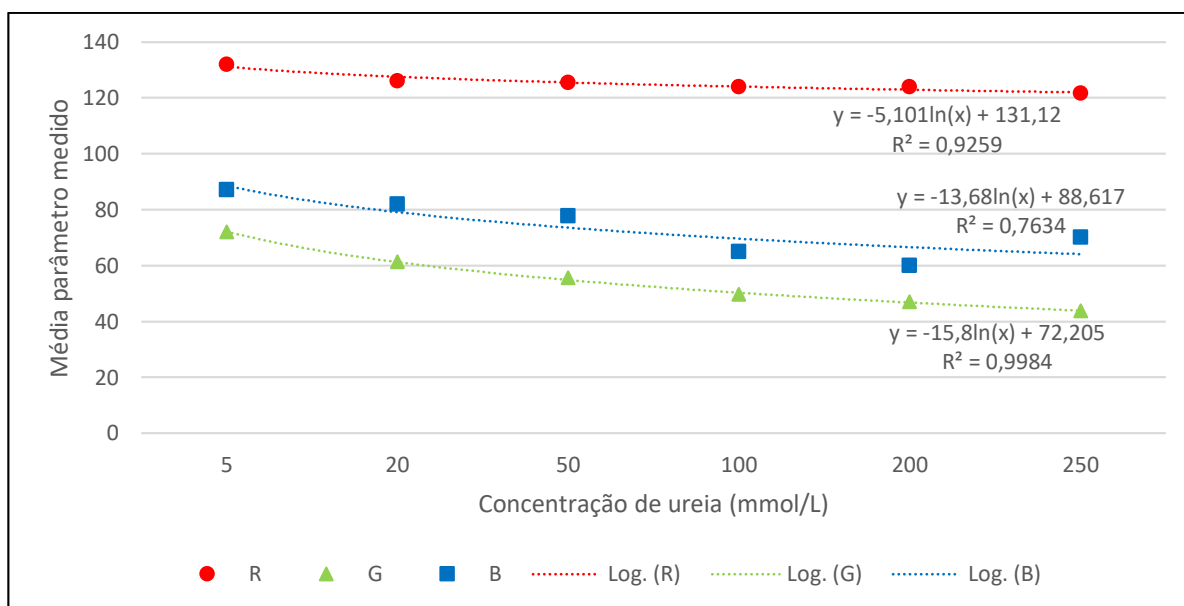
Uma distância focal fixa (SUMRIDDETCHKAJORN, 2014), assim como a diminuição de interferências de iluminação externa, e a própria variação entre as intensidades dos *flashes* de diferentes aparelhos são fatores cruciais a serem controlados ao conduzir experimentos onde são coletados parâmetros de cor (RODA *et al.*, 2016). Nesse contexto, o projeto da cabine demonstrou ser efetivo em estabelecer condições de análise controladas, reduzindo o impacto de parte das variáveis envolvidas no processo.

## 4.2 CALIBRAÇÃO

Para a construção da curva, uma solução de 500 mmol/L de ureia foi preparada, e então diluída para produzir padrões de trabalho nas seguintes

concentrações: 5, 20, 50, 100 e 250 mmol/L, comportando a faixa de interesse em que o analito é observado. Na Figura 15 encontram-se as curvas obtidas com as imagens do celular *Samsung Galaxy J5*, celular de menor resolução, antes do ajuste. Apesar da linearidade e ajustes serem observados, a equação da curva de calibração não obteve sucesso em informar corretamente a concentração de ureia.

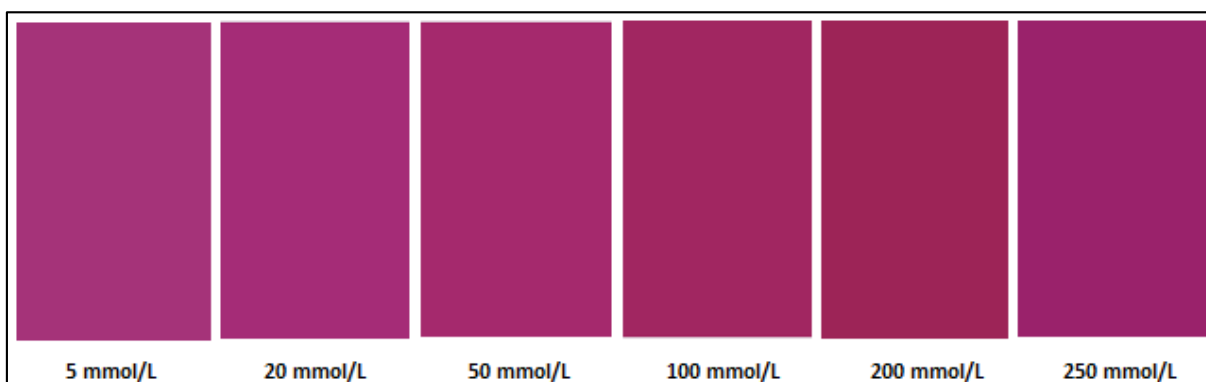
**Figura 15 - Curva de calibração *Samsung Galaxy J5***



**Fonte: Autoral (2021).**

É possível observar que para a linha do canal azul não há um bom ajuste do modelo de regressão, o que resulta em desvios elevados entre a concentração real e o valor obtido pela equação da curva de calibração. Portanto, empregou-se uma estratégia de correção, para tal, os códigos das cores correspondentes aos parâmetros obtidos no celular com maior resolução (*Samsung Galaxy M51*) foram utilizados para construir um gradiente de cores de calibração (Figura 16), permitindo que o usuário possa medir o desvio nos parâmetros coletados pelas imagens capturadas por seu aparelho.

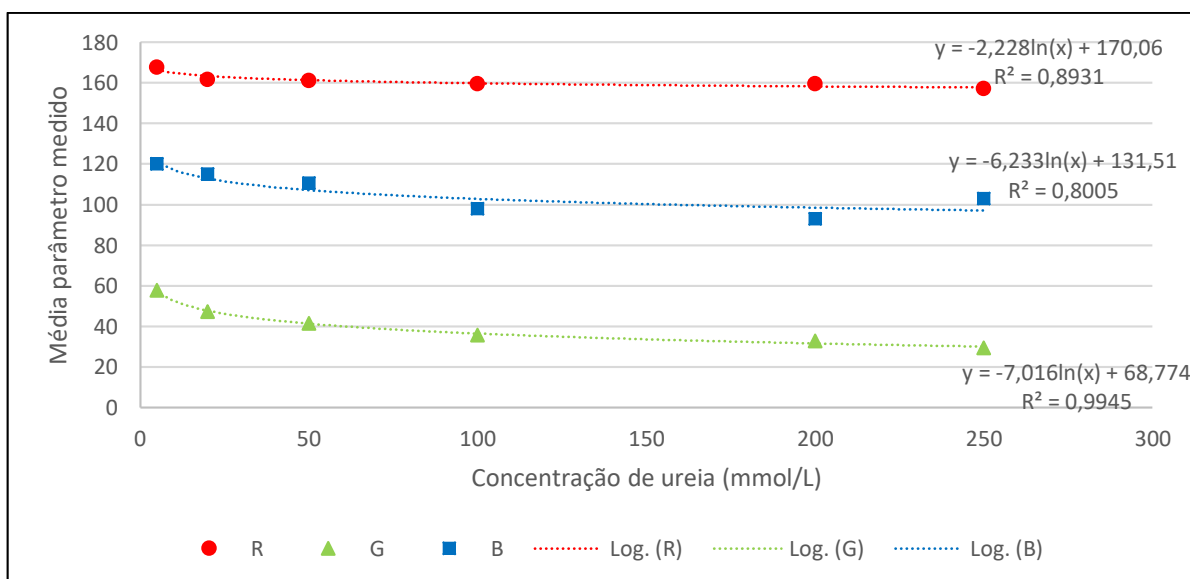
**Figura 16 - Gradiente de calibração (5 – 250 mmol/L)**



Fonte: Autoral (2021).

Os parâmetros medidos foram subtraídos dos parâmetros de referência, e uma média da diferença foi calculada para cada canal. A média foi adicionada a cada medida de acordo com seu respectivo canal, e um novo gráfico foi plotado (Figura 17). As curvas obtidas deste novo gráfico corresponderam às respectivas concentrações, mostrando a efetividade da correção e a possibilidade de reproduzir o método em celulares de menor resolução, expandindo a aplicação.

**Figura 17 - Curvas de calibração do celular *Samsung Galaxy J5* com valores corrigidos**



Fonte: Autoral (2021).

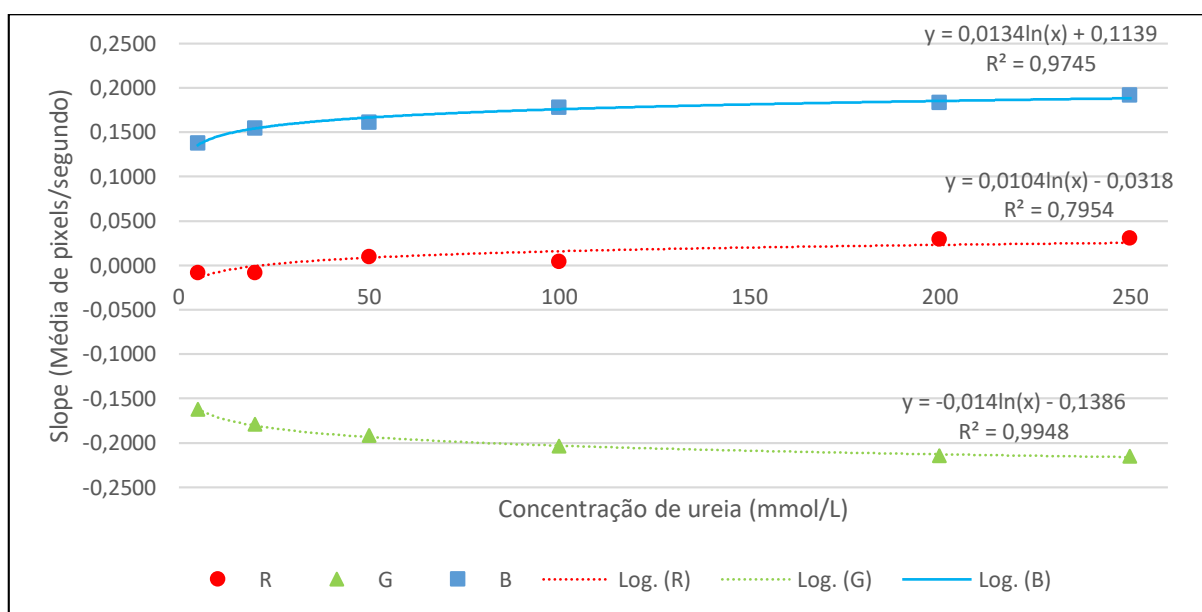
Posteriormente, procedeu-se o uso destas curvas de calibração para quantificação de ureia em amostras sintéticas. No entanto, os resultados obtidos não se aproximaram das concentrações reais preparadas. Isso se deve a cinética da



reação e a decomposição dos reagentes com o passar do tempo, conforme observado por Yang *et al.* (2007).

Para contornar este efeito empregou-se o método da variação, onde duas imagens são coletadas em um intervalo de tempo fixo para cada padrão, sendo a diferença de intensidade em cada canal dividida pelo tempo, obtendo-se uma taxa de variação para cada ponto que é empregada na construção da curva de calibração. As curvas de calibração obtidas podem ser observadas na Figura 18.

**Figura 18 - Curva de calibração utilizando o método da variação**



**Fonte: Autoral (2021).**

A Equação 4 é referente a equação encontrada para a curva de calibração do canal G, previamente escolhido como o canal de estudo, onde X é a concentração desconhecida, e Y o parâmetro de variação na intensidade dos pixels.

#### **Equação 4 - Curva de calibração G**

$$y = -0,014 * \ln(x) - 0,1386$$

**Fonte: Autoral (2021).**

O método demonstrou bons resultados dentro da faixa de interesse clínico, e a similaridade nos resultados obtidos com o proposto por Soni *et al.* (2018) ao quantificar ureia em amostras de saliva nas faixas de concentração de 10 à 1000 mg/dL, demonstra a possibilidade de verificação para uma faixa maior de concentrações, elevando sua robustez.

#### 4.3 VALIDAÇÃO COM AMOSTRAS DE SUOR SINTÉTICO

Foi preparada uma solução de 0,536 g cloreto de sódio e 16,6 mL ácido acético, e o pH foi ajustado para, aproximadamente, 6,6 pela adição de hidróxido de amônio. A solução foi avolumada para 100 mL com água ultrapura, e então dividida em duas frações de 50 mL empregando pipetas volumétricas a fim de preparar duas soluções com concentrações diferentes de ureia.

A primeira fração foram adicionados 0,1 g de ureia, resultando em uma concentração de 16 mmol/L, valor dentro da faixa para a concentração de ureia em uma pessoa sem distúrbios renais crônicos. De maneira análoga, aproximadamente, 0,7 g de ureia foram adicionadas a segunda fração, resultando em uma concentração de 116 mmol/L de ureia, valor acima da faixa de concentração para uma pessoa saudável.

**Tabela 5 - Parâmetros RGB das amostras de suor sintético**

<b>Amostra</b>	<b>Varição (Green)</b>	<b>Desvio padrão</b>
Dentro do padrão	-0,1743	0,001
Fora do padrão	-0,2111	0,006

**Fonte: Autoral (2021).**

De acordo com a variação média, a concentração para a amostra dentro do padrão foi de 12,81 mmol/L e para a faixa fora do padrão 177,4 mmol/L. Devido aos valores de concentração obtidos não corresponderem exatamente ao valor real, podemos concluir que o método necessita de alguns ajustes para fornecer resultados quantitativos mais adequados. No entanto, o caráter qualitativo e semiquantitativo do

método se demonstrou efetivo, pois os valores se enquadram no intervalo estabelecido para cada concentração, como observado na Tabela 6.

**Tabela 6 - Intervalos de variação para as concentrações de ureia**

<b>Faixa contemplada (mmol/L)</b>	<b>Intervalo</b>
5 – 20	-0,1792 à -0,1625
20 - 50	-0,1917 à -0,1792
50 – 100	-0,2042 à -0,1917
100 – 200	-0,2146 à -0,2042
200 - 250	-0,2153 à -0,2146

**Fonte: Autoral (2021).**

Assim, o método proposto, apesar de necessitar de ajustes para apresentar uma maior robustez, cumpriu seu objetivo possibilitando a análise do teor de ureia, mesmo que de forma informativa a uma faixa de concentração, serve como indicativo ao paciente de sua situação de saúde. Ainda, os custos para realização desta análise são extremamente baixos e a aplicação da metodologia é acessível a qualquer tipo de *smartphone*.

## 5 CONCLUSÃO

De forma geral, o caráter qualitativo e semiquantitativo do método proposto no trabalho foi validado, sendo uma ferramenta de análise com baixo custo, ampla aplicabilidade, e grande potencial em ser empregada como biossensor para auxiliar no diagnóstico de distúrbios renais crônicos. Faz-se necessária a validação clínica por meio da comparação do desempenho do método em relação aos métodos oficiais utilizados, empregando a sêrum e o sangue.

Concluiu-se que para melhorar a capacidade quantitativa e sensibilidade do método, melhorias na forma de impregnação, buscando uma melhor distribuição dos compostos reagentes no material impregnado, e melhor compreensão sobre a manipulação da enzima urease, são necessários para garantir medidas consistentes.

A cabine de captura proposta para eliminação de interferências externas demonstrou ser um acessório efetivo, pois proporciona um menor ruído no canal estudado, melhorando as medidas e a acuracidade do método. Além disso, o baixo custo de impressão, aliado a disponibilização do projeto na plataforma *Thingiverse* na modalidade *open source*, viabilizam a adesão do método por outras pessoas, contribuindo para o aspecto social do trabalho.

No decorrer dos experimentos algumas melhorias no protótipo foram observadas, como a necessidade de projetar um dispositivo para prender o celular à cabine a fim de evitar movimentos acidentais da câmera e conseqüente aumento do ruído, e também uma abertura para possibilitar a inserção da amostra diretamente no interior da gaveta, o que auxilia em métodos como o do *slope*. Essas mudanças podem ser adicionadas a plataforma de disponibilização, sendo possível atualizar o protótipo conforme a necessidade.

Ainda, entre as oportunidades de pesquisa identificadas, há o desenvolvimento de um aplicativo que faça a coleta e cálculo da curva de variação, eliminando a necessidade de usar aplicativos de terceiros, diminuindo a necessidade de intervenção do usuário e conseqüente treinamento deste.

Também, o estudo da adaptação dos materiais de medição impregnados para que possa ser criado um dispositivo a ser aderido na pele, buscando a viabilização da coleta de forma passiva do suor.

Por fim, a importância do emprego da engenharia química como ferramenta de transformação, beneficiando a sociedade, fica explicitada no trabalho, mostrando que iniciativas simples utilizando os conhecimentos adquiridos no decorrer da formação profissional, podem ter grande impacto na vida de muitos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-TAMER, Y. Y., HADI, E. A., AL-BADRANI, I. I. **Sweat urea, uric acid and creatinine concentrations in uraemic patients.** Urol. Res., 25: 337-340, 1997.

BANDODKAR, A. J., WANG, J. **Non-invasive wearable electrochemical sensors: a review.** Trends in Biotechnology, v. 32, i. 7, p. 363-371, 2014.

BOYSEN, T. C., YANAGAWA, S., SATO, F., SATO, K. **A modified anaerobic method of sweat collection.** J. Appl. Physiol., 56, p. 1302-1307, 1984.

BUDDHADEV, P., ASHUTOSH K., KULDEEP M., PRANJAL C. **Smartphone-assisted personalized diagnostic devices and wearable sensors.** Current Opinion in Biomedical Engineering, volume 13, p. 42-50, 2020.

CAGE, G. W., DOBSON, R. L. J. **J Clin Invest** 1965, 44, 1270.

CANASSA, T. A., LAMONATO, A. L., RIBEIRO, A. V. **Utilização da lei de Lambert-Beer para determinação da concentração de soluções.** JETI, v.1, n.2, 2018.

CHIN, J., PETIT, S., FORSTER, A., RILEY, M., RICE, K. **Effect of artificial perspiration and cleaning chemicals on the mechanical and chemical properties of ballistic materials.** Journal of Applied Polymer Science, Vol, 113, 567-584, 2009.

CZAUADERNA, M., KOWALCZYK, J. **Simple, selective, and sensitive measurement of urea in body fluids of mammals by reversed-phase ultra-fast liquid chromatography.** Czech J. Anim. Sci., 57, p. 19-27, 2012.

DE ALMEIDA, V. V., BONAFÉ, E. G., STEVANATO, F. B, DE SOUZA, N. E., VISENTAINER, J. E. L., MATSUSHITA, M., VISENTAINER, J. V. **Catalisando a Hidrólise da Ureia em Urina.** Química Nova na Escola, n. 28, maio 2008.

DE OLIVEIRA, H. J. S., DE ALMEIDA JR., P. L., SAMPAIO, B. A., FERNANDES, J. P. A., PESSOA-NETO, O. D., DE LIMA, E. A., ALMEIDA, L. F. **A handheld smartphone-controlled spectrophotometer based on hue to wavelength conversion for molecular absorption and emission measurements.** *Sensor and Actuators B*, 238, p. 1084–1091, 2017.

DOS SANTOS, P. L. P. **Mercantilização da saúde e cidadania perdida: o papel do SUS na reafirmação da saúde como direito social.** *Revista da UNIFEBE*, [S.l.], v. 1, n. 11, 2013.

EMMANUEL, N., HARIDAS, R., CHELAKKARA, S., NAIR, R. B., GOPI, A., SAJITHA, M., YOOSAF, K. **Smartphone Assisted Colourimetric Detection and Quantification of Pb<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup> Ions Using Ag Nanoparticles from Aqueous Medium.** *IEEE Sensors Journal*, v. 20, n. 15, 2020.

FAN, Y., LI, J., GUO, Y., XIE, L., ZHANG, G. **Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review.** *Measurement*, v. 171, 2021.

FATONI, A., NUMNUAM, A., KANATHARANA, P., LIMBUT, W., THAMMAKHET, C., THAVARUNGKUL, P. **A highly stable oxygen-independent glucose biosensor based on a chitosan-albumin cryogel incorporated with carbon nanotubes and ferrocene.** *Sens. Actuators B Chem.*, 185, p. 725–734, 2013

FELLMANN, N., LABBE, A., GACHON, A. M., COUDERT, J. **Thermal sweat lactate in cystic fibrosis and in normal children.** *Eur. J. Appl. Physiol.*, 54, p. 511-516, 1985

FERREIRA, M. D. **Instrumentação Pós-Colheita em Frutas e Hortaliças.** Embrapa Instrumentação, São Carlos – SP, 2017.

FIRDAUS, M. L., ALWI, W., TRINOVELDI, D., RAHAYU, I., RAHMIDAR, L., WARSITO, K. **Determination of Chromium and Iron using Digital Image-based Colorimetry.** *Procedia Environ. Sci*, 20, p. 298-304, 2014.

GARDEN, J. W. **Plasma and sweat histamine concentrations after heat exposure and physical exercise.** J. Appl, Physiol., 24, p. 631–635, 1966.

HUANG, C-T., CHEN, M-L., HUANG, L-L., MAO, I-F. **Uric Acid and Urea in Human Sweat.** Chinese Journal of Physiology, 45(3): 109-115, 2002.

JHA, S. K., D'SOUZA, S. F. **Preparation of polyvinyl alcohol-polyacrylamide composite polymer membrane by  $\gamma$ -irradiation for entrapment of urease.** Journal of Biochemical and Biophysical Methods, v. 62 (3), p. 215-218, 2005.

KAKIHARA, M. **Grasping a Global View of Smartphone Diffusion: An Analysis from a Global Smartphone Study.** International Conference on Mobile Business. 11. 2014.

KAP, O., KILIÇ, V., HARDY, J. G., HORZUM, N. **Smartphone-based colorimetric detection systems for glucose monitoring in the diagnosis and management of diabetes.** Analyst, 146, p. 1784-2806, 2021.

KAPLAN, R. S., PORTER, M. E. **How to solve the cost crisis in health care.** Harvard Business Review, p. 46-52, 54, 56-61, 2011.

KIRSZTAJN, G. M. **Prevenção de Doenças Renais: Uma Preocupação Crescente.** 2006. Disponível em: <  
[https://www.academia.edu/download/65965865/Preveno\\_de\\_Doena\\_Renal\\_-\\_Uma\\_Preocupao\\_C20210310-6411-jtg4e1.pdf](https://www.academia.edu/download/65965865/Preveno_de_Doena_Renal_-_Uma_Preocupao_C20210310-6411-jtg4e1.pdf) >. Acesso em: 12 de julho de 2021.

KOYA, T.K. **Sistema Automático para Contagem das Células do Sangue.** Dissertação de mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

KURAKAY, I., ÖZYÜRÜK, H., YILDIZ, A. Sens. Actuators B 109, 194, 2005.



LIMA, D. L., GALO, M. L. B. T., IMAI, N. N. **Aplicação do modelo de cores IHS na detecção de plantas aquáticas imersas.** Anais XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Goiânia, Brasil, 16-21 abril 2005, INPE, p. 4115-4122.

MCNAMARA, M. J. **The Deep Dive on Bit Depth.** Project Center, 2018. Disponível em: <<https://www.projectorcentral.com/All-About-Bit-Depth.htm?page=Understanding-Bit-Depth-Specs-When-Shopping>>. Acesso em: 19 de agosto de 2021.

MORAES, E. C. **Fundamentos de sensoriamento remoto.** Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). 2001.

MUTHU. S., SCHUURMANS, F. J. P., PASHLEY, M. D. **Red, green, and blue LEDs for white light illumination.** IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics, vol. 8, no. 2, pp. 333-338, March-April 2002.

NELIS, J. L. D., ZHAO, Y., BURR, L., RAFFERTY, K., ELLIOTT, C. T., CAMPBELL, K. **A Randomized Combined Channel Approach for the Quantification of Color- and Intensity-Based Assays with Smartphones.** Anal. Chem. 2020, 92, 7852-7860.

ORSONNEAU, J. L., MASSOUBRE, C., CABANES, M., LUSTENBERGER, P. **Simple and Sensitive Determination of Urea in Serum and Urine.** Clinical Chemistry, Volume 38, Issue 5, Pages 619–623, 1992.

PADUA FILHO, W. C.; DE PADUA, I. C. C. **Os impactos do capitalismo no modelo de gestão em saúde no brasil.** REVISTA UNINGÁ REVIEW, [S.l.], v. 18, n. 3, jun. 2014. ISSN 2178-2571.

PANTHEGINI, M. **Enzymatic assays for creatinine: time for action.** Clin Chem Lab Med, v. 46, p. 567-572, 2008.

PENG, B., ZHOU, J., XU, J., FAN, M., MA, Y., ZHOU, M., LI, T., ZHAO, S. **A smartphone-based colorimetry after dispersive liquid-liquid microextraction for**

**rapid quantification o calcium in water and food samples.** *Microchemical Journal*, 149, 2019.

PHADUNGCHAROEN, N., PATROJANASOPHON, P., OPANASOPIT, P.  
**Smartphone-based Ellman's colourimetric methods for the analysis of D-penicillamine formulation and thiolated polymer.** *International Journal of Pharmaceutics – Thailand: Elsevier*, v. 558, p. 120-127, 2019.

PIRIE, I. **Disordered eating and the contradictions of neoliberal governance.** *Sociol Health Illness*. 2016. 38(6): 836–53.

QUINZANI, M. A. D. **O avanço da pobreza e da desigualdade social como efeitos da crise da covid-19 e o estado de bem-estar social.** *Boletim de Conjuntura (BOCA)*, Boa Vista, v. 2, n. 6, p. 43–47, 2020. DOI: 10.5281/zenodo.3833203.

**Reference Test Method for Release of Nickel from Produtos Intended to Come into Direct and Prolonged Contact with the Skin.** EN1811, 1998.

REZAZADEH, M., SEIDI, S., LID, M., PEDERSEN-BJERGAARD, S., YAMINI, Y. **The modern role of smartphones in analytical chemistry.** *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 118. 2019. Pages 548-555.

ROBINSON, S., ROBINSON A. H. **Chemical Composition of Sweat.** *Physiol Rev.*, 34(2): 202-20, 1954.

ROCHA, F. R. P., TEIXEIRA, L. S. G. **Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS.** *Quim. Nova*, v. 27, n 5, p 807–812, 2004.

RODA, A., MICHELINI, E., ZANGUERI, M., DI FUSCO, M., CALABRIA, D., SIMONI, P. **Smartphone-bases biosensors: A critical review and perspectives.** *Trends in Analytical Chemistry*, 79 (2016), 317 - 325.

ROMÃO JR., J. E. **Doença Renal Crônica: Definição, Epidemiologia e Classificação.** *J. Bras. Nefrol.*, 26(3 suppl. 1), 1-3, 2004.

SEELEY, R., STEPHENS T., TATE, P. **Anatomy & Physiology**. McGraw-Hill Companies, Inc., 6th edition, 2003.

SELL, S.K. **21st-century capitalism: structural challenges for universal health care**. *Global Health*, 15, 76, 2019.

SESSO, R. **Epidemiologia da doença renal crônica no Brasil**. In: Barros E, Manfro RC, Thomé FS, Gonçalves LF. *Nefrologia: Rotinas, Diagnóstico e Tratamento*. 3ed. Porto Alegre: Artmed, p.39-46, 2006.

SONI, A., SURANA, R. K., JHA, S. K. **Smartphone based optical biosensor for the detection of urea**. *Sensors and Actuators B*, v. 269, p. 346–353, 2018.

SUMRIDDETKHAJORN, S., CHAITAVON, K., INTARAVANNE, Y. **Mobile-platform based colorimeter for monitoring chlorine concentration in water**. *Sens. Actuators B-Chem.* 191 (2014) 561–566.

VERHOEVE, G. J. J. **The reflection of two fields – Electromagnetic radiation and its role in (aerial) imaging**. *AARGnews* 55. p. 13-18, 2017.

WANG, J. S., GAO, Y., DORSHOST, D. W., CAI, F., BREMER, M., MILANOWSKI, D., STATON, T. K., CAPE, S. S., DEAN, B., DING, X. **Development of a multi-matrix LC-MS/MS method for urea quantitation and its application in human respiratory disease studies**. *J. pharm. Biomed. Anal.*, 133, p. 96-104, 2017.

**Watch-Cases and Accessories – Gold Alloy Coverings Part 2: Determination of Fineness, Thickness, Corrosion Resistance and Adhesion**. ISO 3160-2, 2002.

YANG, Z., SI, S., DAI, H., ZHANG, C. **Piezoelectric urea biosensor based on immobilization of urease onto nanoporous alumina membranes**. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(12), 3283–3287, 2007. doi:10.1016/j.bios.2007.03.006

ZHANG, Y., GUO, H., KIM, S. B., WU, Y., OSTOJICH, D., PARK, S. H., WANG, X., WENG, Z., LI, R., BANDODKAR, A. J., SEKINE, Y., CHOI, J., XU, S., QUAGGIN, S., GHAFARI, E., ROGERS, J. A. **Passive sweat collection and colorimetric analysis of biomarkers relevant to kidney disorders using a soft microfluidic system.**

Lab on a Chip, 19, p. 1545-1555, 2019.