



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA- CAMPUS I
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA
(PGQA)

RAFAEL CONCEIÇÃO COSTA

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM FRUTAS COM
DÉTECÇÃO COLORIMÉTRICA POR IMAGEM DIGITAL

PROF. Dr. WALTER NEI LOPES DOS SANTOS
Orientador

Salvador
Dezembro-2021

RAFAEL CONCEIÇÃO COSTA

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM FRUTAS COM
DETECÇÃO COLORIMÉTRICA POR IMAGEM DIGITAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós- Graduação em Química Aplicada da Universidade do Estado da Bahia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Walter Nei
Lopes dos Santos

Salvador
Dezembro-2021

FICHA CATALOGRÁFICA
Sistema de Bibliotecas da UNEB

C837d

Costa, Rafael Conceição

Determinação de compostos fenólicos totais em frutas com detecção colorimétrica por imagem digital / Rafael Conceição Costa. - Salvador, 2021.

52 fls : il.

Orientador(a): Prof. Dr. Walter Nei Lopes dos Santos.

Inclui Referências

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada - PGQA, Campus I. 2021.

1.Fenólicos totais. 2.Antioxidante. 3.Imagem digital - frutas.
4.Metodologia multivariada.

CDD: 543

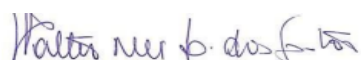
RAFAEL CONCEIÇÃO COSTA

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM FRUTAS COM
DETECÇÃO COLORIMÉTRICA POR IMAGEM DIGITAL**

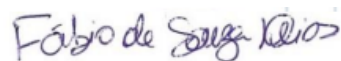
**Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre
em Química Aplicada, ao Programa de Pós-Graduação em Química,
Universidade do Estado da Bahia.**

Aprovado em 20/12/2021.

Banca Examinadora



Orientador Prof. Dr. Walter Nei Lopes dos Santos



Profa. Dr. Fábio Cerqueira de Souza Dias



Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira

“Se quiser ir rápido, vá sozinho. Se quiser ir longe, vá acompanhado.”

Provérbio Africano

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, ao destino por ter me proporcionado encontros e desencontros necessários para todo o meu processo de desenvolvimento pessoal e profissional.

Aos meus familiares e, em especial, os meus avós que me criaram e me apoiaram em tudo.

A meu orientador, Walter Nei Lopes dos Santos, que me acolheu no seu grupo de pesquisa, compartilhou conhecimento, disposição em ajudar e paciência durante o processo.

Ao grupo de pesquisa e demais colegas de laboratório por tornar o trabalho mais prazeroso e agradável, em especial a: Jéssica, Jorge, Isaac, Daniela, Camila, Milena e Bruna.

Aos professores do PGQA por todo conhecimento compartilhado e disponibilidade em ajudar.

Ao Pro. Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira, por ter acreditado e ter me fornecido uma parte do material empregado nesta pesquisa.

Aos meus amigos que fazem a diferença na minha vida: Carlos, Claiton, Maurício, Fabiano, Maísa, Geovane e Levi Daniel.

A Daniele Souza, por todo amor, companheirismo, apoio psicológico durante este período de pandemia e, principalmente, paciência.

RESUMO

Nesse trabalho, um método colorimétrico por imagem digital foi desenvolvido para determinação do teor de fenólicos totais em Frutas, comercializadas na cidade de Salvador-Ba, usando o reagente de Folin-Denis. As frutas foram selecionadas e lavadas, em seguida, foram congeladas, liofilizadas, trituradas e peneiradas, em uma peneira de 100 mesh. O processo continuou com a pesagem de 0,5 g da amostra para o preparo da solução que continha 30 ml de metanol, sendo esta solução pré-concentrada para 1,5 ml e estocada. Consequente, as imagens digitais das soluções cromogênicas, formada pela reação da solução pré-concentrada e o reagente folin ciocalteu, foram capturadas usando uma câmera HD (que estava acoplada em uma caixa de madeira branca), armazenadas no formato JPEG e analisadas com base no modelo de cores RGB. A otimização da medida colorimétrica foi realizada empregando metodologia multivariada e os dados obtidos no canal vermelho foram utilizados como resposta quimiométrica. Para realizar os estudos deste canal, três processamento foram propostos, $S = \text{Log}(255/R)$, $S = \text{Log}(237,252/R)$ e $S = (255 - R)$. O processamento $S = (255 - R)$ foi o que apresentou valores mais próximos da espectrofotometria de absorção molecular. Assim, as amostras de casca e polpa dos frutos foram analisadas pelo método proposto e os teores de fenólicos totais variaram de 157 a 832 mg/100. Logo, esses resultados não diferiram, significativamente, daqueles obtidos por espectrofotometria de absorção molecular.

Palavras-chave: colorimetria de imagem digital; teor de fenólicos totais; Frutas e; otimização multivariada.

ABSTRACT

In this work, a digital image colorimetric method was developed to determine the total phenolic content in fruits, commercialized in the city of Salvador-Ba, using the Folin-Denis reagent. The selected and washed fruits were then frozen, lyophilized, crushed and sieved in a 100 mesh sieve. The continuous process with the weighing of 0.5 g of the sample to prepare the solution that contained 30 ml of methanol, this solution being pre-concentrated to 1.5 ml and stored. Therefore, the digital images of the chromogenic solutions, formed by the reaction of the pre-concentrated solution and the folin ciocalteu reagent, were captured using an HD camera (which was attached to a white wooden box), stored in JPEG format and analyzed based on the RGB color model. The optimization of the colorimetric measurement was performed using a multivariate methodology and the data used in the red channel were used as a chemometric response. To carry out the studies of this channel, three processings were proposed, $S = \text{Log} (255 / R)$, $S = \text{Log} (237.252 / R)$ and $S = (255 - R)$. The processing $S = (255 - R)$ was the one with the closest values to molecular absorption spectrophotometry. Thus, the peel and pulp origins of the fruits were analyzed by the proposed method and the total phenolic contents ranged from 157 to 832 mg / 100. Therefore, these results did not differ, antecedents, choice for molecular absorption spectrophotometry.

Keywords: digital image colorimetry; total phenolic content; Fruits and; multivariate optimization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Interação da Lua com a matéria.....	17
Figura 2 - Comprimentos de onda do espectro eletromagnético.....	18
Figura 3 – Influência da variação do número de amostras e de níveis de quantização na qualidade de uma imagem digital.....	19
Figura 4 – Combinação das cores.....	20
Figura 5 – Cores primárias e cores secundárias.....	21
Figura 6 - Imagem monocromática.....	21
Figura 7 - Escala de cinza.....	22
Figura 8 - Valores codificados para planejamento Doehlert com ponto central em triplicata.....	25
Figura 9 - Superfície de resposta para três níveis.....	25
Figura 10 – Resumo do processo até a formação da solução.....	28
Figura 11 - Equipamento para a aquisição de imagem.....	29
Figura 12 - Seleção da região de interesse (ROI).....	30
Figura 13 - Valores de R, G e B.....	30
Figura 14 - Gráfico de pareto.....	34
Figura 15 – Superfície de resposta com um máximo de absorbância entre o volume e a distância	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivo específico.....	13
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
3.1 os antioxidantes.....	14
3.1.1 métodos de identificação e quantificação dos compostos fenólicos.....	15
3.1.2 Adaptação dos métodos consolidados para o método colorimétrico de imagem digital.....	15
3.1.3 Detecção colorimétrica por imagem digital.....	16
3.2 Breve histórico do desenvolvimento da colorimétrica por imagem digital.....	16
3.2.1 Breve histórico sobre a luz.....	16
3.2.2 A natureza da Luz.....	17
3.2.3 Imagem digital.....	19
3.2.3.1 Imagens coloridas e monocromáticas.....	20
3.2.3.2 Imagens coloridas e monocromáticas.....	22
3.2.4 Aplicação da colorimetria digital na química analítica.....	22
3.3 Espectrofotometria UV-Vis.....	23
3.4 Quimiometria.....	24
3.4.1 Planejamento de experimentos.....	24
3.4.1.1 Planejamento fatorial de dois níveis.....	22
3.4.1.2 Reconhecimento de padrões e calibração multivariada.....	23
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	26
4.1 Instrumentação.....	26
4.2 Reagentes, soluções e amostra.....	26
4.3 Procedimento para extração de compostos fenólicos totais.....	27
4.4 Procedimento para determinação do teor de fenólicos totais.....	28
4.5 Sistema fotográfico usado para captura das imagens digitais.....	29

4.6 Avaliação e processamento das imagens digitais.....	30
4.7 Otimização multivariada da medida colorimétrica.....	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
5.1. Avaliação preliminar das cores primárias.....	33
5.2. Etapa de otimização da medida colorimétrica.....	33
5.3. Parâmetros analíticos do método colorimétrico proposto.....	37
5.4. Aplicação do método colorimétrico proposto.....	39
6. CONCLUSÃO.....	43
7. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	44
8. REFERÊNCIA.....	45
9. APÊNDICE.....	50

1. Introdução

Uma atenção crescente vem sendo direcionada, nos últimos anos, às questões relacionadas à importância do papel da alimentação na saúde humana. Diante disto, diversos estudos epidemiológicos relatados na literatura têm mostrado a relação entre a ingestão de alimentos naturais e a redução no risco de diversas doenças crônicas, como câncer e doenças cardiovasculares (PODSEDEK, 2007). Este fato está relacionado à presença de substâncias que possuem a capacidade de atuarem como antioxidantes, os quais absorvem radicais livres e inibem a cadeia de iniciação ou interrompem a cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais livres no organismo humano (PODSEDEK, 2007; Azevedo et al., 2019; González-Ceballos et al., 2021).

Os antioxidantes são divididos em diversas classes, dentre elas, tem-se os compostos fenólicos, que possuem um ou mais (polifenóis) hidroxilas ligadas a um anel benzênico. Embora contenha um grupo característico de álcoois esta classe de compostos possui propriedades especiais, são compostos mais ácidos que os álcoois, sendo oxidados com maior facilidade, amplamente distribuídas na Natureza, com mais de 8000 compostos detectados somente em plantas (MANACH et al., 2004).

Esse grande e complexo grupo faz parte dos constituintes de uma variedade de vegetais, frutas e produtos industrializados. Podem ser pigmentos, que dão a aparência colorida aos alimentos, ou produtos do metabolismo secundário, normalmente derivado de reações de defesa das plantas contra agressões do ambiente (WATERHOUSE, 2002).

Toda via, os estudos dos compostos fenólicos podem ser realizados com o intuito de distinguir e detectar cada composto ou pode ser realizado de forma mais ampla, a avaliar o teor de fenólicos totais (MCLEAN et al., 2005). Entretanto, focando na estratégia de estudar os compostos fenólicos, de forma mais ampla, faz-se necessária uma análise que quantifique o teor fenólicos totais na amostra. Para tanto, o método que frequentemente é empregado para esta análise o reagente Folin-Ciocalteu, possibilitando a formação de complexos

coloridos que podem ser identificados por métodos colorimétricos (MARCUCCI, et al, 2020).

O uso da espectrofotometria de absorção molecular vem passando por um processo de reformulação e adaptação, com o advento da utilização da colorimetria de imagem digital, sendo utilizados smartphones, câmeras fotográficas, scanners, webcams e outros dispositivos (DANTAS et al., 2017). Estrategicamente, a colorimetria de imagem digital permite a redução custos, desenvolvimento de sistemas miniaturizados e automatizados (GIRAUDO et al., 2018), para além disso, com essa reformulação muitos procedimentos poderão ser propostos e em diversa área de atuação, principalmente, nas análises no campo (PORTO et al., 2019).

Assim, o presente trabalho propõe o desenvolvimento e aplicação de um método colorimétrico por imagem digital para determinação de compostos fenólicos totais em frutas comercializadas na cidade de Salvador, Bahia, Brasil, usando o reagente de Folin-Ciocalteu como reagente colorimétrico. As imagens digitais foram capturas por meio de fotografias usando uma câmera HD no interior de uma caixa fotográfica branca. A partir da análise das imagens, valores de cores RGB foram gerados usando o programa Chemostat (Helfer et al., 2015) e tratados para a obtenção do sinal analítico. A otimização do sistema digital foi realizada aplicando metodologia multivariada.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral: desenvolver e validar um método analítico com a finalidade de determinar os compostos fenólicos totais em amostras de frutas com a utilização de imagens digitais.

2.2 Objetivos Específicos:

2.2.1 Avaliar o conteúdo de fenólicos nos frutos in natura usando imagens digitais.

2.2.2 Validar o método a partir da avaliação dos parâmetros analíticos do método proposto utilizando espectrofotometria.

2.2.3 Empregar um sistema fotográfico desenvolvido em laboratório para captura de imagens digitais usando uma câmera HD como detector.

2.2.4 Otimizar os fatores envolvidos no processo de captura de imagens digitais empregando metodologia multivariada

2.2.5 Avaliar diferentes formas de processamento matemático dos valores de cor empregados para estabelecer os sinais analíticos.

2.2.6 Aplicar o sistema fotográfico desenvolvido para a determinação colorimétrica digital do teor de fenólicos totais em frutas usando o reagente de Folin-Denis.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Compostos fenólicos

Para realizar diversas funções, desde as mais simples até as mais complexas, os organismos que dispõem de células aeróbicas produzem diversas reações de cunho oxidativo, levando à formação de radicais livres, que causam danos e contribuem para o aparecimento de muitas doenças, a exemplo: inflamações, tumores malignos, mal de Alzheimer e doenças cardiovasculares, bem como aceleram o processo de envelhecimento (SIKORA et al., 2008).

No entanto, em uma proteção efetiva, as células animais dependem de certa capacidade antioxidante para fornecer proteção contra os efeitos prejudiciais de radicais livres e espécies reativas do oxigênio, que é inevitável à vida aeróbica. Para uma proteção efetiva, os tecidos se organizam de uma forma tal que é possível integrar diversas moléculas formando um sistema antioxidante integrado, que consiste de um arranjo de diversos componentes lipossolúveis (vitamina E; carotenóides), hidrossolúveis (ácido ascórbico; glutatona e; compostos fenólicos) e enzimáticos (glutatona peroxidase; superóxido dismutase; catalase) (MCLEAN et al., 2005).

Os fenóis incluem os compostos que possuam apenas um anel aromático ligado a um ou mais grupamentos hidroxílicos. Já os polifenóis são consolidados como aqueles que possuem múltiplos anéis fenólicos em sua estrutura e podem ser divididos em classes de acordo com o número de anéis fenólicos e os elementos estruturais que ligam estes (WATERHOUSE, 2002). A composição dos fenóis nos alimentos pode variar de acordo com o período da colheita, mês do ano, tipo de solo e de irrigação, processamento e armazenamento (MANACH et al., 2004).

Os dois grupos principais de fenóis são os ácidos fenólicos e os flavonóides. Os ácidos fenólicos podem ser classificados em ácidos benzóicos, e derivados, e ácidos cinâmicos, e derivados. Já os flavonóides possuem como subclasses principais os flavonóis, flavonas, flavanonas, isoflavonas e flavanóis (SATOS et al., 1996).

3.1.1 métodos de identificação e quantificação dos compostos fenólicos

Na literatura, algumas pesquisas têm relacionado a atividade antioxidante das frutas com a presença de compostos fenólicos. Neste sentido, diferentes autores têm reportado a determinação simultânea de vários compostos fenólicos bioativos, e cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo diodo (HPLC-DAD) (Díaz-de-Cerio et al., 2016; dos Santos et al., 2017) e HPLC acoplada à espectrometria de massas (HPLC-MS) (Díaz-de-Cerio, Verardo, Gómez-Caravaca, Fernández-Gutiérrez, & Segura-Carretero, 2015; Díaz-de-Cerio et al., 2016; Liu et al., 2018; Schulz et al., 2020) têm sido as técnicas analíticas frequentemente empregadas para esse propósito. No entanto, a determinação de compostos fenólicos totais tem sido realizada por espectrofotometria de absorção molecular usando o reagente de Folin-Denis (SANTOS et al., 2017).

3.1.2 Aplicações da colorimetria de imagem digital na determinação de compostos fenólicos

Recentemente, a partir da análise da literatura, é notável uma tendência para adaptar os métodos analíticos convencionais que empregam a espectrofotometria de absorção molecular como técnica de detecção pela colorimetria de imagem digital, devido às significativas vantagens que essa técnica oferece, como simplicidade de uso, baixo custo, possibilidades de automação, miniaturização, aplicações *in situ* e em tempo real (Capitan-Vallevy, López-Ruiz, Martínez-Olmos, Erenas, & Palma, 2015). Desse modo, diversos métodos colorimétricos por imagem digital têm sido desenvolvidos nos últimos anos para determinar uma gama de analitos orgânicos (Urapen & Masawat, 2015; Wongniramaikul, Limsakul, & Choodum, 2018; Porto, Santos Neto, dos Santos, Gomes, & Ferreira, 2019; Wongthanyakram, Harfield, & Masawat, 2019) e inorgânicos (Chuan-Xiao, Xiang-Ying, Bin, & Hui-Ting, 2007; Santos Neto et al., 2019) em diferentes matrizes. Essa nova estratégia vem sendo estabelecida a partir da utilização de câmeras de celulares e outros aparelhos eletrônicos que são capazes de capturar imagens digitais RGB (Capitan-Vallevy, López-Ruiz,

Martínez-Olmos, Erenas, & Palma, 2015; Porto, Santos Neto, dos Santos, Gomes, & Ferreira, 2019; Danchana, Phansi, de Souza, Ferreira, & Cerdà, 2020).

Para que uma possível adaptação dos métodos seja possível, as imagens capturadas devem ser tratadas por meio de programas específicos que convertem pixels em valores de cores (números ou outros símbolos) que indicam a intensificação ou a diminuição da coloração, possibilitando a aplicação da lei de Lambert-Beer (**Erro! Indicador não definido.**-Vallevy, López-Ruiz, Martínez-Olmos, Erenas, & Palma, 2015; **Erro! Indicador não definido.** Neto et al., 2019). Os dados obtidos podem ser armazenados ou transferidos via Bluetooth ou Wi-Fi, para qualquer parte do mundo, possibilitando a construção de metodologias mesmo que seus desenvolvedores estejam a distância (Santos Neto et al., 2019). Outra característica positiva do uso de imagem digital em métodos colorimétricos é que ela elimina o carácter subjetivo das análises, bem como a dependência do sistema visual humano, que é substancialmente influenciado por condições ambientais e sujeito a inconsistências (Capitan-Vallevy, López-Ruiz, Martínez-Olmos, Erenas, & Palma, 2015).

A utilização desta nova abordagem analítica tem permitido o estabelecimento de métodos rápidos, precisos e com materiais que diminuem os custos totais da análise, desde o desenvolvimento até a aplicação da técnica (Danchana, Phansi, de Souza, Ferreira, & Cerdà, 2020). Na literatura, até então, não há trabalhos que utilizam imagens digitais para a determinação de compostos fenólicos totais. Portanto, de acordo com o conhecimento do autor deste trabalho, este é o primeiro estudo em que o teor de compostos fenólicos totais é determinado por colorimetria de imagem digital.

3.2 Breve histórico da colorimétrica por imagem digital

3.2.1 Breve histórico sobre o estudo da luz

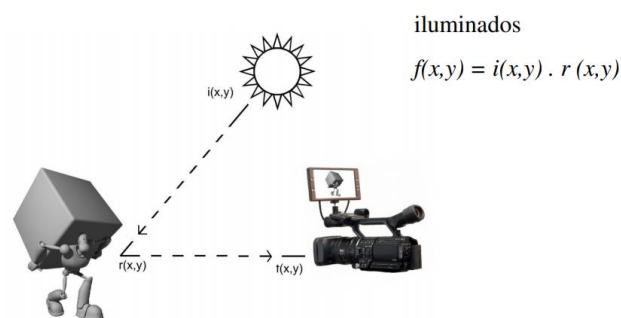
O estudo da luz foi um dos objetos de estudo desde a época dos gregos, que estava ligada a ideia de raios que saíam dos olhos em direção aos objetos de modo a “sentir” seus aspectos dimensionais (RIBEIRO et al., 2016). Um dos principais estudos, sobre a luz, foi iniciado com Euclides (325 a.C. a 265 a. C.) e foi descrito no seu tratado Óptica, que explicava como a luz saía dos olhos em

direção aos objetos, sendo esta explicação também defendida por Aristóteles (384 a. C. a 322 a. C.). Entretanto, em divergências a esta teoria, Platão acreditava que os objetos visíveis emitiam partículas luminosas que eram possíveis de serem captadas pelo sistema visual (FRANÇA, 2020). No entanto, após o apagão que o desenvolvimento da ciência teve durante o teocentrismo, o estudo da luz no século XVIII seguiu segundo o modelo ondulatório de Huygens (1629-1695) e o modelo de partículas de Newton (1643-1727). Já no início do século XX, Max Planck (1858- 1947) e Einstein (1874-1955), na teoria dos fótons, conciliaram estas duas visões (RIBEIRO et al, 2016).

3.2.2 A natureza da luz

A luz, seguindo o modelo ondulatório, é uma radiação eletromagnética caracterizada por um comprimento de onda (λ) e uma determinada frequência (f) característica. Assim, a discriminação das cores é o produto de interações de elementos num conjunto, Figura 1, como: I) a fonte emissora de radiação; II) sistema em análise; III) e observador ou componente de um equipamento (QUEIROZ; GOMES, 2001).

Figura 1: Interação da luz com a matéria.

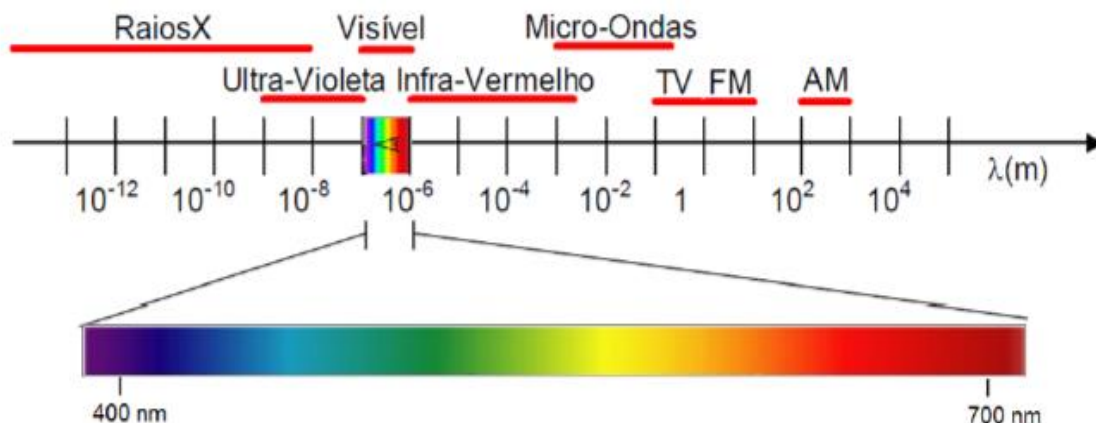


Fonte: (QUEIROZ, J. E. R.; GOMES, H. M., 2001)

Apesar da interação da visão humana e a interação com os objetos gerar as cores visíveis, é perceptível que o sistema visual humano é limitado quanto a captação das ondas eletromagnéticas e, dentre todas as faixas de um espectro, Figura 2, o sistema visual humano só tem a capacidade de perceber uma

pequena região que varia num comprimento de onda em 380 a 740 nanômetros (RIBEIRO et al., 2016).

Figura 2: Comprimentos de onda do espectro eletromagnético.



Fonte: GONÇALVES, 2015

Na região do visível, cada comprimento de onda corresponde a uma derivada de cor (RIBEIRO, 2017). Para uma radiação monocromática, a fonte de radiação emitirá um único comprimento de onda resultando em uma cor espectral pura. Entretanto, as fontes de radiação disponíveis como o sol, as lâmpadas, as telas de aparelhos e tantos outros equipamentos emitem uma mistura de comprimento de ondas diferentes (MARTINS, 2015).

Quando uma fonte de luz atinge a superfície de um objeto, pode-se esperar a ocorrência de três fenômenos possíveis: absorção, reflexão e transmissão, que a depender da natureza do material qualquer um destes processos será intensificado (GONÇALVES, 2015). A incidência de uma fonte de luz sobre um objeto atinge átomos, moléculas, íons, ou seja, a estrutura interna, e esta fonte retorna ao meio de origem, tendo assim ocorrido a reflexão. No processo de interação da luz com as partículas, alguns comprimentos de ondas são absorvidos e outros refletidos, fenômeno denominado de reflectância espectral (MARTINS, 2015).

No processo em que ocorre a transmissão da luz, um objeto transparente afeta os comprimentos de onda da mesma forma que um objeto reflexivo, não podendo este objeto possuir um elevado grau de transparência, pois a luz incidente o atravessará com o mínimo de alteração (da SILVA, 2007).

A visão humana possui elementos, bastonetes e cones, fotossensíveis na retina, que possuem a função de converter as radiações em impulsos nervosos. A principal função dos bastonetes é identificar as imagens pretas e brancas e os cones as imagens coloridas. Três cones receptores do olho humano possuem sensibilidades aos comprimentos de onda (chamadas de cores primárias) vermelho, azul e verde e com a combinação destas cores gera um processo de derivação, o que possibilita a formação de outras milhões de cores (BAGNATO; PRATAVIEIRA, 2015).

Para expandir a limitação visual, o ser humano faz uso de ferramentas que potencializam a percepção visual e, se tratando de trabalhos científicos, o espectro é destrinchado em técnicas com grandes maturidades científicas (RIBEIRO et al, 2016).

3.2.3 Imagem digital

Uma imagem digital é uma representação de um momento por meio de um conjunto de elementos discretos e de tamanhos finitos, chamados de pixels, colocados em um arranjo bidimensional formado pelas variáveis x e y . De forma geral, quanto maior a quantidade de pixels melhor será a resolução da imagem, Figura 3, (GONÇALVES, 2015).

Figura 3: Influência da variação do número de amostras e de níveis de quantização na qualidade de uma imagem digital.



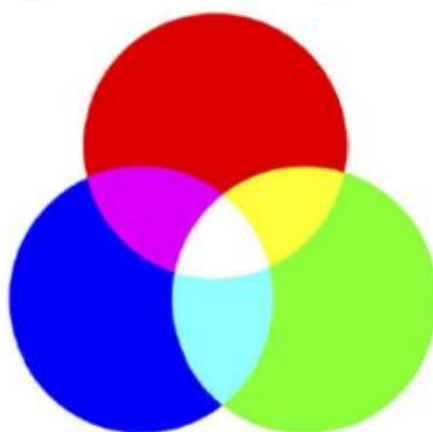
Fonte: QUEIROZ; GOMES, 2001

Para a imagem digital, tem-se a matriz bidimensional, que é constituída por um número específico de linhas e de colunas, constituída por números. Logo, cada célula da matriz, que constitui a imagem, representa uma localização específica e única que determina uma determinada região que está sob análise (dos SANTOS, 2013).

3.2.3.1 Imagens coloridas e monocromáticas

As imagens digitais poder ser monocromáticas ou coloridas. Para uma imagem colorida, vários modelos podem ser utilizados para descrevê-la. Dentre eles, tem o modelo RGB, que é uma abreviatura das cores aditivas – em inglês – formado por vermelho (*red*), verde (*green*), e azul (*blue*), Figura 4. Nas imagens representadas com o modelo RGB, cada pixel será representado por um ponto $WxYxZ$, onde os termos W , Y e Z representam números dentro de cada canal de coloração. Entretanto, cada cor primária representa um canal de cor e varia em uma faixa que vai do 0 até 256. Assim, cada imagem colorida (seguindo o modelo RGB) será formada por três canais de cores, totalizando cerca de 16 milhões de cores ($256^3 = 16.777.126$), como mostrada na figura a seguir (GONÇALVES, 2015).

Figura 4: Combinação das cores primárias

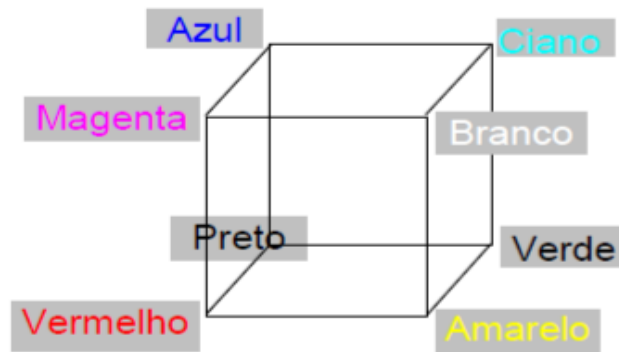


Fonte: BAGNATO; PRATAVIEIRA, 2015

Para melhor representação do modelo RGB, a partir da Figura 5, é possível observar a representação geométrica das cores primárias, cores

secundárias, e a oposição formada entre a cor preta (que é ausência de todas as cores) e a cor branca (que é o somatório destas cores). Neste modelo, a escala de cinza se entende por meio do vértice diagonal entre o preto e o branco.

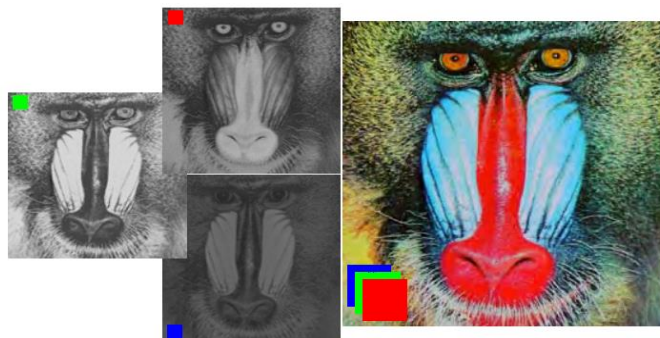
Figura 5: Cores primárias e cores secundárias.



Fonte: Scuri, 1999.

Uma imagem monocromática é uma função matemática descrita em duas coordenadas $f(x,y)$, Figura 6, formando um sistema de pixels que atua sobre um canal de cor aditiva RGB, gerando um plano bidimensional. Os pixels podem ser somados, o que resultará em uma imagem bidimensional colorida (QUEIROZ; GOMES, 2001).

Figura 6: Processo de formação de uma imagem colorida (a partir de imagens monocromáticas)

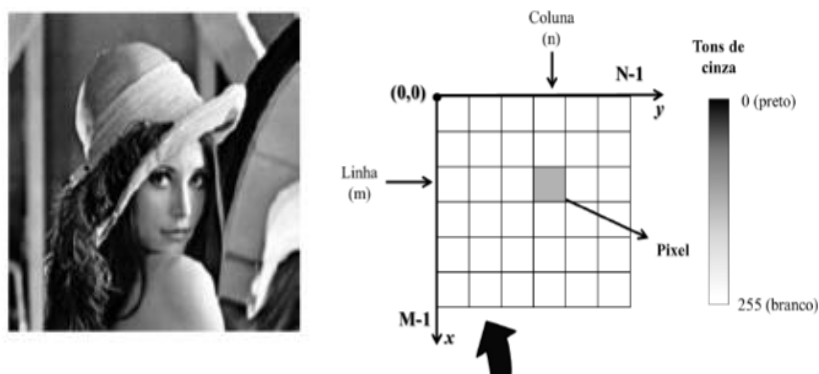


Fonte: QUEIROZ; GOMES, 2001.

3.2.3.2 Escala de cinza

Uma imagem digital limitada a cor preto e branco pode ser representada com os tons de cinza, resultante da variação de finitos pixels que são descritos como um vetor, que varia do preto ao branco e de 0 a 255 formas de combinações (possibilitando 255 pixels). Portanto, está variação na intensidade que parte do preto e chega ao branco passa pela escala de cinza, como observada na Figura 7.

Figura 7: Escala de cinza



Fonte: Adaptada de QUEIROZ; GOMES, 2001.

3.2.4 Aplicações da colorimetria por imagem digital na Química Analítica

A colorimetria de imagem digital vem ganhando espaços em diversas áreas da ciência e na química analítica, como: o estudo da adulteração de leite bovino combinado a técnicas espectroanalítica (SANTOS, 2013); a aplicação com técnicas quimiométrias para detecção de adulteração em mel (FRANÇA, 2020); a aplicação à análise multivariada para classificação e determinação de parâmetros de qualidade em plumas de algodão (GONÇALVES, 2015) e; para determinar a concentração de substâncias (PORTO et al., 2019). Assim, o desenvolvimento de novas tecnologias de tomada de fotografia e a crescente aplicação da imagem digitais a química analítica, alavancará cada vez mais a o uso de aparelhos portáteis na tomada das imagens, principalmente a utilização de smartphone (SASAKI et al., 2016).

3.3 Espectrofotometria UV-Vis

A espectrofotometria, como uma técnica, é utilizada para medir o quanto uma substância química absorve a luz, por meio da intensidade de um feixe de luz que passa através da solução da amostra. O princípio básico consiste na absorção ou na transmissão de ondas em determinados comprimentos do espectro eletromagnético. Logo, este princípio é utilizado para determinar a concentração de determinada substância química conhecida no meio reacional, com ampla aplicação nas áreas de biologia, físico-química, indústria e em diversos laboratórios, incluindo de análises clínicas (MUSTRA, 2009).

A espectrofotometria tem como fundamento a lei de Lambert-Beer, que é a base matemática para medidas de absorção de radiação por amostras em qualquer estado físico da matéria, nas regiões ultravioleta, visível e infravermelho do espectro eletromagnético. Para medidas de absorção de radiação em determinado comprimento de onda, tem-se: $A = \log(I^0 / I) = \epsilon bc$, onde A é a absorvância, I^0 é a intensidade da radiação monocromática que incide na amostra e I é a intensidade da radiação que emerge da amostra. A absortividade molar (ϵ) é uma grandeza característica da espécie absorvente, cuja magnitude depende do comprimento de onda da radiação incidente (ROCHA; TEIXEIRA, 2004).

Esta técnica utiliza os conhecimentos sobre as propriedades das soluções em absorver radiação e a partir destas informações a reação é quantificada. De forma simplificada, a quantidade de luz absorvida será diretamente proporcional à concentração da substância em solução, levando em consideração o estudo da absorção, pois o mesmo conceito poderá ser aplicado quando o foco for a transmissão de ondas. Um estudo prévio para saber exatamente a cor absorvida, permite a correta metodologia do trabalho. Assim, quanto mais concentrada for a solução, maior será a absorção de luz. Por outro lado, a cor da solução é determinada pela cor da luz transmitida (GONÇALVES, 2015).

3.4 Quimiometria

Quimiometria é uma disciplina que emprega fundamentos matemáticos e estatísticos aliados a recursos de informática para planejar experimentos visando otimização e também avaliação de dados de origem química, com o objetivo de obter a máxima quantidade de informações (FERRERA; 2015; pág. 17).

Aplicada a diversas áreas da química, a quimiometria possui ferramentas para uma compreensão significativa dos dados e podem ser utilizadas de acordo com o interesse de estudo, seja para a análise quantitativa ou qualitativa (GONÇALVES, 2015). As ferramentas ganham cada vez mais destaque no contexto da química analítica, tais como: 1) Planejamento de experimentos; 2) Análise multivariada; 3) Calibração multivariada (FERREIRA, 2015, p. 17).

3.4.1 Planejamento de experimentos

O planejamento fatorial é uma estratégia analítica que vem ganhando espaço em todas as ciências e sua principal aplicação reside na triagem das variáveis mais relevantes de um determinado sistema analítico. Para executar os experimentos, com as variáveis mais significativas, o planejamento fornece um refinamento e um melhor conhecimento do sistema em estudo (VICENTINE, 2011). Logo, esta técnica não necessita de um programa estatístico, rigoroso, para avaliar os dados obtidos no desenvolvimento experimental (FERREIRA, 2015).

3.4.1.1 Planejamento fatorial de dois níveis

A quantidade de experimentos influencia em uma análise, tanto pelo excesso ou pela falta, saber realizar este processo de triagem influenciará no resultado final da análise e todo este processo envolve o reconhecimento das variáveis mais importantes (VICENTINE, 2011). Em um experimento fatorial completo de 2 níveis, cada fator experimental tem apenas dois níveis, sendo determinado pela expressão $n=2^k$, onde n é o número de experimentos e K o número de fatores (FERREIRA, 2015). Os ensaios experimentais incluem todas as combinações destes níveis de fator. “Assim, a atividade mais importante não

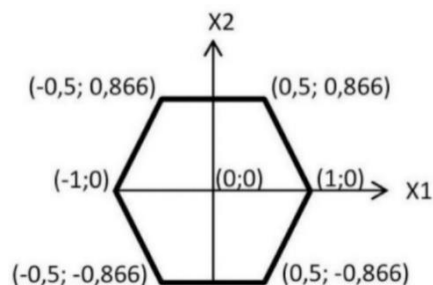
está na análise de dados, e sim no planejamento dos experimentos em que estes dados devem ser obtidos” (VICENTINE, 2011).

3.4.1.2 Planejamento Doehlert

Desenvolvido por David Doehlert, em 1970, o planejamento que levou o seu nome, “descreve uma distribuição uniforme dos pontos sobre um espaço experimental esférico com número menor de experimentos em relação aos planejamentos de superfície de resposta, Ferreira (2015, p. 17)”.

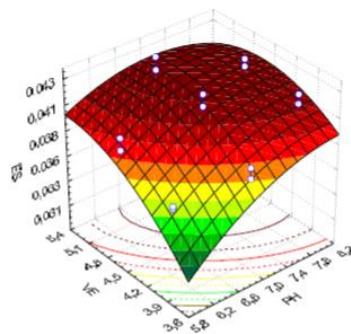
O Planejamento Doehlert permite o estudo de muitos níveis e a sua diferença é a quantidade de variáveis, que pode ser alterada, dando opções para o analista utilizar, de forma livre, os fatores que possuem grande ou pequeno número de nível (BEZERRA, 2003). Este planejamento pode ser aplicado matriz que consiste em duas variáveis, como mostra a Figura 8, gerando uma superfície de resposta, mostrada na Figura 9.

Figura 8: Valores codificados para planejamento Doehlert com ponto central em triplicata.



Fonte: RUSCHEL et al, 2016

Figura 9: superfície de resposta para dois níveis.



Fonte: BEZERRA et al, 2003

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Instrumentação

Amostras de polpa e casca de goiaba rosa foram liofilizadas empregando um liofilizador modelo k202 da Liobras (São Carlos, SP, Brasil). Para a preparação dos extratos, foi usada uma mesa agitadora modelo Q225M da Quimis (Diadema, SP, Brasil). Um evaporador rotativo modelo 550 da Fisatom (São Paulo, SP, Brasil) foi utilizado para concentrar os extratos.

Balança analítica da Shimadzu (Kyoto, Japão), modelo AUX220, foi usada para pesar as amostras e reagentes. Sistema de purificação de água modelo Master P&D da Gehaka (São Paulo, SP, Brasil) foi empregado para obter água ultrapura com resistividade de 18,2 MΩ cm.

Um espectrofotômetro de absorção molecular UV/Vis modelo SP-22 da Biospectro (Curitiba, PR, Brasil) foi empregado para realizar a determinação espectrofotométrica convencional dos compostos fenólicos totais.

4.2 Reagentes, soluções e amostra

Todos os reagentes usados nesse estudo foram de grau analítico: ácido clorídrico 37% (m/m) da Synth (São Paulo, SP, Brasil), metanol e carbonato de sódio anidro da Êxodo Científica (São Paulo, SP, Brasil), ácido fosfórico, ácido fosfomolibídico e tungstato de sódio dihidratado da Merck (Darmstadt, Alemanha). Ácido gálico usado como padrão analítico foi obtido da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EUA). Durante os experimentos, água ultrapura foi usada para o preparo de todas as soluções.

Solução padrão estoque de ácido gálico 1000 µg mL foi preparado pela dissolução de uma massa de 10,0 mg do sólido em água ultrapura em um balão volumétrico de 10 mL. Para a curva de calibração, soluções padrão de trabalho foram diariamente preparadas a partir da apropriada diluição da solução estoque para a faixa de concentração de ácido gálico de 1,0 a 10,0 µg mL.

Para o preparo do reagente de Folin-Denis, 5,0 g de tungstato de sódio dihidrato, 1,0 g de ácido fosfomolibídico e 2,5 mL de ácido fosfórico foram solubilizados em 38 mL de água ultrapura. Em seguida, essa mistura foi mantida sob refluxo por 2 h. Após resfriamento a temperatura ambiente, a mistura foi

diluída com água ultrapura para o volume final de 50 ml (**Erro! Indicador não definido.**SANTOS et al., 2017).

Nesse trabalho, em um primeiro momento, as amostras de goiaba rosa e manga analisadas foram adquiridas em mercados da Cidade de Salvador no Estado da Bahia, Brasil, em novembro de 2019, de acordo com dois estágios de maturação dos frutos, verde e maduro. Para o pré-tratamento, as amostras foram primeiramente lavadas com água corrente, depois lavadas com água ultrapura, e secas a temperatura ambiente. Em seguida, a casca e a polpa dos frutos foram separadas, fracionadas manualmente usando uma faca de aço inox, depois armazenadas em sacos de polietileno e identificadas. Posteriormente, as amostras foram congeladas em um freezer, depois liofilizadas por 48 h, processadas em um liquidificador doméstico e peneiradas a 100 mesh. O material obtido foi armazenado em potes de polietileno selado e mantidos em dessecador, para posterior análise. Para o segundo momento, em maio de 2021, por questão da pandemia de covid-19 (que ocasionou o fechamento do laboratório por mais de um ano), foram estudadas também as frutas: morango; abacaxi e maçã. Estas últimas foram analisadas sem levar em consideração os aspectos verde e maduro.

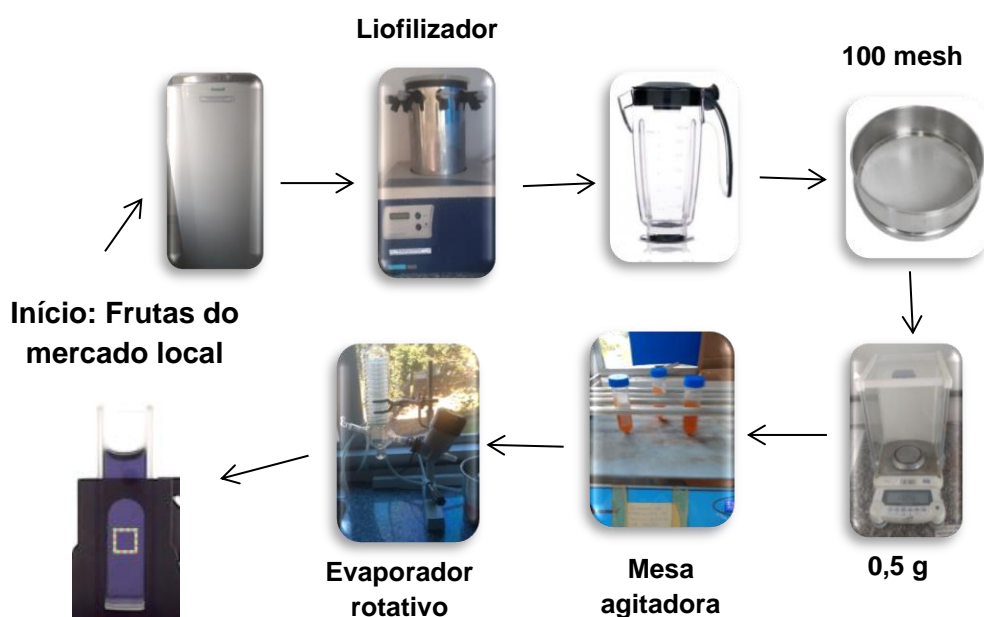
4.3 Procedimento para extração de compostos fenólicos totais

Para a extração de compostos fenólicos, o seguinte procedimento foi adotado: uma massa de 0,5 g da amostra liofilizada e peneirada foi diretamente pesada em um tubo de centrífuga de 50 mL e 30 mL de metanol acidificado com 50 µL de ácido clorídrico 37% (m/m) foram adicionados. Depois, a mistura foi agitada por 30 minutos a 300 rpm em uma mesa agitadora (An, Wang, Lan, Hashi, & Chen, 2013; dos Santos et al., 2017; Sauthier et al., 2019). Em seguida, a suspensão resultante foi filtrada e o extrato obtido foi transferido para um balão de fundo redondo, sendo depois concentrado em um evaporador rotativo a 60 °C. O material residual foi solubilizado com 1,5 mL de metanol.

4.4 Procedimento para determinação do teor de fenólicos totais

Para a determinação do teor de fenólicos totais, alíquotas de 25 μL dos extratos metanólicos concentrados obtidos para cada fruta, foram transferidos separadamente para tubos de centrífuga de 15 mL. Para cada tubo, foram adicionados 200 μL do reagente de Folin-Denis e 4,175 mL de água ultrapura, e a mistura homogeneizada manualmente. Após um tempo de reação de 5 min, foram adicionados 600 μL de solução de carbonato de sódio 7,5% (m/v) e a mistura foi novamente homogeneizada manualmente. Após um tempo de reação de 2 h, quando a solução adquiriu uma coloração azul (de Magalhães et al., 2020; de Magalhães & dos Santos, 2020), medidas de imagem digital das soluções cromogênicas foram realizadas empregando o método colorimétrico proposto. Além disso, medidas de absorvância das soluções também foram realizadas por espectrofotometria de absorção molecular em 760 nm, para propósitos de validação. Para ambos os casos, ácido gálico foi usado para o preparo dos padrões analíticos empregados para a construção das curvas de calibração e o teor de fenólicos totais foi determinado como equivalente de ácido gálico por 100 g de amostra seca (AG 100 g^{-1} seca). Todos os procedimentos foram realizados em triplicata. Na Figura 10, é mostrado um diagrama esquemático da metodologia proposta nesse trabalho para a determinação do teor de fenólicos totais em frutas empregando colorimetria de imagem digital e reagente de Folin-Denis.

Figura 10: Resumo do processo experimental.



4.5 Sistema fotográfico usado para captura das imagens digitais

Para a aquisição das imagens digitais, um sistema fotográfico feito em laboratório foi construído usando uma caixa de madeira com dimensões de 21 x 25 x 30 cm, revestida interna e externamente com paredes brancas, para evitar a reflexão da luz. A caixa foi totalmente vedada para evitar interferências da luz do ambiente externo e um diodo de emissão de luz (LED) branca foi fixado na sua parte superior, para iluminar o compartimento interno quando fechada. Além disso, uma câmera microscópica HD para Android (China) foi instalada em seu interior para captura das imagens digitais, e um suporte para cubeta foi fixado na base, para realizar o processo fotográfico das soluções cromogênicas. Um controle de luz foi usado para promover condições de iluminação reprodutíveis, Figura 11.

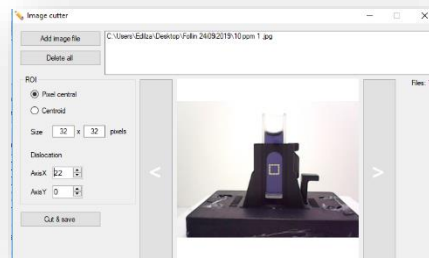
Figura 11: Equipamento para a aquisição de imagem.



4.6 Avaliação e processamento das imagens digitais

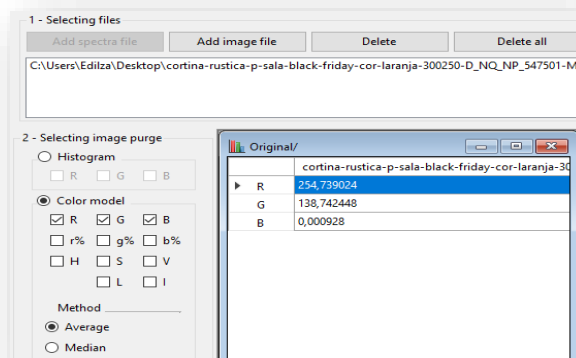
As imagens digitais obtidas, tanto para as soluções padrão quanto para as amostras, foram armazenadas no formato JPEG e avaliadas de acordo com o padrão de cores primárias formadas pelo histograma vermelho (R), verde (G) e azul (B). A região desejada da fotografia (ROI) foi selecionada, Figura 12, e processada, Figura 13, usando o software Chemostat (**Erro! Indicador não definido.** et al., 2015). O valor padrão adotado para a área da região da imagem tratada foi de 32 x 32 pixels.

Figura 12: Seleção da região de interesse (ROI)



Fonte: **Erro! Indicador não definido.** et al., 2015

Figura 13: valores de R, G e B.



Fonte: **Erro! Indicador não definido.** et al., 2015

Para estabelecer o sinal analítico (S), os valores de cor extraídos RGB foram avaliados empregando três diferentes formas de processamento. Tomando como base a espectrometria de absorção molecular para avaliar os dados, dois processamentos foram definidos como $S = -\log(P/P_0)$ de acordo com Lei de Lambert-Beer, em que P é o valor médio de R, G e B obtido para uma amostra ou padrão. Para o primeiro processamento, o valor assumido para P_0 foi o valor do branco analítico, que é igual a 237,25, enquanto que, para o segundo processamento, P_0 assumiu o valor máximo de pixel, em um canal de cor, que é igual a 255. Além das formas de tratamentos anteriores, um terceiro tratamento que foi descrito por Porto (2019) também foi utilizado, em que o sinal

analítico foi definido como $S = 255 - x$, em que “x” pode assumir valores de R, G e B.

4.7 Otimização multivariada da medida colorimétrica

Metodologia multivariada foi empregada para otimização das condições experimentais usadas para realizar a medida colorimétrica por imagem digital. Desse modo, um planejamento fatorial de dois níveis foi aplicado para avaliar a significância estatística dos fatores “distância entre a câmera e a cubeta” (D), “volume interno da caixa fotográfica” (V) e presença de uma lâmpada LED azul (LED). Um planejamento Doehlert foi então aplicado para determinar as condições críticas para o processo de captura da imagem. Para todos os experimentos, a solução cromogênica utilizada para as medidas colorimétricas foi obtida empregando uma solução padrão de ácido gálico $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ e reagente de Folin-Denis, de acordo com o procedimento previamente descrito. A resposta quimiométrica usada para avaliar os experimentos foram os dados obtidos no canal vermelho com base no modelo de cores RGB extraídos das imagens digitais. Além disso, experimentos no ponto central foram realizados em triplicata para avaliar o erro experimental e a curvatura. Software Statistica 7.0 da StatSoft Inc (Tulsa, OK, EUA) foi empregado para processar todos os dados gerados a partir dos planejamentos experimentais aplicados neste trabalho.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação preliminar das cores primárias

Estudos preliminares demonstraram que os dados obtidos para os canais vermelho e verde apresentaram maior sensibilidade para a determinação do teor de fenólicos totais usando o reagente de Folin-Denis. Esse resultado já era esperado, pois o cromóforo formado a partir da reação colorimétrica tem coloração azulada. Logo, o canal B fornece os dados obtidos para a cor que é emitida (azul), enquanto que os canais R e G fornecem dados sobre o processo de absorção da radiação, os quais são de interesse para esse trabalho. Assim, os dados obtidos para o canal B não foram considerados para a análise. Além disso, de acordo com os resultados do estudo preliminar, os valores obtidos para o canal R apresentaram desvio padrão mais baixo do que aqueles obtidos para o canal G. Portanto, os dados do canal R foram selecionados para o desenvolvimento e aplicação do método proposto.

5.2 Etapa de otimização da medida colorimétrica

Uma vez que as condições experimentais usadas para a reação colorimétrica neste trabalho foram estabelecidas com base na literatura (de MAGALHÃES, 2020), as condições envolvidas no processo de captura das imagens foram então otimizadas e metodologia multivariada foi empregada para esse propósito. De acordo com o estudo realizado por Porto (2019), as dimensões da imagem (ROI) não influenciam significativamente os resultados da análise. Portanto, a área da região da imagem tratada não foi investigada neste trabalho. Dessa forma, a significância estatística dos fatores “distância entre a câmera e a cubeta” (D), “volume interno da caixa fotográfica” (V) e presença de uma lâmpada LED azul foi investigada aplicando um planejamento fatorial completo 2^3 . Os resultados desse planejamento são mostrados na Tabela 1, em que os domínios experimentais estabelecidos para cada fator também são exibidos como valores reais e codificados. As respostas usadas foram os dados obtidos para o canal R de acordo com a análise das imagens digitais.

Tabela 1

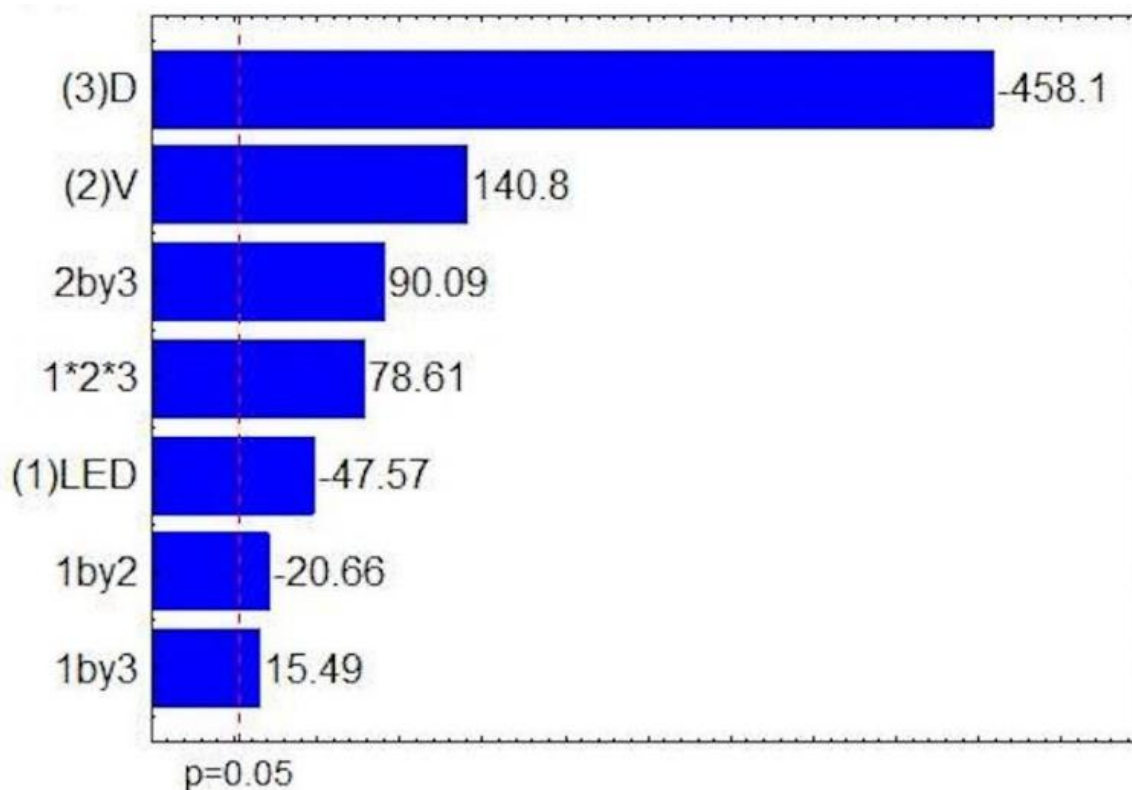
Matriz do planejamento fatorial completo de dois níveis aplicada para avaliar as condições experimentais utilizadas para aquisição das imagens digitais.

Exp.	Distância (cm)	Volume (cm ³)	LED	Abs
1	-1 (5.0)	-1 (9200)	-1 (Off)	0.1953
2	-1 (5.0)	-1 (9200)	1 (On)	0.1980
3	-1 (5.0)	1 (15180)	-1 (Off)	0.2345
4	-1 (5.0)	1 (15180)	1 (On)	0.1853
5	1 (15.0)	-1 (9200)	-1 (Off)	0.0685
6	1 (15.0)	-1 (9200)	1 (On)	0.0382
7	1 (15.0)	1 (15180)	-1 (Off)	0.1137
8	1 (15.0)	1 (15180)	1 (On)	0.1137
CP	0 (10.0)	0 (12190)	-1 (Off)	0.2065
CP	0 (10.0)	0 (12190)	1 (On)	0.2106
CP	0 (10.0)	0 (12190)	-1 (Off)	0.2063
CP	0 (10.0)	0 (12190)	1 (On)	0.2103
CP	0 (10.0)	0 (12190)	-1 (Off)	0.2068
CP	0 (10.0)	0 (12190)	1 (On)	0.2097

O gráfico de Pareto mostrado na Figura 14 foi gerado a partir dos resultados desse planejamento e demonstra que todos os fatores e suas interações foram estatisticamente significativos para o processo de captura das imagens digitais, de acordo com o domínio experimental estabelecido para cada fator. O fator D apresentou o efeito principal mais significativo com sinal negativo, indicando que maiores repostas são obtidas com menores distâncias entre a câmera e a cubeta. Por outro lado, o fator V apresentou efeito significativo positivo, indicando que volumes maiores do compartimento interno da caixa promove um aumento na resposta. A presença de uma lâmpada LED azul no interior da caixa foi investigada no sentido de verificar se com a sua presença a resposta da medida colorimétrica poderia aumentar. No entanto, este fator apresentou um efeito significativo negativo para o processo fotográfico das

soluções cromogênicas, indicando que a sua presença diminui o sinal analítico do método. Desse modo, estudos posteriores foram realizados na ausência da lâmpada LED azul.

Figura 14: Gráfico de Pareto gerado a partir dos dados do planejamento fatorial 2³.



O teste de curvatura demonstrou que há uma condição de máximo dentro do domínio experimental, próximo ao ponto central. Diante de todos esses resultados, um planejamento Doehlert foi aplicado para obter as condições ótimas para os fatores D e V, usando o mesmo domínio experimental. Além disso, o número de níveis para cada fator foi estabelecido de acordo com a significância de seus efeitos sobre o processo. A matriz do planejamento Doehlert com as respostas é mostrada na Tabela 2.

Tabela 2

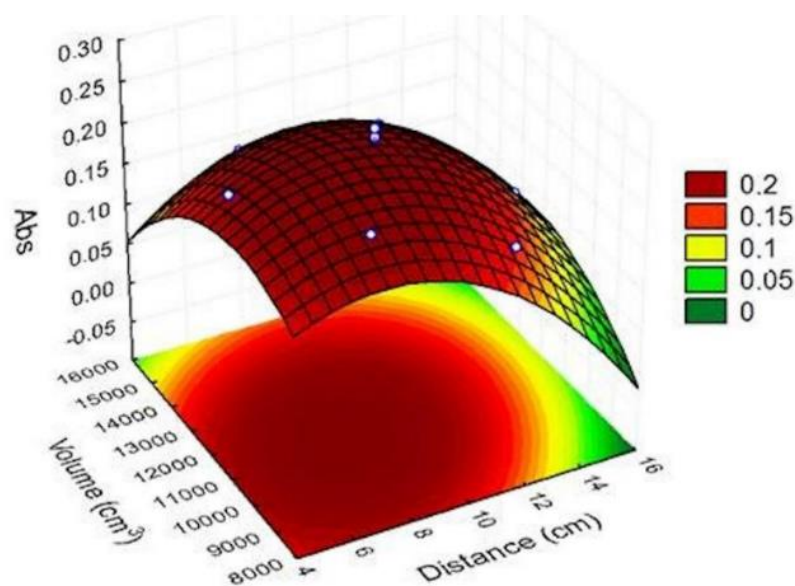
Matriz do projeto Doehlert empregada para obter as condições ótimas para o processo de captura das imagens digitais.

Exp.	Distância (cm)	Volume (cm ³)	Abs
------	----------------	---------------------------	-----

1	-1 (5.0)	0 (12190)	0.2065
2	-0.5 (7.5)	-0.866 (9200)	0.2185
3	0.5 (12.5)	-0.866 (9200)	0.1547
4	1 (15.0)	0 (12190)	0.1126
5	0.5 (12.5)	0.866 (15180)	0.1422
6	-0.5 (7.5)	0.866 (15180)	0.1554
CP	0 (10.0)	0 (12190)	0.2278
CP	0 (10.0)	0 (12190)	0.2138
CP	0 (10.0)	0 (12190)	0.2383

Uma superfície de resposta com ponto de máximo (Figura 15) foi gerada a partir dos resultados obtidos para o planejamento Doehlert. Essa superfície é descrita adequadamente por um modelo quadrático que relaciona a resposta e os fatores D e V, com um coeficiente de regressão de 0,9781. Esse resultado indica que o modelo gerado é capaz de explicar 97,81% dos dados experimentais obtidos. Além disso, uma análise de variância (ANOVA) aplicada aos dados experimentais revelou que o modelo não possui falta de ajuste. O valor de F calculado foi de 0,32, enquanto que o valor de F crítico tabelado foi de 18,51. Sendo assim, os valores ótimos foram calculados utilizando o modelo quadrático e, expressados como valores reais, eles foram de 8,03 cm para o fator D e de 11165,42 cm³ para o fator V. Portanto, os valores ótimos estabelecidos para o processo fotográfico foram 8,0 cm para a distância entre a câmera e a cubeta e 11165 cm³ para o volume interno da caixa fotográfica.

Figura 15: Superfície de resposta com um máximo de absóvância entre o volume e a distância.



5.3 Parâmetros analíticos do método colorimétrico proposto

Neste trabalho, alguns parâmetros analíticos foram determinados no sentido de validar o método colorimétrico proposto, tais como curva de calibração, limites de detecção e de quantificação, precisão e exatidão. Para avaliar a calibração do método, uma curva analítica foi estabelecida empregando dez soluções padrão que continham concentrações de ácido gálico na faixa de 1,0 a 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As soluções cromogênicas foram obtidas usando o reagente de Folin-Denis e depois foram fotografadas para aquisição das imagens digitais empregando as condições experimentais otimizadas.

Os valores obtidos para os três canais RGB após o processamento das imagens são mostrados na Tabela 3. Os dados obtidos para o canal R foram selecionados para obtenção dos parâmetros analíticos do método proposto, empregando as três formas de processamento do sinal avaliadas neste trabalho (Tabela 3). Sob essas condições, uma relação linear foi obtida entre o sinal analítico e a concentração de ácido gálico, para ambos os processamentos. As

inclinações das curvas de calibração e seus respectivos coeficientes de determinação (r^2) são exibidos na Tabela 4.

Tabela 3

Curvas de calibração obtidas para a determinação de compostos fenólicos totais em frutas utilizando o reagente de Folin-Dennis e detecção por colorimetria de imagem digital.

Teor de ácido gálico (mg mL ⁻¹)	Canal R	Canal G	Canal B	Log(255/R)	Log(237.25/R)	255 - R
0	237.252	236.944	235.668	0.031	0.000	17.748
1.0	222.136	224.647	226.994	0.060	0.029	32.864
2.0	205.933	210.390	220.637	0.093	0.061	49.067
3.0	188.454	194.199	210.120	0.131	0.100	66.546
4.0	166.783	170.452	197.573	0.184	0.153	88.217
5.0	149.461	149.506	183.865	0.232	0.201	105.539
6.0	127.691	126.466	168.123	0.300	0.269	127.309
7.0	110.226	108.218	152.153	0.364	0.333	144.774
8.0	100.622	93.809	142.586	0.404	0.373	154.378
9.0	85.574	79.849	130.122	0.474	0.443	169.425
10.0	75.672	69.604	118.165	0.528	0.496	179.328

Tabela 4

Parâmetros analíticos obtidos pelo método proposto por colorimetria de imagens digitais, bem como pelo método espectrofotométrico convencional.

Parâmetro	Log(255/R)	Log(237,25/R)	255-R	Espectrofotometria
Inclinação da curva de calibração (mL µg ⁻¹)	0,0514	0,0514	16,96	0,1189
Coeficiente da curva de determinação (r^2)	0,9892	0,9893	0,993	0,9982
limite de detecção (mg/100g)	122	122	39	21
Limite de quantificação (mg/100g)	183,0	180,0	57,0	31,0
Desvio padrão relativo (RSD%)	2,3	2,5	1,4	4,0

Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados usando os parâmetros das curvas de calibração, ao nível de confiança de 95%, seguindo as recomendações da IUPAC (IUPAC, 2002; Olivieri, 2014; Ribeiro, Ferreira, Morano, da Silva, & Schneider, 2008). A precisão do método foi avaliada como desvio padrão relativo (RSD%) a partir de dez medidas independentes realizadas para uma amostra de polpa de goiaba rosa que continha 495 ± 12 mg/100g, empregando a metodologia proposta.

Todos os parâmetros avaliados também foram determinados para o método espectrofotométrico convencional e mostrados na Tabela 4. Pode ser observado que a forma de processamento $S = (255 - R)$ apresentou maior sensibilidade (inclinação da curva) e os menores valores de LD e LQ para a determinação de fenólicos totais do que as outras formas de processamento do sinal das imagens digitais. Um valor de coeficiente de determinação (r^2) melhor também foi obtido quando essa forma de processamento foi empregada. Em geral, ambas as formas de processamento forneceram valores de RSD% mais baixos do que o método espectrofotométrico convencional usando o reagente de Folin-Denis, demonstrando que o método colorimétrico digital apresentou maior precisão para esta análise. O valor de RSD% mais baixo foi obtido para a forma de processamento $S = (255 - R)$.

Na Tabela 5, são apresentados também os parâmetros analíticos de outros métodos reportados na literatura que foram estabelecidos para a determinação do teor de fenólicos totais, empregando diferentes técnicas de detecção. De acordo com essa tabela, os parâmetros analíticos obtidos nesse trabalho são similares ou melhores do que aqueles reportados na literatura, principalmente para a forma de processamento $S = (255 - R)$, exceto pelo método de quimiluminescência em papel, que apresenta maior sensibilidade e menores valores de LD e LQ.

Tabela 5

Parâmetros analíticos obtidos para o método proposto por colorimetria de imagem digital, bem como para o método espectrofotométrico convencional utilizado neste trabalho e outros métodos relatados na literatura empregados para a determinação do conteúdo fenólico total.

Método	Inclinação da curva (L mg ⁻¹)	Linear range (mg/L ⁻¹)	Coefficiente de determinação (r ²)	LOD (mg GAE L ⁻¹)	LOQ (mg GAE L ⁻¹)	(RSD%)	Referência
Quimioluminescência à base de papel	-	0.002-0.3	-	0.00098	-	3.74-3.99	Hassanzadeh et al., 2019
Papel colorimétrico	-	11.9-120.8	0.9991	0.34	-	-	Hidayat et al., 2017
imagem difigal (255-I)*	15.929	0-31.8	0.9969	0.03	0.11	-	Bazani et al., 2020
imagem difigal (Log(255/B))	0.0514	0-10.0	0.9892	2.0 (122)	3.0 (183)	2.3	This work
imagem difigal (Log(237.255/B))	0.0514	0-10.0	0.9893	2.0 (122)	3.0 (180)	2.5	This work
imagem difigal (255-B)	16.96	0-10.0	0.9930	0.66 (39)	0.95 (57)	1.4	This work
Espectrofotometria UV-Vis	0.1189	0-10.0	0.9982	0.35 (21)	0.51 (31)	4.0	This work
Espectrofotometria UV-Vis	0.00545-0.00594	40-200	0.996-1.000	-	40	1.96-7.47	Kupina et al., 2019
Espectrofotometria UV-Vis	-	0-100	0.9988	-	-	>3.50	Wabaidur et al., 2020
Espectrofotometria UV-Vis	-	4.08-12.24	0.9943	1.13	3.75	0.73	Wulandari et al., 2020

5.4 Aplicação do método colorimétrico proposto

Empregando o sistema digital desenvolvido, foi possível determinar o teor de fenólicos totais em amostras de frutas. A partir dos resultados exibidos na Tabela 6 (expressados como intervalo de confiança ao nível de 95%, para $n = 3$), é possível observar que os valores obtidos para o teor de fenólicos totais empregando a metodologia proposta variaram de 157 a 832 mg/100. Estes valores foram próximos com aqueles reportados por **Erro! Indicador não definido**. Santos et al. (2017), que encontram valores na faixa de 186.89 a 516.50 mg/100 para amostras de frutas.

Para avaliar a exatidão do método colorimétrico proposto, as amostras também foram analisadas por espectrofotometria de absorção molecular usando o reagente de Folin-Denis. De acordo com os resultados de uma análise estatística realizada mediante aplicação de teste t -pareado, não houve diferenças significativas entre os teores de fenólicos totais obtidos por ambas as metodologias, ao nível de confiança de 95%, usando as três diferentes formas de processamento do sinal para o método colorimétrico digital. Isso porque os valores de t -calculado foram de 1,87, 1,61 e 0,61 para as formas de processamento $S = \text{Log}(255/R)$, $S = \text{Log}(237,252/R)$ e $S = (255 - R)$, respectivamente, os quais foram mais baixos do que o valor de t -crítico de 2,18.

Tabela 6

Resultados obtidos para a determinação dos compostos fenólicos totais em goiaba rosa empregando o método colorimétrico proposto e espectrofotometria de absorção molecular, para $n = 3$ com nível de confiança de 95%.

Amostra	Conteúdo de fenólico total (mg/100)			
	Método colorimétrico proposto			Espectrofotometria
	S = Log(255/R)	S = Log(237.252/R)	S = (255 - R)	
Polpa de goiaba verde	504 ± 18	506 ± 14	555 ± 8	504 ± 72
Casca de goiaba verde	811 ± 25	832 ± 24	703 ± 8	809 ± 34
Polpa de goiaba madura	495 ± 12	501 ± 9	552 ± 6	487 ± 61
Casca de goiaba madura	703 ± 29	716 ± 53	662 ± 16	663 ± 28
Manga tomy casca verde	647 ± 38	657 ± 40	637 ± 18	634 ± 6
Manga tomy casca madura	600 ± 44	609 ± 47	614 ± 24	610 ± 28
Manga tommy poupa verde	415 ± 19	412 ± 20	492 ± 15	624 ± 6
Manga tommy poupa madura	399 ± 14	396 ± 15	479 ± 11	563 ± 38
Poupa da maça	172 ± 58	157 ± 62	245 ± 74	227 ± 56
Casca da maça	472 ± 5	473 ± 5	535 ± 3	535 ± 19
Abacaxi	173 ± 65	157 ± 68	246 ± 84	235 ± 53
Casca do abacaxi	335 ± 7	328 ± 8	424 ± 7	388 ± 19
Morango	702 ± 53	716 ± 56	662 ± 21	658 ± 33

6. CONCLUSÕES

O método colorimétrico desenvolvido neste trabalho empregando sistema digital é simples, rápido e pode ser aplicado com baixo custo econômico para a determinação do teor de fenólicos totais em goiaba rosa. Além disso, o método apresenta parâmetros analíticos adequados para este propósito, tais como faixa dinâmica de trabalho, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão. A forma de processamento $S = (255 - R)$ proporcionou ao método colorimétrico digital desenvolvido maior sensibilidade e precisão para a análise.

Além das vantagens econômicas, o método proposto também pode oferecer vantagens ambientais, pois as imagens obtidas no processo podem ser armazenadas e tratadas a qualquer momento e em qualquer local, minimizando a necessidade de construir curvas de calibração para cada análise, reduzindo assim, o consumo de reagentes e a geração de resíduos. Além do mais, o método permite também o compartilhamento das imagens de amostras e padrões com outros grupos de pesquisas, possibilitando a comparação dos dados obtidos em diferentes locais. Assim, pode-se inferir que estas vantagens estão alinhadas com as questões ambientais, pois os benefícios proporcionados se relacionam, diretamente, com a redução do uso de reagentes e que, por sua vez, está entrelaçada com questões emergentes para a redução da poluição de forma mais ampla.

Os teores de fenólicos totais obtidos em amostras de frutas comercializadas em Salvador, empregando o método colorimétrico por imagem digital, foram similares com aqueles determinados por espectrofotometria convencional e estão em concordância com os valores reportados na literatura.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Otimizar os processamentos de obtenção e tratamento de dados obtidos na colorimetria de imagem digital.
- Desenvolver parâmetros para avaliar os possíveis interferentes na matriz em estudo e possíveis correções nos processamentos desenvolvidos.
- Otimizar os equipamentos de obtenção de imagens digitais que corrigem a iluminação em qualquer ambiente.

8. REFERÊNCIA

Azevedo, R. S. A., Teixeira, B. S., Sauthier, M. C. S., Santana, M. V. A., dos Santos, W. N. L., & Santana, D. A. (2019). Multivariate analysis of the composition of bioactive in tea of the species *Camellia sinensis*. *Food Chemistry*, v. 273, p. 39–44, 2019.

Bezerra, Marcos A. Aplicação de matriz de Doehlert na otimização de um sistema de pré-concentração em linha para determinação de cobre usando Espectrometria de absorção atômica com chama. Tese (Mestre em Ciências – químicas) – Universidade Federal da Bahia. Bahia, p. 95. 2003.

Bagnato, V. S.; Pratavieira, S. Luz para o progresso do conhecimento e suporte da vida. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 8, 2015.

Bazani, E. J. O., Barreto, M. S., Demuner, A. J., Dos Santos, M. H., Cerceau, C. I., Blank, D. E., Firmino, M. J. M., Souza, G. S. F., Franco, M. O. K., Suarez, W. T., & Stringheta, P. C. Smartphone application for total phenols content and antioxidant determination in tomato, strawberry, and coffee employing digital imaging. *Food Analytical Methods*, v. 14(4), 631–640, 2021.

Capitan-Valley, L. F., López-Ruiz, N., Martín-Olmos, A., Erenas, M. M., & Palma, A. J. Recent development in computer vision-based analytical-chemistry: a tutorial review. *Analytica Chimica Acta*, v. 899, p. 23–56, 2015.

Díaz-de-Cerio, E., Gómez-Caravaca, A. M., Verardo, V., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. Determination of guava (*Psidium guajava* L.) leaf phenolic compounds using HPLC-DAD-QTOF-MS. *Journal of Functional Foods*, v. 22, p. 376-388, 2016.

Díaz-de-Cerio, E., Verardo, V., Gómez-Caravaca, A. M., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. Determination of polar compounds in guava leaves infusions and ultrasound aqueous extract by HPLC-ESI-MS. *Journal of Chemistry*, v. 2015, p. 1-9, 2015.

Danchana, K., Phansi, P., de Souza, C. T., Ferreira, S. L. C., & Cerdà, V. Spectrophotometric system based on a device created by 3D printing for the accommodation of a webcam chamber as a detection system. *Talanta*, v. 206, p. 120250, 2020.

Dantas H. V., M.F. Barbosa, A. Pereira, M.J.C. Pontes, P.N.T. Moreira, M.C.U. Araujo, An inexpensive NIR LED Webcam photometer for detection of adulterations in hydrated ethyl alcohol fuel, *Microchem. J.* v.135, p. 148–152, 2017

Ferreira, Sergio L. C. *Introdução às Técnicas de Planejamento de Experimentos*. Primeira Edição. Salvador-Ba: Vento Lesta, 2015.

França, V. F de. Aplicação de imagens digitais e técnicas quimiométricas para determinação de adulteração em mel. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Federal de Paraíba, Areia, p. 37, 2020.

González-Ceballos, L., Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Osés, S. M., Sancho, M. T., Ibeas, S., García, F. C., García, J. M., & Vallejos, S. A simple one-pot determination of both total phenolic content and antioxidant activity of honey by polymer chemosensors. *Food Chemistry*, v. 342, p. 128300, 2021.

Helfer, G. A., Bock, F., Marder, L., Furtado, J. C., da Costa, A. B., & Ferrão, M. F. Chemostat: exploratory multivariate data analysis software. *Química Nova*, v. 38, p. 575-579, 2015.

Gonçalves, Maria Ivanda Silva. *Aplicações de imagens digitais e análise multivariada para classificação e determinação de parâmetros de qualidade em plumas de algodão*. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, p. 110, 2015.

Giraud A., R. Calvini, G. Orlandi, A. Ulrici, F. Geobaldo, F. Savorani, Development of an automated method for the identification of defective hazelnuts based on RGB image analysis and colourgrams, *Food Control*, v. 94, p. 233–240, 2018.

Hassanzadeh, J., Al Lawati, H. A. J., & Al Lawati, I. Metal-organic framework loaded by rhodamine B as a novel chemiluminescence system for the paper-based analytical devices and its application for total phenolic content determination in food samples. *Analytical Chemistry*, v. 91(16), p. 10631–10639, 2019.

Hidayat, M. A., Puspitaningtyas, N., Gani, A. A., & Kuswandi, B. Rapid test for the determination of total phenolic content in brewed-filtered coffee using colorimetric paper. *Journal of Food Science and Technology*, v. 54(11), p. 3384–3390, 2017.

Kupina, S., Fields, C., Roman, M. C., & Brunelle, S. L. Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: Single-laboratory validation, first action 2017.13. *Journal of AOAC International*, v. 102(1), p. 320–321, 2019.

Liu, X., Yan, X., Bi, J., Liu, J., Zhou, M., Wu, X., & Chen, Q. Determination of phenolic compounds and antioxidant activities from peel, flesh, seed of guava (*Psidium guajava* L.). *Electrophoresis*, v. 39, p. 1654-1662, 2018.

Magalhães, B. E. A. de, Santana, D. A., Silva, I. M. J., Minho, L. A. C., Gomes, M. A., Almeida, J. R. G. S., & dos Santos, W. N. L. Determination of phenolic composition of oilseed whole flours by HPLCDAD with evaluation using chemometric analyses. *Microchemical Journal*, v. 155, p. 104683, 2020.

Magalhães, B. E. A. de., & dos Santos, W. N. L. Phenolic content and antioxidant capacity of infusions herbs: Optimization of phenolic extraction and HPLC-DAD method. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, v. 92(3), p. 1-17, 2020.

Magalhães, B. E. A. de, Santana, D. A., Silva, I. M. J., Minho, L. A. C., Gomes, M. A., Almeida, J. R. G. S., & dos Santos, W. N. L. Determination of phenolic composition of oilseed whole flours by HPLCDAD with evaluation using chemometric analyses. *Microchemical Journal*, v. 155, p. 104683, 2020.

Magalhães, B. E. A. de., & dos Santos, W. N. L. Phenolic content and antioxidant capacity of infusions herbs: Optimization of phenolic extraction and HPLC-DAD method. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, v. 92(3), p. 1-17, 2020.

MARTINS, R. A.; SILVA, C. C. As pesquisas de Newton sobre a Luz: Uma visão histórica. *Revista Brasileira em Ensino de Física*, v. 37, n. 4, 2015.

Mustra, Carla de Jesus G. de O. Aplicação da técnica de espectrofotometria de absorção atômica na análise de metais e metalóides. Dissertação (Mestrado em Medicina Legal e Ciências Forenses) - Universidade de Lisboa, Lisboa, p. 143, 2009.

Olivieri, A. C. Analytical figures of merit: From univariate to multiway calibration. *Chemical Review*, v. 114, p. 5358–5378, 2014.

Porto, I. S. A., Santos Neto, J. H., dos Santos, L. O., Gomes, A. A., & Ferreira, S. L. C. Determination of ascorbic acid in natural fruit juices using digital image colorimetry. *Microchemical Journal*, v. 149, p. 104031, 2019.

Podsedek, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*, v. 40, p. 1–11, 2007.

Queiroz, J. E. R.; Gomes, H. M. Introdução ao Processamento Digital de Imagens. *RITA*, São Paulo, v. 8, p. 3, 2001.

Ravazzi C.G., M.D.K. Franco, M.C.R. Vieira, W.T. Suarez, Smartphone application for captopril determination in dosage forms and synthetic urine employing digital imaging, *Talanta*, v. 189, p. 339–344, 2018.

Ribeiro, Ana R.; Luis Coelho, L.; Bertolami, O.; André, R. Luz: História, Natureza e Aplicações. *Gazeta de física*, São Paulo, v. 39, p. 6 – 13, 2016.

Ribeiro, Jair L. Prado. “sobre as cores” de Isaac Newton – uma tradução comentada. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, Brasília, v. 39, p. 18, 2017.

Ribeiro, F. A. L., Ferreira, M. M. C., Morano, S. C., da Silva, L. R., & Schneider, R. P. Validation spreadsheet: a new tool for estimating the analytical figures of merit for the validation of univariate methods. *Química Nova*, v. 31, p. 164-171, 2008.

Rocha, Fábio R. P.; Teixeira, Leonardo S2. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria uv-vis. São Paulo. Quim. Nova, v. 27, No. 5, p. 807-812, 2004.

Ruschel, Carla F. C.; Ferrão, Marco F.; dos Santos, Francisco P.; Samios, Dimitrios. Otimização do processo de transesterificação em duas etapas para produção de biodiesel através do planejamento experimental doehlert. Campinas - SP. Química Nova, v. 39, p. 267-272, 2016.

Santos Neto, J. H., Porto, I. S. A., Schneider, M. P., dos Santos, A. M. P., Gomes, A. A., & Ferreira, S. L. C. Speciation analysis based on digital image colorimetry: Iron (II/III) in white wine. Talanta, v. 194, p. 86–89, 2019.

Santos, P, M dos. Aplicação de imagens digitais para detecção e técnicas espectroanalíticas combinadas com quimiometria para detecção e quantificação de adulteração em leite bovino. Tese (doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, p. 79, 2013.

Sasaki M. K, M.A. Feres, E.A.G. Zagatto, Flow systems with MnO₂-coated open tubular reactors for spectrophotometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical products, Analy. v. 49, p. 627–638, 2016.

Silva, F. w. O. A evolução da teoria ondulatória da luz e os livros didáticos. Revista Brasileira de Ensino de Física, São Paulo. v. 29, n. 1, p. 11, 2007.

Scuri, A. E. Fundamentos da imagem digital. Tecgraf/PUC-Rio, Rio de Janeiro, v. Único, p. 67, 1999.

Schulz, M., Seraglio, S. K. T., Betta, F. D., Nehring, P., Valesse, A. C., Daguer, H., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. Determination of phenolic compounds in three edible ripening stages of yellow guava (*Psidium cattleianum* Sabine) after acidic hydrolysis by LC-MS/MS. Plant Foods for Human Nutrition, v. 75, p. 110-115, 2020.

Urapen, R., & Masawat, P. Novel method for the determination of tetracycline antibiotics in bovine milk based on digital-image-based colorimetry *International Dairy Journal*, v. 44, p. 1-5, 2015.

Vicentini, F. C.; Figueiredo-Filho, L. C. S.; Janegitz B. C.; Santiago A.; Figueiredo-Filho E. R.; Fatibello-Filho O. Planejamento fatorial e superfície de resposta: otimização de um método voltamétrico para a determinação de ag(i) empregando um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono. *Quim. Nova*, v. 34, No. 5, p. 825-830, 2011.

Wang, A. H.; Lan, Y., Hashi, Y., & Chen, S. Simultaneous qualitative and quantitative analysis of phenolic acids and flavonoids for the quality control of *Apocynum venetum* L. leaves by HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MS and HPLC-DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 85, p. 295–304, 2013.

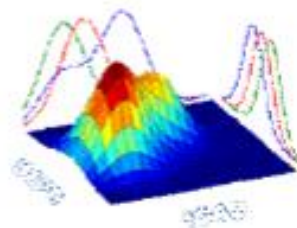
Wabaidur, S. M., Obbed, M. S., Alothman, Z. A., Alfaris, N. A., Badjah-Hadjahmed, A. Y., Siddiqui, M. R., Altamimi, J. Z., & Aldayel, T. S. (2020). Total phenolic acids and flavonoid contents determination in yemeni honey of various floral sources: Folin-ciocalteu and spectrophotometric approach. *Food Science and Technology*, v. 40(2), p. 647–652, 2020.

Wongthanyakram, J., Harfield, A., & Masawat, P. A smart device-based digital image colorimetry for immediate and simultaneous determination of curcumin in turmeric. *Computers and Electronics in Agriculture*, v.166, p. 104981, 2019.

Wongniramaikul, W., Limsakul, W., & Choodum, A. A biodegradable colorimetric film for rapid low-cost field determination of formaldehyde contamination by digital image colorimetry. *Food Chemistry*, v. 249, p. 154–161, 2018.

Wulandari, L., Dewi, M. K. C., Kristiningrum, N., & Siswanti, R. A. Y. N. (2020). Determination of total phenolic content and NIR-chemometrics classification model of queen and local varieties of soursop (*Annonamuricata* L.) leaf powder. *Indonesian Journal of Chemistry*, v. 20(3), p. 520–529, 2020.

9. APÊNDICE



Desenvolvimento de método colorimétrico por imagem digital para determinação de fenólicos totais em goiaba rosa (*Psidium guajava* L.).

Rafael C. Costa¹ (PG), Jéssica C. Leite¹ (IC), Geovani C. Brandão¹ (PQ), Walter N. L. dos Santos¹ (PQ)* wlopes@uneb.br

¹ Universidade do Estado da Bahia, Departamento de Ciências Exatas e da Terra, Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento em Química Analítica, 41150-000, Salvador, BA, Brasil.

Palavras Chave: Otimização multivariada, imagens digitais, fenólicos totais.

Introdução

O consumo de alimentos vegetais, como as frutas, promove diversos benefícios à saúde humana, em virtude da presença de substâncias bioativas, como por exemplo, os compostos fenólicos, os quais possuem ação antioxidante.¹ Recentemente, o uso de imagem digital tem proporcionado simplicidade, baixo custo e rapidez aos métodos analíticos convencionais.² Nesse contexto, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de um método colorimétrico por imagem digital para determinação de compostos fenólicos totais em goiaba rosa (*Psidium guajava* L.), usando o reagente de Folin-Denis. A otimização do sistema digital para aquisição de imagens foi realizada aplicando metodologia multivariada.

Resultados e Discussão

O sistema digital foi constituído por uma caixa de madeira, um porta-cubeta e uma câmera digital HD. As imagens digitais obtidas durante os experimentos foram armazenadas no formato JPEG e estudadas utilizando o modelo de cores RGB. Planejamento fatorial 2³ foi aplicado para avaliar os fatores envolvidos na aquisição das imagens: distância entre a câmera e a cubeta (5,0 a 15 cm), presença de lâmpada LED azul e o volume da caixa (9200 a 15180 cm³). Os dados obtidos no canal vermelho foram utilizados como resposta quimiométrica. A partir do gráfico de Pareto (Figura 1), foi observado que a presença da lâmpada LED azul apresentou um efeito significativo negativo. Dessa forma, um planejamento Doehlert foi aplicado para obter as condições ótimas: 8,0 cm de distância entre

a câmera e a cubeta e volume da caixa de 11165 cm³ (Figura 2).

Figura 1. Gráfico de Pareto.

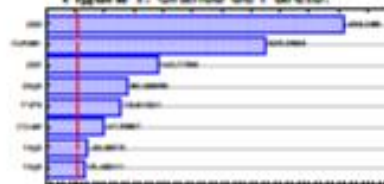
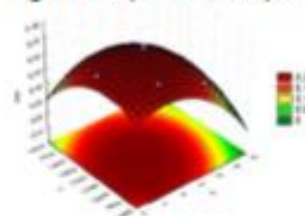


Figura 2. Superfície de resposta.



Conclusões

O uso de metodologia multivariada foi eficiente para estabelecer as condições ótimas do método colorimétrico por imagem digital para determinação de fenólicos totais em goiaba rosa, usando o reagente de Folin-Denis.

Agradecimentos

CAPES, Fapesb e CNPq.

* dos Santos, W. N. L.; Saubier, M. C. S.; dos Santos, A. M. P.; Santana, D. A.; Azevedo, R. S. A. e Caldas, J. C. *Microchem. J.* 2017, 133, 583.

² Porto, I. S. A.; Neto, J. H. S.; dos Santos, L. O.; Gomes, A. A. e Ferreira, S. L. C. *Microchem. J.* 2019, 149, 104031.



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho “Desenvolvimento de método colorimétrico por imagem digital para determinação de fenólicos totais em *gotaba rosa (Psidium guajava L.)*” dos autores Rafael C. Costa, Jéssica C. Leite, Geovani C. Bandão, Walter N. L. dos Santos, foi PREMIADO como um dos melhores trabalhos apresentados na área de Planejamento de Experimentos durante o XI Workshop de Quimiometria, realizado no período de 30 de novembro a 03 de dezembro de 2020.

Campina Grande, 04 de dezembro de 2020.

José Germano Vêras Neto
Prof. Dr. José Germano Vêras Neto
Coordenador do Evento



Universidade
Estadual da
Paraíba



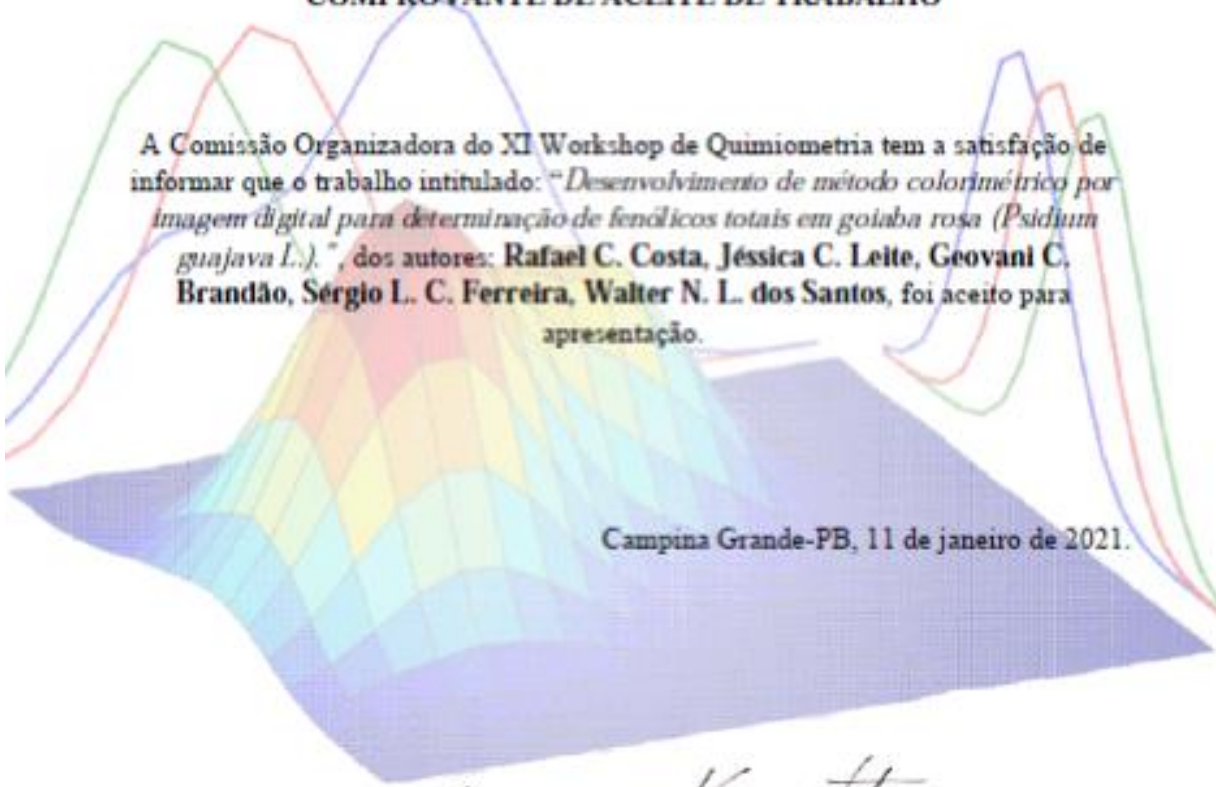
ASTRO 34

XI WORKSHOP DE QUIMIOMETRIA

CAMPINA GRANDE - PARAÍBA

2020

COMPROVANTE DE ACEITE DE TRABALHO



A Comissão Organizadora do XI Workshop de Quimiometria tem a satisfação de informar que o trabalho intitulado: "*Desenvolvimento de método colorimétrico por imagem digital para determinação de fenólicos totais em goiaba rosa (Psidium guajava L.)*", dos autores: **Rafael C. Costa, Jéssica C. Leite, Geovani C. Brandão, Sérgio L. C. Ferreira, Walter N. L. dos Santos**, foi aceito para apresentação.

Campina Grande-PB, 11 de janeiro de 2021.

José Germano Vêras Neto
Prof. Dr. José Germano Vêras Neto
Coordenador Geral do Evento



Universidade
Estadual da
Paraíba

