



Thaís Cristina Lima de Carvalho

**Determinação do teor de clorofilas e carotenoides em
azeites de oliva e abacate usando um smartphone**

LAVRAS-MG
2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

Thaís Cristina Lima de Carvalho

**Determinação do teor de clorofilas e carotenoides em azeites de
oliva e abacate usando um smartphone**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Cleiton Antônio Nunes
Orientador

LAVRAS-MG
2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Carvalho, Thaís Cristina Lima de.

Determinação do teor de clorofilas e carotenoides em azeites
de oliva e abacate usando um smartphone / Thaís Cristina Lima de
Carvalho. - 2021.

68 p. : il.

Orientador(a): Cleiton Antônio Nunes.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Pigmento natural. 2. Calibração multivariada. 3. Imagem
digital. I. Nunes, Cleiton Antônio. II. Título.

Thaís Cristina Lima de Carvalho

**Determinação do teor de clorofilas e carotenoides em azeites de
oliva e abacate usando um smartphone**

**Determination of chlorophylls and carotenoids content in olive
and avocado oils using a smartphone**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA EM: 15 de março de 2021.

Matheus Puggina de Freitas - UFLA

Wanessa Melchert Mattos - USP

Prof. Dr. Cleiton Antônio Nunes
Orientador

LAVRAS-MG
2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por ter me iluminado nessa caminhada, e à Nossa Senhora por ter me dado forças para chegar até o fim.

Aos meus pais Valmir e Patrícia pelo carinho, amor, apoio e incentivo em tudo em que me disponho a fazer na minha vida. A vocês dois agradeço por tudo que sou hoje. E à toda a minha família que sempre acreditou na minha capacidade.

Ao professor e orientador Cleiton pela oportunidade, ensinamento, valiosa orientação, paciência e amizade.

À minha amiga Raniele, pelos conselhos, ensinamentos compartilhados e ajuda em todos os momentos, mesmo que à distância, agradeço de coração.

Aos meus amigos Andressa, Maísa e Vitor por todos os momentos alegres e pela convivência.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradeço também ao CNPq, à FAPEMIG e ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, pela oportunidade de aperfeiçoamento acadêmico.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Química pela oportunidade e aos professores pelos conhecimentos transmitidos. Ao LAPEQCA pela infraestrutura na realização deste trabalho.

E aos colegas e amigos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse projeto.

RESUMO

Os azeites são conhecidos por seu alto valor nutricional. Seus pigmentos, as clorofilas e os carotenoides, apresentam propriedades que vão além de sua função na coloração, trazendo benefícios à saúde como compostos bioativos. A determinação desses pigmentos em azeites normalmente é realizada por meio de métodos espectrofotométricos, que utilizam equipamentos de custo relativamente elevado e que não permitem análise fora do laboratório. Por outro lado, câmeras de smartphones têm demonstrando grande potencial como instrumentos para análise química. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do uso de imagens digitais obtidas com smartphone para determinar o teor de clorofilas e carotenoides em azeites. Imagens de 46 amostras de azeite de oliva e abacate, colocadas dentro de uma cubeta de vidro, foram obtidas utilizando um smartphone. Os dados foram obtidos em triplicata, totalizando 138 observações. Um conjunto de teste, externo à calibração, foi constituído de 25% das observações. Componentes de cor nos sistemas RGB, Y, HSV, CMYK, Lab ou XYZ das imagens dos azeites foram calibrados usando Regressão Linear Múltipla (MLR) e Máquinas de Vetor Suporte por Mínimos Quadrados (LS-SVM) contra os respectivos teores de clorofilas e carotenoides obtidos pelo método espectrofotométrico. Um tipo de transferência de calibração baseado em imagens de uma solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foi proposto, avaliando sua aplicação em diferentes condições analíticas, tais como smartphone e iluminação diferentes. Um bom desempenho dos modelos foi observado para ambos os pigmentos, sendo que os modelos construídos usando LS-SVM tiveram capacidades preditivas melhores que aqueles obtidos por MLR. O tipo de iluminação influenciou mais os erros de predição dos modelos do que o tipo de smartphone. No entanto, melhorias consideráveis foram obtidas ao aplicar a proposta de transferência de calibração, diminuindo o erro e aumentando o R^2 , tanto para clorofilas quanto para carotenoides. O melhor desempenho após a aplicação da transferência de calibração foi obtido usando o modelo XYZ/LS-SVM para clorofilas e Y/LS-SVM para carotenoides, os quais tiveram erro médio de 0,96 e 0,29 $\text{mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ com R^2 médio de 0,96 e 0,83 para clorofilas e carotenoides respectivamente. Portanto, o método baseado em imagens digitais obtidas por smartphone e a transferência de calibração proposta apresentaram grande potencial na determinação de pigmentos naturais em óleos vegetais, com boa precisão sob diferentes tipos de iluminação ou smartphone.

Palavras-chave: pigmento natural; calibração multivariada; imagem digital.

ABSTRACT

Olive oils are known for their high nutritional value. Its pigments, chlorophylls, and carotenoids, have properties that go beyond their function in coloring, bringing health benefits as bioactive compounds. The determination of these pigments in olive oils is usually carried out using spectrophotometric methods, which use expensive equipment and which do not allow analysis outside the laboratory. On the other hand, smartphone cameras have shown great potential as instruments for chemical analysis. Thus, this work aimed to evaluate the potential of using digital images obtained with a smartphone and multivariate calibration to determine the content of chlorophylls and carotenoids in olive oils. Images of 46 samples of olive oil and avocado, placed inside a glass cuvette, were obtained using a smartphone. The data were obtained in triplicate, totalizing 138 observations. A test set, external to the calibration, was made up of 25% of the observations. Color components in the RGB, Y, HSV, CMYK, Lab, or XYZ systems of the olive oil images were calibrated using Multiple Linear Regression (MLR) and Least Squares Support Vector Machines (LS-SVM) against the respective levels of chlorophylls and carotenoids obtained by the spectrophotometric method. A type of calibration transfer based on images of a $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ solution was proposed, evaluating its application under different analytical conditions, such as different smartphones and lighting. A good performance of the models was observed for both pigments, and the models built using LS-SVM were superior to those obtained by MLR. The type of lighting influenced the prediction errors of the models more than the type of smartphone. However, considerable improvements were obtained when applying the calibration transfer proposal, decreasing the RMSE and increasing the R^2 for both chlorophylls and carotenoids. The best performance after applying the calibration transfer was obtained using the XYZ/LS-SVM model for chlorophylls and Y/LS-SVM for carotenoids, which had an average RMSE of 0.96 and 0.29 $\text{mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ with an average R^2 0.96 and 0.83 for chlorophylls and carotenoids respectively. Therefore, the method based on digital images obtained by smartphone and the proposed calibration transfer showed great potential in the determination of pigments in vegetable oils, with good precision under different types of lighting or smartphone.

Keywords: natural pigment; multivariate calibration; digital image.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|---|----|
| Figura 1 – | Estrutura química de alguns carotenoides presentes no azeite de oliva. . . . | 18 |
| Figura 2 - | Estrutura química básica das clorofilas | 20 |
| Figura 3 - | Número de publicações na Web of Science contendo o conceito “colorimetria” | 22 |
| Figura 4 - | Modelo de cor RGB representado geometricamente | 24 |
| Figura 5 - | Exemplo de câmera de smartphone sendo utilizada para captura de imagem de sensores colorimétricos. | 27 |
| Figura 6 - | Aparato desenvolvido para aquisição das imagens digitais | 35 |
| Figura 7 - | Captura de tela da imagem obtida pelo aplicativo Photometrix | 40 |
| Figura 8 - | Relação entre as componentes do sistema de cor RGB com os teores de clorofilas e carotenoides em azeites | 41 |
| Figura 9 - | Espectro de absorção dos pigmentos clorofila a, clorofila b e carotenoides, das componentes do sistema de cor RGB e da solução de FeCl ₃ | 42 |
| Figura 10 - | Representação gráfica dos valores medidos vs. preditos para os modelos RGB/MLR, RGB/LS-SVM, Y/MLR e Y/LS-SVM para determinação do teor de clorofilas em azeites.. . . . | 47 |
| Figura 11 - | Representação gráfica dos valores medidos vs. preditos para os modelos HSV/MLR, HSV/LS-SVM, CMYK/MLR e CMYK/LS-SVM para determinação do teor de carotenoides em azeites. | 48 |
| Figura 12 - | Comparações gráficas do teor de clorofilas totais medidos vs. preditos (TCI) para condições secundárias de Motorola/Caixa Fechada (MCF), Samsung/Caixa Aberta (SCA) e Motorola/Caixa Aberta (MCA) antes e após a transferência de calibração usando o modelo XYZ/LS-SVM | 54 |
| Figura 13 - | Comparações gráficas do teor de carotenoides totais medidos vs. preditos (TCa) para condições secundárias Motorola/Caixa Fechada (MCF), Samsung/Caixa Aberta (SCA) e Motorola/Caixa Aberta (MCA) antes e depois da transferência de calibração usando o modelo Y/LS-SVM | 55 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Parâmetros de qualidade para modelos de predição do teor de clorofilas em azeites de oliva e abacate com base em dados de imagens digitais usando modelagem por MLR e LS-SVM | 44 |
| Tabela 2 - Parâmetros de qualidade para os modelos de predição do teor de carotenoides em azeites de oliva e abacate com base em dados de imagens digitais usando modelagem por MLR e LS-SVM | 45 |
| Tabela 3 - Parâmetros de qualidade para a predição do teor de clorofila em azeites de oliva e abacate com base em dados secundários de imagens digitais usando modelos MLR e LS-SVM antes e depois de aplicar a transferência de calibração proposta | 51 |
| Tabela 4 - Parâmetros de qualidade para a predição do teor de carotenoides em azeites de oliva e abacate com base em dados secundários de imagens digitais usando modelos MLR e LS-SVM antes e depois de aplicar a transferência de calibração proposta | 52 |

LISTA DE SIGLAS

| | |
|--------|---|
| AA | Ácido ascórbico |
| ANN | Artificial Neural Network |
| AOCS | American Oil Chemists Society |
| BN | Bayesian Network |
| CCD | Charge-coupled device |
| CIE | Commission Internationale d'Eclairage |
| CMOS | Complementary Metal-oxide Semiconductor |
| CMYK | Ciane, Magent, Yellow and Black |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| DS | Direct Standardization |
| EDS | Engine Data Scan |
| EVA | Ethylene Vinyl Acetate |
| GLM | General Linear Model |
| HCA | Hierarchical Cluster Analysis |
| HPLC | High Performance Liquid Chromatography |
| HSI | Hue, Saturation and Intensity |
| HSV | Hue, Saturation and value |
| LED | Light Emitting Diode |
| LS-SVM | Least Squares – Support Vector Machine |
| MCA | Motorola/Caixa Aberta |
| MCF | Motorola/Caixa Fechada |
| MLR | Multiple Linear Regression |
| MP | Megapixel |
| NIR | Near Infrared |
| o-PD | o-Fenilenodiamina |
| PDS | Piecewise Direct Standardization |
| PLS | Partial Least Squares |
| RBF | Radial Basis Function |
| RGB | Red, Green And Blue |
| RMSE | Root Mean Square Error |
| RSD | Relative Standard Deviation |

| | |
|----------|---|
| SBC | Slope Bias Correction |
| SCA | Samsung/Caixa Aberta |
| SCF | Samsung/Caixa Fechada |
| SPA-LDA | Successive Projections Algorithm – Linear Discriminant Analysis |
| SVM | Support Vector Machine |
| SVR | Support Vector Regression |
| SWS | Single Wavelength Standardization |
| TBPE | Tetrabromofenoltaleína |
| TCa | Carotenoides Totais |
| TCI | Clorofilas Totais |
| UV-Vis | Ultraviolet - Visible |
| VIS-NIRS | Visible and Near Infrared Reflectance Spectroscopy |
| Y | Luma |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 15 |
| 2.1 | Azeites | 15 |
| 2.1.1 | Azeite de oliva | 15 |
| 2.1.2 | Azeite de abacate | 16 |
| 2.2 | Pigmentos naturais em óleos vegetais. | 17 |
| 2.2.1 | Carotenoides | 18 |
| 2.2.2 | Clorofilas | 19 |
| 2.3 | Determinação de pigmentos em óleos vegetais | 20 |
| 2.4 | Imagens digitais como descritores para predição de parâmetros quantitativos | 22 |
| 2.5 | Uso de dispositivos móveis em análise química | 26 |
| 2.6 | Calibração multivariada | 29 |
| 2.7 | Transferência de calibração | 32 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 33 |
| 3.1 | Amostragem | 33 |
| 3.2 | Determinação de clorofilas e carotenoides totais por espectrofotometria | 33 |
| 3.3 | Obtenção e processamento das imagens digitais | 34 |
| 3.4 | Construção e validação dos modelos | 35 |
| 3.5 | Transferência de calibração | 37 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 39 |
| 4.1 | Desenvolvimento do método | 39 |
| 4.2 | Transferência de calibração | 48 |
| 5 | CONCLUSÃO | 56 |
| 6 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 57 |
| | ANEXO A – Amostras e proporções das misturas | 67 |
| | ANEXO B – Características dos smartphones usados | 68 |

1 INTRODUÇÃO

O azeite de oliva é um dos óleos vegetais comestíveis mais importantes e antigos produzidos no mundo. O azeite do tipo virgem é obtido do fruto da oliveira apenas por meio de processos mecânicos, sem utilização de solventes ou etapas de refino (GENOVESE et al., 2015). Seu consumo tem aumentado em várias regiões no mundo devido principalmente ao seu perfil sensorial altamente valorizado e por trazer vários benefícios para a saúde (RAMOS-GÓMES et al., 2015). Além de apresentar um equilíbrio entre ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, o azeite possui um elevado teor de antioxidantes, como fenólicos e tocoferóis, que auxiliam na estabilidade oxidativa (CRIZEL-CARDOSO, 2014).

O azeite de abacate foi comparado ao azeite de oliva por muitos anos devido às altas quantidades de ácidos graxos monoinsaturados e aos altos níveis de pigmentos (clorofilas e carotenoides) que atuam como antioxidantes. É uma excelente fonte de importantes compostos lipossolúveis, como tocoferóis, carotenoides e fitosteróis, que reduzem o risco de doenças cardiovasculares e trazem benefícios para a saúde. Sua produção é limitada e isso faz com que o azeite de abacate tenha um alto valor de mercado (WOOLF et al., 2009).

Os pigmentos presentes no azeite de oliva e abacate podem ser divididos em duas classes principais: carotenoides e clorofilas, sendo a luteína e o β -caroteno os carotenoides majoritários no azeite de oliva virgem e a feofitina a e b são os pigmentos clorofila presentes em maior quantidade (GANDUL-ROJAS & MINGUEZ-MOSQUERA, 1996). Além de sua função na coloração, os carotenoides apresentam benefícios à saúde humana como compostos bioativos que tem a função provitamina A (β -caroteno e β -criptoxantina) e atividade antioxidante (SEDDON et al., 1994). Já as clorofilas, além de sua função na coloração verde, apresentam benefícios como atividade antioxidante e antimutagênica, além de prevenir doenças degenerativas (FERRUZZI & BLAKSLEE, 2007).

Cada processo tecnológico para obtenção e/ou armazenamento de alimentos vegetais está associado com uma transformação específica de seus pigmentos, como por exemplo, clorofilas e carotenoides. Esse fato faz desses constituintes apropriados como indicadores de qualidade de um produto (APARICIO-RUIZ & GANDUL-ROJAS, 2012). Além disso, os consumidores primeiro julgam a cor dos alimentos e depois outros atributos como aroma e sabor são observados. Assim, a agroindústria tem aumentado esforços para medir e controlar a qualidade de seus produtos. Por isso é importante desenvolver métodos efetivos para inspeção da cor e composição dos alimentos de forma rápida e objetiva durante a produção e comercialização.

Os métodos de análise comumente usados para avaliação da qualidade de azeites, especialmente quanto à composição dos pigmentos, necessitam de preparo de amostras, uso de solventes e técnicas analíticas que utilizam equipamentos de custo elevado, como análises espectroscópicas e cromatográficas (GÓMEZ-CARAVACA et al., 2016). Para determinar a quantidade total de pigmentos em uma amostra são utilizados normalmente os espectrofotômetros, que operam nas regiões do ultravioleta e visível do espectro eletromagnético.

Em alternativa aos espectrofotômetros, tem sido estudado e implementado o uso de sistemas que realizam análises colorimétricas por imagens digitais obtidas por câmeras digitais, *scanners*, *webcams* e câmeras de smartphone, ferramentas essas que podem introduzir maior mobilidade aos procedimentos analíticos, permitindo de maneira mais fácil a realização de análises *in situ*.

Recentemente, algumas pesquisas usando imagens digitais foram aplicadas com sucesso em análises para classificar óleos vegetais comestíveis quanto ao tipo e estado de conservação (MILANEZ & PONTES, 2014; GODOY et al., 2020) e autenticar e quantificar adulterações de azeites por misturas com outros óleos vegetais refinados (HAKONEN & BEVES, 2018; MAI & LE, 2020; DHANDE & SUSHIR, 2018; SONG et al., 2020). Os resultados obtidos por esses autores mostraram que os métodos baseados em visão computacional representam uma técnica promissora para o monitoramento da qualidade de óleos comestíveis, sendo uma técnica simples e de baixo custo.

Neste contexto, o desenvolvimento de um sistema de análise colorimétrico por imagens digitais portátil pode ser utilizado em substituição ao espectrofotômetro, contribuindo para otimizar o tempo de análise, sem a necessidade de transporte e o acondicionamento das amostras, constituindo ferramentas analíticas mais simples e que geram pouco ou nenhum resíduo.

Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um método baseado em calibração multivariada de dados de imagens digitais obtidas por um smartphone para determinar o teor de clorofilas e carotenoides em azeite de oliva e abacate. Além disso, um método de transferência de calibração que permite o uso de um modelo de calibração primário por um conjunto de dados de predição obtidos em outras condições analíticas foi proposto e testado sob diferentes tipos de iluminação e modelo de smartphone, bem como método de calibração.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Azeites

2.1.1 Azeite de oliva

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma árvore de porte médio que raramente ultrapassa os seis metros de altura. É nativa da região mediterrânea e considerada uma das árvores mais antigas. Seu fruto é constituído por pericarpo e caroço. O pericarpo é composto pelo epicarpo ou casca, pelo mesocarpo ou polpa e pelo endocarpo, que contém o caroço. A polpa representa de 66 a 85% do peso do fruto, o endocarpo de 13 a 30% e a casca de 1,5 a 3,5%, e, o caroço não excede a 3% do peso do fruto. No pericarpo, encontra-se cerca de 96 a 98% do total de óleo da azeitona e o restante, isto é, 2 a 4%, no caroço (RAPOPORT, 2004).

O azeite de oliva é um óleo com coloração verde amarelada obtido do fruto da oliveira exclusivamente mediante extração mecânica das azeitonas, não sendo permitida a extração com uso de solventes, reesterificação ou mistura com óleos de outra natureza (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL, 2015). Atualmente, cerca de 70% do azeite é produzido nos países do Mediterrâneo, como, Espanha, Turquia, Grécia, Itália, Marrocos e Tunísia. (FOSCOLOU et al., 2018). No Brasil, as regiões sul e da Serra da Mantiqueira têm se mostrado aptas à produção de azeitonas, já contando com alguma produção de azeite de oliva de alta qualidade, embora em pequena escala quando comparada à produção de países da Europa.

O azeite de oliva é composto principalmente por triacilgliceróis e uma pequena quantidade de ácidos graxos livres, glicerol, fosfatídeos, pigmentos, compostos de sabor e esteróis. Sua composição consiste em aproximadamente 14% de ácidos graxos saturados, incluindo 13% de ácido palmítico (C16:0) e 1,5% de ácido esteárico (C18:0), e 85% de ácidos graxos insaturados, incluindo 70% de ácido oleico (C18:1 ω -9), 15% de ácido linoleico (C18:2 ω -6) e 3,5% de ácido palmitoleico (FOSCOLOU et al., 2018).

Os benefícios do azeite podem ser atribuídos aos ácidos graxos monoinsaturados, em particular o ácido oleico, presente em grande quantidade (LOMBARDO et al., 2018; BRUSCATTO et al., 2017). Compostos fenólicos, pigmentos polares (feofitinas e clorofilas), diálcoois triterpênicos, esteróis, álcoois triterpênicos, tocoferóis, hidrocarbonetos (esqualeno e β -caroteno) e xantofilas são componentes presentes em menor quantidade e que foram reconhecidos como compostos saudáveis além de contribuir para as propriedades

organolépticas do azeite (GAVAHIAN et al., 2019). A concentração desses compostos depende do estágio de maturação e variedade das azeitonas, além das condições climáticas, manejo e sistema de extração do óleo (LOMBARDO et al., 2018; RAMOS-ESCUADERO et al., 2015).

A estabilidade oxidativa do azeite depende de vários fatores, entre os quais, a variedade e o grau de maturação das azeitonas utilizadas na sua produção. Este último tem um papel fundamental na composição química da azeitona e, conseqüentemente, na sua resistência à oxidação que é atribuída, sobretudo, a dois fatores: a composição em ácidos graxos, e a presença de compostos minoritários com atividade antioxidante elevada, principalmente tocoferóis e polifenóis, mas também clorofilas e carotenoides (MATOS et al., 2007).

Os principais antioxidantes do azeite são os carotenoides e os compostos fenólicos (RAMOS-ESCUADERO et al., 2015). Com isso, vários estudos revelam a importância do azeite de oliva extra virgem na redução da oxidação lipídica e do DNA, diminuindo a incidência de câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, diabetes, obesidade, osteoporose e diminuição da pressão sanguínea em pacientes hipertensos, além de atividade antimicrobiana e anti-inflamatória (CICERALE et al., 2012; FUNG et al., 2009; LOMBARDO et al., 2018; OWEN et al., 2004). Portanto, o azeite de oliva extra virgem possui características sensoriais únicas e benefícios à saúde, além de ser uma boa fonte de antioxidantes e ácidos graxos essenciais (BRUSCATTO et al., 2017; RAMOS-ESCUADERO et al., 2015).

2.1.2 Azeite de abacate

O abacate (*Persea americana* Mill.) é uma fruta com alta produtividade e pertence à família Lauraceae. O abacate possui grandes quantidades de óleo e por isso tem sido usado na produção de azeite. Assim como o azeite de oliva, o azeite de abacate é obtido do mesocarpo da fruta e possui propriedades semelhantes. Embora tenha características sensoriais distintas do azeite de oliva, os índices de controle de qualidade e composição dos ácidos graxos são parecidos, podendo ser utilizado como substituto do azeite de oliva na alimentação humana, com iguais benefícios à saúde (OLIVEIRA et al., 2010).

Abacates são conhecidos por apresentarem quantidades consideráveis de pigmentos incluindo clorofilas e carotenoides. Os tipos e concentrações dos pigmentos presentes no azeite de abacate são importantes indicadores da qualidade do produto (aparência) e também para a saúde (ASHTON et al., 2006).

No azeite de abacate virgem a concentração relativa de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados é de aproximadamente 13-14%; 69-71% e 14-16%

respectivamente. Os principais ácidos graxos presentes no azeite de abacate são: ácido oleico (64-67%), ácido palmítico (12-13%) e ácido linoleico (13-15%) (FLORES et al., 2014).

O azeite de abacate pode ser usado como ingrediente em alimentos funcionais por ter uma grande quantidade de ácidos graxos monoinsaturados e compostos em menor quantidade que apresentam benefícios à saúde, como esteróis, álcoois, hidrocarbonetos, tocoferóis e carotenoides (BERASATEGI et al., 2012). Um estudo realizado por Ortiz-Avila et al. (2015) mostrou que o óleo de abacate possui uma variedade de moléculas bioativas, incluindo antioxidantes lipofílicos e ácido oleico (C18:1) que diminuem o estresse oxidativo no fígado, cérebro e mitocôndrias renais em animais diabéticos.

Este azeite pode ser consumido puro e adicionado frio a saladas, ou usado no preparo de alimentos, ou ainda em formulações para aplicação em farmacêuticos e cosméticos. Nesse último caso, a parte insaponificável, contendo carotenoides, clorofilas e tocoferóis, e os compostos fenólicos são o maior interesse devido as suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (ZHANG, HUBER, & RAO, 2013; KOSÍNSKA et al., 2012).

2.2 Pigmentos naturais em óleos vegetais

Comercialmente, a cor é uma das características mais importantes para os alimentos, uma vez que influencia na decisão de compra por ser fácil de analisar pelo consumidor. Apesar de não ser considerada na análise sensorial do azeite, a cor é uma propriedade organoléptica que influencia nas escolhas tanto do consumidor quanto do provador. Por isso, durante a análise sensorial de azeites é usado um copo azul para que o provador não seja influenciado pela cor (MELGOSA et al., 2009).

Pigmentos naturais são substâncias presentes em células e tecidos de plantas e animais que conferem cor, atributo fundamental para avaliação da qualidade dos alimentos (FENNEMA, 2010). Os pigmentos no azeite de oliva e do azeite de abacate podem ser divididos em duas classes principais: carotenoides e clorofilas (LAZZERINI, 2017). Além disso, a bioatividade dos pigmentos está associada a propriedades saudáveis para vários órgãos humanos, como por exemplo, o cérebro (HAMMOND, 2015).

Os carotenoides encontrados nos azeites são β -caroteno, luteína, violaxantina, neoxantina e outras xantofilas, e os derivados de clorofila são clorofilas a e b, feofitinas a e b e outros derivados minoritários (MINGUEZ-MOSQUERA et al., 1992).

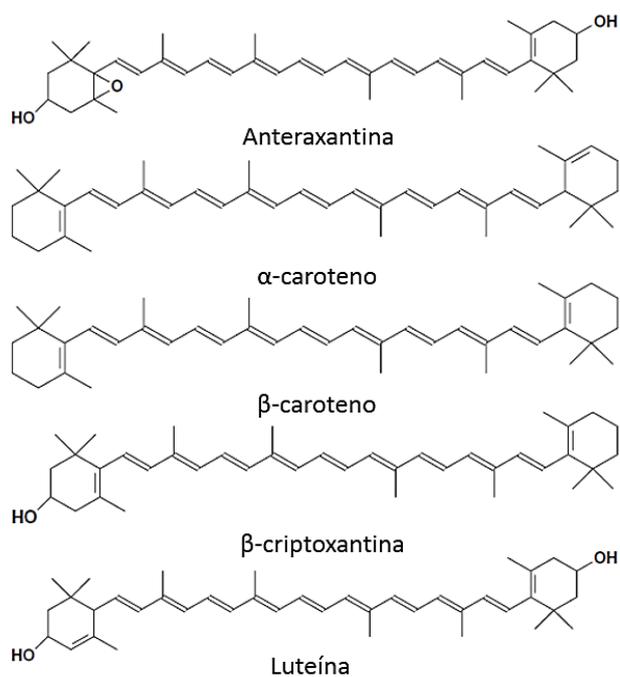
Como os azeites são ricos nesses dois pigmentos, sua determinação é importante, uma vez que além de contribuírem para a coloração dos azeites, também estão relacionados a

bioatividades relevantes e apresentam papel importante na estabilidade oxidativa (AYADI et al., 2009).

2.2.1 Carotenoides

Os carotenoides formam um grupo de pigmentos naturais com aproximadamente 700 representantes que apresentam coloração amarela, laranja ou vermelha, à exceção dos carotenoides fitoeno e fitoflueno que são incolores. Os carotenoides são compostos lipofílicos com estrutura básica de tetraterpenos (C₄₀), formados a partir de unidades isoprenóides de 5 carbonos (Figura 1) (MESQUITA et al., 2017).

Figura 1 - Estrutura química de alguns carotenoides presentes no azeite de oliva.



Fonte: Moyano et al. (2010).

Esses pigmentos são encontrados na natureza principalmente na forma *trans* e são divididos em duas classes: carotenos (β -caroteno, α -caroteno, licopeno, entre outros) e xantofilas (com oxigênio na cadeia). O oxigênio nas xantofilas pode se apresentar na forma de hidroxila, epóxi ou carboxila. A cadeia pode ser acíclica (como o licopeno), monocíclica (como o γ -caroteno) ou bicíclica (α - e β -caroteno) (RODRIGUEZ-AMAYA & KIMURA, 2004).

Quando absorvidos pelo organismo atuam como antioxidantes, eliminando os radicais livres. Além disso, possuem a capacidade de se converterem em vitamina A, sendo então denominados carotenoides provitamina A, desempenhando um papel nutricional importante (PENTEADO, 2003). Apenas os carotenoides que possuem o anel β -ionona é que possuem essa atividade provitamina A, sendo o β -caroteno o que apresenta maior atividade. Estima-se que os carotenoides pró-vitâmicos A presentes em frutas e vegetais forneçam de 30 a 100% da exigência de vitaminas para a população (FENNEMA, 2010).

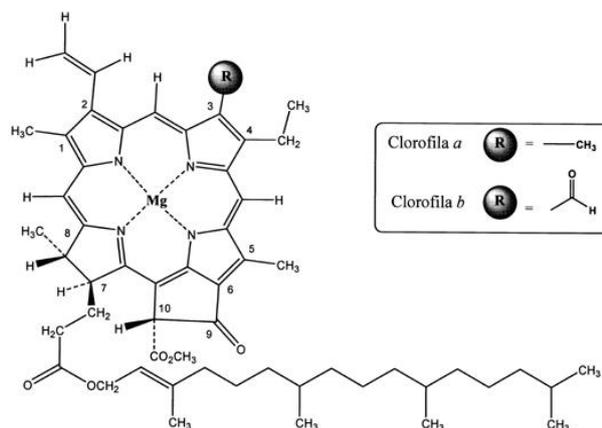
Quando ainda presentes na célula da planta, são muito estáveis e logo que rompida a célula, podem sofrer degradação através das lipoxigenases, que são enzimas responsáveis por catalisar a oxidação dos carotenoides (PENTEADO, 2003). A degradação oxidativa é induzida por ação da luz, de metais e de oxigênio, constituindo uma das principais perdas de carotenoides (FENNEMA, 2010). A perda ou alteração na coloração destes pigmentos indica degradação ou modificação estrutural (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

Os carotenoides, em conjunto com os tocoferóis e os compostos fenólicos contribuem para a estabilidade oxidativa do azeite (GIUFFRIDA et al., 2007). Além disso, o interesse no estudo desses compostos está relacionado também com sua atividade antioxidante (KIM et al., 2007) e na prevenção do câncer (LIU et al., 2009).

2.2.2 Clorofilas

As clorofilas são encontradas nos cloroplastos presentes nas folhas e outros tecidos vegetais, sendo os pigmentos naturais mais abundantes. Localizam-se nos cloroplastos juntamente com outros pigmentos chamados acessórios, como por exemplo, os carotenoides (caroteno e xantofilas). São moléculas que possuem o magnésio como átomo central, com uma estrutura macrocíclica assimétrica e totalmente insaturada (Figura 2) (STREIT et al., 2005).

Figura 2 - Estrutura química básica das clorofilas.



Fonte: Streit et al. (2005).

Sob alta radiação, as clorofilas são foto-oxidadas, e quando na presença dos carotenoides, essa foto-oxidação pode ser prevenida. No geral, são pigmentos muito instáveis e sensíveis na presença de luz, aquecimento, oxigênio e à degradação química. Este fato demonstra que pode ocorrer prejuízo em produtos que contenham clorofila que sejam indevidamente acondicionados (STREIT et al., 2005).

As clorofilas podem agir como sensibilizadoras, gerando oxigênio singlete durante a exposição à luz na presença de oxigênio, enquanto os carotenoides são conhecidos como desativadores das espécies reativas de oxigênio, protegendo as plantas da fotodegradação (FENNEMA, 2010). A produção de oxigênio singlete pelas clorofilas não é restrita a extratos de pigmentos aquosos, mas também ocorre em solventes menos polares como o óleo. Por essa razão, um óleo contendo um alto conteúdo de clorofilas ou produtos da degradação deve ser estocado no escuro e em temperatura reduzida (SCHOEFS, 2002). Por outro lado, as clorofilas tem apresentado efeitos positivos em inflamação, processos anêmicos, purificação do sangue e prevenção do câncer (I'NANC, 2011).

2.3 Determinação de pigmentos em óleos vegetais

Clorofilas e carotenoides são compostos de ocorrência natural encontrados em quantidades variadas em óleos vegetais. São pigmentos que são desejáveis em alguns óleos como o azeite de oliva, mas são removidos de outros óleos vegetais durante o refino (SEPPANEN et al., 2003).

Vários métodos analíticos baseados em HPLC têm sido propostos para identificar e

quantificar clorofilas, carotenoides ou ambos. A maioria desses métodos necessita de extração desses pigmentos com solventes da matriz lipídica do azeite (MINGUEZ-MOSQUERA, 1990).

Os primeiros estudos dos pigmentos em azeite de oliva virgem foram realizados por Minguez et al. (1990) e Gandul et al (1996) utilizando cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

Fraser and Frankl (1985) isolaram derivados de clorofila do óleo de soja por cromatografia utilizando uma coluna de celulose e separaram por HPLC. Outros estudos utilizaram HPLC para determinar simultaneamente clorofilas, feofitinas, β -caroteno, e também tocoferóis e tocotrienóis em azeite de oliva e óleo de soja (SEPPANEN et al., 2003).

Jimenez (2003) utilizou espectroscopia de transmitância por infravermelho visível-próximo (VIS-NIRS) para monitorar o teor de clorofilas e carotenoides em azeite de oliva. Em 2008, Sikosrka e colaboradores utilizaram técnicas de fluorescência para monitorar o teor de clorofilas em óleo.

Embora tais técnicas sejam eficientes na análise qualitativa e quantitativa de pigmentos naturais em diversos produtos alimentícios, incluindo óleos, a espectroscopia UV-Vis ainda é uma técnica muito usada para este fim (LOPEZ-MUÑOZ, ANTONIO-PÉREZ & DIÁZ-REYES, 2015). O fato de que o β -caroteno e os pigmentos clorofila exibirem forte absorção na região do visível fazem deles adequados para análises por UV-vis. Além disso, o uso de fluorescência e espectrometria UV-Vis em série foram demonstrados por Ye e colaboradores (2001).

Um método espectroscópico, baseado na análise quantitativa de toda absorção no espectro na faixa de 390 a 720 nm em UV-Vis para amostras de azeite de oliva, foi desenvolvido para determinar a concentração de quatro pigmentos principais: β -caroteno e luteína entre os carotenoides e feofitina a e b entre os derivados de clorofila. A vantagem desse método foi rapidez e a dispensa de preparo de amostra (DOMENICI et al., 2014). Outro método para análise de azeite de oliva virgem e extra virgem por UV-Vis em combinação com quimiometria foi desenvolvido e os autores concluíram que foi um método viável para o monitoramento de processos de autooxidação de óleos comestíveis e também para avaliar a qualidade de azeites de oliva em diferentes embalagens (GONÇALVES et al., 2018).

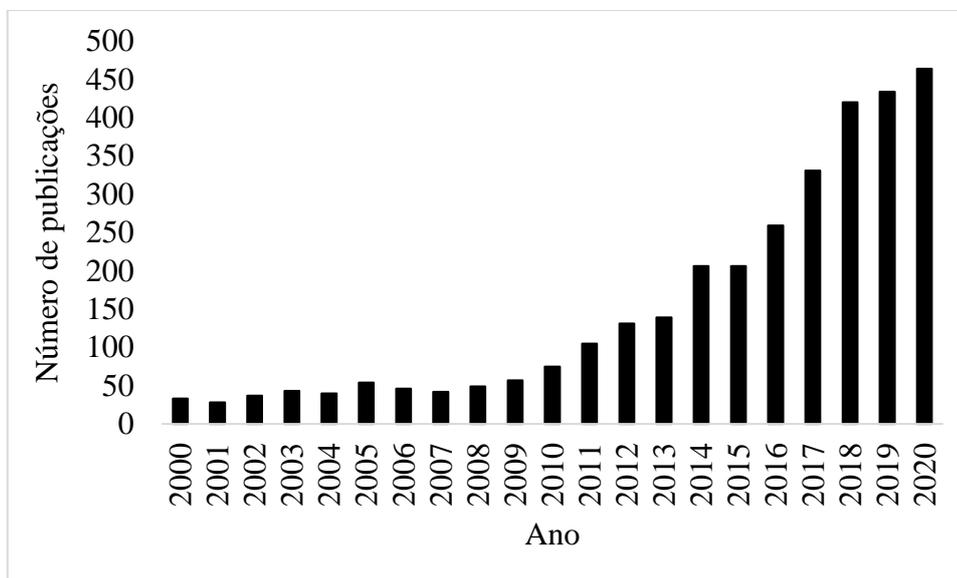
Apesar das vantagens que cada uma dessas técnicas citadas apresenta, a maioria delas necessita de preparo de amostra, utilizam equipamentos caros, consomem tempo, além de serem métodos que não permitem a realização de análises fora do laboratório e necessitem de mão de obra altamente qualificada para a realização das análises. Por outro lado, com o avanço da tecnologia, principalmente das câmeras e hardwares de smartphones, o uso de imagens digitais

em análises químicas tem permitido o desenvolvimento de métodos de baixo custo, rápidos e não destrutivos, podendo ser aplicados no local por produtores primários, supermercados ou mesmo consumidores (NIELS et al., 2019).

2.4 Imagens digitais como descritores para a predição de parâmetros quantitativos

Desde o início do desenvolvimento da química, os cientistas notaram que a cor de uma solução pode indicar a ocorrência de uma reação química e que a intensidade da cor de uma solução pode ser relacionada à concentração dos produtos que estão envolvidos nessa reação. Nos últimos anos, as publicações contendo a palavra “Colorimetria” na área de Química Analítica do Web of Science eram praticamente constantes, mas esse número vem aumentando desde 2007 (FIGURA 3). Isso se deve principalmente pelo avanço da tecnologia que tem facilitado a obtenção de imagens com alta qualidade com dispositivos cada vez mais acessíveis, trazendo uma maior simplicidade aos procedimentos analíticos e também permitindo a realização de análises fora do laboratório.

Figura 3 - Número de publicações na Web of Science contendo a palavra “colorimetria”.



Fonte: Do autor (2021).

O atual crescimento no desenvolvimento de smartphones criam oportunidades interessantes para o desenvolvimento de novas ferramentas analíticas confiáveis e rápidas, como por exemplo, análises na área de alimentos para inspeção visual de frutas (BUTZ et al., 2005), na área de química forense para detecção de metanfetamina (CHOODUM et al., 2013)

e até mesmo na área da saúde para diagnóstico de insuficiência renal através da determinação de creatinina na urina (DEBUS et al., 2015), uma vez que os smartphones ou celulares com câmera são aparelhos portáteis, baratos, leves e em sua maioria equipados com câmeras de alta resolução (LÓPEZ-RUIZ et al., 2014).

Quando utilizadas para análise colorimétrica, uma imagem obtida pode ser enviada para um laboratório externo, onde os dados serão analisados por um especialista e o resultado retorna para o analista (idealmente em tempo real). No caso de smartphones, essa análise pode ser feita no próprio aparelho utilizando câmeras integradas e microprocessadores internos com o auxílio de algum aplicativo para realizar o processamento de imagens, evitando a necessidade de computadores ou elementos externos e fornecendo resultados rápidos e precisos (LÓPEZ-RUIZ et al., 2014). A imagem pode ainda ser enviada via internet para um computador ou servidor onde será realizada a análise, retornando rapidamente o resultado para o analista (KANCHI et al., 2018).

Uma imagem digital pode ser definida como uma matriz de m linhas e n colunas que possuiu um conjunto finito de pixels. Após a digitalização da imagem, as informações de cor são convertidas em matrizes numéricas e armazenadas no computador. Essas matrizes, inicialmente binárias (1 e 0), são transformadas em uma matriz de pontos, sendo cada ponto associado a um pixel na imagem e cada pixel tendo uma intensidade específica (SHU et al., 2016).

A imagem digital é representada por uma função bidimensional de intensidade da luz $f(m,n)$, onde os valores de m e n representam as coordenadas espaciais e a amplitude de f representa a iluminação e refletância ou o nível de cinza da imagem no ponto (GONZALES & WOODS, 2010). Estas imagens podem ser produzidas por diversos equipamentos, incluindo câmeras de vídeo e fotográficas digitais, scanners, aparelhos de raios-X, microscópios eletrônicos e aparelhos de ultrassom, como também webcams e smartphones (DAMIRCHI & HEIDARI, 2018; THAJEE et al., 2018).

Ledley em 1964 publicou um dos primeiros trabalhos utilizando imagens digitais com finalidades analíticas quantitativas, onde imagens de estruturas de células nervosas e fibras musculares foram geradas por um scanner EDS e foram enviadas para microprocessadores que analisaram quantitativamente os dados para poder agrupar os objetos registrados.

Nesse tipo de análise, modelos de cor são utilizados para classificar e quantificar as cores de acordo com alguns atributos como tonalidade, saturação e luminosidade (LEÃO et al., 2007). Com os modelos de cor é possível especificar as cores de uma forma padrão, tendo-se basicamente um sistema de coordenadas tridimensionais e um subespaço dentro desse sistema

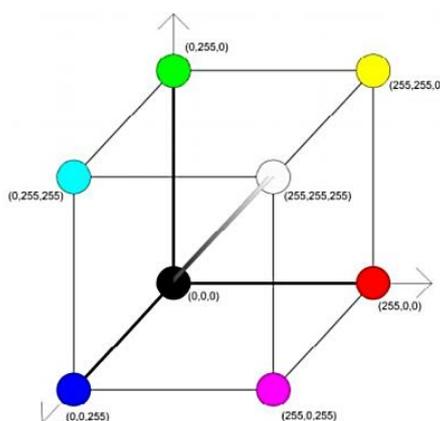
onde cada cor é representada por um único ponto (GONZALES & WOODS, 2010).

O modelo RGB é o mais popular e pode ser definido como um sistema tridimensional de coordenadas cartesianas, baseado em três cores (vermelho – 700 nm, verde – 546,1 nm e azul – 435,8 nm), sendo esse o modelo de cores mais utilizado para processamento e armazenamento de dados digitais de imagens.

A cor de uma imagem digital é geralmente dada em 24 bits (8 bits R + 8 bits G + 8 bits B) formando um espaço de cor aditivo, onde a combinação dessas três cores forma uma ampla gama de novas cores. A intensidade de cada um desses canais varia de 0 a 255 e podem ser formadas 16.777.216 cores (256^3 ou 2^{24}) (FIRDAUS et al., 2014). O valor que cada pixel possui é chamado de intensidade e está relacionado diretamente com a quantidade daquela componente de cor na imagem. A separação das matrizes RGB pode ser feita facilmente utilizando softwares matemáticos para tratamento de dados matriciais, de forma que se pode calcular a intensidade de cor isolada para cada canal RGB (MORAIS & LIMA, 2015; CHRISTODOULEAS et al., 2015).

O subespaço de cores de interesse é o cubo, apresentado na Figura 4, no qual os valores RGB primários estão em três vértices; as cores secundárias ciano, magenta e amarelo estão em outros três vértices; o preto está na origem e o branco está no vértice mais distante da origem. Nesse modelo, a escala de cinza (pontos de valores RGB iguais) estende-se do preto até o branco ao longo do segmento de reta que une esses dois pontos. As diferentes cores nesse modelo são pontos no cubo ou dentro dele e são definidas por vetores que se estendem a partir da origem (GONZALES & WOODS, 2010; SHU et al., 2016).

Figura 4 - Modelo de cor RGB representado geometricamente



Fonte: Gonzales e Woods, (2010).

O uso do padrão RGB como resposta analítica está fundamentado no fato de que os valores de RGB variam proporcionalmente com a cor em uma reação colorimétrica ou com a concentração de um analito. Este efeito pode estar associado à variação da concentração de uma substância de interesse, e é baseado nesse princípio que as análises com imagens digitais são empregadas em química analítica quantitativa (SANTOS et al., 2015).

A cor pode ser determinada usando instrumentos específicos, como detectores de cor digital, colorímetros comerciais, fotodetectores ou espectrofotômetros, ou usando dispositivos de imagem, como câmeras digitais CCD e CMOS digitais, scanners e, nos últimos anos, câmeras de smartphones (LÓPEZ-RUIZ et al., 2014).

Nessa estratégia, a luz é direcionada à amostra e parte dessa radiação é absorvida e parte refletida, a qual é captada pela câmera do smartphone. A imagem de uma região do compartimento que contém a amostra/padrão é adquirida pelo smartphone e parâmetros da imagem, como as cores do sistema RGB, são mensuradas e relacionadas com a concentração das espécies (SANTOS et al., 2015).

As cores, bem como suas mudanças, podem ser quantificadas usando componentes de outros espaços de cores além do modelo RGB. O espaço de cor HSV define as cores usando as componentes H (matiz) que se refere à componente espectral dominante como vermelho, verde e azul com valores que variam de 0 a 360, S (saturação) que representa a concentração da componente espectral dominante e V (valor) que se refere ao brilho, sendo que S e V variam de 0 a 1. As componentes do sistema HSV podem ser obtidas através do espaço de cor RGB por meio de cálculos (XU et al., 2016).

O modelo de cor CIELab foi criado pela CIE (Comissão Internacional de Iluminação - *Commission Internationale d'Eclairage*) com o objetivo de melhorar a uniformidade das cores que são percebidas pelo sistema visual humano. No espaço CIELab as cores são descritas pelo valor de Luminosidade (L^*) e vai de 0 (preto) a 100 (branco), coordenada a^* (que varia de verde se negativo a vermelho se positivo) e coordenada b^* (que varia de amarelo se positivo a azul se negativo) que são componentes cromáticos variando de -120 a +120 (LEÃO et al., 2007).

O modelo de cor CIEXYZ é baseado nas componentes X (vermelho), Y (verde) e Z (azul), onde os três valores especificam as quantidades dessas componentes para descrever uma cor do espectro de luz visível. O modelo CIEXYZ é o modelo gerado a partir das funções de matização de cores e a partir de fórmulas matemáticas é possível especificar uma cor em outros modelos conhecidos (LEITE, 2006).

O sistema de cor CMYK emprega as componentes ciano, magenta e amarelo, além do K representando a cor preta. Os valores associados a esse sistema variam de 0 a 100% para cada

componente, sendo que cada cor é gerada pela combinação de diferentes valores das componentes C, M, Y e K representando um sistema aditivo de cores assim como o RGB (FERNANDES et al., 2020).

Em sistemas de cor como YUV e YIQ, a componente Y (luma) é uma soma ponderada de R, G e B com correção gama (que transforma RGB linear em não linear R'G'B') baseada em sua contribuição para a luminosidade percebida. Os componentes da equação de luma ($Y = 0,299R' + 0,587G' + 0,114B'$) são baseados na sensibilidade da visão humana para cada uma das componentes de cor RGB, sendo uma aproximação da resposta de luminosidade da visão (POYNTON, 2012).

2.5 Uso de dispositivos móveis em análise química

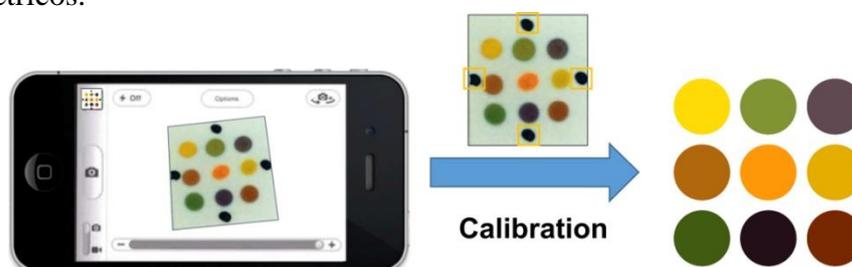
Vários estudos têm destacado as vantagens da utilização de smartphones para análise colorimétrica. Coutinho et al. (2017) utilizaram imagens digitais obtidas através de um smartphone para prever a concentração de ácido ascórbico (AA) em solução aquosa. Foram utilizadas soluções padrão de AA e suplementos de vitamina C comerciais. Os resultados obtidos foram satisfatórios (erros relativos < 4%) e diferenças não significativas com 95% de confiança entre o teor de AA estimado pelo método de imagem digital e os valores de referência, destacando ainda o curto tempo de análise, baixo custo, simplicidade e portabilidade da instrumentação utilizada.

Um estudo realizado por Souza et al. (2014) mostrou a viabilidade da utilização de uma câmera digital convencional, uma câmera de smartphone, um microscópio óptico e um scanner como dispositivo de captura de imagem de microzonas impressas para quantificar Fe^{2+} em amostras farmacêuticas. Os autores concluíram que os dados obtidos utilizando as imagens digitalizadas não diferiram estatisticamente dos dados obtidos pelo método espectrofotométrico.

Jia et al. (2015) propuseram uma nova abordagem de calibração de cores obtidas por uma câmera de smartphone para um arranjo de sensores colorimétricos. A calibração foi realizada com imagens tiradas por diferentes marcas de smartphones, sob diversas condições de luz ambiente e em diferentes distâncias ou ângulos de imagem. Essa calibração foi aplicada com sucesso na detecção de glicose na urina por um arranjo de sensores colorimétricos. As imagens foram capturadas por uma câmera de smartphone (Figura 5) e diferentes concentrações de glicose na urina foram bem discriminadas após uma análise de agrupamento hierárquico (HCA). O método de calibração simples tornou a câmera do smartphone um leitor portátil para

a determinação colorimétrica.

Figura 5 - Exemplo de câmera de smartphone sendo utilizada para captura de imagem de sensores colorimétricos.



Fonte: Jia et al. (2015).

Mathaweesansurn et al. (2017) utilizaram um smartphone com o auxílio de um aplicativo chamado “Albumin smart test” para quantificar albumina na urina. A reação entre a albumina e éster etílico de tetrabromofenoltaleína (TBPE) na presença de Triton X-100 foi utilizada como princípio de detecção. O aplicativo foi desenvolvido para capturar imagens de amostras de urina sem a utilização de aparato extra para controle da iluminação. Imagens da amostra foram capturadas por uma câmera de smartphone e processadas pelo aplicativo. O teste foi realizado à luz ambiente sem a necessidade de algum módulo integrado ao dispositivo para controle da iluminação. Além das vantagens de portabilidade, facilidade de implementação e análise rápida (3 min.), a determinação da albumina apresentou alta precisão ($RSD < 2,5\%$) e alta exatidão (Recuperação = $98,7\% \pm 1,6$). Além disso, o dispositivo móvel foi aplicado com sucesso ao diagnóstico de microalbumina.

Martinkova e Pohanka, (2016) desenvolveram um método utilizando a câmera integrada do smartphone para detectar a mudança de cor da reação entre enzimas imobilizadas por uma membrana de sol-gel em bolhas (glicose oxidase e peroxidase – enzimas necessárias para determinação colorimétrica de glicose) com substrato glicose e dicloridrato de o-fenilenodiamina (o-PD). A mudança de cor foi monitorada pela câmera do smartphone. A intensidade da cor foi expressa pelo modelo de cor RGB e os dados numéricos foram obtidos representando a concentração da glicose. O teste apresentou boa correlação de intensidade de cor com a concentração de glicose e baixo limite de detecção (750 mmol.L^{-1}) para a glicose no sangue. Além disso, o sensor foi considerado de baixo custo e simples para analisar os níveis de glicose no sangue com perspectivas promissoras no campo de dispositivos portáteis.

Essa praticidade e simplicidade da utilização de smartphones para análises colorimétricas também pode ser utilizada para demonstrar os princípios analíticos para

estudantes. Koesdjojo et al. (2015) desenvolveram um método simples e direto para fabricação de um dispositivo microfluidico que pode ser utilizado para vários testes colorimétricos. Através da utilização destes dispositivos e do uso de uma câmera de smartphone com um aplicativo de leitura de cores RGB para medir a intensidade da cor, esses testes colorimétricos podem ser realizados em poucos minutos. No experimento realizado, os alunos criaram seus próprios dispositivos microfluidicos com suprimentos de laboratório comuns e determinaram a concentração de Fe^{2+} e Cu^{2+} por colorimetria. Os alunos utilizaram seus próprios dispositivos portáteis para executar a análise usando a câmera do smartphone como leitor.

Masawat et al. (2016) fabricaram um colorímetro de imagem digital para determinação de ferro total em água. Um aplicativo para o dispositivo foi projetado utilizando a teoria da distância Euclidiana para determinar o teor de ferro. O aplicativo registra os componentes de cor armazenando valores de vermelho, verde e azul, além de calcular a matriz, a saturação, brilho e valores de cinza usando a teoria de cores padrão. Os valores obtidos a partir das imagens de soluções alaranjadas de ferro (II) com 1,10-fenatrolina foram coletados e utilizados para avaliar a concentração total de ferro em amostras de água. O colorímetro alcançou um limite de quantificação de $0,1 \text{ mg.Kg}^{-1}$. Os resultados demonstraram que o colorímetro foi promissor para esse tipo de análise, sendo que quando comparado com o método de referência não apresentou diferença estatística com um nível de confiança de 95%. Além disso, o dispositivo foi considerado de baixo custo, leve, fácil de operar, com baixo consumo de amostra e reagentes, baixa geração de resíduos, além de fornecer uma previsão rápida da concentração (1 segundo), podendo ser considerado um dispositivo analítico verde para medições locais.

Em geral, as análises por meio de imagens digitais geram um grande número de dados, que na maioria das vezes tem processamento difícil e demanda considerável tempo. Nesse cenário, o uso de ferramentas univariadas nem sempre é suficiente, sendo necessário aplicar métodos multivariados para tornar possível relacionar os dados das imagens com uma propriedade de interesse, uma vez que geralmente essas informações são de caráter multivariado e a inclusão de mais variáveis ao modelo pode tornar sua qualidade melhor (FERREIRA, 2015).

2.6 Calibração Multivariada

A quimiometria é um campo interdisciplinar que utiliza métodos estatísticos multivariados, matemáticos e da ciência computacional aplicada a dados químicos. É inserida em diversas áreas da química, mas é mais empregada na área de química analítica.

As principais subáreas da quimiometria são: planejamento e otimização de experimentos, reconhecimento de padrões (análise exploratória e classificação) e calibração multivariada (NETO et al., 2006).

A calibração multivariada visa a construção de modelos quantitativos a partir de múltiplas variáveis descritoras. Nesses modelos são relacionados dois conjuntos de dados: um que representa a matriz X , que são variáveis independentes, e o outro que representa o vetor y de variáveis dependentes. O conjunto de variáveis dependentes é composto normalmente por medidas instrumentais, enquanto que o outro conjunto são valores de propriedades de interesse das amostras (FERREIRA, 2015).

Comumente o processo de calibração multivariada consiste basicamente de três fases: calibração, validação e previsão. Na etapa de calibração são construídos os modelos matemáticos, na validação é avaliado se o modelo é satisfatório para determinar as propriedades de interesse e na etapa de previsão a habilidade do modelo é avaliada com amostras externas ao grupo utilizado na etapa de calibração, ou até mesmo novas amostras (BRAGA & POPPI, 2004).

Diversos métodos clássicos de calibração são utilizados, como, por exemplo, Regressão Linear Múltipla (MLR – Multiple Linear Regression) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS – Partial Least Squares).

O MLR é um dos métodos mais simples dentre os métodos de calibração multivariada. Os parâmetros assumem uma relação linear entre cada variável dependente do vetor y com as variáveis independentes da matriz X (Equação 1) (NAES et al., 2002).

$$Y = Xb + e \quad (1)$$

sendo y o parâmetro de interesse; X a matriz com respostas instrumentais; b o vetor dos coeficientes lineares de regressão e “ e ” o vetor dos resíduos.

O coeficiente b é determinado por “mínimos quadrados” durante a etapa de calibração, através da Equação 2:

$$b = (X^T X)^{-1} X^T y \quad (2)$$

Nesse modelo é necessário que o número de variáveis seja igual ou menor que o número de amostras. Por isso ele é apropriado para casos onde o número de variáveis independentes é relativamente pequeno (FERREIRA, 2015), como os modelos baseados em componentes de sistemas de cor.

Outros métodos de calibração baseados em aprendizagem também são usados em calibração multivariada, como por exemplo, Redes Neurais Artificiais e Máquinas de Vetor Suporte, os quais, em geral, têm melhor desempenho que os métodos clássicos (BORIN et al., 2006; FERRÃO et al., 2007; NIAZI, GOODARZI & YAZDANIPOUR, 2008; HERNÁNDEZ-SANCHES et al., 2012; WAKHOLI et al., 2017).

O algoritmo Máquinas de Vetor Suporte (SVM – Support Vector Machine) é uma das técnicas de aprendizado de máquina supervisionado desenvolvido por Vapnik (1998) e é uma poderosa ferramenta usada na solução de problemas de classificação e modelagem. O principal desafio desse método é encontrar o modelo final, que é computacionalmente difícil, sendo necessária a solução de um conjunto de equações não lineares de alta complexidade matemática, além de requerer um tempo relativamente alto (WANG & HU, 2005). Comparado com redes neurais, SVM tem a vantagem de trabalhar com um modelo global que é capaz de lidar com vetores de entrada de altas dimensões.

O SVM para regressão é geralmente chamado SVR (Support Vector Regression) e busca encontrar uma relação entre os regressores X e a variável dependente y . A função de custo, que é minimizada para obter o melhor modelo de regressão, consiste em penalizar os coeficientes de regressão. Através dessa função de custo, o objetivo é minimizar o tamanho dos coeficientes (grandes coeficientes dificultam a generalização devido à tendência de causar variação excessiva) e os erros de previsão (BALABIN & LOMAKINA, 2011).

Uma forma de simplificar esse método foi a modificação proposta por Suykens e Vanderwalle (1999) que resultou nas Máquinas de Vetor Suporte por Mínimos Quadrados (LS-SVM), as quais são capazes de tratar de modo relativamente rápido problemas de regressão lineares ou não lineares, podendo ser aplicadas tanto na classificação quanto na regressão. Isso se deve ao fato de usarem um sistema de equações lineares e a função de custo por mínimos quadrados. Sendo assim, as LS-SVMs apresentam um menor custo computacional em relação às SVMs sem perda na qualidade (WANG & HU, 2005; VALYON & HORVÁTH, 2006). Assim, as LS-SVM são capazes de resolver problemas de calibração de forma mais rápida em comparação com ANN (Redes Neurais Artificiais) (BALABIN & LOMAKINA, 2011).

A teoria das LS-SVM é muito próxima a do SVR, mas nesse caso a soma dos quadrados dos erros é minimizada, sendo essa uma característica do método de mínimos quadrados que torna o modelo mais preciso e computacionalmente mais simples (BALABIN & LOMAKINA, 2011). Nas LS-SVMs todos os dados usados na fase de treinamento são considerados vetores suporte. O algoritmo sempre ajusta uma relação linear ($y = wx + b$) entre os descritores (x) e a variável dependente (y), onde a melhor relação é a que minimiza a função de custo contendo um erro de regressão penalizado (NIAZI, GOODARZI & YAZDANIPOUR, 2008).

Ao aplicar SVM ou LS-SVM é importante pensar em três problemas que precisam ser resolvidos para obter uma boa performance do modelo de regressão: a determinação do subconjunto de entrada ideal, a função kernel adequada e os melhores parâmetros de kernel (WU et al., 2008).

A relação entre o dado de entrada e a propriedade de saída a ser modelada é representada por uma função denominada Kernel, que na etapa inicial da LS-SVM transforma o espaço de entrada em um espaço de características de alta dimensão, sendo que a solução do problema pode ser representada como um problema linear. As funções de kernel permitem realizar a regressão não linear de forma eficiente. Quando utilizado um kernel RBF (Radial Basis Function – Função de Base Radial) ou polinomial, os parâmetros σ e σ^2 devem ser otimizados e essa otimização pode ser feita, por exemplo, por meio de procedimentos automáticos como validação cruzada (BALABIN & LOMAKINA, 2011).

A implementação de SVM requer três parâmetros de ajuste (γ , ε e σ) enquanto o LS-SVM requer apenas dois (γ e σ). O parâmetro γ minimiza o erro de treinamento e a complexidade do modelo e o parâmetro σ^2 define o mapeamento não linear do espaço de entrada para espaços de alta dimensão (LIU et al., 2016). Uma desvantagem de ambos os métodos é que o tempo de treinamento aumenta com o quadrado do número de amostras de treinamento e linearmente com o número de variáveis (LENTKA et al., 2015).

Um trabalho realizado por Ferrão e colaboradores (2007) mostrou que as LS-SVM são excelentes alternativas aos métodos de regressão comumente utilizados, tendo sido usadas com eficiência para detectar adulteração em amostras de leite em pó usando espectros de NIR. Chauchard e colaboradores (2004) compararam o desempenho de LS-SVM com métodos clássicos de regressão, como por exemplo, PLS e MLR para prever a acidez total de uvas. As LS-SVM se mostraram mais robustas que os métodos clássicos, sendo uma ferramenta interessante para a Quimiometria na área de predição quantitativa.

2.7 Transferência de Calibração

A construção de modelos de calibração multivariada tem sido muito empregada em diversas áreas da ciência, permitindo a realização de análises de forma rápida e simples. Porém esses modelos possuem limitações. Por exemplo, quando há necessidade de fazer predições em amostras analisadas em condições diferentes daquelas usadas na construção do modelo (ELIAERTS et al., 2020). Além disso, a construção de modelos robustos requer um grande número de amostras que seja representativo. Entretanto, nem sempre é possível construir um banco de dados que represente todas as amostras existentes.

Situações como a utilização de um equipamento para predizer propriedades de amostras a partir de um modelo construído em outro equipamento ou até mesmo a realização de análises onde há diferentes fontes de variação, como efeito de iluminação, fazem com que um modelo não possa ser usado ou que produza grandes erros na predição de novas amostras (FEUDALE et al., 2002). Sendo assim, é viável a obtenção de um método que possa ser utilizado sem a necessidade de construir um modelo de calibração para cada equipamento ou que precise de uma nova modelagem.

Uma alternativa é fazer uma calibração robusta ou modelo global, onde um modelo é construído com a inclusão de todas as possíveis variações que possam ser consideradas fonte de erro durante análises futuras. Porém, esse método possui a desvantagem de não ser possível prever todos os tipos de variações possivelmente existentes, além da enorme quantidade de amostras necessária para construir esse modelo (FEUDALE et al., 2002).

Essas limitações podem ser contornadas através de uma transferência de calibração, que permite a aplicação do modelo em amostras sob diferentes condições ou analisadas em instrumento diferente sem a necessidade de uma remodelagem que muitas vezes demanda tempo e requer um grande número de amostras. A transferência de calibração envolve procedimentos matemáticos capazes de corrigir a resposta instrumental obtida em um instrumento a fim de deixar essa resposta compatível com o modelo de calibração desenvolvido em outro instrumento (SALGUERO-CHAPARRO et al., 2013).

Existem diversos tipos de transferência citados na literatura. Dentre eles, o PDS – padronização direta por partes (Piecewise Direct Standardization) tem sido muito aplicado. Esse método foi criado pra espectroscopia de infravermelho e correlaciona a intensidade de um comprimento de onda com uma parte do espectro registrado em outro instrumento. Este método também tem sido usado em eletroquímica (KHAYDUKOVA et al., 2017).

Além do PDS, outras técnicas de padronização vêm sendo aplicadas para a transferência

de calibração na química analítica, como por exemplo, DS – padronização direta (Direct standardization) e SWS – padronização de comprimento de onda único (Single wavelength standardization), algoritmo de Shenk, correção de desvio-inclinação (Slope-bias correction – SBC), entre outras (SHI, LI & CHU, 2019).

Grande parte desses métodos é voltada para espectroscopia de infravermelho, onde a correção é feita nos espectros para fazer com que o espectro do equipamento secundário fique o mais semelhante possível ao espectro do instrumento primário, podendo então o modelo primário ser aplicado a ele, como é o caso do DS, PDS e algoritmo de Shenk. Além da aplicação em NIR, a transferência de calibração vem sendo empregada também em métodos de UV-Vis, espectroscopia de fluorescência e Raman, e eletroquímica (FEUDALE et al., 2002).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostragem

As análises foram realizadas com azeites virgens de oliva e abacate de diferentes variedades, bem como misturas entre eles e óleo de soja refinado (Cocamar) para obter uma faixa mais ampla do teor de clorofilas e carotenoides, resultando em 46 amostras (ANEXO A) com diferentes teores desses pigmentos. As amostras foram analisadas em triplicata, totalizando em 138 observações. Todas as amostras foram armazenadas em recipientes de plástico protegidos da luz com papel alumínio e sob refrigeração até a realização das análises.

Inicialmente foi utilizado o método espectrofotométrico para obtenção dos valores de referência para construção dos modelos quimiométricos, uma vez que esse método é o convencional para quantificação do teor de clorofilas e carotenoides totais.

3.2 Determinação de clorofilas e carotenoides totais por espectrofotometria

O método oficial AOCS (1998) Cc 13i-96 foi utilizado para determinar clorofilas totais (TCl) nas amostras de azeite. A absorbância dos azeites foi medida em três comprimentos de onda diferentes, 630, 670 e 710 nm, em uma cubeta de vidro de 1,0 cm em um espectrofotômetro (Spectro 500 Visible). O teor total de pigmentos relacionados à clorofila foi calculado utilizando a equação 3:

$$TCl(mg.kg^{-1}) = [A_{670} - 0,5(A_{630} + A_{710})].(0,0964.C)^{-1} \quad (3)$$

onde A é a absorvância da amostra nos comprimentos de onda específicos e C é o caminho óptico em cm.

Os carotenoides totais (TCa) presentes nas amostras de azeite foram calculados de acordo com o procedimento descrito por Mba e colaboradores (2017). A absorvância de 0,5 g de amostra diluída em 2 mL de hexano foi medida a 445 nm em um espectrofotômetro (Spectro 500 Visible) usando cubeta de vidro e hexano como branco. O total de carotenoides (TCa) foi calculado utilizando a equação 4:

$$TCa = \frac{A_S * Y * 10^6}{2500 * W_S * 1000} \quad (4)$$

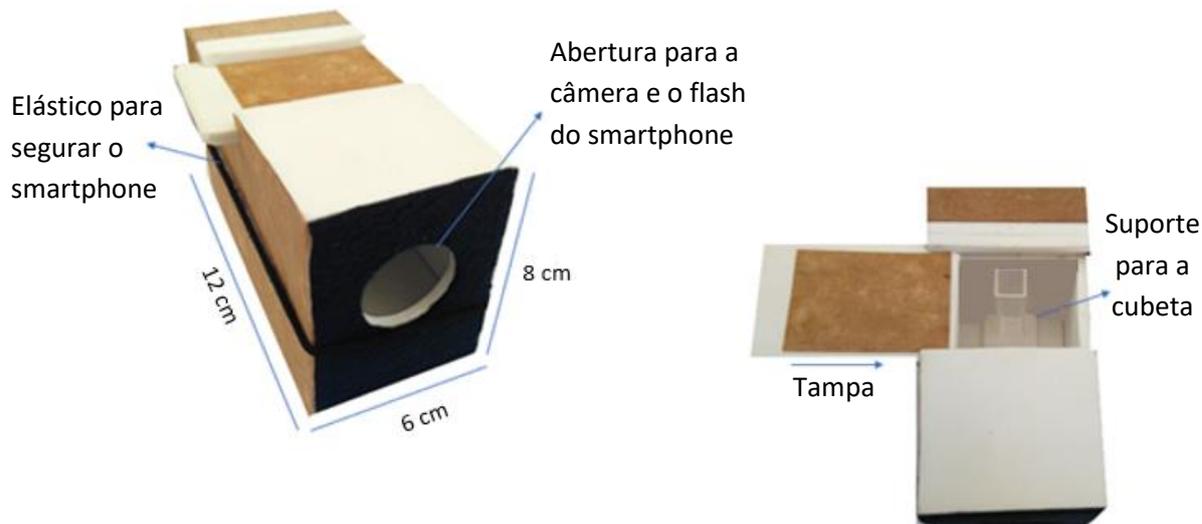
onde A_S é a absorvância da amostra em 445 nm; Y é o volume (mL) de hexano e W_S é a massa da amostra (g).

3.3 Obtenção e processamento das imagens digitais

As imagens foram obtidas utilizando um smartphone (Samsung J2 Prime) com câmera de 8MP, resolução de 720 x 1280 pixels e com flash de LED. Para obtenção das imagens e dos valores tonais do sistema de cor RGB foi utilizado o aplicativo gratuito Photometrix (HELPER et al., 2017). As imagens das amostras foram obtidas em triplicata e em um ambiente de luz controlada. A configuração da câmera do smartphone e do aplicativo foram as mesmas para todas as fotos tiradas para que houvesse uma padronização das imagens.

Para controlar a iluminação para obtenção das imagens digitais, foi desenvolvido um aparato (Figura 6) com dimensões 6 cm x 12 cm x 8 cm (largura x comprimento x altura). O aparato foi construído com EVA (Ethylene Vinyl Acetate), que é um material fosco, não afetando o reflexo do flash. O aparato foi coberto externamente com papel cartão para evitar a entrada de luz externa, de modo que a amostra fosse iluminada apenas pelo flash do smartphone. A tampa foi removível para facilitar a troca das amostras entre as análises.

Figura 6 - Aparato desenvolvido para aquisição das imagens digitais sem interferência de iluminação externa.



Fonte: Do autor (2021).

Um suporte de EVA também foi colocado no interior da caixa para que a cubeta com amostra pudesse ser encaixada, bem como um elástico fixado na parte externa para acomodação do smartphone, além de um orifício com cerca de 2 cm de diâmetro alinhado com a câmera do smartphone e com o suporte da amostra. A aquisição das imagens foi realizada utilizando cubeta de vidro de 1,0 cm. A distância entre a câmera do smartphone e a face frontal da cubeta foi de 8,5 cm. A informação de cor usada nos modelos foi obtida a partir da média de uma região de interesse de 32 x 32 pixels.

3.4 Construção e validação dos modelos

Os modelos de predição foram construídos a partir dos dados obtidos das imagens digitais (X), os quais foram calibrados contra os teores de clorofilas e carotenoides obtidos por análise espectrofotométrica (y). A fim de avaliar o efeito do sistema de cor na qualidade dos modelos, os dados das imagens foram expressos em RGB, luma ($Y = 0,299R + 0,587G + 0,114B$), HSV, CMYK, Lab e XYZ, que foram obtidos por conversão a partir dos valores originais de RGB usando a ferramenta on-line disponível no site *colorizer.org*. Dois métodos de calibração também foram avaliados: Regressão Linear Múltipla (Multiple Linear Regression – MLR) e Máquinas de Vetor Suporte por Mínimos Quadrados (Least Square - Support Vector Machine – LS-SVM).

O conjunto de dados foi dividido em dois grupos: conjunto de calibração (75%, 104

observações) e de teste (25%, 34 observações). O algoritmo Kennard-Stone (KENNARD & STONE, 1969) foi usado para separar as amostras em grupo de calibração e grupo teste. O grupo teste foi usado para validar os modelos desenvolvidos, uma vez que essas amostras não participaram do processo de calibração. O desempenho dos modelos foi avaliado com base no RMSE (Raiz quadrada do erro médio) (Equação 5) e R^2 (Coeficiente de determinação) (Equação 6) para calibração, validação e teste:

$$RMSE = \sqrt{\sum_i \frac{(y_i - \hat{y}_i)^2}{M}} \quad (5)$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_i (y_i - \bar{y})^2} \quad (6)$$

onde y_i é a resposta experimental, \hat{y}_i é o valor estimado pelo modelo, \bar{y} é a resposta experimental média e M é o número de amostras.

Para evitar que amostras anômalas influenciassem de forma inadequada no desempenho dos modelos construídos, realizou-se sua detecção e retirada através da análise dos seus *leverages* (Equação 7) e Resíduos de *Student* (Equação 8) com limite de $\pm 2,5$:

$$h = \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum (x - \bar{x})^2} \quad h_{crit} = \frac{3k}{n} \quad (7)$$

$$res_y = \frac{\sum (y - y_i)^2 - \frac{(y - y_i)^2}{1-h}}{n-p-1} \quad res_{student} = \frac{y - y_i}{\sqrt{res_y \cdot (1-h)}} \quad (8)$$

em que k (e p) é o número de parâmetros do modelo, n é o número de amostras, h é o *leverage*, y_i é o i -ésimo elemento do vetor de respostas experimentais e \hat{y}_i é o i -ésimo elemento do vetor de valores estimados pelo modelo. A detecção de outliers foi aplicada antes de cada etapa de calibração, teste e predição.

A validação cruzada foi realizada por *Leave-one-out*, ou seja, um modelo é obtido com $n-1$ dados e é avaliado utilizando a observação que ficou de fora. Esse processo é repetido n vezes, excluindo cada vez uma observação e calculando o erro de previsão para a observação retirada. Por fim é calculado o RMSE.

Além disso, um teste de randomização de y foi realizado para avaliar indícios de sobreajuste ou casualidade de ajuste do modelo (avaliando estatisticamente o RMSE e R^2). Esse teste consiste em várias modelagens, onde a matriz original (descritores X) é mantida fixa e somente o vetor y é embaralhado. Os modelos obtidos sob tais condições devem ser de baixa qualidade e sem significado real (ROY et al., 2009). A fim de dar uma ideia sobre a diferença estatística entre R^2 de calibração (R^2_{cal}) e R^2 sob a randomização de y (R^2_{rand}), o parâmetro ${}^cR^2_p$ foi calculado de acordo com a Equação 9 (MITRA et al., 2010). Um ${}^cR^2_p > 0,5$ indica uma diferença válida entre R^2_{cal} e R^2_{rand} (MITRA et al., 2010).

$${}^cR^2_p = R_{cal} (R^2_{cal} - R^2_{rand})^{1/2} \quad (9)$$

O parâmetro estatístico adicional R^2_m (Equação 10) também foi usado para validação (MITRA et al., 2010). O parâmetro R^2_m é usado para garantir que não apenas um bom coeficiente de correlação na validação externa tenha sido alcançado, mas também que os valores absolutos reais e preditos são congruentes. Então R^2_m dá uma visão da inclinação da curva entre os valores experimentais e previstos. Um $R^2_m > 0,5$ é considerado aceitável.

$$R^2_m = R^2 [1 - (R^2 - R^2_0)^{1/2}] \quad (10)$$

onde R^2 e R^2_0 correspondem ao coeficiente de correlação quadrática entre os valores observados e preditos para o conjunto de teste com e sem interceptação, respectivamente.

Os modelos para o teor de clorofilas e carotenoides foram avaliados individualmente. Os procedimentos para MLR foram realizados usando o programa Chemoface versão 1.64 (NUNES et al., 2012). Os procedimentos de LS-SVM foram realizados usando o GNU Octave versão 5.2.0 (EATON et al., 2019) e o LS-SVMlab Toolbox versão 1.8 (PELCKMANS et al., 2002). Os modelos LS-SVM foram do tipo “estimativa de função” e a função kernel foi de base radial. Os parâmetros de ajuste dos modelos foram ajustados automaticamente. Parâmetros adicionais foram usados nos padrões pré-definidos pelos desenvolvedores.

3.5 Transferência de calibração

Com o objetivo de obter um modelo que fosse capaz de prever o teor de clorofilas e carotenoides em azeites analisados sob condições diferentes das que foram usadas na construção do modelo original, tais como utilização de outro smartphone e aquisição das

imagens digitais com outro tipo de iluminação, foi proposto um método de transferência de calibração.

Foram analisadas quatro condições usando dois smartphones (Samsung J2 Prime e Motorola Moto G4 Play), com suas características apresentadas no ANEXO B, e duas condições de iluminação (com a tampa do aparato aberta e fechada). A condição escolhida de forma aleatória como primária foi a do smartphone Samsung sem interferência de iluminação externa (tampa do aparato fechada), chamada de Samsung/Caixa Fechada (SCF). As condições secundárias foram denominadas Samsung/Caixa Aberta (SCA), Motorola/Caixa Fechada (MCF) e Motorola/Caixa Aberta (MCA).

Para realizar os ajustes no processo de transferência de calibração, foi preparada uma solução aquosa de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ na concentração de $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$, a qual tem uma coloração amarelada. As imagens foram obtidas da mesma forma que para os azeites como descrito no item 4.3, e também em triplicata. Os dados obtidos das imagens das soluções foram analisados como se segue, tendo a componente R do sistema de cor RGB como exemplo:

Passo 1: Subtração dos valores das componentes do sistema primário SCF dos valores das componentes dos sistemas secundários (SCA, MCF e MCA) para a solução de FeCl_3 $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$.

$$R_{0,2}^{Fe} = R_{0,2}^{Fe}{}_{sec} - R_{0,2}^{Fe}{}_{pri} \quad (11)$$

onde $R_{0,2}^{Fe}{}_{sec}$ é o valor da componente R da solução de FeCl_3 para a condição secundária; $R_{0,2}^{Fe}{}_{pri}$ para a condição primária; $R_{0,2}^{Fe}$ é o valor da componente R para a solução de FeCl_3 com a concentração de $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ depois da subtração.

Passo 2: Os fatores de correção ($R_{0,2}^{Fe}$, $G_{0,2}^{Fe}$ e $B_{0,2}^{Fe}$) foram então usados para corrigir os valores de RGB obtidos das imagens dos azeites por meio de subtração:

$$R_{corrigido} = R_{sec}^{az} - R_{0,2}^{Fe} \quad (12)$$

onde $R_{corrigido}$ é o valor da componente R após a correção com a solução de FeCl_3 ; R_{sec}^{az} é o valor da componente R da condição secundária para o azeite.

Passo 3: Os valores de RGB corrigidos (ou os valores de outros sistemas de cores obtidos a partir de RGB corrigido) foram usados como entrada (X) nos modelos para clorofilas e carotenoides totais.

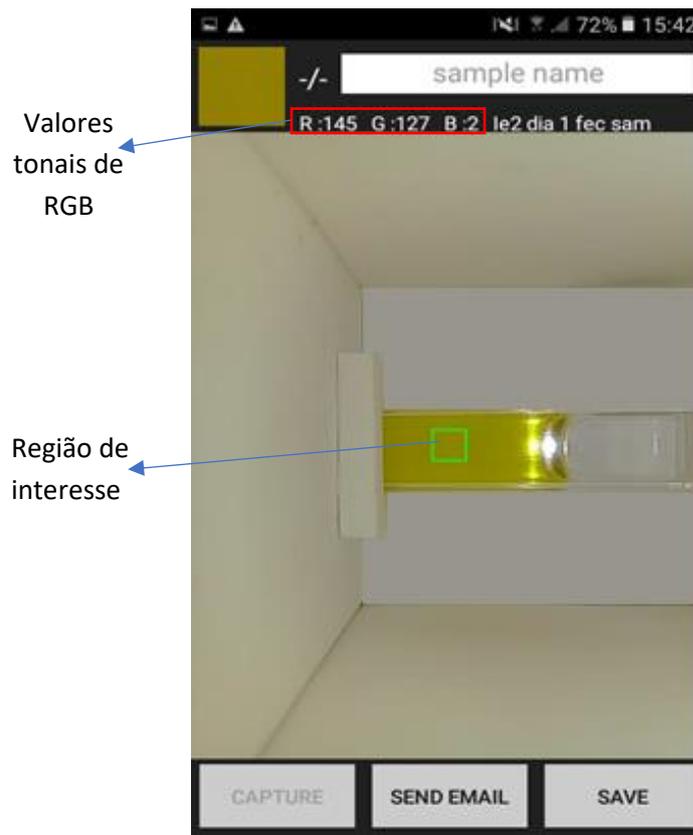
Os procedimentos descritos acima foram aplicados às demais componentes (G e B) e para todas as condições secundárias (SCA, MCF e MCA). Os valores corrigidos de RGB também foram convertidos para os demais sistemas de cor analisados (Y, HSV, CMYK, Lab e XYZ). A avaliação da efetividade do método proposto foi feita por meio da análise do RMSE e do R^2 de predição.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Construção dos modelos de calibração

Os azeites de oliva e abacate usados neste trabalho apresentaram uma ampla faixa para os teores de clorofila (1,86 a 16,16 mg.Kg⁻¹) e carotenoides (0,2 a 2,39 mg.Kg⁻¹), os quais foram determinados espectrofotometricamente. A Figura 7 mostra a imagem de uma amostra obtida utilizando o aplicativo Photometrix e seus valores de RGB da região de interesse com iluminação feita apenas pelo flash do smartphone. O processo de obtenção de uma imagem digital é simples, porém um grande problema que pode causar erros envolve variações de iluminação. Assim é importante manter o controle de luz sobre a amostra para melhorar a precisão e a exatidão das análises colorimétricas (FERNANDES et al., 2020).

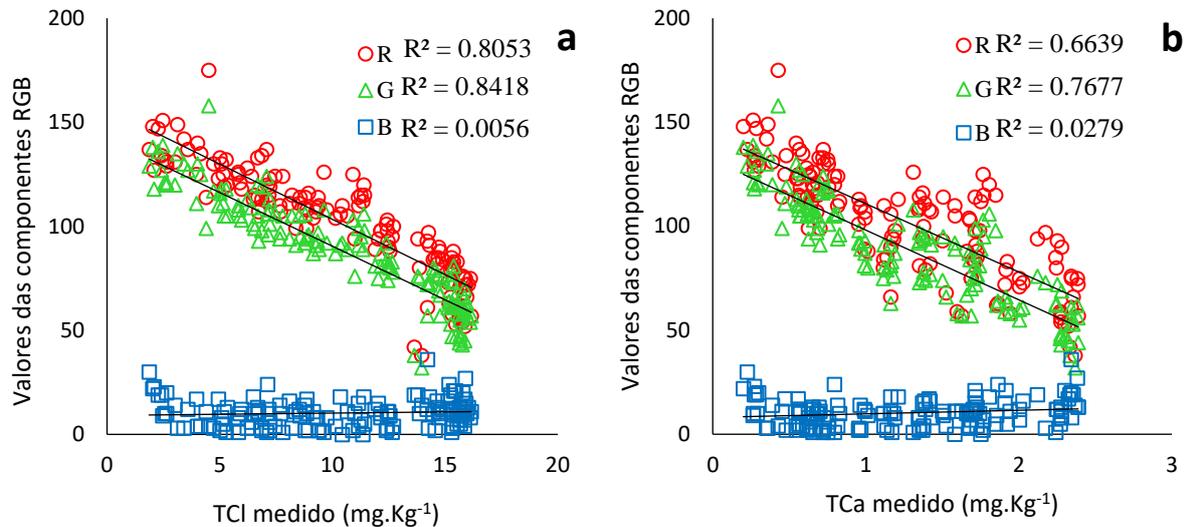
Figura 7 - Captura de tela da imagem obtida pelo aplicativo Photometrix.



Fonte: Do autor (2021).

Antes da construção dos modelos, buscou-se analisar a relação entre as componentes do sistema de cor e os teores de clorofilas e carotenoides. Assim, as Figuras 8 (a) e (b) evidenciaram uma relação entre as componentes do sistema de cor RGB e os teores dos pigmentos. Essa correlação foi observada para as componentes R e G, cujos valores tiveram uma diminuição com o aumento dos teores de clorofila ou carotenoides. Este tipo de comportamento não foi observado para a componente B, que se manteve praticamente constante. Uma relação similar também foi encontrada por Song e colaboradores (2020) ao estudarem o teor de clorofilas em folhas de trigo utilizando imagens digitais. Em um estudo realizado por Fernandes et al. (2013) foram analisadas misturas de azeites de oliva e óleo de soja refinado empregando imagens digitais, bem como espectros UV-Vis, para obter modelos que pudessem prever o teor dessas misturas a fim de identificar possíveis adulterações. Eles observaram que R e G foram os componentes de cor que melhor descreveram o teor de azeite nas misturas.

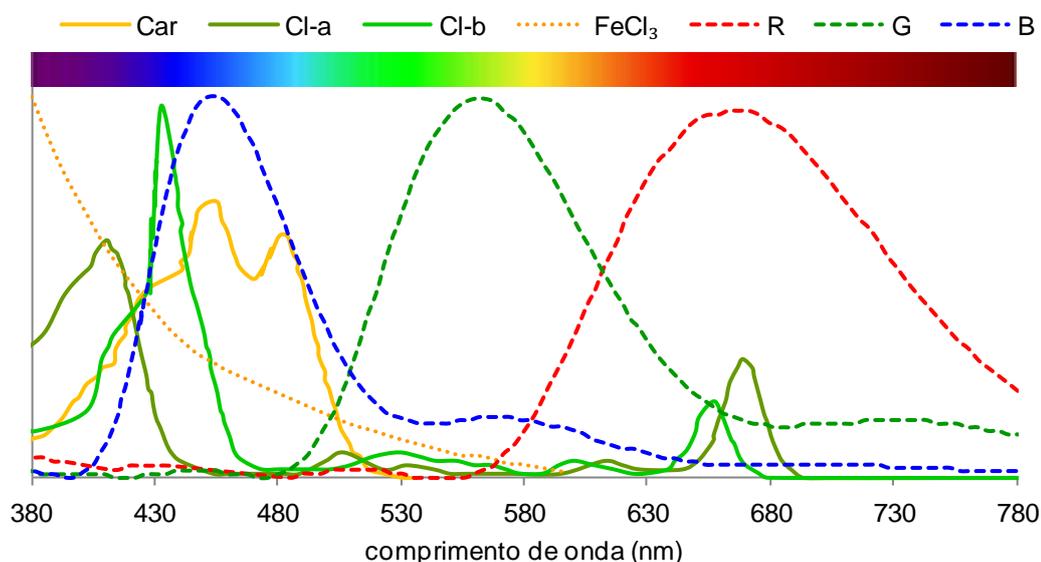
Figura 8 - Relação entre as componentes do sistema de cor RGB com os teores de clorofilas (TCl) e carotenoides (TCa) em azeites.



Fonte: Do autor (2021).

Isso pode ser explicado através dos espectros de absorção na região do visível (Figura 9) para os pigmentos e dos comprimentos de onda associados aos componentes do sistema RGB. O espectro de absorção das clorofilas e dos carotenoides coincide com a faixa espectral da componente B. Embora haja uma absorção de menor intensidade desses pigmentos na região entre 640 e 680 nm, praticamente não há absorção na região entre aproximadamente 500 e 640 nm, a qual coincide com a faixa espectral das componentes R e G. Como as medidas são baseadas na radiação refletida pela amostra, a qual captada pela câmera do smartphone, a intensidade da componente B é baixa, ao contrário das componentes R e G. Isso também explica a cor enxergada para esses pigmentos. Como as clorofilas absorvem radiação na região do azul e um pouco no vermelho, a cor refletida e que enxergamos é o verde. Já para carotenoides, a absorção ocorre na região do azul e um pouco do verde, refletindo a região do amarelo e vermelho que são as cores desses pigmentos.

Figura 9 – Espectro de absorção dos pigmentos clorofila a, clorofila b e carotenoides, das componentes do sistema de cor RGB e da solução de FeCl_3 .



Fonte: Adaptado de Xiaoqian et al., 2012; Domenici et al., 2014; Jin et al., 2017.

Uma vez que foi detectada alguma correlação entre as informações de cor dos azeites com os teores dos pigmentos, buscou-se desenvolver modelos de calibração capazes de estimar clorofilas e carotenoides totais em azeites de oliva e abacate usando as imagens digitais obtidas com smartphone. A eficiência de diferentes sistemas de cor e de métodos de calibração para descrever os teores dos pigmentos nos azeites foi avaliada. Para isso, os valores das componentes dos sistemas de cor RGB, Y, HSV, CMYK, Lab e XYZ foram usados como descritores para construção de modelos usando MLR (ou Regressão Linear para os modelos baseados em Y) e LS-SVM.

Os modelos apresentaram bons desempenhos, sendo que os modelos construídos usando LS-SVM tiveram capacidades preditivas maiores que os modelos obtidos por MLR para ambos os pigmentos. Isso era esperado, uma vez que LS-SVMs são reformulações para as máquinas de vetor de suporte padrão para as quais a superioridade sobre outras regressões ou métodos de classificação é amplamente relatada, incluindo modelagens em métodos para análise de alimentos (ROCHA et al., 2020). Um estudo realizado por Niazi, Goodarzi e Yazdanipour (2008) comparou o uso de PLS (Partial Least Squares – Mínimos Quadrados Parciais) e LS-SVM na determinação espectrofotométrica simultânea de cipermetrina, permetrina e tetrametrina. A LS-SVM apresentou melhor desempenho que o PLS, o que também foi observado por Zhang et al., (2012) ao usarem espectroscopia Raman associada à métodos multivariados (LS-SVM, ANN e PLS) para determinar adulteração em azeites de oliva. Eles observaram que os modelos obtidos usando LS-SVM apresentaram melhor desempenho que

ANN e PLS. Sanaeifar e colaboradores (2018) analisaram índices de qualidade de azeites por meio de espectroscopia dielétrica e visão computacional durante o armazenamento. Foram usados diferentes métodos de Machine Learning como ANN, SVM, BN (Bayesian network – Redes bayesianas) e MLR. Os melhores resultados foram obtidos para os modelos SVM com kernel de base radial para clorofilas, com R^2 igual a 0,976. Para carotenoides o melhor modelo foi obtido também com SVM mas usando kernel polinomial, com R^2 igual a 0,969.

Os valores de R^2 obtidos na etapa de calibração variaram entre 0,96 e 0,98 para os modelos de clorofila usando LS-SVM e entre 0,87 e 0,92 usando MLR. Para carotenoides esses valores variaram de 0,73 a 0,89 para os modelos usando LS-SVM e de 0,73 a 0,84 usando MLR (Tabelas 1 e 2). Da mesma forma, o RMSE de calibração para modelos LS-SVM (0,63 - 0,88 mg.Kg⁻¹ para clorofilas e 0,21 - 0,33 mg.Kg⁻¹ para carotenoides) foram menores do que para modelos MLR (1,22 - 1,49 mg.Kg⁻¹ para clorofilas e 0,24 - 0,33 mg.Kg⁻¹ para carotenoides). O RMSE e R^2 para validação cruzada foram próximos aos obtidos na etapa de calibração.

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade para modelos de predição do teor de clorofilas em azeites de oliva e abacate com base em dados de imagens digitais usando modelagem por MLR e LS-SVM.

| | | MLR | | | | | | LS-SVM | | | | | |
|-------------------|--|------|------|------|------|------|------|--------|------|------|------|------|------|
| | | RGB | Y | HSV | CMYK | Lab | XYZ | RGB | Y | HSV | CMYK | Lab | XYZ |
| Calibração | RMSE | 1,36 | 1,49 | 1,22 | 1,24 | 1,32 | 1,42 | 0,64 | 0,88 | 0,81 | 0,78 | 0,63 | 0,63 |
| | R ² | 0,90 | 0,87 | 0,92 | 0,91 | 0,91 | 0,88 | 0,98 | 0,96 | 0,96 | 0,97 | 0,98 | 0,98 |
| | n | 101 | 101 | 99 | 99 | 101 | 103 | 93 | 94 | 96 | 96 | 91 | 93 |
| Randomização de y | RMSE | 5,91 | 5,18 | 5,88 | 6,00 | 5,87 | 5,49 | 2,37 | 3,90 | 3,28 | 3,12 | 3,00 | 3,37 |
| | R ² | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,55 | 0,27 | 0,47 | 0,41 | 0,47 | 0,43 |
| | ^c R _p ² | 0,89 | 0,87 | 0,91 | 0,91 | 0,90 | 0,88 | 0,65 | 0,81 | 0,69 | 0,74 | 0,71 | 0,73 |
| Validação cruzada | RMSE | 1,41 | 1,52 | 1,27 | 1,29 | 1,38 | 1,48 | 0,87 | 0,95 | 0,98 | 0,92 | 0,76 | 0,81 |
| | R ² | 0,89 | 0,87 | 0,91 | 0,91 | 0,90 | 0,87 | 0,96 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,97 | 0,96 |
| Teste | RMSE | 1,51 | 1,41 | 2,10 | 2,23 | 1,97 | 1,86 | 0,60 | 0,80 | 0,95 | 0,93 | 0,80 | 1,05 |
| | R ² | 0,93 | 0,92 | 0,85 | 0,83 | 0,85 | 0,89 | 0,99 | 0,97 | 0,96 | 0,97 | 0,97 | 0,96 |
| | R ² _m | 0,89 | 0,90 | 0,81 | 0,79 | 0,82 | 0,84 | 0,99 | 0,92 | 0,92 | 0,94 | 0,95 | 0,85 |
| | n | 31 | 31 | 32 | 33 | 32 | 33 | 29 | 25 | 34 | 33 | 31 | 30 |

n: total - outliers, RMSE em mg.kg⁻¹

Fonte: Do autor (2021).

Tabela 2 - Parâmetros de qualidade para os modelos de predição do teor de carotenoides em azeites de oliva e abacate com base em dados de imagens digitais usando modelagem por MLR e LS-SVM.

| | | MLR | | | | | | LS-SVM | | | | | |
|-------------------|------------------------------|------|------|------|------|------|------|--------|------|------|------|------|------|
| | | RGB | Y | HSV | CMYK | Lab | XYZ | RGB | Y | HSV | CMYK | Lab | XYZ |
| Calibração | RMSE | 0,26 | 0,33 | 0,26 | 0,26 | 0,24 | 0,30 | 0,23 | 0,33 | 0,24 | 0,24 | 0,23 | 0,21 |
| | R ² | 0,82 | 0,73 | 0,80 | 0,82 | 0,84 | 0,77 | 0,86 | 0,73 | 0,83 | 0,84 | 0,86 | 0,89 |
| | n | 102 | 101 | 100 | 100 | 102 | 104 | 100 | 101 | 101 | 101 | 102 | 100 |
| Randomização de y | RMSE | 0,83 | 0,84 | 0,79 | 0,84 | 0,85 | 0,85 | 0,47 | 0,59 | 0,47 | 0,47 | 0,39 | 0,55 |
| | R ² | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,33 | 0,26 | 0,32 | 0,47 | 0,51 | 0,34 |
| | °R _p ² | 0,81 | 0,72 | 0,79 | 0,81 | 0,84 | 0,77 | 0,67 | 0,59 | 0,65 | 0,56 | 0,55 | 0,70 |
| Validação cruzada | RMSE | 0,27 | 0,34 | 0,27 | 0,27 | 0,25 | 0,31 | 0,25 | 0,37 | 0,26 | 0,26 | 0,25 | 0,23 |
| | R ² | 0,80 | 0,72 | 0,78 | 0,80 | 0,83 | 0,75 | 0,83 | 0,67 | 0,80 | 0,81 | 0,84 | 0,87 |
| Teste | RMSE | 0,30 | 0,22 | 0,19 | 0,31 | 0,32 | 0,36 | 0,20 | 0,20 | 0,16 | 0,18 | 0,19 | 0,23 |
| | R ² | 0,88 | 0,93 | 0,94 | 0,87 | 0,85 | 0,81 | 0,93 | 0,93 | 0,96 | 0,95 | 0,94 | 0,89 |
| | R _m ² | 0,86 | 0,90 | 0,89 | 0,86 | 0,84 | 0,76 | 0,86 | 0,93 | 0,90 | 0,89 | 0,87 | 0,78 |
| | n | 33 | 32 | 30 | 34 | 34 | 33 | 33 | 32 | 34 | 34 | 31 | 32 |

n: total - outliers, RMSE em mg.kg⁻¹

Fonte: Do autor (2021).

Na etapa de validação com o grupo teste, o R^2 foi maior que 0,90 usando LS-SVM e acima de 0,81 usando MLR, além de RMSE relativamente baixo tanto para clorofilas quanto para carotenoides, confirmando boa capacidade preditiva para amostras distintas do grupo de calibração. Além disso, o $R^2_m > 0,5$ atestou que uma congruência adequada entre os valores medidos e preditos no grupo teste foi alcançada.

O teste de randomização de y resultou em modelos com baixa capacidade preditiva, com RMSE consideravelmente maiores do que os da etapa de calibração para ambos os pigmentos, além de R^2 baixos (Tabelas 1 e 2). Além disso, o ${}^cR^2_p > 0,5$ indicou uma diferença válida entre R^2 de calibração e R^2 de randomização de y , indicando que não houve casualidade nos ajustes ou sobreajustes (MITRA et al., 2010).

A diferença mais relevante observada ao comparar o desempenho dos modelos foi devido ao tipo de sistema de cor aplicado, tanto para clorofilas quanto para carotenoides, usando MLR ou LS-SVM. Considerando a etapa de teste, os menores valores de RMSE para clorofilas foram obtidos ao usar RGB ou Y como descritores em modelos MLR ou LS-SVM (Figura 10), enquanto os menores valores de RMSE para carotenoides foram obtidos pelos modelos MLR baseados nos sistemas de cor HSV ou Y e para LS-SVM baseados em HSV, CMYK ou Lab (Figura 11).

Essas diferenças de desempenho de modelos em função dos sistemas de cor foram relatadas por outros autores em diferentes trabalhos. Por exemplo, Fernandes e colaboradores, (2019) utilizaram três sistemas de cor (RGB, HSI e Escala de Cinza) para quantificar e identificar adulterações no teor de gordura de hambúrgueres de frango, associando dados obtidos de imagens digitais a ferramentas quimiométricas. Tanto na abordagem qualitativa quanto na quantitativa, os modelos com HSI foram os que obtiveram os melhores resultados, sendo o PLS/HSI que obteve o melhor desempenho na quantificação com R^2 de 0,95. Para classificação, SPA-LDA/Escala de cinza+HSI teve um melhor desempenho. García-Mateos e colaboradores (2015) usaram imagens digitais e diferentes espaços de cor (RGB, XYZ, HSV, Lab, Luv, YCrCb, YUV, HSL e I1I2I3) para estimar a necessidade de irrigação do solo na plantação de alface e concluíram que os melhores espaços de cor foram aqueles que separam a luminância da cromaticidade, e dentre esses espaços, o que apresentou o melhor desempenho foi o Lab. Moyano et al. (2008) usaram dois sistemas de cor (CIELuv e CIELab) para avaliar a relação estatística entre os parâmetros de cor e os níveis de clorofilas e carotenoides em azeites espanhóis. Ao utilizar modelos de regressão complexos, como fatorial e polinomial por GLM (General Linear Model), observaram que o sistema CIELab apresentou melhor desempenho que CIELuv para clorofilas e carotenoides com $R^2 \geq 0,86$.

Figura 10 - Representação gráfica dos valores medidos vs. preditos para os modelos RGB/MLR, RGB/LS-SVM, Y/MLR e Y/LS-SVM para determinação do teor de clorofilas em azeites.

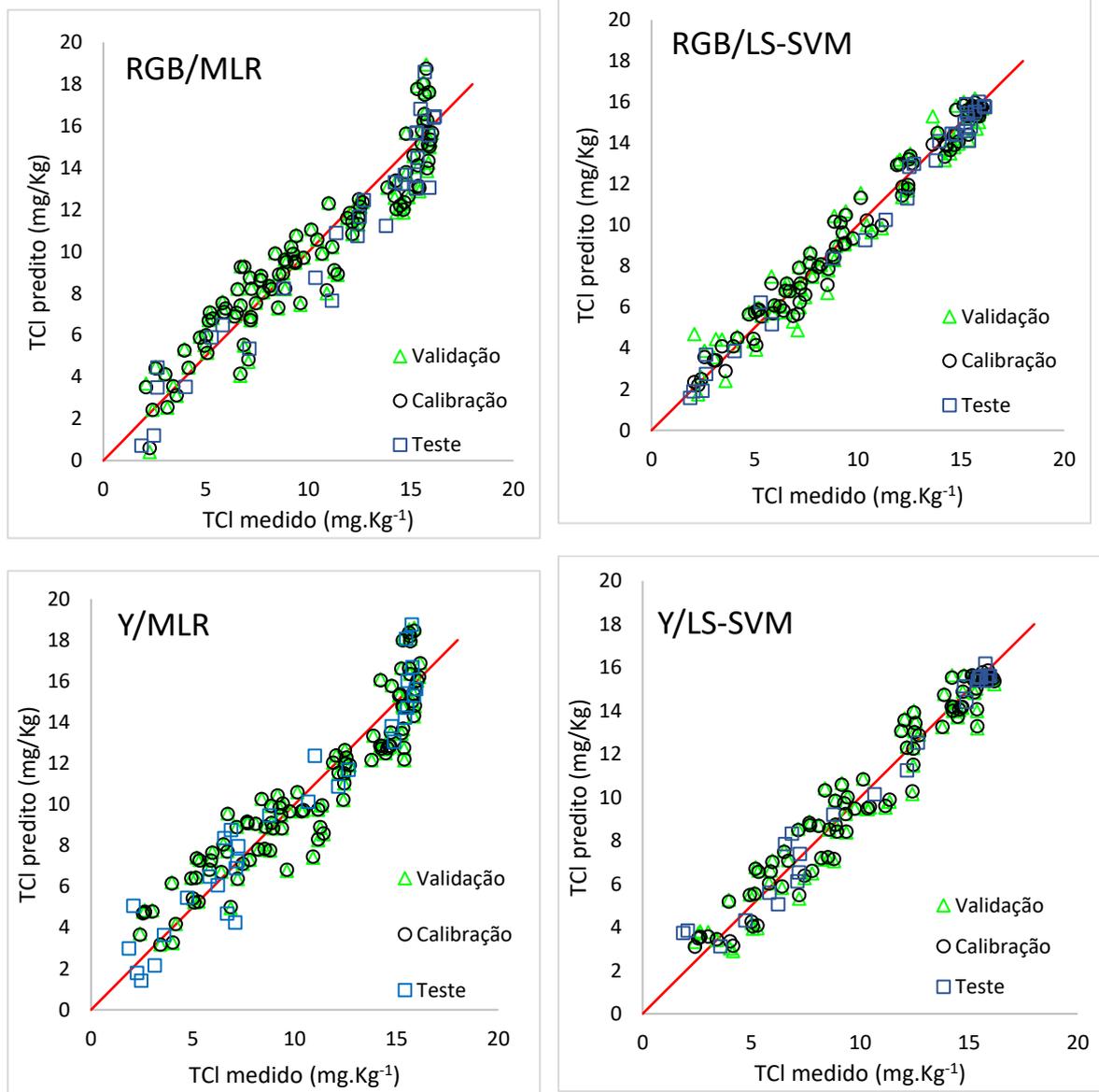
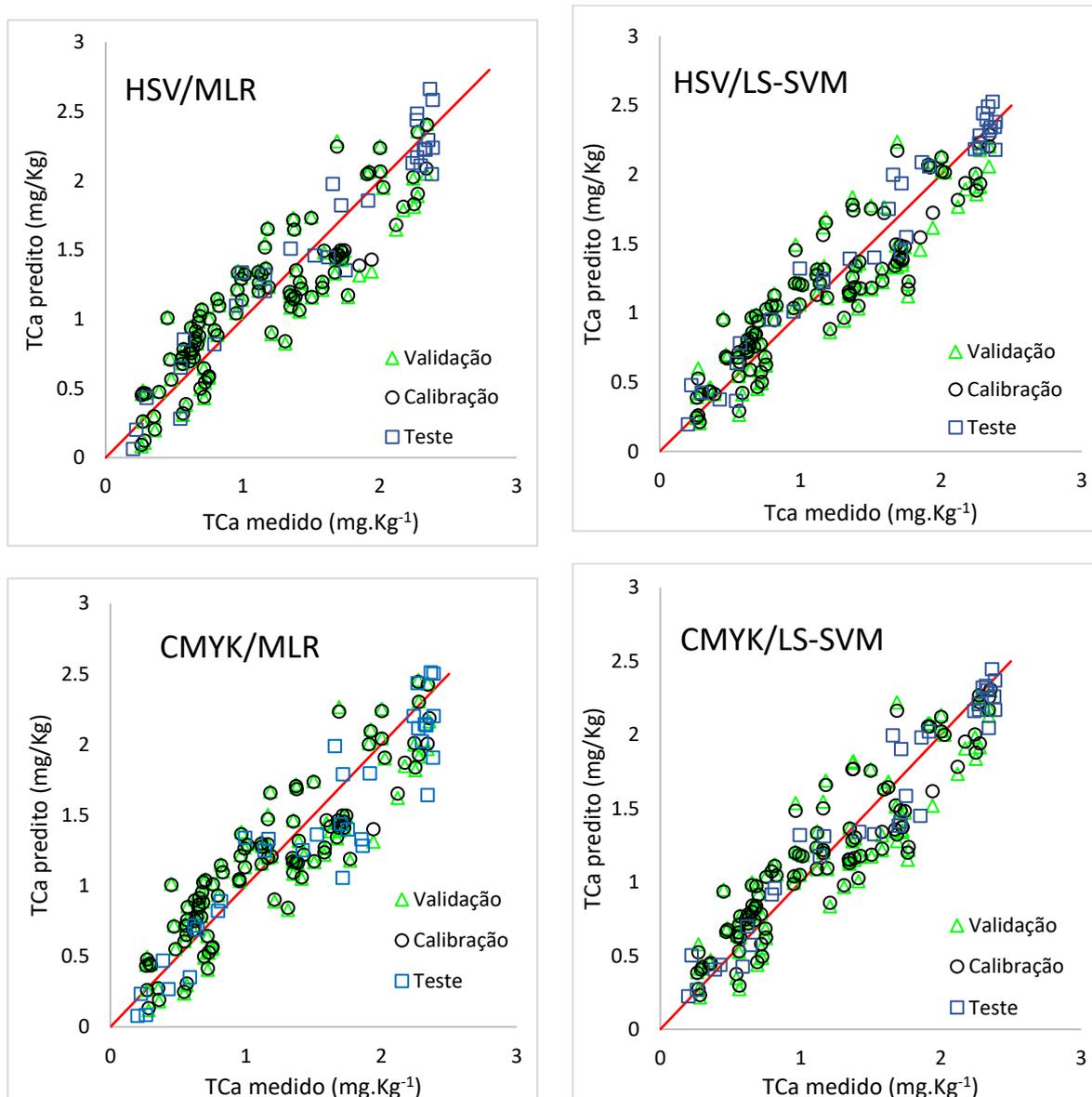


Figura 11 - Representação gráfica dos valores medidos vs. preditos para os modelos HSV/MLR, HSV/LS-SVM, CMYK/MLR e CMYK/LS-SVM para determinação do teor de carotenoides em azeites.



4.2 Transferência de Calibração

Quando os modelos de calibração obtidos na condição primária (SCF) foram usados para prever o teor de clorofilas ou carotenoides totais nas amostras analisadas em outras condições analíticas (condições secundárias), como smartphone e iluminação diferentes, observou-se que os valores preditos foram sub ou superestimados (Figuras 11 e 12). Consequentemente, as predições em condições secundárias apresentaram RMSE superior (Antes nas Tabelas 3 e 4) que aqueles dos modelos primários (Tabelas 1 e 2). Embora alguns valores de R^2 tenham sido relativamente altos, o R^2_m baixo evidenciou a falta de congruência entre os valores medidos e

preditos. Isso ocorre pelo fato de os modelos de calibração apresentar limitações quando aplicados a dados de amostras obtidos em equipamentos ou condições diferentes das quais os modelos foram construídos, tornando-os inutilizáveis ou causando grandes erros na predição de novas amostras se não forem remodelados, o que nem sempre é viável. Além disso, no caso de análises realizadas por meio de smartphones, é importante diminuir/excluir qualquer tipo de variação causada pelo uso de diferentes aparelhos ou condições analíticas, pois as análises das amostras podem vir a ser realizadas usando smartphones pessoais de consumidores ou produtores (NELIS et al., 2020). Assim, a fim de tentar mitigar esta interferência, um método para transferência de calibração foi proposto. O método envolveu o desenvolvimento de um modelo em um instrumento/condição denominado primário ou mestre, cujos dados de entrada foram modificados ou corrigidos para torná-lo compatível com conjuntos de dados obtidos por condições secundárias. A eficácia do método de transferência de calibração proposto foi avaliada tomando SCF como condição primária e MCF, SCA e MCA como condições secundárias, buscando manter as habilidades preditivas do modelo de calibração primário.

Uma solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foi utilizada como referência para a obtenção dos índices de correção a serem utilizados no processo de transferência da calibração. Essa solução tem uma coloração entre a amarelada e a alaranjada, com absorção entre 400 e 550 nm coincidente com a região de absorção dos pigmentos analisados (Figura 9). Além disso, os valores de RGB para a solução de FeCl_3 (R=157, G=113 e B=4) são semelhantes ao obtido para as amostras de azeite (R=152, G=131 e B=2). Inicialmente, concentrações de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, tais como 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 e 0,5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, foram testadas. As soluções de 0,1 e 0,5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ não apresentaram efeitos adequados na correção dos dados de entrada, não promovendo diminuição dos erros de predição. Por outro lado, as soluções de 0,3 e 0,4 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ produziram efeito semelhante a 0,2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, sendo eficazes na correção dos dados de entrada com consequente diminuição dos erros de predição. Padrões de clorofilas e carotenoides não foram usados devido ao seu alto custo, estabilidade relativamente baixa (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; MELENDEZ-MARTINEZ et al., 2004; STREIT et al., 2005), e também porque é difícil padronizar amostra adicionando clorofilas e carotenoides aos azeites de oliva e abacate, uma vez que esses pigmentos estão naturalmente presentes nas amostras. Além disso, a preparação da solução $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ pode ser facilmente preparada de forma reprodutível. A intenção ao usar essa solução foi propor uma referência colorimétrica de baixo custo e de fácil acesso em substituição a cartas de referência de cor, tais como Munsell Books of Color e ColorChecker.

Após a obtenção das imagens da solução 0,2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, os valores de cada componente RGB da condição primária (R = 157, G = 114, B = 5) foram subtraídos daqueles

obtidos nas condições secundárias. Os resultados foram então usados como fatores de correção para o conjunto de dados de azeites de oliva e abacate analisados nas condições secundárias. Finalmente, os dados corrigidos foram usados como descritores nos modelos de calibração primários para obter o teor dos pigmentos para o conjunto de dados secundário.

Quando o método de transferência de calibração proposto foi aplicado, verificou-se uma considerável melhora na qualidade preditiva do teor de clorofilas e carotenoides, com diminuição do RMSE e aumento do R^2 (Tabelas 3 e 4). Especialmente para as condições secundárias influenciadas pela iluminação (SCA e MCA), a transferência de calibração proposta promoveu uma diminuição média de 60, 59, 58, 59 e 68% no RMSE para clorofilas usando o modelo MLR e 75, 69, 69, 70, e 79% usando o modelo LS-SVM baseado nos espaços de cor RGB, HSV, CMYK, Lab e XYZ respectivamente. O RMSE também diminuiu 82% para clorofilas na condição SCA usando o modelo Y/LS-SVM, mas um aumento de 109% foi verificado para o modelo Y/MLR. Apesar desse aumento, o RMSE variou de 0,46 a 0,96 mg.Kg^{-1} , o que é relativamente baixo quando comparado ao RMSE de 1,41 mg.Kg^{-1} observado no modelo primário Y/MLR. O processo de transferência de calibração também promoveu melhorias na predição de carotenoides nas condições secundárias, com uma diminuição média no RMSE de 30, 60, 40, 32, 35 e 49% ao usar os modelos MLR e 44, 58, 51, 45, 34, e 48% usando modelos LS-SVM para RGB, Y, HSV, CMYK, Lab e XYZ respectivamente.

Tabela 3 - Parâmetros de qualidade para a predição do teor de clorofila em azeites de oliva e abacate com base em dados secundários de imagens digitais usando modelos MLR e LS-SVM antes e depois de aplicar a transferência de calibração proposta.

| | | MLR | | | | | | LS-SVM | | | | | | |
|-----|--------|-----------------------------|------|------|------|------|------|--------|------|------|------|------|------|------|
| | | RGB | Y | HSV | CMYK | Lab | XYZ | RGB | Y | HSV | CMYK | Lab | XYZ | |
| MCF | Antes | RMSE | 1,00 | 1,27 | 1,83 | 1,71 | 0,95 | 1,87 | 1,18 | 1,37 | 1,52 | 1,64 | 2,32 | 1,73 |
| | | R ² | 0,95 | 0,94 | 0,94 | 0,94 | 0,96 | 0,94 | 0,94 | 0,93 | 0,92 | 0,91 | 0,84 | 0,86 |
| | | R ² _m | 0,94 | 0,87 | 0,74 | 0,76 | 0,90 | 0,74 | 0,93 | 0,84 | 0,64 | 0,60 | 0,49 | 0,84 |
| | | n | 123 | 130 | 129 | 128 | 118 | 138 | 130 | 124 | 137 | 138 | 138 | 125 |
| | Depois | RMSE | 1,51 | 1,34 | 1,04 | 1,23 | 1,38 | 1,36 | 0,93 | 1,67 | 1,55 | 1,39 | 1,40 | 1,02 |
| | | R ² | 0,93 | 0,94 | 0,96 | 0,95 | 0,94 | 0,95 | 0,97 | 0,90 | 0,89 | 0,90 | 0,90 | 0,95 |
| | | R ² _m | 0,83 | 0,86 | 0,90 | 0,87 | 0,84 | 0,82 | 0,92 | 0,81 | 0,80 | 0,86 | 0,81 | 0,94 |
| | | n | 132 | 130 | 120 | 128 | 130 | 136 | 128 | 129 | 138 | 137 | 135 | 136 |
| SCA | Antes | RMSE | 4,12 | 0,46 | 4,34 | 3,96 | 3,76 | 3,62 | 3,62 | 4,68 | 4,44 | 4,52 | 4,34 | 3,86 |
| | | R ² | 0,93 | 0,94 | 0,91 | 0,89 | 0,91 | 0,93 | 0,65 | 0,79 | 0,52 | 0,51 | 0,50 | 0,60 |
| | | R ² _m | 0,57 | 0,48 | 0,60 | 0,57 | 0,56 | 0,27 | 0,16 | 0,30 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,04 |
| | | n | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 137 | 138 | 138 | 138 | 136 |
| | Depois | RMSE | 1,09 | 0,96 | 1,07 | 1,08 | 1,02 | 0,94 | 0,78 | 0,83 | 1,09 | 1,04 | 0,94 | 0,93 |
| | | R ² | 0,94 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,97 | 0,96 | 0,95 | 0,96 | 0,96 | 0,97 |
| | | R ² _m | 0,92 | 0,89 | 0,94 | 0,93 | 0,94 | 0,93 | 0,95 | 0,96 | 0,93 | 0,90 | 0,92 | 0,93 |
| | | n | 135 | 135 | 133 | 133 | 133 | 132 | 129 | 130 | 134 | 136 | 134 | 134 |
| MCA | Antes | RMSE | 4,99 | 5,45 | 5,39 | 5,10 | 4,81 | 4,75 | 5,16 | 5,78 | 5,18 | 5,15 | 4,98 | 5,14 |
| | | R ² | 0,88 | 0,91 | 0,79 | 0,75 | 0,82 | 0,88 | 0,24 | 0,65 | 0,36 | 0,37 | 0,35 | 0,37 |
| | | R ² _m | 0,19 | 0,18 | 0,12 | 0,07 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | | n | 138 | 138 | 132 | 132 | 138 | 138 | 138 | 137 | 132 | 132 | 138 | 137 |
| | Depois | RMSE | 2,71 | 1,74 | 3,10 | 2,88 | 2,68 | 1,77 | 1,44 | 1,66 | 1,92 | 1,97 | 1,95 | 0,93 |
| | | R ² | 0,89 | 0,92 | 0,81 | 0,86 | 0,87 | 0,92 | 0,95 | 0,91 | 0,93 | 0,94 | 0,93 | 0,96 |
| | | R ² _m | 0,88 | 0,81 | 0,68 | 0,78 | 0,81 | 0,89 | 0,89 | 0,91 | 0,84 | 0,92 | 0,93 | 0,94 |
| | | n | 137 | 137 | 136 | 137 | 137 | 137 | 129 | 135 | 138 | 138 | 137 | 124 |

n: total - outliers, RMSE em mg.kg⁻¹

Fonte: Do autor (2021).

Tabela 4 - Parâmetros de qualidade para a previsão do teor de carotenoides em azeites de oliva e abacate com base em dados secundários de imagens digitais usando modelos MLR e LS-SVM antes e depois de aplicar a transferência de calibração proposta.

| | | MLR | | | | | | LS-SVM | | | | | | |
|-----|--------|-----------------------------|------|------|------|------|------|--------|------|------|------|------|------|------|
| | | RGB | Y | HSV | CMYK | Lab | XYZ | RGB | Y | HSV | CMYK | Lab | XYZ | |
| MCF | Antes | RMSE | 0,47 | 0,29 | 0,36 | 0,44 | 0,42 | 0,40 | 0,45 | 0,27 | 0,54 | 0,54 | 0,44 | 0,54 |
| | | R ² | 0,88 | 0,84 | 0,86 | 0,87 | 0,88 | 0,83 | 0,86 | 0,85 | 0,87 | 0,84 | 0,86 | 0,86 |
| | | R ² _m | 0,56 | 0,82 | 0,79 | 0,79 | 0,62 | 0,43 | 0,47 | 0,85 | 0,26 | 0,07 | 0,18 | 0,27 |
| | | n | 138 | 135 | 133 | 137 | 138 | 138 | 138 | 134 | 138 | 138 | 138 | 138 |
| | Depois | RMSE | 0,51 | 0,29 | 0,53 | 0,50 | 0,50 | 0,56 | 0,48 | 0,27 | 0,48 | 0,49 | 0,48 | 0,47 |
| | | R ² | 0,88 | 0,85 | 0,82 | 0,87 | 0,89 | 0,85 | 0,87 | 0,86 | 0,84 | 0,84 | 0,83 | 0,78 |
| | | R ² _m | 0,66 | 0,81 | 0,76 | 0,77 | 0,68 | 0,54 | 0,70 | 0,85 | 0,74 | 0,77 | 0,76 | 0,70 |
| | | n | 138 | 134 | 134 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 133 | 138 | 138 | 138 |
| SCA | Antes | RMSE | 0,80 | 0,68 | 0,88 | 0,85 | 0,82 | 0,82 | 0,81 | 0,65 | 0,91 | 0,86 | 0,81 | 0,84 |
| | | R ² | 0,76 | 0,80 | 0,79 | 0,74 | 0,82 | 0,72 | 0,85 | 0,79 | 0,76 | 0,72 | 0,80 | 0,76 |
| | | R ² _m | 0,00 | 0,27 | 0,11 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,17 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | | n | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 |
| | Depois | RMSE | 0,42 | 0,27 | 0,37 | 0,47 | 0,43 | 0,36 | 0,39 | 0,27 | 0,42 | 0,45 | 0,44 | 0,37 |
| | | R ² | 0,76 | 0,83 | 0,74 | 0,73 | 0,79 | 0,78 | 0,79 | 0,83 | 0,78 | 0,75 | 0,82 | 0,83 |
| | | R ² _m | 0,51 | 0,70 | 0,47 | 0,40 | 0,50 | 0,63 | 0,54 | 0,68 | 0,47 | 0,43 | 0,48 | 0,60 |
| | | n | 138 | 135 | 123 | 138 | 138 | 138 | 137 | 135 | 138 | 138 | 138 | 137 |
| MCA | Antes | RMSE | 0,73 | 0,78 | 0,83 | 0,79 | 0,75 | 0,75 | 0,76 | 0,75 | 0,80 | 0,78 | 0,76 | 0,79 |
| | | R ² | 0,79 | 0,80 | 0,69 | 0,74 | 0,84 | 0,82 | 0,85 | 0,79 | 0,77 | 0,74 | 0,81 | 0,83 |
| | | R ² _m | 0,00 | 0,01 | 0,08 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | | n | 138 | 138 | 132 | 132 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 132 | 132 | 138 |
| | Depois | RMSE | 0,64 | 0,32 | 0,64 | 0,63 | 0,59 | 0,44 | 0,48 | 0,32 | 0,42 | 0,45 | 0,59 | 0,48 |
| | | R ² | 0,79 | 0,81 | 0,62 | 0,80 | 0,83 | 0,83 | 0,81 | 0,81 | 0,80 | 0,79 | 0,83 | 0,76 |
| | | R ² _m | 0,75 | 0,66 | 0,45 | 0,61 | 0,74 | 0,79 | 0,78 | 0,65 | 0,80 | 0,76 | 0,73 | 0,67 |
| | | n | 138 | 136 | 127 | 138 | 138 | 138 | 138 | 138 | 136 | 138 | 137 | 138 |

n: total - outliers, RMSE em mg.kg⁻¹

Fonte: Do autor (2021).

Em geral, o RMSE para as predições realizadas com um smartphone diferente com a mesma iluminação (MCF) do modelo primário (SCF) foram menores do que aqueles obtidos com iluminação diferente (SCA e MCA) antes de aplicar a transferência de calibração, evidenciando que a acurácia do método foi mais afetada pela iluminação do que pelo tipo de smartphone. Isso pode ter ocorrido pela igualdade nos valores de abertura de lente de cada smartphone utilizado ($f/2.2$). Como as medidas são baseadas na intensidade de radiação refletida, uma mesma quantidade de radiação refletida pelas amostras pode ter sido captada pelas câmeras dos smartphones, mesmo apresentando outras características diferentes, tais como distância focal e fator de corte, como pode ser observado no Anexo B. Resultado semelhante foi observado por Nelis e colaboradores (2019) ao utilizar seis smartphones diferentes para quantificar mudanças na coloração para determinação do pH do solo usando componentes individuais dos sistemas de cor RGB, HSV e Lab. Eles observaram que a variação entre diferentes smartphones foi menor que 10% quando uma curva de calibração universal foi usada para todos os modelos de smartphones.

A eficácia da transferência de calibração proposta quando apenas o tipo de smartphone foi alterado dependeu do sistema de cor usado como descritor e do método de calibração. Por exemplo, a variação no RMSE antes e depois da transferência de calibração foi menor ou igual a 2% ao usar o modelo HSV/LS-SVM para clorofilas e Y/MLR ou Y/LS-SVM para carotenoides. Por outro lado, a transferência de calibração promoveu uma diminuição relevante no RMSE ao usar HSV/MLR, Lab/LS-SVM e XYZ/LS-SVM para clorofilas, enquanto um aumento de RMSE relevante foi observado para RGB/MLR, Lab/MLR, e Y/LS-SVM para clorofilas, bem como HSV/MLR para carotenoides.

O processo de transferência de calibração também promoveu um aumento nos valores de R^2 e R^2_m , o que atestou uma melhor congruência entre o teor de clorofilas esperado e predito. Assim, a transferência da calibração proposta levou o RMSE e o R^2 das predições nas condições secundárias a valores próximos daqueles apresentados pelos modelos da condição primária, o que pode ser observado nas Figuras 12 e 13 para alguns casos selecionados. Como exemplo, o RMSE do modelo XYZ/LS-SVM para clorofilas variou de 1,73, 3,86 e 5,14 mg.Kg^{-1} para 1,02, 0,93 e 0,93 mg.Kg^{-1} nas condições secundárias MCF, SCA e MCA respectivamente. Para carotenoides, o RMSE do modelo Y/LS-SVM variou de 0,27, 0,65 e 0,75 mg.Kg^{-1} para 0,27, 0,27 e 0,32 mg.Kg^{-1} para MCF, SCA e MCA respectivamente. Logo, o nível de erro alcançado depois da transferência de calibração foi próximo do obtido nos modelos primários, ou seja, cerca de 1,0 mg.Kg^{-1} para clorofilas e 0,20 mg.Kg^{-1} para carotenoides. Uma boa generalização dos modelos, principalmente aqueles obtidos pelo método de regressão LS-SVM, também foi

evidenciada, uma vez que foram capazes de realizar previsões com boa acurácia em diferentes condições analíticas.

Figura 12- Comparações gráficas do teor de clorofilas totais medidos vs. previstos (TCI) para condições secundárias de Motorola/Caixa Fechada (MCF), Samsung/Caixa Aberta (SCA) e Motorola/Caixa Aberta (MCA) antes e após a transferência de calibração usando o modelo XYZ/LS-SVM.

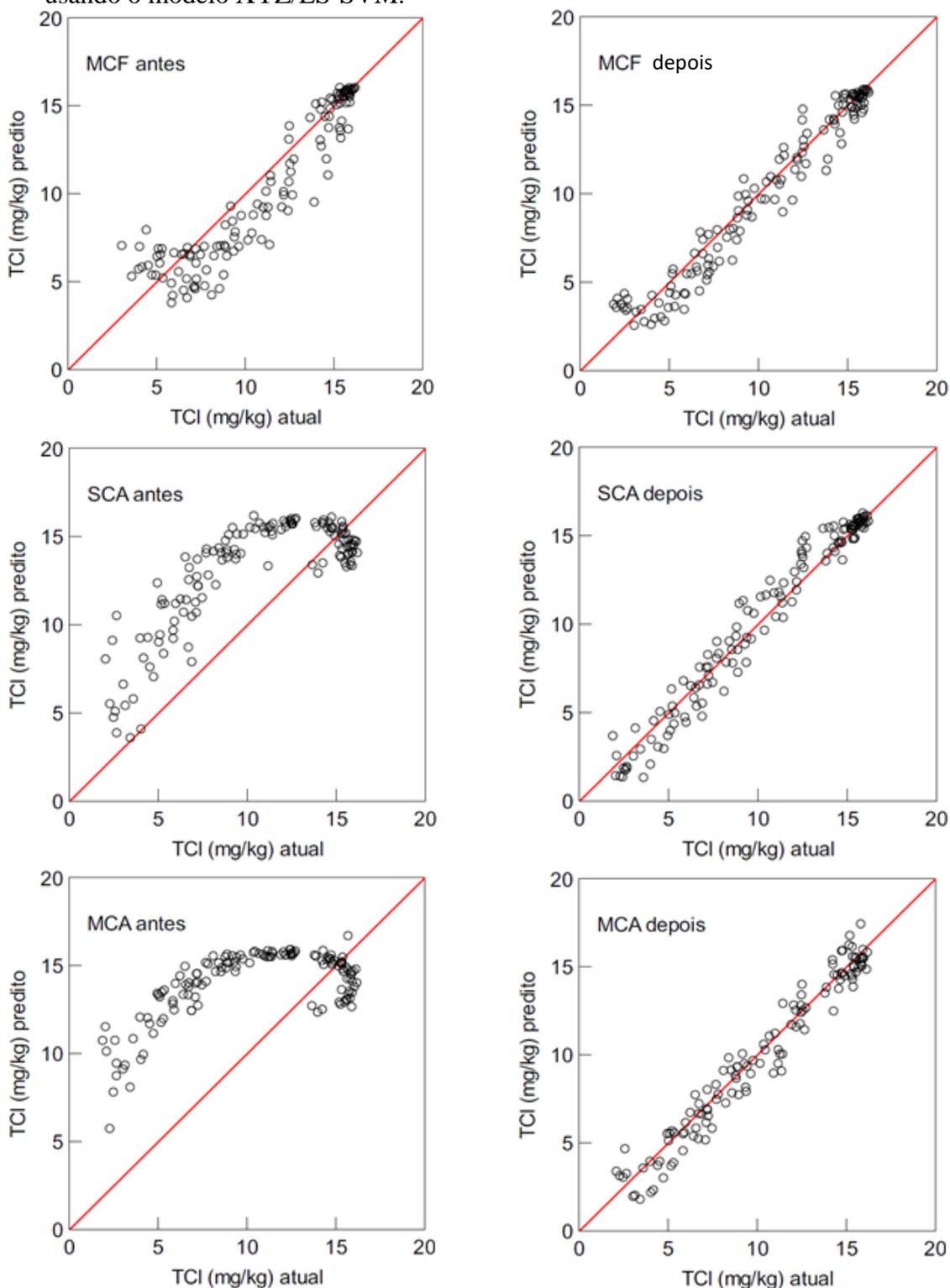
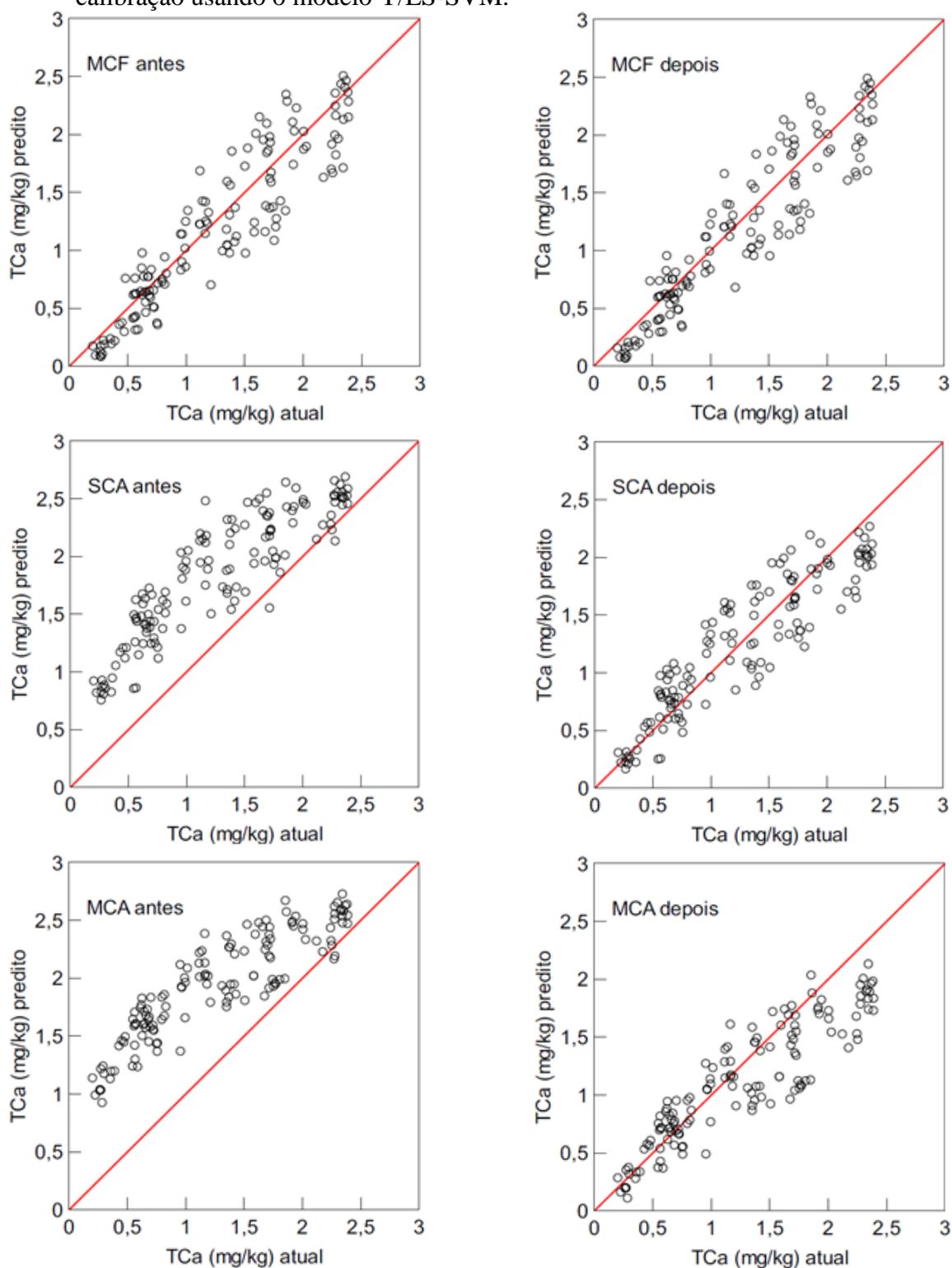


Figura 13 - Comparações gráficas do teor de carotenoides totais medidos vs. preditos (TCa) para condições secundárias Motorola/Caixa Fechada (MCF), Samsung/Caixa Aberta (SCA) e Motorola/Caixa Aberta (MCA) antes e depois da transferência de calibração usando o modelo Y/LS-SVM.



Os efeitos da transferência de calibração obtidos neste trabalho foram similares aos obtidos por outros autores. Um estudo realizado por Wang e colaboradores (2015) reportou o

uso de um tipo de transferência de calibração denominada Padronização Direta por Partes (Piecewise Direct Standardization – PDS) em modelos construídos usando PLS para determinar clorofilas em folhas de árvores. O modelo obtido por eles a partir de um conjunto de dados não poderia ser utilizado em outro conjunto, tendo sido aplicado PDS para corrigir os espectros de infravermelho. Dessa forma, o modelo original construído com um conjunto de dados foi utilizado para prever as concentrações de clorofila de três outros conjuntos. Os valores de RMSE de predição foram consideravelmente menores do que os obtidos sem a transferência (passando de 1,0038, 1,2521 e 1,3184 mg.g⁻¹ sem PDS para 0,2850, 0,1761 e 0,1357 mg.g⁻¹ com PDS, para chinara (*Platanus orientalis* L.), cânfora e ginkgo respectivamente). Conseqüentemente, a transferência de calibração levou o RMSE dos três conjuntos para níveis próximos aos obtidos nos modelos de calibração primários (0,2650, 0,1727 e 0,1305 mg.g⁻¹, para chinara, cânfora e ginkgo respectivamente).

5 CONCLUSÃO

O método baseado em imagens digitais obtidas com smartphone foi capaz de prever o conteúdo de clorofilas e carotenoides em azeites de oliva e abacate a partir de modelos de calibração multivariada.

A acurácia do método foi mais influenciada pela iluminação do que pelo tipo de smartphone. Entretanto, a transferência de calibração baseada na cor de uma solução FeCl₃ 0,2 mol.L⁻¹ permitiu a redução de erros de predição para amostras analisadas em de diferentes condições, tais como smartphone e iluminação, usando um modelo de calibração primário. As predições em condições secundárias, especialmente aquelas influenciadas pela iluminação, tiveram melhora substancial após o processo de transferência de calibração, diminuindo o RMSE e aumentando o R² para clorofilas e carotenoides.

O sistema de cor também influenciou a habilidade preditiva dos modelos. Em geral, melhor desempenho após a aplicação da transferência de calibração foi alcançado usando o modelo XYZ/LS-SVM para clorofilas e Y/LS-SVM para carotenoides.

Esses resultados atestaram a viabilidade de prever clorofilas e carotenoides totais em óleos vegetais por meio de imagens digitais obtidos com um smartphone. Assim, a determinação de pigmentos naturais em azeites de oliva e abacate pode ser feita por um método barato, limpo, rápido e não destrutivo, empregando um smartphone em substituição ao espectrofotômetro, em condição direta de análise sem a necessidade de preparo de amostra.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOCS, Official Method Cc 13i-96. **Determination of Chlorophyll Pigments in crude vegetable oils**, 1998.

APARICIO-RUIZ, R., & GANDUL-ROJAS, B. Thermal degradation kinetics of neoxanthin, violaxanthin, and antheraxanthin in virgin olive oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 5180–5195, 2012.

ASHTON, O. et al. Pigments in avocado tissue and oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 26, p. 10151-10158, 2006.

AYADI, M. A., GRATI-KAMOUN, N., ATTIA H. Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 2613–2619, 2009.

BALABIN, R. M. & LOMAKINA, E. I. Support vector machine regression (SVR/LS-SVM)—an alternative to neural networks (ANN) for analytical chemistry? Comparison of nonlinear methods on near infrared (NIR) spectroscopy data. **Analyst**. v. 136, p.1703-1712, 2011.

BERASATEGI, I.; BARRIUSO, B.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. **Food Chemistry**, v.132, p. 439-446, 2012.

BORIN, A.; FERRÃO, M. F.; MELLO, C.; MARETTO, D. A.; POPPI, R. J. Least-squares support vector machine and near-infrared spectroscopy for quantification of common adulterants in powdered milk. **Analytica Chimica Acta**, v. 579, p. 25-32, 2006.

BRAGA, J. W. B. & POPPI, R. J. Validação de modelos de calibração multivariada: uma aplicação na determinação de pureza polimórfica de carbamazepina por espectroscopia no infravermelho próximo. **Química Nova**. v. 27, n. 6, p. 1004-1011, 2004.

BRUSCATTO, M. H., ZAMBIAZI, R. C., CRIZEL-CARDOSO, M., PIATNICKI, C. M. S., MENDONÇA, C. R. B., DUTRA, F. L. G., COUTINHO, E. F. Chemical characterization and oxidative stability of olive oils extracted from olive trees of Southern Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p. 1231–1240, 2017.

BUTZ, P.; HOFMANN, C.; TAUSCHER, B. Recent developments in noninvasive techniques for fresh fruit and vegetables internal quality analysis. **Journal of Food Science**, v. 70, p. R131-R141, 2005.

CHAUCHARD, F.; COGDILL, R.; ROUSSEL, S.; ROGER, J. M.; BELLON-MAUREL, V. Application of LS-SVM to non-linear phenomena in NIR spectroscopy: development of a robust and portable sensor for acidity prediction in grapes. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 71, p. 141-150, 2004.

CHOODUM, A. et al. Using the iPhone as a device for rapid quantitative analysis of trinitrotoluene in soil. **Talanta**, v. 115, p. 143-149, 2013.

CHRISTODOULEAS, D. C. et al. Broadly Available Imaging Devices Enable High-Quality Low-Cost Photometry. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 18, p. 9170-9178, 2015.

CICERALE, S. et al. Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 129-35, 2012.

CODEX ALIMENTARIUS. Codex standard for olive oil, virgin and refined, and for refined olive-pomace oil. **Codex Stan 33**. v. 8, p. 25-39, 2001.

COUTINHO, M. S. et al. Colorimetric Determination of Ascorbic Acid Based on Its Interfering Effect in the Enzymatic Analysis of Glucose: An Approach Using Smartphone Image Analysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 12, p. 2500-2505, 2017.

CRIZEL-CARDOSO, M. M. **Influência do grau de maturação da azeitona na qualidade do azeite de oliva**. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2014.

DAMIRCHI, S.; HEIDARI, T. Evaluation of digital camera as a portable colorimetric sensor for low-cost determination of inorganic arsenic (III) in industrial wastewaters by chemical hydride generation assisted-Fe(III) - 1, 10-phenanthroline as a green color agent. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 15, n. 11, p. 2549-2557, 2018.

DEBUS, B. et al. Two low-cost digital camera-based platforms for quantitative creatinine analysis in urine. **Analytica Chimica Acta**, v. 30, p. 1-9, 2015.

DHANDE, N. S. & SUSHIR, R. D. Detection and Estimation of Adulteration in Oil Sample Using Digital Image Processing. **International Journal of Scientific Research in Science and Technology**, v. 4, n. 2, p. 244-250, 2018.

DOMENICI, V.; ANCORA, D.; CIFELLI, M.; SERANI, A.; VERACINI, C. A.; ZANDOMENEGHI, M. Extraction of Pigment Information from Near-UV Vis Absorption Spectra of Extra Virgin Olive Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 9317-9325, 2014.

EATON, J. W.; BATEMAN, D.; HAUBERG, S.; WEHBRING, R. **GNU Octave version 5.2.0 manual: a high-level interactive language for numerical computations**. Samurai Media Limited. 2019.

ELIAERTS, J.; MEERT, N.; DARDENNE, P.; VAN DURME, F.; BAETEN, V.; SAMYN, N.; DE WAEL, K. Evaluation of calibration transfer between a bench top and portable Mid-InfraRed spectrometer for cocaine classification and quantification. **Talanta**, v. 209, 120481, 2020.

FENNEMA, O. R., DAMODARAN, S., PARKIN, K. L. **Química de alimentos**. 4 ed, Editora Artmed, 2010.

FERNANDES, J. K.; UMEBARA, T.; LENZI, M. K.; ALVES, E. T. S. Image analysis for composition monitoring. Commercial blends of olive and soybean oil. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 35, n. 2, p. 317-324, 2013

FERNANDES, D. D. de S.; ROMEO, F.; KREPPER, G.; DI NEZIO, M. S.; PISTONESI, M. F.; CENTURIÓN, M. E.; ARAÚJO, M. C. U.; DINIZ, P. H. G. D. Quantification and identification of adulteration in the fat content of chicken hamburgers using digital images and chemometric tools, **LWT - Food Science and Technology**, v. 100, p. 20-27, 2019.

FERNANDES, G. M. et al. Novel approaches for colorimetric measurements in analytical chemistry - A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1135, p. 187-203, 2020.

FERRÃO, M. F.; MELLO, C.; BORIN, A.; MARETTO, D. A.; POPPI, R. J. LS-SVM: uma nova ferramenta quimiométrica para regressão multivariada. Comparação de modelos de regressão LS-SVM e PLS na quantificação de adulterantes em leite em pó empregando NIR. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 852-859, 2007.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. Editora Unicamp, p. 496, 2015.

FERRUZZI, M. G., & BLAKESLEE, J. Digestion, absorption, and cancer preventive activity of dietary chlorophyll derivatives. **Nutrition Research**, v. 27, p. 1-12, 2007.

FEUDALE, R. N.; WOODY, N. A.; TAN, H.; MYLES, A. J.; BROWN, S. D.; FERRÉ, J. Transfer of multivariate calibration models: a review. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 64, p. 181-192, 2002.

FIRDAUS, M. L. et al. Determination of Chromium and Iron Using Digital Image-based Colorimetry. **Procedia Environmental Sciences**, v. 20, p. 298-304, 2014.

FLORES, M. A., PEREZ-CAMINO, M. D. C., & TROCA, J. Preliminary studies on composition, quality and oxidative stability of commercial avocado oil produced in Chile. **Journal of Food Science and Engineering**, v. 4, p. 21-26, 2014.

FOSCOLOU, A. et al. Olive oil consumption and human health: A narrative review. **Maturitas**, v. 118, p. 60-66, 2018.

FRASER, M. S.; FRANKL, G. Detection of Chlorophyll Derivatives in Soybean Oil by HPLC. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 62, p. 113-121, 1985.

FUNG, T. T., et al., Mediterranean diet and incidence of and mortality from coronary heart disease and stroke in women. **Circulation**, v. 119, p. 1093-100, 2009.

GANDUL-ROJAS, B., & MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I. Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various spanish olive varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 72, p. 31-39, 1996.

GARCÍA-MATEOS, G.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, J. L.; ESCARABAJAL-HENAREJOS, D.; JAÉN-TERRONES, S.; MOLINA-MARTÍNEZ, J. M. Study and comparison of color models for automatic image analysis in irrigation management applications. **Agricultural Water Management**. v. 151, p. 158-166, 2015.

GAVAHIAN, M. et al. Health benefits of olive oil and its components: Impacts on gut microbiota antioxidant activities and prevention of non communicable diseases. **Trends in Food Science & Technology**. v. 88, p. 220-227, 2019.

GENOVESE, A, et al. Olive oil phenolic compounds affect the release of aroma compounds. **Food Chemistry**, v. 181, p. 284-294, 2015.

GIUFFRIDA, D., SALVO, F., SALVO, A., LA PERA, L., DUGO, G. Pigment composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive varieties. **Food Chemistry**, v. 101, p. 833–837, 2007.

GODOY, A. C.; SANTOS, P. D. S.; NAKANO, A. Y.; et al. Analysis of Vegetable Oil from Different Suppliers by Chemometric Techniques to Ensure Correct Classification of Oil Sources to Deal with Counterfeiting. **Food Analytical Methods**, v. 13, p. 1138-1147, 2020.

GOMÉZ-CARAVACA et al. Chemometric application to assess quality and parameters of virgin and extra-virgin olive oil. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 913, p. 1-21, 2016.

GONÇALVES, T. R.; ROSA, L. N.; GONÇALVES, R. P.; et al. Monitoring the Oxidative Stability of Monovarietal Extra Virgin Olive Oils by UV–Vis Spectroscopy and MCR–ALS. **Food Analytical Methods**, v. 11, p. 1936–1943, 2018.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Processamento digital de imagens**. 3^a ed. São Paulo: Pearson, 624 p., 2010.

HAKONEN, A. & BEVES, J. E. Hue parameter fluorescence identification of edible oils with a smartphone. **ACS Sensors**, v. 3, n. 10, p. 2061-2065, 2018.

HAMMOND, B. R. Dietary Carotenoids and the Nervous System. **Foods**, v. 4, p. 698–701, 2015.

HELPER, G. A.; MAGNUS, V. S.; BÖCK, F. C.; TEICHMANN, A.; FERRÃO, M. F.; COSTA, A. B. Photometrix: an application for univariate calibration and principal components analysis using colorimetry on mobile devices. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 2, p. 328-335, 2017.

HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, C.; LUIS, G.; MORENO, I.; CAMEÁN, A.; GONZÁLEZ, A. G.; GONZÁLEZ-WELLER, D.; CASTELLA, A.; GUTIÉRREZ, A.; RUBIO, C.; HARDISSON, A. Differentiation of mangoes (*Mangifera indica* L.) conventional and organically cultivated according to their mineral content by using support vector machines. **Talanta**, v. 97, p. 325-330, 2012.

İNANC, A. L. Chlorophyll: structural properties, health benefits and its occurrence in virgin olive oils. **Akademik Gıda / Academic Food Journal**, v. 9, p. 26–32, 2011.

INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL. **Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils**. COI/T.15/NC No 3/Rev. 8. February, 2015.

JIA, M.-Y. et al. The calibration of cellphone camera-based colorimetric sensor array and its application in the determination of glucose in urine. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 74, p. 1029-1037, 2015.

JIMÉNEZ, A. Monitoring carotenoid and chlorophyll pigments in virgin olive oil by visible-near infrared transmittance spectroscopy. On-line application. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 11, p. 219–226, 2003.

- JIN, L. et al. Photochemical decomposition of 1H, 1H, 2H, 2H - perfluooctane sulfonate (6:2FTS) induced by ferric ions. **Journal of Environmental Sciences (China)**. v. 51, p. 120-127, 2017.
- KANCHI, S. et al. Smartphone based bioanalytical and diagnosis applications: A review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 102, p. 136-149, 2018.
- KENNARD, R. W.; STONE, L. A. Computer aided design of experiments. **Technometric**, v. 11, p. 137–148, 1969.
- KHAYDUKOVA, M.; MEDINA-PLAZA, C.; RODRIGUEZ-MENDEZ, M. L.; PANCHUK, V.; KIRSANOV, D.; LEGIN, A. Multivariate calibration transfer between two different types of multisensor systems. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 246, p. 994-1000, 2017.
- KIM, Y., LIAN, F., YEUM, K. J., CHONGVIRIYAPHAN, N., CHOI, S. W., RUSSELL, R. M., WANG, X. D. The effects of combined antioxidant (beta-carotene, a-tocopherol and ascorbic acid) supplementation on antioxidant capacity, DNA single-strand breaks and levels of insulin-like growth factor-1/IGF-binding protein 3 in the ferret model of lung cancer. **International Journal of Cancer**, v. 120, p. 1847–1854, 2007.
- KOESDJOJO, M. T. et al. Cost Effective Paper-Based Colorimetric Microfluidic Devices and Mobile Phone Camera Readers for the Classroom. **Journal of Chemical Education**, v. 92, n. 4, p. 737-741, 2015.
- KOSÍNSKA, A., KARAMÁC, M., ESTRELLA, I., HERNÁNDEZ, T., BARTOLOMÉ, B., & DYKES, G. A. Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* Mill. peels and seeds of two varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 4613–4619, 2012.
- LAZZERINI, C. & DOMINICI, V. Pigments in extra-virgin olive oils produced in Tuscany (Italy) in different years. **Foods**, v. 6, n. 25, 2017.
- LEÃO, A. C.; SOUZA, L. A. C.; ARAÚJO, A. A. Gerenciamento de cores – ferramenta fundamental para a documentação de bens culturais. **Revista Brasileira de Arqueometria, Restauração e Conservação**, v. 1, n. 4, p. 215-220, 2007.
- LEDLEY, R. S. High-Speed Automatic Analysis of Biomedical Pictures. **Science**, v. 146, n. 3641, p. 216–223, 1964.
- LEITE, F. N. **Calibração de dispositivos de cores utilizando uma câmera digital**. 58 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) - Curso de Pós-graduação em Engenharia Elétrica, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- LENTKA, L.; SMULKO, J. M.; IONESCU, R.; GRANQVIST, C. G.; KISH, L. B. Determination of gas mixture components using fluctuation enhanced sensing and the LS-SVM regression algorithm. **Metrology and Measurement Systems**. v. 22, n. 3, p. 341-350, 2015.
- LIU, C., WANG, X. D., MUCCI, L., GAZIANO, J. M., ZHANG, S. M. M. Modulation of lung molecular biomarkers by beta-carotene in the Physicians' Health Study. **Cancer**, v. 115, p. 1049–58, 2009.

- LIU, Y.; CAI, W.; SHAO, X. Linear model correction: a method for transferring a near-infrared multivariate calibration model without standard samples. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 169, p. 197-201, 2016.
- LOMBARDO, L., GRASSO, F., LANCIANO, F., LORIA, S., & MONETTI, E. Broad-spectrum health protection of extra virgin olive oil compounds. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 57, p. 41–77, 2018.
- LÓPEZ-MUNOZ, G. A.; ANTONIO-PÉREZ, A. & DIÁZ-REYES, J. Quantification of total pigments in citrus essential oils by thermal wave resonant cavity photopyroelectric spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 174, p. 104-109, 2015.
- LÓPEZ-RUIZ, N. et al. Smartphone-Based Simultaneous pH and Nitrite Colorimetric Determination for Paper Microfluidic Devices. **Analytical Chemistry**, v. 86, p. 9554-9562, 2014.
- MAI, H. H. & LE, T. T. Testing edible oil authenticity by using smartphone-based spectrometer. **Computer Optics**, v. 44, n. 2, p. 189-194, 2020.
- MARTINKOVA, P.; POHANKA, M. Colorimetric sensor based on bubble wrap and camera phone for glucose determination. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 14, n. 4, p. 315-319, 2016.
- MASAWAT, P. et al. Green Determination of Total Iron in Water by Digital Image Colorimetry. **Analytical Letters**, v. 50, n. 1, p. 173-185, 2016.
- MATHAWEESANSURN, A.; MANEERAT, N.; CHOENGCHAN, N. A mobile phone-based analyzer for quantitative determination of urinary albumin using self-calibration approach. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 242, p. 476-483, 2017.
- MATOS, L., PEREIRA, J., ANDRADE, P., SEABRA, R., OLIVEIRA, M. B. Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal olive oils. **Food Chemistry**, v. 102, p. 976–983, 2007.
- MBA, O. I.; DUMONT, M. J.; NGADI, M. Thermostability and degradation kinetics of tocochromanols and carotenoids in palm oil, canola oil, and their blends during deep-fat frying. **LWT. Journal of Food Science and Technology**, v. 82, p.131–138, 2017.
- MELÉNDEZ-MARTINEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Estabilidad de los carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v. 54, n. 2, p. 209-215, 2004.
- MELGOSA, M.; GOMEZ-ROBLEDO, L.; HUERTAS, R.; CAPITAN-VALLVEY, L.; MOYANO, M.; HEREDIA, F. Color measurements in blue-tinted cups for virgin olive oil tasting. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, p. 627–636, 2009.
- MESQUITA, S. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; SERVULO, E. F. C. Carotenoides: propriedades, aplicações e mercado. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 672-688, 2017.
- MILANEZ, K. D. T. M. & PONTES, M. J. C. Classification of edible vegetable oil using digital image and pattern recognition techniques. **Microchemical Journal**, v. 113, p. 10-16, 2014.

MÍNGUEZ, M. I.; GANDUL, B.; GARRIDO, J.; GALLARDO, M. L. Pigments present in virgin olive oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 67, p. 192–196, 1990.

MINGUEZ-MOSQUERA, M. I.; GANDUL-ROJAS, B.; GALLARDO-GUERRERO, M. L. Rapid Method of Quantification of Chlorophylls and Carotenoids in Virgin Olive Oil by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 40, p. 60–63, 1992.

MITRA, I., SAHA, A., ROY, K. Exploring quantitative structure–activity relationship studies of antioxidant phenolic compounds obtained from traditional Chinese medicinal plants. **Molecular Simulation**, v. 36, p. 1067–1079, 2010.

MORAIS, C. L. M. & LIMA, K. M. G. Determination and analytical validation of creatinine content in serum using image analysis by multivariate transfer calibration procedures. **Analytical Methods**, v. 7, p. 6904-6910, 2015.

MOYANO, M. J.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; ALBA, J.; HEREDIA, F. J. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (II): CIE LUV and CIE LAB uniform colour spaces. **Food Research International**, v. 41, p. 513–521, 2008.

MOYANO, M. J.; HEREDIA, F. J.; MELENDEZ-MARTÍNEZ, A. J. The color of olive oils: The pigments and their likely health benefits and visual and instrumental methods of analysis. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 278-291, 2010.

NAES, T.; ISAKSSON, T.; FEARN, T.; DAVIES, T. **A user-friendly guide to multivariate calibration and classification**. 1st Edition, NIR Publications, Chichester, 2002.

NELIS, J. L. D.; BURA, L.; ZHAO, Y.; BURKIN, K. M.; RAFFERTY, K.; ELLIOTT, C. T.; CAMPBELL, K. The efficiency of color space channels to quantify color and color intensity change in liquids, pH strips and lateral flow assays with smartphone. **Sensors**, v. 19, p. 5104, 2019.

NELIS, J. L. D.; ZHAO, Y.; BURA, L.; RAFFERTY, K.; ELLIOTT, C. T.; CAMPBELL, K. A randomised combined channel approach for the quantification of colour and intensity based assays with smartphones. **Analytical Chemistry**, v. 92, p. 7852-7860, 2020.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S. & BRUNS, R. E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1401-1406, 2006.

NIAZI, A.; GOODARZI, M.; YAZDANIPOUR, A. A comparative study between least-squares support vector machines and partial least squares in simultaneous spectrophotometric determination of cypermethrin, permethrin and tetramethrin. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 3, p. 536-542, 2008.

NUNES, C. A. et al. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012.

OLIVEIRA, A. F. de.; CRUZ, M. do C. M. da.; OLIVEIRA, D. L. de.; SILVA, L. F. de O. da. Óleo de abacate, uma alternativa para o azeite de oliva. **Circular Técnica – Epamig**, Belo Horizonte, n. 114, 2010.

- ORTIZ-AVILA, O. et al. Avocado oil improves mitochondrial function and decreases oxidative stress in brain of diabetic rats. **Journal of Diabetes Research**, v. 2015, p. 1-9, 2015.
- OWEN, R.W., et al., Olives and olive oil in cancer prevention. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 13, p. 319-26, 2004.
- PELCKMANS, K.; SUYKENS, J. A. K.; VAN GESTEL, T., DE BRABANTER, J., LUKAS L., HAMERS, B., DE MOOR B., VANDEWALLE J., "LS-SVMlab: a Matlab/C toolbox for Least Squares Support Vector Machines", Internal Report 02-44, ESAT-STADIUS, KU Leuven (Leuven, Belgium), 2002.
- PENTEADO, M. V. C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. São Paulo: Manole, v. 39, p. 126-127, 2003.
- POYNTON, C. Introduction to luma and chroma. **Digital video and HD**, p. 121-128, Second edition, 2012.
- RAMOS-ESCUADERO, F.; MORALES, M. T. & ASUERO, A. G. Characterization of Bioactive Compounds from Monovarietal Virgin Olive Oils: Relationship Between Phenolic Compounds-Antioxidant Capacities, **International Journal of Food Properties**, v. 18, p. 348-358, 2015.
- RAMOS-GÓMES, S. et al. Novel qPCR systems for olive oil (*Olea europaea* L.) authentication in oils and food. **Food Chemistry**, v. 194, p. 447-454, 2015.
- RAPOPORT, Hava F. Botánica Y Morfología. In: BARRANCO, Fernández-Escobar y Rallo. **El cultivo del olivo**. Córdoba: Ediciones Mundi-prensa, p. 38-62, 2004.
- ROCHA, W. F. C. et al. Comparison of Chemometric Problems in Food Analysis Using Non-Linear Methods. **Molecules**, v. 25, p. 3025, 2020.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Prediction of various chemical parameters of olive oils with Fourier transform infrared spectroscopy. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 49, p. 38S-47S, 1999.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B; KIMURA, M. **Harvest plus handbook for carotenoid analysis**. Washington, DC e Cali: International Food Policy Research Institute and International Center for Tropical Agriculture, p. 58, 2004.
- ROY, P. P., PAUL, S., MITRA, I., & ROY, K. On Two Novel Parameters for Validation of Predictive QSAR Models. **Molecules**, v. 14, p. 1660–1701, 2009.
- SALGUERO-CHAPARRO, L.; PALAGOS, B.; PEÑA-RODRIGUEZ, F.; ROGER, J. M. Calibration transfer of intact olive NIR spectra between a pre-dispersive instrument and a portable spectrometer. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 96, p. 202-208, 2013.
- SANEIFAR, A.; JAFARI, A.; GOLMAKANI, M. Fusion of dielectric spectroscopy and computer vision for quality characterization of olive oil during storage. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 145, p. 142-152, 2018.

SANTOS, J. L. O. et al. Use of a Digital Image in Flow Analysis: Determination of Nitrite and Nitrate in Natural Waters. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 1, p. 70-76, 2015.

SCHOEFS B. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, p. 361-371, 2002.

SEDDON, J. M., AJANI, U. A., SPERDUTO, R. D., HILLER, R., BLAIR, N., BURTON, T. C., et al. Dietary carotenoids, vitamin-A, vitamin-C, and vitamin-E, and advanced age-related macular degeneration. **Journal of the American Medical Association**, v. 272, p. 1413-1420, 1994.

SEPPANEN, C. M. et al. Simultaneous determination of chlorophylls, pheophytins, β -carotene, tocopherols and tocotrienols in olive and soybean oils by high-performance liquid chromatography. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 5, p. 1644-1647, 2003.

SHI, Y.; LI, J.; CHU, X. Progress and applications of multivariate calibration model transfer methods. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**. v. 47, n. 4, p. 479-487, 2019.

SHU, J. et al. Statistical colour models: an automated digital image analysis method for quantification of histological biomarkers. **BioMedical Engineering OnLine**, v. 15, n. 1, p. 46, 2016.

SIKORSKA, E.; KHMELINSKII, I. V.; SIKORSKI, M.; CAPONIO, F.; BILANCIA, M.T.; PASQUALONE, A.; GOMES, T. Fluorescence spectroscopy in monitoring of extra virgin olive oil during storage. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 43, p. 52-61, 2008.

SONG, W.; SONG, Z.; VINCENT, J.; WANG, H.; WANG, Z. Quantification of extra virgin olive oil adulteration using smartphone videos. **Talanta**, v. 216, p. 120920, 2020.

SOUZA, F. R.; DUARTE JUNIOR, G. F.; GARCIA, P. T.; COLTRO, W. K. T. Evaluation of digital image capture devices for colorimetric detection on printed microzones. **Quimica Nova**, v. 37, p. 1171-1176, 2014.

STREIT, N. M. et al. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p.748-755, 2005.

SUYKENS, J. A. K. & VANDEWALLE, J. Least square support vector machine classifiers. **Neural Processing Letters**. v. 9, p. 293-300, 1999.

THAJEE, K. et al. Application of a webcam camera as a cost-effective sensor with image processing for dual electrochemical - colorimetric detection system. **Talanta**, v. 185, p. 160-165, 2018.

VALYON, J. & HORVÁTH, G. A robust LS-SVM regression. **International Journal of Computational Intelligence**. v. 3, n. 3, p. 1304-2386, 2006

VAPNIK, V. N. **Statistical Learning Theory**, Wiley, New York, 1998

WAKHOLI, C.; KANDPAL, L. M.; LEE, H.; BAE, H.; PARK, E.; KIM, M. S.; MO, C.; LEE, W.; CHO, B. Rapid assessment of corn seed viability using short wave infrared line-scan hyperspectral imaging and chemometrics. **Sensors and Actuators B: Chemical**. v. 255, p. 498-507, 2018.

WANG, H.; HU, D. Comparison of SVM and LS-SVM for regression. **The Brain and Neural Networks**. v. 1, p. 279-283, 2005.

WANG, M.; ZHENG, K.; YANG, G.; MA, W.; WANG, J.; WANG, T.; DU, Y. A Robust Near-Infrared Calibration Model for the Determination of Chlorophylls Concentration in Tree Leaves with a Calibration Transfer Method. **Analytical Letters**, v. 48, n. 11, p. 1707-1719, 2015.

WOOLF, A.; WONG, M.; EYRES, L.; MCGHIE, T.; LUND, C.; OLSSON, S.; WANG, Y.; BULLEY, C.; WANG, M.; FRIEL, E.; REQUEJO-JACKMAN, C. Avocado oil. **Gourmet and health-promoting specialty oils**, p. 73-125, 2009.

WU, D.; HE, Y.; FENG, S.; SUN, D. Study on infrared spectroscopy technique for fast measurement of protein content in milk powder based on LS-SVM. **Journal of Food Engineering**. v. 84, p. 124-131, 2008.

XIAOQIAN, W. et al. Evaluation of LC fresnel phase plate utilized as colour filter. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**. v. 559, p. 228-240, 2012.

XU, M. et al. Rapid analysis of dyed safflowers by color objectification and pattern recognition methods. **Journal of Traditional Chinese Medical Sciences**, v. 3, p. 234-241, 2016.

YE, L.; LANDEN, W. O.; EITENMILLER, R. R. Simplified extraction procedure and HPLC determination for total vitamin E and β -carotene of reduced-fat mayonnaise. **Journal of Food Science**, v. 66, p. 78-82, 2001.

ZHANG, Y.; DONG, W.; ZHANG, B.; WANG, X. Research on detection method of adulterated olive oil by Raman spectroscopy and Least Squares Support Vector Machines. **Guang pu xue yu Guang pu fen xi = Guang pu**, v. 32, p. 1554-1558, 2012.

ZHANG, Z., HUBER, D. J., & RAO, J. Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, v. 76, p. 58-64, 2013.

ANEXO A – Amostras e proporções das misturas

| Amostra | | |
|-----------------|----------------|--|
| 1 | | Azeite de abacate Hass 1 |
| 2 | | Azeite de abacate Hass 2 |
| 3 | | Azeite de abacate Margarida |
| 4 | | Azeite de abacate comercial |
| 5 | | Azeite de oliva Arbequina |
| 6 | | Azeite de oliva Arbosana/Koroneiki |
| 7 | | Azeite de oliva blend 1 |
| 8 | | Azeite de oliva blend 2 |
| 9 | | Azeite de oliva (Azeitona em conserva) 1 |
| 10 | | Azeite de oliva (azeitona em conserva) 2 |
| 11 | | Azeite de oliva comercial |
| Misturas | | |
| 12 | 25% Amostra 1 | 75% Óleo de soja |
| 13 | 50% Amostra 1 | 50% Óleo de soja |
| 14 | 75% Amostra 1 | 25% Óleo de soja |
| 15 | 25% Amostra 2 | 75% Óleo de soja |
| 16 | 50% Amostra 2 | 50% Óleo de soja |
| 17 | 75% Amostra 2 | 25% Óleo de soja |
| 18 | 25% Amostra 3 | 75% Óleo de soja |
| 19 | 50% Amostra 3 | 50% Óleo de soja |
| 20 | 75% Amostra 3 | 25% Óleo de soja |
| 21 | 25% Amostra 4 | 75% Óleo de soja |
| 22 | 50% Amostra 4 | 50% Óleo de soja |
| 23 | 75% Amostra 4 | 25% Óleo de soja |
| 24 | 25% Amostra 7 | 75% Óleo de soja |
| 25 | 50% Amostra 7 | 50% Óleo de soja |
| 26 | 75% Amostra 7 | 25% Óleo de soja |
| 27 | 25% Amostra 9 | 75% Óleo de soja |
| 28 | 50% Amostra 9 | 50% Óleo de soja |
| 29 | 75% Amostra 9 | 25% Óleo de soja |
| 30 | 25% Amostra 10 | 75% Óleo de soja |
| 31 | 50% Amostra 10 | 50% Óleo de soja |
| 32 | 75% Amostra 10 | 25% Óleo de soja |
| 33 | 25% Amostra 4 | 75% Amostra 5 |
| 34 | 50% Amostra 1 | 50% Amostra 9 |
| 35 | 50% Amostra 1 | 50% Amostra 7 |
| 36 | 75% Amostra 1 | 25% Amostra 4 |
| 37 | 50% Amostra 2 | 50% Amostra 6 |
| 38 | 75% Amostra 5 | 25% Amostra 9 |
| 39 | 25% Amostra 6 | 75% Amostra 7 |
| 40 | 30% Amostra 4 | 70% Amostra 8 |
| 41 | 75% Amostra 7 | 25% Amostra 10 |
| 42 | 30% Amostra 3 | 70% Amostra 8 |
| 43 | 75% Amostra 1 | 25% Amostra 7 |
| 44 | 50% Amostra 3 | 50% Amostra 7 |
| 45 | 25% Amostra 1 | 75% Amostra 6 |
| 46 | 50% Amostra 1 | 50% Amostra 2 |

ANEXO B – Características dos smartphones usados

| | Samsung | Motorola |
|----------------------------|--------------------|--------------------|
| Abertura de lente | f/2.2 | f/2.2 |
| Resolução da câmera | 3264 x 2448 pixels | 3264 x 2448 pixels |
| Distância focal | 3,3 mm | 3,59 mm |
| Fator de corte | 10,0 x | 7,7 x |