

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM
ALIMENTOS

BRUNA NICHELLE LUCAS

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO QUÍMICA DE
AMOSTRAS VEGETAIS ATRAVÉS DE IMAGENS DIGITAIS

Santa Maria, RS

2023

Bruna Nichelle Lucas

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO QUÍMICA DE
AMOSTRAS VEGETAIS ATRAVÉS DE IMAGENS DIGITAIS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em ciência e tecnologia dos Alimentos (PPGCTA), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a.: Claudia Severo da Rosa

Santa Maria, RS

2023

Lucas, Bruna Nichelle

Desenvolvimento de métodos para avaliação química de amostras vegetais através de imagens digitais / Bruna Nichelle Lucas.- 2023.

74 p.; 30 cm

Orientadora: Claudia Severo da Rosa

Coorientadora: Flávia Michelin Dalla Nora

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa

Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós

Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2023

1. imagens digitais 2. inovação 3. controle de qualidade 4. smartphone I. Severo da Rosa, Claudia II. Michelin Dalla Nora, Flávia III. Título.

sistema de geração automática de ficha catalográfica da usm. dados fornecidos pelo autor(a). sob supervisão da direção da divisão de processos técnicos da biblioteca central. bibliotecária responsável saula schoenfeldt patta cma 10/1728.

Declaro, BRUNA NICHELLE LUCAS, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Bruna Nichelle Lucas

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO QUÍMICA DE
AMOSTRAS VEGETAIS ATRAVÉS DE IMAGENS DIGITAIS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em ciência e tecnologia dos Alimentos (PPGCTA), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Aprovada em 10 de fevereiro de 2023:

Claudia Severo da Rosa, Doutora (UFSM)
(presidente/orientadora)

Flávia Michelin Dalla Nora (UFSM)

Clarissa Marques Moreira dos Santos (UFPEL)

Silvani Verruck (UFSC)

Sabrina Sauthier Monteiro (UFSM)

Santa Maria, RS

2023

RESUMO

Programa de Pós-graduação em Ciência e tecnologia de alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

Desenvolvimento de métodos para avaliação química de amostras vegetais através de imagens digitais

AUTORA: BRUNA NICHELLE LUCAS
ORIENTADORA: CLAUDIA SEVERO DA ROSA

A tendência atual pela promoção da saúde, promove a busca por uma alimentação funcional e segura a saúde, para isso torna-se necessário o controle de qualidade eficaz durante a produção e processamento dos alimentos. Neste sentido, as indústrias de alimentos têm procurado instintivamente alternativas limpas que permitam a execução de processos mais rápidos, de fácil aplicação e que reduzam os custos de análises, através do uso de equipamentos ou tecnologias que causem menos impactos ambientais e que sejam de fácil manuseio nas etapas de extração e quantificação dos compostos de interesse. Alguns métodos empregados no controle de qualidade de alimentos são baseados em metodologia colorimétrica com o uso de um espectrofotômetro na região do visível, no geral estes métodos demandam tempo de elaboração e preparo, utilizam grandes quantidades de amostra e solventes químicos durante o procedimento. Novas alternativas vêm sendo desenvolvidas que buscam a substituição do espectrofotômetro por equipamentos portáteis, como o *smartphone*, que relacionam a concentração de analitos com a intensidade de cor, permitindo a realização de análises *in loco* e acessível, pois a maioria dos indivíduos usa no seu cotidiano, sem a necessidade de investir em equipamentos sofisticados. Neste sentido, foi empregado o método de uso de imagens digitais baseado em *smartphone* para determinação de compostos fenólicos totais e determinação de paraquate. Os resultados obtidos dos métodos propostos apresentaram adequada exatidão, precisão e uma boa concordância em comparação com os métodos convencionais de 98,4 a 103,8% para o método de determinação de compostos fenólicos e de 95 a 107% para o método de determinação de paraquate, como também, proporcionou a miniaturização do método, menor consumo de energia mostrando-se uma alternativa menos agressivas ao meio ambiente, de custo relativamente menor em comparação aos comumente empregados e de acordo com os princípios da química verde.

Palavras-chave: controle de qualidade, inovação, imagens digitais, *smartphone*.

ABSTRACT

Development of methods for chemical evaluation of plant samples through digital images

AUTHOR: BRUNA NICHELLE LUCAS
ADVISER: CLAUDIA SEVERO DA ROSA

The current trend for health promotion promotes the search for functional and safe food for health, for which it is necessary to have effective quality control during food production and processing. In this sense, the food industries have instinctively sought clean alternatives that allow the execution of faster, easier-to-apply processes and that reduce analysis costs, through the use of equipment or technologies that cause less environmental impact and are easy to handle. in the steps of extraction and quantification of the compounds of interest. Some methods used in food quality control are based on colorimetric methodology with the use of a spectrophotometer in the visible region, in general these methods demand elaboration and preparation time, use large amounts of sample and chemical solvents during the procedure. New alternatives have been developed that seek to replace the spectrophotometer with portable equipment, such as the smartphone, which relate the concentration of analytes to the intensity of color, allowing the performance of analyzes in loco and accessible, as most individuals use them in their daily lives. , without the need to invest in sophisticated equipment. In this sense, the method of using digital images based on a smartphone was used for the determination of total phenolic compounds and determination of paraquat. The results obtained from the proposed methods showed adequate accuracy, precision and good agreement compared to conventional methods from 98.4 to 103.8% for the method of determination of phenolic compounds and from 95 to 107% for the method of determination of paraquate, as well as providing the miniaturization of the method, lower energy consumption, proving to be a less aggressive alternative to the environment, with a relatively lower cost compared to those commonly used and in accordance with the principles of green chemistry.

Keywords: quality control, innovation, digital images, smartphone.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	9
2.	REVISÃO DA LITERATURA	11
2.1	COMPOSTOS FENÓLICOS	11
2.2	ANTIOXIDANTES.....	12
2.3	MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS PARA AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS	13
2.4	PESTICIDAS EM ALIMENTOS	14
2.4.1	Paraquate	16
2.5	QUÍMICA VERDE	18
2.5.1	Índice do procedimento analítico verde	19
2.6	IMAGENS DIGITAIS.....	20
2.7	EMPREGO DO SMARTPHONE	21
3.	OBJETIVOS	33
3.1	OBJETIVO GERAL.....	33
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4.	RESULTADOS OBTIDOS	33
4.1	ARTIGO 1.....	34
	Determination of total phenolic compounds in plant extracts via Folin-Ciocalteu' methodadapted to the usage of digital images.....	34
4.2	ARTIGO 2.....	41
	Use of digital images in smartphone-based colorimetric analysis for paraquat determination.....	41
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	65
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

1. INTRODUÇÃO

A consciência da promoção da saúde tem sido alvo de interesse da população aumentando a preocupação com uma dieta saudável e equilibrada, promovendo maiores cuidados com a saúde. Isso reflete no constante aumento do interesse das pessoas na busca de alimentos como fonte natural de nutrientes que apresentam efeitos antioxidantes como por exemplo os compostos bioativos (MANUELA et al., 2020). Os compostos bioativos são constituintes naturais dos alimentos, principalmente de origem vegetal, são um grupo de fitoquímicos que proporcionam benefícios para a saúde além dos valores nutricionais (LANDBERG et al. 2019).

Os compostos bioativos apresentam diversas atividades biológicas e funcionais, como antioxidantes, anti-inflamatórias, antidiabéticas, anticâncer e antitumoral, protegendo o corpo humano da formação de altos níveis de radicais livres que promovem danos às células, através do mecanismo de ação antioxidante, sendo os principais compostos químicos envolvidos (compostos fenólicos, carotenoides, antocianinas, tocoferóis e isoflavonas) (SRIVASTAVA et al., 2021). Dentre os compostos químicos, o que apresenta maior propriedade funcional e está presente maior gama de alimentos são os compostos fenólicos (BALLARD & MARÓSTICA Jr 2019).

Os compostos fenólicos contribuem principalmente na conservação dos alimentos e promoção da saúde humana, isso se deve em função de apresentarem estruturas químicas com potencial efeito antioxidante, as quais são capazes de neutralizar o processo de oxidação (SHRINET ET AL., 2021). O elevado poder antioxidante dos compostos fenólicos fomenta o interesse da indústria alimentícia em incorporar esses compostos na produção de alimentos mais saudáveis para a população, como também, tem sido implementado como aditivos alimentares, atuando como conservantes naturais (PEREIRA et al., 2020). Para isso, torna-se de grande importância a quantificação do teor destes compostos presentes nos alimentos de forma mais rápida e prática, afim de atender a demanda da produção de alimentos.

A necessidade de produção alimentícia movimentou o mercado de produção agrícola no mundo todo, a fim de atender as expectativas dos consumidores, porém, esse crescimento demanda medidas alternativas no processo produtivo dos agricultores (SINGH et al., 2020). Para intensificar a produção de alimentos é necessário um adequado aproveitamento de área com a obtenção de melhores rendimentos de plantação, manejo e colheita agrícola é necessário o controle de pragas (MANDAL et al., 2023). As pragas (insetos, ervas daninhas, fungos, entre outros) são contaminantes que atacam a produção agrícola e prejudicam o cultivo adequado das

plantas, neste sentido, os agricultores optam pela utilização de pesticidas químicos no controle de infestações das contaminações biológicas no processo produtivo (NARENDERAN et al., 2020).

No entanto, não há um controle adequado da aplicação desses pesticidas na agricultura o que pode ocasionar o acúmulo de resíduos químicos no solo, ambiente e produtos, promovendo efeitos nocivos à saúde humana através de uma contaminação indireta, e mesmo em níveis baixos de concentração esses resíduos podem causar doenças como câncer, problemas respiratórios e fraqueza muscular (NEUWIRTHOVÁ et al., 2019; KIM et al., 2017).

Um dos herbicidas mais empregado na produção de alimentos, como em culturas de café, uva, soja e abacaxi é o paraquate, por apresentar efeitos rápidos no controle de pragas e ser de baixo custo (SANTOS et al., 2013), porém é proibido em diversos países como no Brasil (BRASIL, 2017), pois é considerado altamente tóxico e estar relacionado a doença de Parkinson (RAJARAM & NEELAKANTAN, 2023). Neste sentido, é necessário avaliar a concentração de resíduos de paraquate nos alimentos, a fim de garantir a segurança alimentar para a população (GUTERRES SILVA et al., 2023).

O método colorimétrico por espectrofotometria na região do visível é um dos mais utilizados para avaliação da qualidade de produtos alimentícios. As técnicas espectrofotométricas são bastante eficientes, com adequada exatidão e precisão, porém, é necessário o emprego de equipamentos relativamente sofisticados e também de recursos humanos treinados para execução das análises (VUOLO et al., 2019).

Atualmente há uma busca por alternativas limpas e que permitam a substituição de equipamentos sofisticados por métodos miniaturizados, que empreguem menores quantidades de solventes e reagentes químicos e conseqüentemente causam menor agressão ao meio ambiente (JEANDET et al., 2021). Desta forma, surge como uma técnica alternativa, o emprego de equipamentos e dispositivos não convencionais, como é o caso do uso de dispositivos móveis como os *smartphones* (HELFER et al., 2016). Essa alternativa emergente possibilita a realização de análises químicas com alta precisão e exatidão, além da otimização do tempo e dos recursos financeiros, permitindo que sejam realizadas análises com um certo grau de portabilidade, sendo que muitas vezes é possível realizar análises químicas em locais que não convencionais, substituindo os laboratórios propriamente ditos (HONG & CHANG, 2014).

Neste contexto, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de metodologias colorimétricas alternativas para a determinação de compostos fenólicos totais e determinação de paraquate empregando o uso imagens digitais baseadas em *smartphone* como ferramenta de

obtenção de imagens, e o aplicativo colorgrab para detecção das intensidades de cores geradas em formato RGB, a fim de promover a execução de análises com menor custo de operação e que permitam a obtenção de resultados confiáveis com adequada exatidão e precisão, além de, facilitar a obtenção de dados analíticos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são considerados metabólitos secundários das plantas e estão presentes principalmente em frutas como uva, laranja, cereja e limão (MUZAHID ET AL., 2023). Apresentam estruturas químicas que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento, são formados como mecanismo de defesa em condições de estresse, infecções, luz excessiva e ataque de pragas. Possuem um anel aromático (hidrofóbico) e uma ou mais hidroxilas substituintes (hidrofílico), sendo estruturas variáveis, caracterizando-se como compostos multifuncionais (SRIVASTAVA et al., 2021). Atualmente, já foram caracterizadas cerca de 10.000 estruturas fenólicas, dentre elas, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, tocoferóis e antocianinas, os quais são mostrados na tabela 1 (YANG et al., 2023). Além da contribuição para as propriedades sensoriais como cor, odor, sabor amargo ou adstringência, os compostos fenólicos também contribuem para a estabilidade oxidativa dos alimentos, além de apresentarem diversas funções biológicas e fisiológicas, como atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes, que são benéficas para a saúde humana (BALLARD & MARÓSTICA, 2019).

Tabela 1: Classe de compostos presentes nas plantas. (Adaptado de: (DEL RIO, RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2013))

Classe	Estrutura
Fenólicos simples	C ₆
Ácidos hidroxibenzóicos	C ₆ -C ₁
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂
Ácidos hidroxicinâmicos	C ₆ -C ₃
Nafitoquinonas	C ₆ -C ₄
Xantonas	C ₆ -C ₁ -C ₆

Estilbenos, antoquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6-C_3-C_6$
Lignananas, neolignananas	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
<u>Taninos condensados</u>	<u>$(C_6-C_3-C_6)_n$</u>

Essas classes de compostos (tabela 1) contribuem nas propriedades químicas e sensoriais dos alimentos e apresentam elevada capacidade antioxidante, o qual apresenta papel fundamental na redução da oxidação lipídica em tecido vegetal e animal, resultando no aumento da qualidade nos alimentos, bem como na redução do risco de desenvolvimento de patologias. Este mecanismo de ação antioxidante ocorre através da interrupção de radicais livres, ou seja, os compostos fenólicos atuam como agentes redutores, doadores de hidrogênio e extintores de oxigênio singlete (ZHAO et al., 2023). O número, a posição das hidroxilas e a presença de duplas ligações influencia diretamente na capacidade do composto fenólico em descolar os elétrons que determinam a capacidade de eliminação de radicais livres e doar átomos de hidrogênio (ROJAS & BUITRAGO, 2019).

2.2 ANTIOXIDANTES

O efeito antioxidante promovido pela ação dos compostos fenólicos presentes nos alimentos se dá através da reação de neutralização ou redução da deterioração causada pelos radicais livres (SHAHIDI & WANASUNDARA 1992). Os radicais livres são moléculas que apresentam alta reatividade, por apresentar um elétron livre no último orbital (Rojas and Buitrago 2019). Essas moléculas reativas são produzidas no metabolismo célula, como superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^-) e radical hidroperoxila (HO_2^-) (ZHAO ET AL., 2023). O excesso dos níveis de radicais livres no metabolismo celular provoca a formação de aldeídos que se caracterizam por iniciar efeitos prejudiciais e serem mutagênicos e citotóxicos, causando danos às células. Este mecanismo pode ser evitado pela ação dos antioxidantes (ZHAO ET AL., 2023).

A capacidade antioxidante ocorre através de dois mecanismos principais: inativação de radicais livres e transferência de elétrons (VALKO et al., 2007). O primeiro mecanismo, o antioxidante doa um átomo de hidrogênio para o radical livre, formando um radical. Neste caso, quando menor a energia de dissociação da ligação O-H, mais facilmente ocorrerá a inativação

e maior será a ação antioxidante. No segundo mecanismo, o antioxidante doa elétron para o radical livre, formando um radical cátion. Neste caso, quanto menor o potencial de ionização, maior a capacidade antioxidante (BENDARY et al., 2013, VUOLO et al., 2019).

O efeito antioxidante dos compostos fenólicos está relacionado ao número e posição das hidroxilas e também a presença de dupla ligação, glicosilação e a presença de anéis aromáticos (WANG et al., 2018). Os compostos fenólicos têm a capacidade de doar hidrogênios e transferir elétrons através dos grupos hidroxilas, formando radicais estáveis (WANG et al., 2018).

Atualmente, há diversos estudos epidemiológicos que envolvem os antioxidantes presentes nos alimentos, relatando seu potencial efeito à prevenção de diversas patologias, incluindo câncer, doenças neurológicas e cardiovasculares como também prevenção do envelhecimento (ROJAS & BUITRAGO, 2019, BANWO et al., 2021). Além disso, estes compostos também apresentam efeitos de atividade antiviral e antimicrobiana (YANG et al., 2023). Desta forma, é de grande importância avaliar de forma adequada e precisa a capacidade antioxidante dos alimentos que consumimos.

Para isso, precisamos de métodos adequados para obtenção de uma quantificação exata e precisa. Os métodos empregados para determinar a capacidade antioxidante são divididos em dois grupos: o primeiro está relacionado a uma única reação de transferência de elétrons, monitorados pela mudança de cor conforme com o oxidante é reduzido e o segundo grupo baseia-se em uma reação de transferência de átomos de hidrogênio, onde o antioxidante e o substrato (amostra) competem por radicais livres (VUOLO et al., 2019). Dentre os métodos empregados para avaliação da capacidade antioxidante, destacam-se os seguintes: Ensaio de reação de transferência de elétrons; Capacidade antioxidante equivalente de trolox (ABTS) (MILLER et al., 1993); Capacidade de redução férrica do plasma (FRAP) (BENZIE & STRAIN, 1996) e Capacidade de Eliminação de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (CHEN, 2000).

Em relação ao ensaio de reação de transferência de átomo de hidrogênio, destacam-se os métodos: Captura total de radical peroxila (TRAP) (WAYNER et al., 1985) e ensaio da capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) (OU et al., 2001).

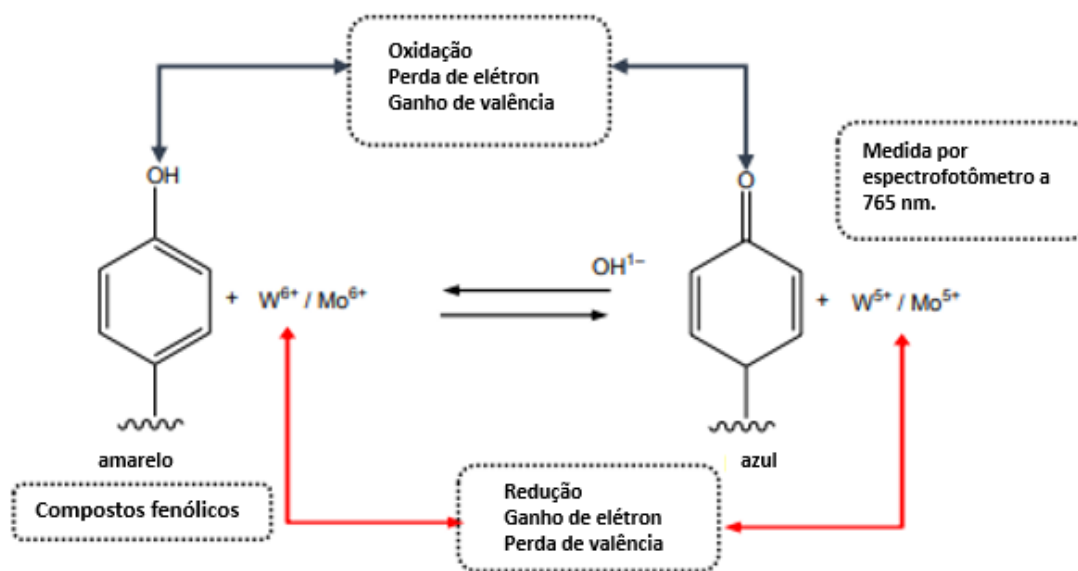
2.3 MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS PARA AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Os métodos espectrofotométricos compreendem os métodos analíticos mais empregados nas determinações de compostos orgânicos e inorgânicos, por apresentar

simplicidade, boa precisão e exatidão. É uma técnica comumente empregada na análise de alimentos, como, por exemplo, determinação de compostos fenólicos presente nos alimentos, por ser uma ferramenta quantitativa na identificação de grupos funcionais (ROJAS & BUITRAGO, 2019, VUOLO et al., 2019).

O método mais tradicional para determinação de compostos fenólicos totais é utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, mostrado na figura 1 (SINGLETON & ROSSI, 1965). A reação baseia-se pela redução dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico pelos agentes redutores (hidroxilas fenólicas), em pH alcalino, produzindo um complexo de coloração azul, molibdênio azul e tungstênio azul, que absorve radiação no comprimento de onda de 760 nm, estando relacionada com a quantidade do número de hidroxilas presentes na amostra controle. A quantificação dos compostos fenólicos totais é obtida através da aplicação de uma curva de calibração de ácido gálico em diferentes concentrações. Neste sentido, a concentração de compostos fenólicos totais é dada em mg de equivalentes de ácido gálico por litro de amostra (SINGLETON & ROSSI 1965, ROJAS & BUITRAGO, 2019).

Figura 1: Reação do ácido gálico com molibdênio e tungstênio.



Fonte: Adaptado de OLIVEIRA et al., 2009.

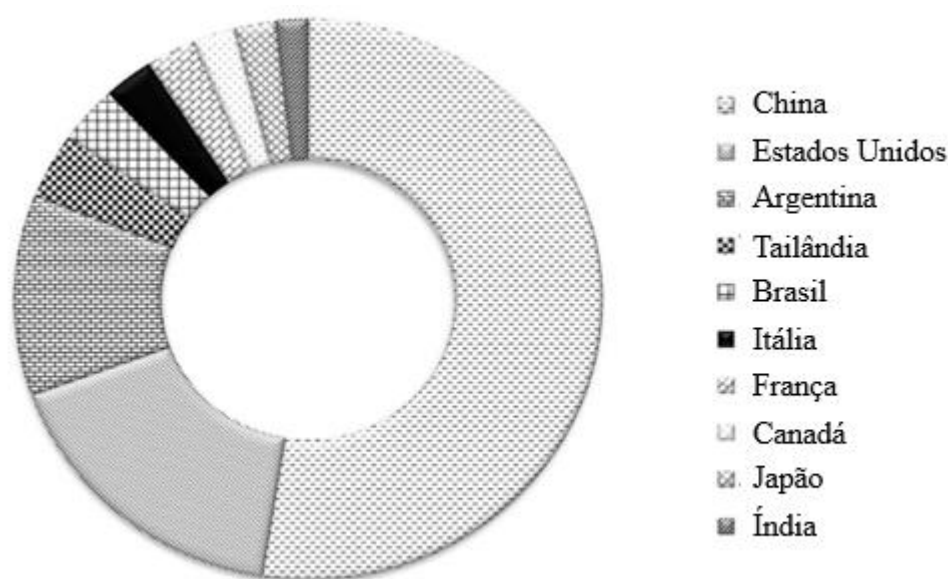
2.4 PESTICIDAS EM ALIMENTOS

A demanda por alimentos tem aumentado constantemente nos últimos anos, devido ao crescimento exacerbado da população mundial, tornando-se de grande importância o controle

de qualidade dos alimentos (SINGH et al., 2020). Nesta perspectiva, houve um aumento considerável da produção agrícola a fim de atender a escassez alimentar, necessitando de obtenção de melhores rendimentos na colheita agrícola (MANDAL et al., 2023). Cerca de 35 a 45% das perdas nos rendimentos agrícolas ocorrem por meio de contaminação de insetos, ervas daninhas e doenças (MANDAL et al., 2023). A aplicação de pesticidas torna-se uma ferramenta importante no combate do risco de contaminação biológicas e promove o aumento do rendimento de produção (NARENDERAN et al., 2020).

Como pode ser visto na Figura 2, a agricultura é considerada uma das maiores consumidoras de agrotóxicos no controle químico de diversas pragas (cerca de 85% da produção mundial) (FAOSTAT, 2019), a qual utiliza estas substâncias como forma de prevenir ou controlar a infestação desses contaminantes na produção, que prejudica o cultivo das plantas (GILDEN et al., 2010; KIM et al., 2017).

Figura 2: Os dez principais países no consumo de pesticidas no ano de 2019.



Fonte: FAOSTAT, 2019.

Os pesticidas são classificados de acordo com sua estrutura química, origem e organismo alvo, podem ser orgânicos (sintéticos e naturais) ou inorgânicos (GUNNELL et al., 2007), sendo os orgânicos sintéticos mais utilizados no manejo agrícola (DEBOST-LEGRAND et al., 2016). Além disso, são classificados de acordo com a toxicidade, representado na tabela

2 e modo de ação como inseticida (capazes de matar insetos), herbicida (matar plantas daninhas) e fungicida (controlar crescimento de fungos), sendo os inseticidas organofosforados, carbamatos e o herbicida paraquate mais importantes (DEBOST-LEGRAND et al., 2016; KIM et al., 2017; NARENDERAN et al., 2020).

Tabela 2: Critérios de toxicidade de pesticidas.

Nível de toxicidade	LD ₅₀ * Para rato (mg/kg de peso corporal)	
	Oral	Dérmico
Extremamente Perigoso	< 5	< 50
Altamente Perigoso	5 - 50	50 - 200
Moderadamente Perigoso	50 - 2000	200-2000
Não apresenta perigo agudo	5000 ou mais	

* LD₅₀ é a quantidade de pesticida necessária para matar 50% da população teste.

Fonte: OMS, 2009.

No entanto, a aplicação excessiva desses agrotóxicos na agricultura ocasiona o acúmulo de resíduos no meio ambiente e promove uma exposição não intencional a humanos e animais sendo extremamente perigoso, pois são projetados para serem nocivos (NEUWIRTHOVÁ et al., 2019). A população geral está exposta a esses contaminantes químicos principalmente por meio do uso ocupacional ou doméstico, ingestão de alimentos e inalação (GILDEN et al., 2010). E, mesmo em níveis muito baixos de exposição podem promover efeitos adversos à saúde humana, pois os resíduos se acumulam no tecido humano, causando doenças como fraqueza muscular, distúrbios endócrinos e respiratórios, cânceres, entre outros (KIM et al., 2017).

Neste sentido, considerando os riscos reais e os impactos negativos da exposição que os pesticidas empregados no manejo e produtividade agrícola representam na saúde populacional torna-se necessário o monitoramento dos resíduos nos produtos alimentícios (MANDAL et al., 2023).

2.4.1 PARAQUATE

O paraquate (dicloreto de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridil) é um dos herbicidas mais utilizado no mundo, embora proibido no Brasil (BRASIL, 2017), sua popularidade está relacionada à sua ação rápida e não seletiva no combate de pragas na produção agrícola (SANTOS et al., 2013). É aplicado na agricultura no controle de ervas daninhas nas plantações e, também, como dessecante durante a pré-colheita em culturas como fumo, algodão, café, uva, soja, entre outros

(RAJARAM & NEELAKANTAN, 2023). Geralmente é comercializado com nome comercial de Paraquat®, Gramoxone®, Gramocil®, Agroquat® e Secamato® (MARTINS, 2013).

Este herbicida apresenta alta solubilidade em água e elevada adsorção em diferentes solos, desta forma, os resíduos de paraquate são altamente resistentes à ação microbiana (não biodegradável) e a luz solar, tornando a molécula biologicamente inerte no solo. Devido suas características, pode causar contaminações das águas superficiais, subterrâneas e residuais, levando a vários problemas ambientais, além de expor os humanos e animais através do alimento contendo os resíduos (FRANCO et al., 2022; RAJARAM & NEELAKANTAN, 2023).

Dentre os herbicidas disponíveis, o paraquate está associado a maior taxa de mortalidade e morbidade, apresenta um dos maiores valores de toxicidade aguda, sua dosagem letal oral (LD50) em ratos é de 100mg/Kg e em humanos é cerca de 35 mg/g (LY, 2021). Sua característica venenosa está relacionada a formação do radical livre via redução do seu cátion bivalente (CHUNTIB et al., 2017). O radical livre reagirá com o oxigênio e radical hidroxila, e, por serem altamente reativos e instáveis, promovem lesões na membrana celular, nas proteínas e no ácido desoxirribonucléico (DNA) (RAJARAM & NEELAKANTAN, 2023). Como é possível observar na Figura 3, o paraquate está associado a diversos danos à saúde, como alta toxicidade do fígado, cérebro, rins, coração e graves danos aos pulmões, causando insuficiência respiratória, como também está vinculado aos principais causadores da doença de Parkinson (SANTOS et al., 2013; RAJARAM & NEELAKANTAN, 2023).

Figura 3: Efeitos tóxicos provocados aos organismos vivos devido à exposição do paraquat.



Fonte: Adaptado de (SANTOS et al., 2013).

Neste intuito, monitorar o nível de paraquate nos componentes do ambiente, como nos alimentos, solo e água é de extrema importância para garantir a segurança alimentar (RASHIDIPOUR et al., 2019; GUTERRES SILVA et al., 2023). As técnicas analíticas mais utilizadas na determinação de paraquate são cromatografia gasosa (GAO et al., 2014), cromatografia líquida (HAO et al., 2013) e espectrofotometria na região do visível (YAÑEZ-SEDEÑO & DIEZ, 1986).

2.5 QUÍMICA VERDE

O termo “química verde” está relacionado com “design de produtos químicos e processos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias perigosas” e representa uma tentativa de desenvolver métodos para gerenciar riscos químicos e ambientais (explosão, inflamabilidade e declínio na camada de ozônio) (ANASTAS & WARNER 1998, ELDIN et al., 2016). O conceito de química verde é fundamental para sustentabilidade, pois visa a redução dos impactos ambientais e a garantia da preservação dos recursos naturais para gerações futuras. Desta forma, a química verde vem fazendo com que os profissionais passem a desenvolver produtos e processos de uma forma mais eficiente para saúde humana e com menor risco ao meio ambiente (ELDIN et al., 2016). A química verde pode ser descrita através de seus 12 princípios, descrito por Anastas e Warner, em 1998 (ANASTAS & WARNER 1998). Estes princípios consistem em minimizar a geração de resíduos, reduzir toxicidade de produtos, diminuir consumo de energia e aumentar o uso de produtos reciclados (ANASTAS & EGHBALI 2010).

Neste sentido, a busca por alternativas sustentáveis, tais como o desenvolvimento de métodos de controle de qualidade e, neste caso, métodos de avaliação de extratos vegetais, que busquem aliar a qualidade dos resultados obtidos com menor agressão ao meio ambiente são uma tendência. Sendo assim, o emprego de novas tecnologias, tais como *smartphones* em substituição a grandes equipamentos, bem como a miniaturização de metodologias diminuem o impacto ambiental gerado durante as análises químicas (HAQ et al., 2017, BELTRAME et al., 2019).

2.5.1 ÍNDICE DO PROCEDIMENTO ANALÍTICO VERDE

O caminho correto para avaliar o caráter verde de um procedimento analítico é sempre um desafio, pois diferentes parâmetros devem ser considerados. Resultados reais sobre os impactos ambientais são necessários para confirmar se os processos são sustentáveis (PŁOTKA-WASYLKA & WOJNOWSKI, 2021). Neste sentido, em 2018, foi desenvolvido o índice de procedimento analítico verde (do inglês, *green analytical procedure index* - GAPI) e desde então é uma ferramenta muito utilizada para avaliar o desenvolvimento de procedimentos são considerados de natureza verde (PŁOTKA-WASYLKA, 2018).

O GAPI abrange diversos questionamentos do procedimento analítico adquirindo um grande número de informações, avaliando desde a etapa de coleta da amostra até a obtenção dos resultados finais da análise química. A métrica baseia-se no uso de 5 pictogramas para classificar o verde de cada etapa de uma metodologia proposta, aplicando escala de cores, subdivididos em 2, 3 ou 4 regiões de acordo com cada informação individual do procedimento avaliado (PŁOTKA-WASYLKA, 2018).

Nessa ferramenta muitos fatores são considerados, incluindo riscos ambiental, reagentes químicos, quantidades, tipo de resíduo e consumo de energia, além disso, apresenta dados de todo o procedimento analítico como coleta, preparo da amostra, equipamentos utilizados, entre outros. As informações adquiridas recebem uma escala de cor (verde, vermelho ou amarelo) de acordo com o impacto ambiental que podem promover ao meio ambiente (PŁOTKA-WASYLKA, 2018).

Os indicadores são subdivididos em regiões 2,3 ou 4, levando em consideração a primeira etapa relacionadas a coleta, preservação, transporte e estocagem da amostra, por conseguinte as etapas relacionadas ao procedimento analítico, podendo ser classificado o método (direto ou indireto), escala de extração, uso de solventes e reagentes, a relação da natureza e quantidade do solvente e reagente utilizados, além de avaliar a segurança do manipulador como também avalia a emissão e geração de gases poluidores do meio ambiente, quantidade de resíduos geradas e o gasto energético do método (PŁOTKA-WASYLKA, 2018). Neste contexto, pode-se afirmar que o GAPI evidencia os pontos mais fracos do procedimento analítico, no entanto, a ferramenta permite a obtenção de um compilado de informações confiáveis e suficientes para uma comparação rápida de diversos métodos, promovendo uma escolha de forma mais fácil e mais ecológica e que atenda um determinado estudo.

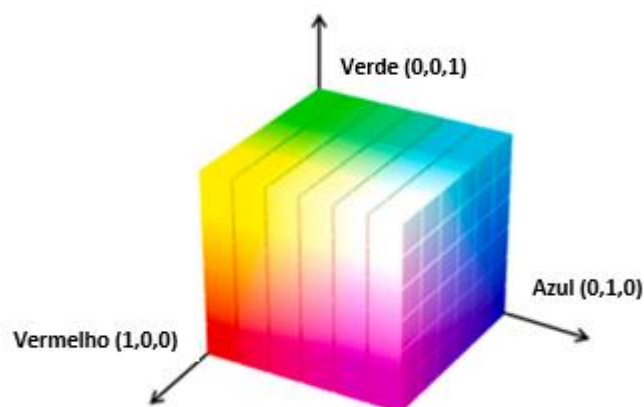
Considerando as informações abordadas, vale destacar que os métodos oficiais empregados no controle de qualidade de alimentos são normalmente complexos e laboriosos, os quais acabam sendo muitas vezes inviáveis para aplicação em análises de rotina, por demandar de uso restrito em laboratório, como também demanda de manipuladores treinados e com experiência, dificultando o acesso em processos industriais (ALAHMAD et al., 2023). Neste intuito, existe uma demanda crescente no desenvolvimento de métodos analíticos que supram as necessidades do mercado, com fácil aplicação, agilidade, baixo custo e eficiente, como também, atendam aos princípios da química analítica verde reduzindo o impacto ambiental (ALAHMAD et al., 2023).

2.6 IMAGENS DIGITAIS

Recentemente, o desenvolvimento de métodos analíticos baseados em imagens digitais, ou seja, aplicação de instrumentos portáteis que promovem a determinação de parâmetros de qualidade de uma forma alternativa e promissora, que permite análises de forma rápida, simples e não destrutivas, podendo ser empregadas a campo e adaptado para circunstâncias adversas têm sido alvo de estudos (GALLEGOS et al. 2013; HONG & CHANG 2014). Além disso, essas alternativas podem promover a redução do uso de solventes químicos, reduzindo assim, os custos de análise. Nesta estratégia, dispositivos para captura de imagens digitais comuns, tais como câmeras, *webcams*, *scanners* e telefones celulares com uma câmera embutida são usados para registrar imagens (HONG & CHANG, 2014).

A metodologia baseada em imagens digitais ganhou destaque por possibilitar o emprego em análises quantitativas e qualitativas de substâncias de interesse no controle de qualidade de alimentos, permitindo determinações rápidas, de baixo custo inserido e alta sensibilidade e precisão, contribuindo para a popularização e disponibilidade da técnica (MORAIS et al., 2016). O uso destes dispositivos para a determinação dos compostos é baseado nas reações colorimétricas onde as imagens digitais capturadas pelos dispositivos móveis são avaliadas em função da intensidade de cor, baseando-se nos dados RGB (vermelho, verde e azul), (figura 2) (FERNANDES et al., 2020; FAN et al., 2021).

Figura 2: Representação das cores RGB.



Fonte: (FAN et al. 2021)

O RGB é uma forma de representação de cores que são observadas pelo olho humano. Esta representação pode ser empregada como um recurso de fonte de dados analíticos para análises quantitativas e qualitativas, e estabelece relação entre a concentração do analito e os componentes de cor, sendo a faixa de cor estabelecida entre 0-255 (intensidades do canal) (FAN ET AL., 2021).

Comumente em análises espectrofotométricas, os valores de absorbância obtidos no equipamento são empregados para a construção de uma curva de calibração em função da concentração do analito (DASGUPTA et al., 2003). No caso da utilização de imagens digitais, os valores obtidos através da captura de imagens permitem a construção de uma curva de calibração, relacionado um determinado parâmetro de cor com a concentração de um determinado analito, permitindo assim a determinação da concentração da substância de interesse presente na amostra (GALLEGOS et al., 2013). Neste contexto, diversos estudos vêm sendo conduzidos com o objetivo de utilizar essa ferramenta como técnica analítica no controle de qualidade de diversos produtos (NAVARRO et al., 2017, BELTRAME et al. 2019, ZAMORA et al., 2021).

2.7 EMPREGO DO SMARTPHONE

Este item está descrito no Capítulo de Livro intitulado “Uso de *smartphone* como alternativa inovadora no controle de qualidade de alimentos: uma breve revisão” publicado no livro **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Volume 3**, 01/04/2021.

“

Uso de smartphone como alternativa inovadora no controle de qualidade de alimentos: uma breve revisão

- **Bruna Nichelle Lucas**
UFSM
- **Andressa Inês Schú**
UFSM
- **Flávia Michelon Dalla Nora**
UFSM

RESUMO

O crescimento acelerado da população tem causado preocupações ao consumidor e à indústria de alimentos em relação ao controle de qualidade e a segurança dos alimentos. Isso se deve em virtude da expansão urbana, que tem implicado no aumento do consumo de alimentos, bem como quanto ao consumidor, que tem se tornado mais exigente pela disponibilidade e variedade de produtos. Com isso, a indústria alimentícia tem buscado alternativas para priorizar o fornecimento de alimentos saudáveis e seguros à população. Neste contexto, uma estratégia que vem sendo buscada é o desenvolvimento de métodos alternativos e inovadores para análises de rotina no campo de controle de qualidade do processo produtivo de alimentos, como por exemplo a inserção de *smartphones* em substituição a equipamentos sofisticados de análise. Desta forma, o presente estudo buscou fazer uma revisão da literatura de forma sistemática a fim de descrever aplicações de análises químicas através de imagens digitais empregando estes dispositivos móveis. Com isso, foi possível observar que a técnica vem sendo aplicada à diversas análises no controle de qualidade de alimentos, principalmente devido ao seu baixo custo e simplicidade de aplicação, bem como ser rápida e de fácil operacionalidade. Com base nos estudos recentes desenvolvidos empregando estes dispositivos no controle de qualidade, fica evidente que essa nova abordagem é uma alternativa eficiente, promissora e inovadora devido a possibilidade de ser aplicada em diversos locais e, principalmente por ser considerada uma alternativa ambientalmente correta, já que em alguns casos permite a redução do uso de solventes tóxicos.

Palavras-chave: Segurança de Alimentos, Inovação, Indústria Alimentícia, Dispositivos Móveis, Análise Química.

INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos tem recebido muita atenção nos últimos anos, principalmente devido à expansão urbana que vem causando impactos e implicações na demanda mundial por alimentos (ARAUJO & CARVALHO, 2017). A perspectiva é de que a população mundial alcance de 7,4 bilhões para 9,7 bilhões em 2050, implicando em um crescimento desacelerado na produção de alimentos (UNITED NATIONS, 2019). Desta forma, a importância do controle de qualidade para garantir a segurança alimentar é um tema de grande importância, tornando necessário a adoção de medidas rápidas e seguras para manter e garantir a devida qualidade dos produtos alimentares oferecidos para a população (NOGUEIRA & DAMASCENO, 2016).

Neste contexto, ao controle de qualidade de produtos alimentícios é um tema chave, que em sua maioria ainda é conduzido de forma convencional, empregando para isso técnicas analíticas clássicas, como por exemplo os ensaios volumétricos e gravimétricos. No que diz respeito ao uso destas técnicas clássicas de controle de qualidade, em sua maioria, são caracterizadas por serem métodos que dispendem um elevado tempo de análise, requerem uma etapa prévia de preparo de amostra e etapas subsequentes, além de que, é exigido um conhecimento maior e treinamento dos profissionais (MASINO et al., 2005). Ademais, em sua maioria, são utilizados equipamentos que exigem aquecimento e uso de grandes volumes de solventes tóxicos, causando impacto negativo ao meio ambiente (GALUSZKA et al., 2013). Nesse sentido, atualmente, há uma forte tendência para desenvolvimento de novas alternativas que permitam o emprego de tecnologias amigáveis ao meio ambiente, visando a redução do impacto ambiental, a utilização de processos mais rápidos e de fácil aplicabilidade, além de, permitir análises em laboratório e diretamente no local de amostragem (ANASTAS & EGHBALI, 2010).

Considerando as exigências atuais e a busca por formas alternativas e mais ambientalmente corretas, nos últimos anos, tecnologias como por exemplo o uso de *smartphones* tem sido alvo de pesquisas científicas como alternativas promissoras em diversas áreas de estudo. O uso de equipamentos portáteis para captura de imagens digitais, e posterior análise e avaliação de dados vêm sendo amplamente explorado no campo de controle de qualidade. Isso se deve ao fato de que estes dispositivos são equipamentos versáteis, de fácil movimentação e capazes de serem deslocados e adaptados em diversas circunstâncias (PERINO et al., 2013).

No contexto de controle de qualidade, os *smartphones* ganham destaque em virtude de possuírem uma câmera embutida, que em sua maioria, são de alta resolução, permitindo que imagens obtidas por elas possam ser convertidas em dados de concentração. Esta abordagem vem sendo estudada principalmente para métodos de controle de qualidade baseados

em testes colorimétricos, nos quais a imagem digital obtida é convertida em concentração de um analito específico. Essa abordagem permite que o *smartphone* seja utilizado como uma ferramenta alternativa no controle de qualidade para aplicação de detecção de analitos tanto de origem biológicas, físicas e químicas (MARTINEZ, et al., 2008; GALLEGOS, et al., 2013).

Desta forma, o emprego deste dispositivo que até então é utilizado rotineiramente pelas pessoas para atividades normais, como um equipamento de análise é reconhecido como uma tecnologia inovadora, sendo que vários estudos vêm sendo conduzidos em diversas áreas. Recentes estudos reportam o emprego dos *smartphones*, dentre os quais destacam-se o emprego desta tecnologia para avaliação do potencial de compostos bioativos de açaí liofilizado (CARAMÉS, et al. 2020); determinação de ácido ascórbico em sucos naturais (PORTO, et al. 2019); detecção de tetraciclina no leite (MASAWAT, P. HARFIELD, A. NAMWONG, A., 2015); determinação de ferro em águas do rio Nilo, solos, amostras vegetais, carnes e fígado (MOHAMED & SHALABY, 2019), dentre outras. Nestes estudos os autores descrevem esta técnica como sendo promissora e satisfatória quando comparadas com as abordagens convencionalmente utilizadas nos laboratórios, destacando a possibilidade de ser utilizada como um método de controle de qualidade móvel de alimentos.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi relatar as novidades e inovações no campo de controle de qualidade, principalmente na área de alimentos, nos últimos anos empregando *smartphones* como alternativas aos métodos comumente utilizados. Para isso, uma revisão da literatura foi realizada de forma sistemática, buscando descrever os métodos de controle de qualidade de alimentos empregando o uso de *smartphone*. Desta forma, o presente trabalho caracteriza-se como uma revisão da literatura de caráter descritivo, no qual utilizou-se meios de pesquisa de artigos, trabalhos acadêmicos e livros didáticos.

DESENVOLVIMENTO

O presente estudo obteve dados provenientes da metodologia de revisão da literatura, com pesquisas de artigos através da base de estudos *Science Direct* e do google acadêmico. O levantamento dos artigos foi realizado no período compreendido entre janeiro e fevereiro de 2021, pesquisando as palavras “*quality control food smartphone*” e “*quality control food portable device*”, na aba de pesquisa avançada, resultando na localização de um total de 16 artigos científicos.

A oferta e demanda de produtos alimentícios tem tornado o mercado competitivo e com consumidores cada vez mais exigentes, para isso, o controle de qualidade é de extrema importância, pois está diretamente relacionado a satisfação do consumidor, como também à saúde e segurança de alimentos. Um produto é considerado de qualidade quando atende os padrões básicos da gestão de qualidade e que não apresente defeitos (NOGUEIRA &

DAMASCENO, 2016). De acordo com a Organização Mundial de Saúde o controle de qualidade na indústria de alimentos se dá através das boas práticas de fabricação que agregam sistemas operacionais para liberação ou rejeição dos produtos, como práticas de inspeção de campo, amostragem, testes analíticos, monitoramento dos materiais e condições ambientais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007).

De acordo com a legislação vigente, os alimentos podem conter substâncias estranhas a sua composição e, estas substâncias que estão presentes sem que haja a intenção são denominados de contaminantes. Estas substâncias estranhas aos alimentos são classificadas como riscos e são classificadas como sendo de origem física, química e microbiológica, sendo os riscos químicos residuais do processo de produção ou até mesmo proveniente da matéria prima, fator que pode causar complicações sérias a saúde do consumidor (SEBRAE, 2018). Desta forma, é de grande importância a avaliação destes alimentos pelo setor responsável pelo controle de qualidade. Isso se deve em virtude de que a presença de contaminantes tanto de natureza inorgânica e orgânica, podem ser provenientes das embalagens utilizadas, como também das etapas de processamentos dos alimentos (FERREIRA et al., 2011).

Quando se fala de contaminantes inorgânicos, substâncias como chumbo, cádmio e mercúrio ganham destaque, isso se deve ao fato de que estes metais serem considerados os compostos mais preocupantes, tendo em vista suas características tóxicas aos consumidores. No entanto, outras substâncias inorgânicas que apresentam baixa ou nenhuma toxicidade aos consumidores são estudados em alimentos, tendo em vista que cada produto possui suas especificações e níveis máximos aceitáveis de certas substâncias para serem comercializados (MIDIO, 2000).

Neste sentido, a determinação dos contaminantes inorgânicos é realizada através de equipamentos sofisticados, como por exemplo as técnicas de espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). No entanto, quando se trata de contaminantes orgânicos, são utilizadas outras técnicas como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectrofotometria de absorção molecular. Estas técnicas, em sua maioria, apresentam elevada qualidade em termos de exatidão e precisão, porém apresentam alto custo de operação e de aquisição, requerendo manutenção periódica de equipamentos, além de que, os profissionais que operam estes equipamentos devem ser treinados com alto nível de capacitação (SKOOG et al., 2006).

Nesse sentido, é primordial que os alimentos adquiridos sejam livres de produtos químicos tóxicos, o que, aliado a busca constante por maior sustentabilidade ambiental tornou necessário o desenvolvimento de tecnologias que permitam a avaliação da qualidade de alimentos aliado a busca de menores impactos ambientais (TIWARI, 2015). Desta forma,

métodos analíticos ambientalmente corretos estão sendo empregados para avaliar a qualidade química dos alimentos, no intuito de promover uma redução na quantidade de reagentes e amostras durante as análises, como também reduzir e ou eliminar o uso de solventes tóxicos.

Uma das técnicas instrumentais mais simples de manuseio é a espectrofotometria de absorção molecular (HARRIS, 2005; SKOOG, 2006). Os espectrofotômetros de absorção molecular permitem a determinação de substâncias químicas tanto de origem orgânica quanto inorgânica, desde que as moléculas de interesse absorvam radiação eletromagnética em um comprimento de onda específico (HARRIS, 2005; SKOOG, 2006). O funcionamento deste equipamento é baseado na quantidade de radiação eletromagnética que é absorvida por uma certa molécula no espectro ultravioleta ou visível, os quais compreendem comprimentos de onda menores de 400 nm e de 400 a 800 nm, respectivamente (HARRIS, 2005; SKOOG, 2006). Quando a análise química é feita através da medida de absorção de radiação no espectro do visível, trata-se de uma colorimétrica (HARRIS, 2005; SKOOG, 2006). Este termo é usado em virtude de que o analito apresenta cor, a qual é proporcional a concentração desta substância de interesse (HARRIS, 2005; SKOOG, 2006). Um exemplo bastante simples que ilustra bem a relação entre intensidade de cor e concentração de analito é empregada para a determinação de permanganato de potássio. Esta substância apresenta cor e, quanto maior a sua concentração em solução, maior a intensidade de cor. Como pode ser visto na Figura 1, mesmo com baixa variação da concentração do analito, é perceptível visualmente o aumento da intensidade de cor. Sendo assim, equipamentos que consigam medir a intensidade de cor podem ser empregados como equipamentos de análise química.

Figura 1. Intensidade de cor do KMnO_4 em função da concentração (mg L^{-1}).



Fonte: Autores.

Neste contexto, uma alternativa promissora vem sendo aplicada na química analítica para controle de qualidade de diversos produtos, a qual é baseada no uso de imagens digitais. Essa nova abordagem possibilita que sejam obtidas informações quantitativas instantâneas sobre a amostra, aplicando *smartphones* como dispositivo móvel para captura das imagens de reações colorimétricas (BENEDETTI et al., 2015). A realização de análises químicas através do emprego dos *smartphones*, permite a obtenção de resultados com alta precisão

e baixo custo operacional, como também, promove a realização de análises a campo com rápida obtenção de resultados. Isso se deve ao fato de que os dispositivos usados são portáteis e compactos e, por apresentarem uma câmera de alta resolução, permitem a obtenção de dados através de imagens digitais. Isso pode ser feito através da própria coloração do analito ou pela coloração formada da reação entre o analito e substâncias específicas. Esta abordagem pode ser aplicada desde que, a coloração do composto formado seja diretamente proporcional a sua concentração, permitindo assim a obtenção de curvas de calibração e conseqüentemente a determinação de compostos em uma amostra (HONG & CHANG, 2014; MARTINEZ, et al., 2008).

Vários estudos vêm sendo realizados para determinação de compostos inorgânicos e orgânicos em alimentos, os quais são baseados no uso de imagens digitais obtidas por *smartphones*. Alguns trabalhos recentemente publicados empregando esta abordagem são mostrados na Tabela 1. As principais análises realizadas para determinação de compostos inorgânicos são teste de alizarol, determinação de ferro e determinação de amônia. No que diz respeito aos compostos orgânicos, alguns trabalhos foram desenvolvidos, dentre os quais destacam-se a análise de potencial bioativo, determinação de composto furfural e determinação de ácido ascórbico.

Tabela 1. Principais análises realizadas pelo método de imagens digitais comparadas com métodos convencionais.

Método proposto - imagens digitais	Método convencional	Referência
Tetraciclina no leite	espectrofotometria	MASAWAT, P; HARFIELD, A; NAMWONG, A, 2015
Determinação de ferro	espectrofotometria	MOHAMED & SHALABY, 2019
Determinação de amônia	espectrofotometria	GARCIA et al., 2021
Determinação de ácido ascórbico	espectrofotometria	PORTO et al., 2019
Determinação de compostos furfural	espectrofotometria	PÉREZ-BERNAL et al., 2017; RICO-YUSTE et al., 2016
índice de refração de óleos	espectrofotometria	BOUGOT-ROBIN et al., 2015

Como pode ser visto na Tabela 1, vários estudos foram conduzidos empregando dispositivos móveis em substituição a análise instrumental comumente realizada. Em um estudo conduzido por Helfer et al. (2018) foi desenvolvida uma nova ferramenta para avaliar a estabilidade térmica do leite cru através do teste de alizarol empregando um dispositivo móvel como instrumento de medida quantitativa. A análise foi realizada através da correlação do pH e variações da cor. De acordo com os autores, foram obtidos resultados promissores, pois os valores encontrados, quando comparados aos obtidos empregando o método tradicional apresentaram concordância entre 95 e 100,9%, o que tornou o método desenvolvido uma alternativa rápida e confiável para o teste de alizarol (HELFER et al., 2018).

O trabalho realizado por Mohamed e Shalaby (2019) teve por objetivo avaliar a concentração de ferro em águas do rio Nilo, em solos, amostras vegetais e carnes de fígado,

empregando para isso um scanner, uma câmera digital e um *smartphone*. As imagens obtidas das soluções reagentes foram avaliadas utilizando cores padrão não uniformes RGB (vermelho, verde e azul), e a intensidade dessas cores foram convertidas em valores atribuídos de acordo com a sensibilidade e limite de detecção. Os sinais convertidos ultrapassaram os sinais de RGB e foram comparados com os sinais de espectrofotômetros de referência. Com isso, o dispositivo se mostrou simples e satisfatório, e de fácil aplicabilidade em relação aos espectrofotômetros disponíveis (MOHAMED & SHALABY, 2019).

A produção de organismos aquáticos como peixes, crustáceos, moluscos, dentre outros, exige uma água de boa qualidade, para isso, é necessário que seja feito periodicamente a análise de água, porém, os equipamentos disponíveis apresentam custo relativamente alto e são de difícil acesso. Neste sentido, Garcia et al. (2021) desenvolveram uma técnica simples e acessível para determinação de amônia em águas usadas para aquicultura. Foram utilizados como reagentes o nitroprussiato de sódio a 0,5% (m/v) em solução aquosa, hipoclorito em tampão carbonato (pH 10), timol e EDTA 0,1 M, o qual ao entrar em contato com a amônia presente na amostra resultou no aparecimento da cor cinza na água. Como a coloração formada era diretamente proporcional a quantidade de amônia presente na amostra, torna-se possível realizar a quantificação deste analito por colorimetria. Desta forma, foram capturadas imagens da amostra empregando um dispositivo móvel. Os testes realizados demonstraram que a metodologia pode estimar a concentração de amônia na água com precisão suficiente para verificar se a água de aquicultura deve ser substituída, além de ajudar no aumento da produção, por evitar perdas na safra (GARCIA et al., 2021).

Em relação a determinação de compostos orgânicos, Caramês et al. (2020) propôs a aplicação de técnicas alternativas, rápidas e de baixo custo, como a técnica de infravermelho próximo (NIR) e a espectroscopia e imagem baseada em *smartphone* (SBI), a fim de avaliar o potencial bioativo de polpa de açaí liofilizada. O estudo mostrou que os modelos testados apresentaram melhor desempenho em relação as técnicas de determinação de antocianinas totais (TAC), compostos fenólicos totais (TPC) e capacidade antioxidante, sendo estas técnicas convencionais relativamente de alto custo, morosas e agressivas ao meio ambiente e ao operador pelo uso de grandes quantidades de solventes tóxicos (CARAMÊS et al., 2020).

Rico-yuste et al. (2016), empregaram um *smartphone* para determinação de furfural em amostras de cervejas do tipo lager, correlacionando a sua concentração com o envelhecimento da cerveja. Para isso, foram utilizados discos de películas poliméricos que em contato com o composto gera uma reação colorimétrica. Sabendo que a variação da coloração é proporcional a concentração do composto furfural, foi possível a quantificação a partir do tratamento das imagens geradas através do *smartphone* (RICO-YUSTE et al., 2016).

A determinação de ácido ascórbico usando colorimetria de imagem digital foi aplicada por Porto et al. (2019), o qual avaliou a eficiência do método de colorimetria desenvolvido com a técnica convencional. Para tanto, os autores mediram a cor do complexo formado com a 1,2 ortofenantrolina e ácido ascórbico através da técnica convencional de espectrofotometria de absorção molecular e também empregando o *smartphone* como técnica alternativa. O método mostrou resultados adequados e satisfatórios, permitindo a posterior avaliação de amostras de sucos naturais sem perdas de qualidade nos resultados obtidos.

Como é possível observar, o emprego dos *smartphones* como ferramentas de controle de qualidade de alimentos tem se tornado bastante atrativo e vantajoso, pois pode ser utilizado como meio facilitador de análises de rotina, por serem compactos e portáteis, além de obter resultados rápidos, com adequada exatidão e precisão. Estas novas metodologias podem ser utilizadas facilmente pelos analistas, pois há disponível diversos *softwares* e aplicativos para *download* gratuito e que não requerem um treinamento prévio, tornando-se uma abordagem inovadora e possibilitando inúmeras aplicações em diferentes áreas de estudo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O controle de qualidade na indústria de alimentos, tem se tornado cada vez mais importante e necessário, devido a necessidade crescente de produção de alimentos, fazendo com que os consumidores sejam mais exigentes e preocupados com a segurança destes alimentos. Atualmente, as indústrias alimentícias têm procurado instintivamente por alternativas limpas que permitam a execução de processos mais rápidos, de fácil aplicação e que reduzam os custos de análises, através de equipamentos ou tecnologias que causem menores impactos ambientais.

Desta forma, surge como uma alternativa para análises de rotina no controle de qualidade o emprego de dispositivos móveis como os *smartphones*, os quais são uma abordagem emergente que permite a realização de análises químicas a campo com adequada precisão e exatidão aliados ao baixo custo operacional. Assim, a qualidade dos alimentos e de outros produtos que chegam até a mesa do consumidor torna-se maior, pois essas ferramentas permitem rápida obtenção dos resultados com baixo custo para a realização do controle de qualidade, impactando diretamente qualidade dos produtos que chegam ao consumidor e consequentemente maior segurança dos alimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à Universidade Federal de Santa Maria pelo suporte neste estudo através do Edital FIPE 2020.

■ REFERÊNCIAS

1. ANASTAS, P.; EGHBALI, N. Green chemistry: principles and practice. *Chemical Society Reviews*, v. 39, n. 1, p. 301-312, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20023854/>. Acesso em: 20 jan. 2021.
2. ARAÚJO, L. O.; CARVALHO, J. M. Inovação na indústria de alimentos e sua interface com o setor regulador do Brasil. *Cadernos de Prospecção* V.10, p. 405-415, 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/nit/article/view/23062>. Acesso em: 15 jan. 2021.
3. CARAMÊS, E. T. S. et al. Near infrared spectroscopy and smartphone-based imaging as fast alternatives for the evaluation of the bioactive potential of freeze-dried acai. *Food Research Internacional*. Campinas, V. 140, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920308176>. Acesso em: 20 fev. 2021.
4. ELDIN, A. B. et al. Green Analytical Chemistry: Opportunities for Pharmaceutical Quality Control. *Analytical Chemistry*. v. 71, p. 861–871, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1134/S1061934816090094>. Acesso em: 20 jan. 2021.
5. FERREIRA, M.A. et al., Avaliação da adequação às boas práticas em unidades de alimentação e nutrição. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. V.70, n.2, p.230 - 235, 2011. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v70n2/v70n2a20.pdf>. Acesso em: 12 fev. 2021.
6. GALLEGOS, D. et al. Label-free biodetection using a smartphone. *Lab on a Chip*. v.13, p. 2124-2132, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23609514/>. Acesso em: 18 jan. 2021.
7. GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the significance mnemonic of green analytical practices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. V. 50, p. 78-84, 2013. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-12-principles-of-green-analytical-chemistry-and-Ga%C5%82uszka-Migaszewski/290d74bbee-2e826e1ec5574e999a980d00ae77f9>. Acesso em: 10 jan. 2021.
8. GARRIGUES, S.; ARMENTA, S.; DE LA GUARDIA, M. Green strategies for decontamination of analytical wastes. *Trends in Analytical Chemistry*. v. 29, p. 592-601, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993610001123>. Acesso em: 23 jan. 2021.
9. HARRIS, DANIEL C. *Análise Química Quantitativa*, 6ª Edição, LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro-RJ, 2005.
10. HELFER, G.A. et al. A new tool for interpretation of thermal stability of raw milk by means of the alizarol test using a PLS model on a mobile device. *Food Analytical Methods* 11, 2022-2028 (2018). Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-018-1190-5>. Acesso em: 24 jan. 2021.
11. HONG, J. I.; CHANG, B. Y. Development of the smartphone-based colorimetry for multi-analyte sensing arrays. *Lab on a Chip*. v. 14, p. 1725-1732, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24671456/>. Acesso em: 18 fev. 2021.
12. MARTINEZ, A. W. et al. Simple Telemedicine for developing Regions: Camera Phones and Paper-Based Microfluidic Devices for Real-Time, Off-site Diagnosis. *Analytical Chemistry*. V. 80, p. 3699-3707, 2008. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac800112r>. Acesso em: 16 jan. 2021.

13. MASAWAT, P.; HARFIELD, A.; NAMWONG, A. Na iPhone-based digital image colorimeter for detecting tetracycline in milk. *Food Chemistry*. v. 184, p. 23-29, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25872422/>. Acesso em: 16 jan. 2021.
14. MASINO, F. et al. A study of the relationships among acidity, sugar and furanic compound concentrations in set of casks for Aceto Balsamico Tradizionale of Reggio Emilia by multivariate techniques. *Food Chemistry*, v. 92, n. 4, p. 673-679, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25872422/>. Acesso em: 16 jan. 2021.
15. MIDIO, A.F.; MARTINS, D.I. *Toxicologia de Alimentos*. São Paulo: Varela, 2000. 295 p.
16. MOHAMED, A. A.; SHALABY, A. A. Digital imaging devices as sensors for iron determination. *Food Chemistry*. v. 274, p. 360–367, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618315796>. Acesso em: 16 jan. 2021.
17. NOGUEIRA, M. O.; DAMASCENO, M. L.V. Importância do sistema de gestão de qualidade para a indústria de alimentos. *Caderno de Ciências Agrárias*. V.8, n.3,p.84-93, 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccau/mg/article/view/2927>. Acesso em: 15 jan. 2021.
18. PERINO, S. et al. Portable microwave assisted extraction: Na original concept for green analytical chemistry. *Journal of Chromatography A*. v. 1315, p. 200-203, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967313015203>. Acesso em: 15 jan. 2021.
19. PORTO, I. S. A. et al. Determination of ascorbic acid in natural fruit juices using digital image colorimetry. *Microchemical Journal*, v. 149, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X19310550>. Acesso em: 16 jan. 2021.
20. RICO-YUSTE, A. et al. Furfural Determination with Disposable Polymer Films and Smartphone-Based Colorimetry for Beer Freshness Assessment. *Analytical Chemistry*. v. 88, p. 3959–3966, 2016. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.analchem.6b00167>. Acesso em: 16 jan. 2021.
21. SERVIÇO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS DO AMAZONAS - SEBRAE/AM. **Boas Práticas para Manipuladores de Alimentos**, 2018.
22. SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo, 2006.
23. TIWARI, B. K. Ultrasound: A clean, green extraction technology. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 71, p; 100-109, 2015. Disponível em: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-ec30f938-f84d-3cac-81d6-8f54de5c9fdb>. Acesso em: 16 jan. 2021.
24. UNITED NATIONS. (2019). *World Population Prospects: The 2019 Revision*. New York: United Nations.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver métodos analíticos para avaliação química de amostras vegetais através do uso de imagens digitais, obtidas pelo emprego de dispositivos móveis.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver um método analítico para a quantificação de compostos fenólicos em extratos vegetais utilizando imagens digitais obtidas a partir de *smartphone*;
- Desenvolver um método analítico para a quantificação de paraquate em alimentos de origem vegetal utilizando imagens digitais obtidas a partir de *smartphone*;
- Otimizar as condições de obtenção de imagens e de tratamento de dados para os métodos desenvolvidos;
- Avaliar a exatidão dos métodos desenvolvidos comparando com os métodos convencionais de análise;
- Aplicar os métodos às amostras vegetais de extrato de beringela, extrato de melissa, pêssego, uva, tomate e pimentão.

4. Resultados obtidos

Os resultados parciais obtidos até o momento estão apresentados no artigo 1 e artigo 2.

4.1 ARTIGO 1.

Artigo publicado na revista *Food Science & Technology*.

Determination of total phenolic compounds in plant extracts via Folin-Ciocalteu's method adapted to the usage of digital images



Determination of total phenolic compounds in plant extracts via Folin-Ciocalteu's method adapted to the usage of digital images

Bruna Nichelle LUCAS^{1*}, Flávia Michelon DALLA NORA¹, Caroline Pagnossim BOEIRA¹, Silvani VERRUCK²,
Claudia Severo da ROSA¹

Abstract

The food industry shows great interest on researching innovative and alternative methods to determine phenolics compounds. Hence, the present study aims to develop a technique based on Folin-Ciocalteu's method to determine the total amount of phenolic compounds of a sample using a smartphone as a tool for obtaining digital images of the analysis' and evaluating them through the Colorgrab' application. In this study, color parameters S, L, V and I were evaluated, as well as experimental parameters such as distance between sample and camera, light temperature, and sample's volume. To improve analytical conditions, phenolic compounds were determined through the conventional Folin-Ciocalteu's method, with the results being compared to the data obtained from the adapted method. After optimization, the procedure was carried out using the S color parameter, cold light (6500 K), 7 cm distance between sample and camera, and a solution volume of 1.5 mL. The test showed suitable results for precision (RSD < 2.4%) and accuracy (98.4 to 103.8%) when compared to the conventional method. The proposed technique proved to be an innovative alternative to determine total phenolic compounds in routine analysis for different sectors of the food industry, showing good analytical results without requiring sophisticated equipment.

Keywords: food industry; Colorgrab'; smartphone; eco-friendly; eggplant; lemon balm.

Practical Application: This study sought to develop an analytical method through the use of digital images obtained from a smartphone as an easily available alternative to quantify a sample's total phenolic compounds. This technique aims to replace the use of a spectrophotometer, reducing the need for bulky equipment, as well as reducing environmental impacts by using less solvents, all while proposing a technique with relatively lower cost compared to those commonly used and following the recommendations of green chemistry.

1 Introduction

Bioactive compounds show great interaction capacity in live tissues, presenting functional biological properties such as antioxidant, anti-inflammatory, anticarcinogenic and antiviral activities (Ramakrishna et al., 2019). When it comes to food, examples of bioactive compounds that display these properties include non-digestible carbohydrates (soluble and insoluble fibers) and antioxidants (phenolic compounds, carotenoids, tocopherols, isoflavones and anthocyanins) (Ramakrishna et al., 2019; Subria-Cueto et al., 2022). Thus the functional potential of many bioactive compounds is usually closely related to phenolic compounds, which is one of the most common groups of chemical compounds found in food (Quitteau et al., 2011). These compounds are also able to improve the sensorial properties of a given product, such as color and smell (Costa et al., 2015). Thus, these compounds are used as natural food preservatives, coloring agents, and can even be used in the cosmetic industry (Silva et al., 2010). Their major use, however, is related to food preservation, considering that such compounds promote oxidative stability due to their high antioxidant potential. Many studies have been performed on bioactive compounds, introducing them as functional dietary ingredients, in order to reduce pathologies

such as obesity, diabetes and cardiovascular diseases (Vargas-Madriz et al., 2022; Sriwardhana et al., 2013). The antioxidant potential of phenolic compounds plays a major role in the food industry if one considers the current trend of researching natural antioxidants (Banwo et al., 2021).

Phenolic compounds' capacity to eliminate free radicals can be measured through many assays. The most commonly applied test to determine phenolic compounds concentration is the Folin-Ciocalteu colorimetric technique (Vuolo et al., 2019). This method is based on molecular absorption spectrophotometry, which is an efficient technique that shows great accuracy and precision, however, it also requires specific equipment, adequate facilities and trained personnel to perform the analysis (Bhawant et al., 2015). Currently, industries have been searching for alternative equipment and eco-friendly technologies that allow tests to be quickly and easily performed while also being portable, reducing costs by minimizing the amount of solvents required, and implementing versatile equipment that can be used in both laboratory and sampling sites (Armenta et al., 2015; Vietra et al., 2020). In this context, the use of mobile devices

Received 26 Feb., 2022

Accepted 12 May, 2022

¹ Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

² Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil.

*Corresponding author: bruna_nichelle@hotmail.com

become a promising alternative to perform chemical analyses, especially colorimetric tests (Helfer et al., 2017). The use of digital images in colorimetric analyses is based on image acquisition, where the reaction's color intensity is captured and evaluated using smartphones, cameras, webcams, and scanners in order to measure the sample's chemical parameters (Hong & Chang, 2014).

Smartphones are in the forefront when it comes to image acquisition via mobile devices, especially due to their portability, accessibility and high resolution, allowing for the acquisition of high quality digital images that can be used to determine the concentration of specific analytes (Gallegos et al., 2013). The use of such equipment is recognized as an innovative technology with numerous applications. Recently, many studies have shown the usage of smartphones as a promising and innovative tool in the food industry, among which stands out the determination of ascorbic acid in natural juice (Porto et al., 2019); the bioactive compounds' potential in freeze dried açai (Caramês et al., 2021); determination of bioactive compounds in grape juice (Porto et al., 2019); and to quantify furfural in lager beer samples (Rico-Yuste et al., 2016). Considering the great potential of smartphone's usage in colorimetric tests and the lack of studies on determining the amount of phenolic compounds of different food samples without the use of expensive equipment, the present study seeks to propose a rapid, easily applied, eco-friendly and low-cost methodology to determine phenolic compounds through digital images, using smartphones and the Colorgrab' application.

2 Material and methods

2.1 Samples

The chosen food samples for this study were whole eggplant (*Solanum melongena*), containing peel, pulp and seeds, and lemon balm (*Melissa officinalis*) leaves, obtained at the local market in Santa Maria city (Rio Grande do Sul, Brazil). Samples were oven-dried (MA 033/100, Marconi, Brasil) at 45 ± 5 °C for 48 h, and then stored in polyethylene bags at -18 °C until analysis.

2.2 Hydroalcoholic extraction

The extracts' preparation was performed accordingly to Boetra et al. (2018), by using 5 g of sample, 50 mL of ethyl alcohol in a 1 : 10 proportion (m/v) (99.5% purity, Sigma-Aldrich, USA). The extraction lasted for 20 min, using a heated plate at 60 °C under constant stirring. Finally, extracts were filtered using paper filters (0.17 mm) and the final volume was adjusted to 50 mL by adding distilled water, and stored at -18 °C until analysis.

2.3 Phenolic compounds' determination using UV-VIS spectrophotometry

Phenolic compounds' content was determined in triplicate by the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method, described by Singleton & Rosst (1965), with some modifications. A 0.5 mL aliquot from each extract was added to 2.5 mL Folin-Ciocalteu's reagent solution (0.2 M) (Alphatec, USA). The solution was left to rest for 5 min before being added with 2 mL of 7.5% p/v sodium carbonate (Impex, Brazil). The resulting color absorbance

was measured at 760 nm in a UV-Vis spectrophotometer after 15 min reaction time at 40 °C. To obtain the phenolic compounds' concentration data, a calibration curve was constructed using different concentrations of gallic acid (10 to 70 mg·L⁻¹). Total phenolic compounds' content was expressed in mg of gallic acid equivalents per L of sample (EAG·L⁻¹ of sample).

2.4 Determination of phenolic compounds using smartphone

Sampling and preparation of standard solutions were performed using the conventional Folin-Ciocalteu method, with the resulting liquid being placed in a 24 well Elisa microplate. To obtain the digital images, a Samsung Galaxy A5 smartphone equipped with a 13 MP resolution camera (Samsung Electronics, Suwon, Gyeonggi, South Korea) was used. Images were captured directly via the Colorgrab' app (Loomattx, Haifa, Israel, 2021).

In order to guarantee a standardization of the acquired images, a lightbox (Figure 1) was constructed to allow for adequate plate positioning and image capturing. The box was internally coated with 15 cm x 15 cm white ethylene vinyl acetate (EVA) sheets. A led light stripe (10 W/m, Stella) was fixed on the lid borders and a 7 cm x 4 cm clipping was made in the upper part of the box in order to accommodate the smartphone.

The obtained images contained the sample's color information in RGB, thus, color intensity was determined in only three colors: red (R), green (G) and blue (B), considering a 0 to 255 numeric range. Conditions were optimized and it was decided to use the saturation analytical signal (S) to determine phenolic compounds' content in plant extracts, which was calculated through Equation 1.

$$S = \frac{C}{M} \quad (1)$$

Where, $M = \max(R, G, B)$ and $C = M - \min(R, G, B)$.

2.5 Optimization and experimental conditions

In order to optimize the proposed method, the determination of phenolic compounds from lemon balm leaves was performed using the UV-Vis spectrophotometric technique. The same extract was used to evaluate the distance between camera and sample

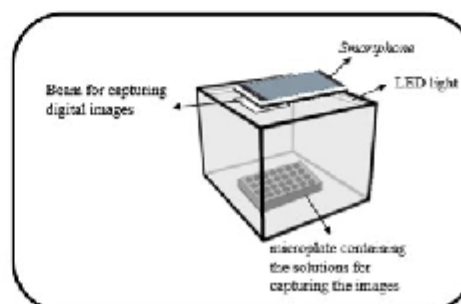


Figure 1. Lightbox for colorimetric reaction's digital image obtainment.

(5; 7; 9; and 11 cm); the sample's final volume in the microplate well (1.5; 2; 2.5; and 3 mL); and light's color/temperature, which ranged between cold (6500 K), warm (3000 K) and natural light temperature. The proposed method ($n = 5$) results' precision and accuracy were compared to those obtained from the conventional analysis ($n = 5$). For each evaluated condition, the calibration curve and five replicates (quintuplicates) from each sample were also evaluated.

All improvements were performed using the lightbox (Figure 1), in order to insert the microplate and standardize the sample's reading. In addition to the S value, color glow representation (Hanbury, 2008), such as Intensity (I), illumination (V) and luminance (L) were also reviewed. In order to do so, the RGB data was handled according to Equations 2-4 (Hanbury, 2008).

$$V = M \quad (2)$$

$$I = \frac{(R+G+B)}{3} \quad (3)$$

$$L = \frac{M+m}{2} \quad (4)$$

Where $M = \max(R, G, B)$ and $C = M - \min(R, G, B)$.

To evaluate the accuracy of the proposed method, two vegetable extract samples were submitted to determination of phenolic compounds using the conventional technique and the proposed method. To compare them, the concordance between both methods was calculated, observing average results obtained in triplicate.

2.6 Statistical analysis

All experiments were statistically analyzed using the T-student test to compare two means with a 95% significance level, using the R software (RStudio, 4.1.0).

3 Results and discussion

3.1 Improvement of experimental conditions and data acquisition using smartphones

Two evaluations of experimental conditions were conducted in order to obtain greater accuracy and precision results when compared to the conventional method. The first one is related to color representation parameters (S, I, V and L), and the second one sought to optimize the distance between sample and camera, the sample's volume in the microplate wells, and illumination conditions. Thus, lemon balm leaves' extract was used to compare the total phenolic compounds' data found using the proposed and the conventional method.

Evaluation of the color representation parameter

Preliminary tests were conducted using natural light in order to choose the best color parameter to perform the analysis. Quintuplicate readings of phenolic compounds' concentration on lemon balm leaves' extract were performed using 1.5 to 3 mL samples with distances between 5 and 11 cm, resulting in 80 different concentration results. V, S, L and I parameters were

then calculated from the obtained RGB data. The mean values and standard deviation of each color parameter evaluated are shown in Figure 2.

The columns represent phenolic compounds concentration; the error bars represent standard deviations obtained from the proposed method; yellow and dashed lines represent lemon balm extract's phenolic compounds concentration and standard deviation obtained from the conventional method, respectively. No significant difference was observed between color parameters (T-student test, $p > 0.05$).

As shown in Figure 2, the yellow line represents the average concentration of phenolic compounds, while the dashed lines represent the standard deviation obtained from the conventional analysis. The mean values of the evaluated color parameters (bars) was different from S, V, L and I, due to the fact that each color parameter is distinctly calculated, thus, different values can be obtained from the same sample. Regarding the method's precision, the S parameter displayed less variation between measurements when compared to others. Table 1 shows the concentration data of phenolic compounds, standard deviation and results' concordance when compared to the conventional method.

The results show that the S color parameter provided greater concordance rates when compared to the conventional method (99.73%), and greater precision was observed (RSD = 5.02%) when compared to V, L and I parameters (Table 1). Furthermore, the S parameter showed proportional positive relations to concentration, while all other parameters had inversely proportional results. Nonetheless, the best determination

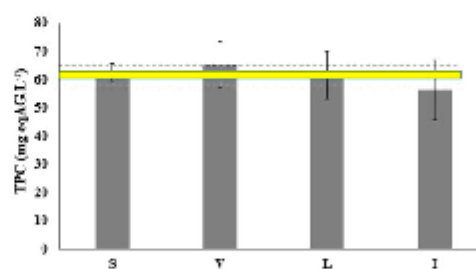


Figure 2. Evaluation of S, V, L and I color parameters.

Table 1. Data for each evaluated color parameter under natural light.

	Conventional	Conversion parameters RGB			
		S	V	L	I
TPC (mg·L ⁻¹ AG)	62.53	62.70	65.40	61.80	56.35
SD	1.33	3.15	8.06	8.39	10.57
RSD	2.13	5.02	12.33	13.57	18.76
Agreement (%)		99.73	95.87	105.82	109.67
R ²	0.9999	0.9774	0.9611	0.9069	0.9400

TPC = phenolic compounds concentration; SD = standard deviation; RSD = relative standard deviation; R² = determination coefficient of the calibration curves considering 1.5 mL and 7 cm distance.

coefficient between the different color parameters was linked to the S parameter, suggesting greater reliability. Thus, the S parameter was then chosen to improve experimental variables.

Experimental variables evaluation

After the S parameter was chosen, the sample volume, light temperature and distance between sample and camera were evaluated. Figure 3 shows results related to the evaluated variables (bars), comparing them to the conventional method (yellow line). As observed in Figure 3, the sample's volume was one of the parameters that generated significant variations in analyte concentration, considering that, the greater the sample's volume, the smaller the concentration of phenolic compounds. Such parameter was determined to simplify the method, reduce reagent costs, and contribute to an eco-friendly practice.

The results obtained when using a sample volume of 1.5 mL (5 cm, cold, natural and warm light; 7 cm under cold and warm light; 9 cm under natural light and 11 cm under ambient light) did not show significant differences ($p > 0.05$) when compared to the conventional method. Furthermore, this condition produced more accurate results considering light and distance variables.

When using 2 mL sample volume at a distance of 9 cm, as well as 2.5 mL sample volume at a distance of 9 and 11 cm under natural light, the detector's saturation point was reached, not allowing for the accurate measurement of phenolic compounds' concentration. Moreover, it was also observed that the greater the sample's volume in the microplate well, the standard deviation would increase, while concordance between samples would be reduced when compared to the conventional method. Thus, 1.5 mL sample volume was chosen, since it shows a mean standard deviation of 1.09 (RSD = 1.74%) and 100.5% mean concordance.

Furthermore, imaging conditions directly impact the analysis quality, as well as its results. Variables such as light source, the roughness of the object's surface, and color intensity can influence the quality of digital images obtained using smartphones, greatly

impacting the image's precision and results (Zamora-García et al., 2021). In order to reduce image acquisition problems, sharpness and light conditions (cold, warm and natural light) were evaluated in relation to the distance. According to the obtained results (Figure 3), it can be observed that the light temperature plays an important role. Warm light sources have shown a greater disparity in the average total phenolic compounds values when compared to cold and natural light. When cold light was applied, the obtained results were more precise and exact when compared to those found in the conventional method, presenting similar TPC means and lower SDs. The optimization of these conditions indicates that the evaluated variables presented significant differences when compared to the conventional method. However, the best analytical signal was obtained at a 7 cm distance, using a 1.5 mL sample volume and cold light settings, for it didn't show significant differences at 95% significance level, while also displaying a 101.8% concordance rate and a 0.59 (RSD = 0.92%) standard deviation when compared to the conventional Folin-Ciocalteu method.

Smartphone digital image-capture method's accuracy evaluation

To evaluate the accuracy of smartphone digital image-capture, the determination of total phenolic compounds was carried out through a spectrophotometric technique, performed on two different plant extracts (eggplant and lemon balm). Figure 4 shows the calibration curves obtained from both techniques, demonstrating that both methods show significant linearity between analytic signal and concentration, considering that the obtained determination coefficients (r^2) were very similar (0.9945 and 0.9973) between the smartphone digital image-capture and the conventional method, respectively. Calibration curves displayed high linearity, allowing for a reliable determination of a sample's total phenolic compounds. Figure 5 displays the standard deviation and concentration values for both samples, expressed in mg of gallic acid equivalent.

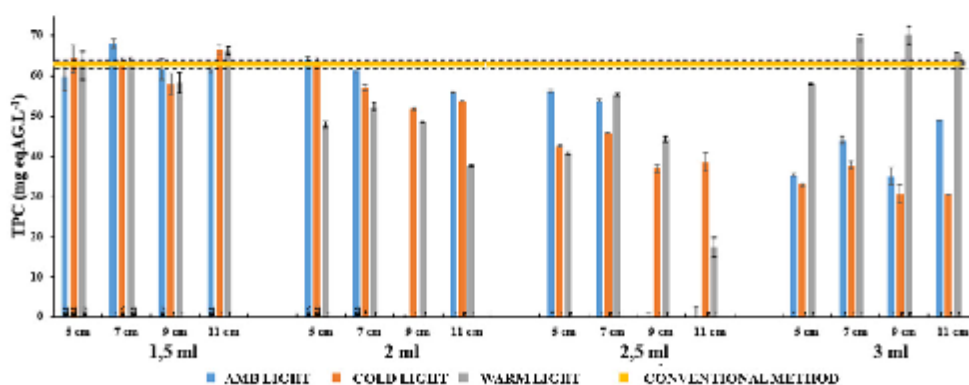


Figure 3. Light, volume and distance parameters on phenolic compounds' determination, compared to the conventional method. Ns: non-significant (T-student test, $p > 0.05$); *: significant (T-student test, $p > 0.05$).

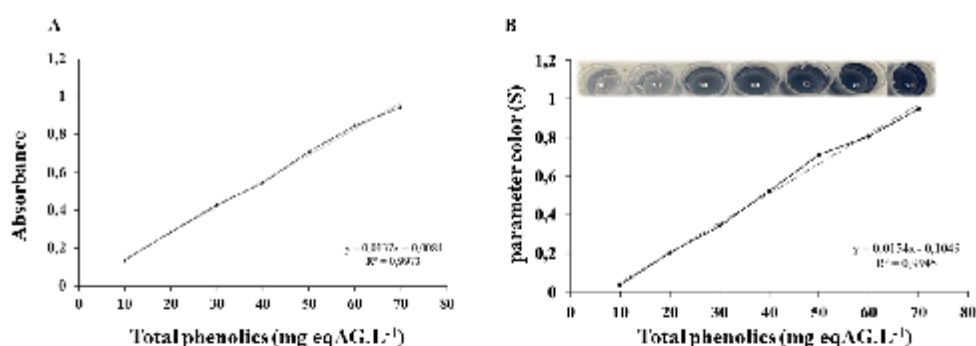


Figure 4. (A) conventional method; (B) smartphone digital image-capture method calibration curves for determination of total phenolic compounds.

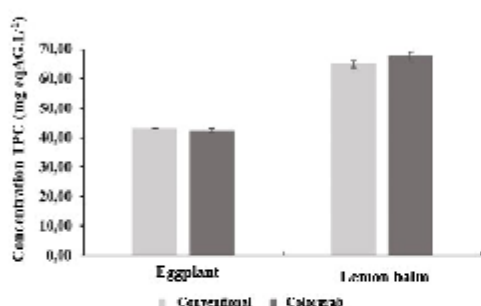


Figure 5. Smartphone digital image-capture method's accuracy assessment.

Columns represent phenolic compounds concentration, and error bars represent standard deviations. No significant difference was observed between both techniques and samples (T-student test, $p > 0.05$).

Eggplant samples displayed a phenolic compound concentration of 143.11 ± 0.19 mgEAG.L⁻¹ and 42.42 ± 0.72 mgEAG.L⁻¹ for conventional and proposed methods, respectively, while lemon balm samples showed a concentration of 65.03 ± 1.15 mgGAeq.L⁻¹ for the conventional method and 67.53 ± 1.59 mgGAeq.L⁻¹ for the smartphone digital image-capture method. Both evaluated extracts showed no significant difference between the methods ($p > 0.05$). The test's accuracy was similar, with concordance rates ranging from 98.4 to 103.8%, indicating that the smartphone digital image-capture method is precise.

Many studies have been conducted using digital images, such as tetracycline determination in milk samples (Masawat et al., 2015). The authors compared their proposed method to official analysis techniques, evidencing that no significant statistical difference was shown between the assessments. The authors also found that the concordance rate remained between 93.1 and 101% when compared to the conventional method (Masawat et al., 2015). Beltrame et al. (2019) have studied the use of digital imaging to quantify grape juice's total anthocyanin content

and antioxidant capacities, finding rates of 0.9258 and 0.8479, respectively, which are significantly lower than those found in the present study, especially when considering that concentration rates remained above 0.99 (Beltrame et al., 2019). Other studies have also found great concordance rates (99%) in comparison to conventional methods when determining ascorbic acid content in fruit juices (Aguirre et al., 2019). Therefore, it is possible to assume that the use of smartphones when performing day-to-day analyses is an easily accessible, advantageous, and innovative alternative. Moreover, the technique provides fast, accurate and precise results, alongside a relatively low cost, which allows for the determination of total phenolic compounds in different vegetable extracts. The smartphone digital image-capture method also represents reduced energy consumption and no need for sophisticated equipment or solvents, making it a less aggressive alternative to the environment.

4 Conclusion

The present study allowed us to obtain of invaluable analytic data on the determination of total phenolic compounds found in eggplant and lemon balm extracts, via the use of digital images obtained by smartphones. The smartphone digital image-capture method showed great precision and accuracy when compared to the conventional Folin Ciocalteu analysis, also displaying great linearity between analytic signal and concentration. Thus, the smartphone digital image-capture method demonstrates a promising analytical capacity in determining total phenolic compounds of different plant extracts, while also pushing for the use of smartphones in quality control analysis for the food industry, as it is a portable, easily applied and economically viable piece of equipment, allowing for an innovative and eco-friendly approach by reducing the amount of required chemicals and solvents in order to evaluate total phenolic compound concentration.

References

- Aguirre, M. Á., Long, K. D., Canals, A., & Cunningham, B. T. (2019). Point-of-use detection of ascorbic acid using a spectrometric

- smartphone-based system. *Food Chemistry*, 272, 141-147. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.002>. PMID:30309524.
- Armenta, S., Garrigues, S., & Guardia, M. (2015). The role of green extraction techniques in Green Analytical Chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 71, 2-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2014.12.011>.
- Banwo, K., Olojede, A. O., Adesulu-Dahunsi, A. T., Verma, D. K., Thakur, M., Tripathy, S., Singh, S., Patel, A. R., Gupta, A. K., Aguilár, C. N., & Utama, G. L. (2021). Functional importance of bioactive compounds of foods with potential health benefits: a review on recent trends. *Food Bioscience*, 43, 101320. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101320>.
- Beltrame, K. K., Gonçalves, T. R., Marçó, P. H., Gomes, S. T. M., Matsushita, M., & Valderrama, P. (2019). Application of digital images and multivariate calibration for the quantification of anthocyanin and antioxidant activity in grape juice. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 25(2), 156-160. <http://dx.doi.org/10.1111/ajgw.12387>.
- Bhawani, S. A., Fong, S. S., & Ibrahim, M. N. M. (2015). Spectrophotometric analysis of caffeine. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2015, 170239. PMID:26604926.
- Boeira, C. P., Piovesan, N., Soquetta, M. B., Flores, D. C. B., Lucas, B. N., Barin, J. S., Rosa, C. S., & Terra, N. N. (2018). Ultrasonic assisted extraction to obtain bioactive, antioxidant and antimicrobial compounds from marcela. *Ciência Rural*, 48(6), e20170772. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170772>.
- Caramés, E. T. S., Baqueta, M. R., Conceição, D. A., & Pallone, J. A. L. (2021). Near infrared spectroscopy and smartphone-based imaging as fast alternatives for the evaluation of the bioactive potential of freeze-dried açai. *Food Research International*, 140, 109792. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109792>. PMID:33648159.
- Costa, D. C., Costa, H. S., Albuquerque, T. G., Ramos, F., Castilho, M. C., & Sanches-Silva, A. (2015). Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 336-354. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.009>.
- Gallegos, D., Long, K. D., Yu, H., Clark, P. P., Lin, Y., George, S., Nath, P., & Cunningham, B. T. (2013). Label-free biodetection using a smartphone. *Lab on a Chip*, 13(11), 2124-2132. <http://dx.doi.org/10.1039/c3lc40991k>. PMID:23609514.
- Hanbury, A. (2008). Constructing cylindrical coordinate colour spaces. *Pattern Recognition Letters*, 29(4), 494-500. <http://dx.doi.org/10.1016/j.patrec.2007.11.002>.
- Helfer, G., Magnus, V., Böck, F., Teichmann, A., Ferrao, M., & Costa, A. (2017). PhotoMetric: an application for univariate calibration and principal components analysis using colorimetry on mobile devices. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(2), 328-335. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20160182>.
- Hong, J. I., & Chang, B. Y. (2014). Development of the smartphone-based colorimetry for multi-analyte sensing arrays. *Lab on a Chip*, 14(10), 1725-1732. <http://dx.doi.org/10.1039/C3LC51451J>. PMID:24671456.
- Masawat, P., Harfield, A., & Namwong, A. (2015). An iPhone-based digital image colorimeter for detecting tetracycline in milk. *Food Chemistry*, 184, 23-29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.089>. PMID:25872422.
- Porto, I. S. A., Santos, J. H. No., Santos, L. O., Gomes, A. A., & Ferreira, S. L. C. (2019). Determination of ascorbic acid in natural fruit juices using digital image colorimetry. *Microchemical Journal*, 149, 104031. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2019.104031>.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201000044>. PMID:21226137.
- Ramakrishna, R., Sarkar, D. & Shetty, K. (2019). Functional bioactives from barley for human health benefits. In K. Shetty & D. Sarkar (Eds.), *Functional foods and biotechnology: sources of functional foods and ingredients* (pp. 61-85). Boca Raton: CRC Press. <http://dx.doi.org/10.1201/9781003003830-5>.
- Rico-Yuste, A., González-Vallejo, V., Benito-Peña, E., Engel, T. C., Orellana, G., & Moreno-Bondi, M. C. (2016). Furfural determination with disposable polymer films and smartphone-based colorimetry for beer freshness assessment. *Analytical Chemistry*, 88(7), 3959-3966. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.6b00167>. PMID:26965182.
- Silva, M., Costa, R., Santana, A., & Koblitz, M. (2010). Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(3), 669-682. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n3p669>.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Siriwardhana, N., Kalupahana, N. S., Cekanova, M., LeMieux, M., Greer, B., & Moustaid-Moussa, N. (2013). Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(4), 613-623. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.12.013>. PMID:23498665.
- Subiria-Cueto, R., Coria-Oliveros, A. J., Wall-Medrano, A., Rodrigo-García, J., González-Aguilar, G. A., Martínez-Ruiz, N. R., & Alvarez-Parrilla, E. (2022). Antioxidant dietary fiber-based bakery products: a new alternative for using plant by-products. *Food Science and Technology*, 42, e57520. <http://dx.doi.org/10.1590/1515-07520>.
- Vargas-Madriz, A. F., Kuri-García, A., Vargas-Madriz, H., Chávez-Servín, J. L., & Ayala-Tirado, R. A. (2022). Phenolic profile and antioxidant Capacity of fruit Averrhoa carambola L.: a review. *Food Science and Technology*, 42, e69920. <http://dx.doi.org/10.1590/1515-07520>.
- Vieira, D. A. P., Caliarí, M., Souza, E. R. B., & Soares, M. S. Jr., (2020). Methods for and pigments extraction and determination of color in tomato for processing cultivars. *Food Science and Technology*, 40(1), 11-17. <http://dx.doi.org/10.1590/1515-07520>.
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica, M. R. Jr., (2019). Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant power. In M. R. S. Campos (Ed.), *Bioactive compounds: health benefits and potential applications* (pp. 33-50). Oxford: Woodhead Publishing. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>.
- Zamora-García, I., Correa-Tome, F. E., Hernandez-Belmonte, U. H., Ayala-Ramirez, V., & Ramirez-Paredes, J.-P. (2021). Mobile digital colorimetry for the determination of ammonia in aquaculture applications. *Computers and Electronics in Agriculture*, 181, 105960. <http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2020.105960>.

4.2 ARTIGO 2.

Manuscrito que será submetido a revista *Ciência Rural*.

**Use of digital images in smartphone-based colorimetric analysis for paraquat
determination**

**Emprego de imagens digitais na análise colorimétrica baseada em *smartphone* para
determinação de paraquate**

1 **Palavras-chave:** imagens digitais, dispositivos móveis, paraquate, química verde, Colorgrab
2 ®.

3

4 **INTRODUÇÃO**

5 Estima-se um aumento de 10 bilhões na população mundial até 2050, o que promove uma maior
6 demanda no fornecimento de alimentos e, no intuito de atender e suprir essa necessidade
7 alimentar, houve uma multiplicação significativa na produção agrícola, sendo considerada o
8 principal meio de subsistência (SINGH et al., 2020). Neste sentido, a fim de intensificar os
9 rendimentos das colheitas agrícolas, os agricultores introduziram o uso de pesticidas químicos
10 como estratégia de controle e manejo de pragas eficaz para garantir o suprimento de alimentos
11 para a população (NARENDERAN et al., 2020).

12 Os pesticidas são compostos químicos utilizados para controlar, eliminar e prevenir insetos,
13 pragas e ervas daninhas que afetam o cultivo das plantas (KIM et al., 2017). São classificados
14 de acordo com o modo de ação, estrutura química, nível toxicológico, modo e tempo de
15 aplicação (KIM et al., 2017; YAN et al., 2018). Os agrotóxicos mais empregados pelos
16 agricultores são paraquate, glifosato, pentaclorofenol e dinitrofenóis (NARENDERAN et al.,
17 2020; GUTERRES SILVA et al., 2023).

18 O paraquate (dicloreto de 1,1-dimetil-4,4-bipirídio) é um dos pesticidas mais aplicados na
19 produção agrícola em todo o mundo, apresenta ação rápida e não seletiva, atuando no
20 mecanismo de indução do estresse oxidativo, originando a interrupção dos sistemas
21 antioxidantes (RASHIDIPOUR et al., 2019; GUTERRES SILVA et al., 2023). É largamente
22 empregado no cultivo de soja, arroz, algodão, uva, café, entre outros, como dessecante com o
23 objetivo de uniformizar a maturação das plantas, promovendo uma secagem rápida, facilitando

1 a colheita mecanizada, obtenção de menores perdas e impurezas e um menor custo na secagem
2 (INOUE et al., 2003; EL HARMOUDI et al., 2013).

3 A aplicação excessiva de paraquate aumentou o risco de contaminação ambiental, embora, a
4 fração residual possa ser degradada por meio de ação microbiológica e fotoquímicas, a lentidão
5 do processo e a utilização excessiva, torna-se um potencial perigo para a saúde humana e animal
6 (KIM et al., 2017). Apresenta alta solubilidade em água, causando danos a fauna aquática, como
7 também, seus resíduos podem estar presentes nas plantações de alimentos, pois são facilmente
8 absorvidos pelas células vegetais, assim, promove a exposição do agrotóxico à população por
9 meio da dieta alimentar que consiste boa parte no consumo de vegetais e frutas (RAJARAM &
10 NEELAKANTAN, 2023). Devido ao seu elevado grau de toxicidade foi banido a utilização em
11 alguns países, porém, por apresentar elevada eficiência e baixo custo, possibilita o uso de forma
12 ilícita (ZHANG et al., 2022b; RAJARAM & NEELAKANTAN, 2023).

13 O herbicida paraquate é classificado como tóxico, com elevado potencial cancerígeno e seus
14 resíduos podem causar doenças hepáticas, mutagenicidade, distúrbios hormonais e está
15 relacionado também na contribuição no desenvolvimento da doença de
16 Parkinson (NARASIMHAN et al., 2014; ZHANG et al., 2022b). Neste sentido, o
17 monitoramento eficiente de resíduos deste agrotóxico e de outros pesticidas é crucial para
18 garantir a segurança alimentar e ambiental (ASGARI et al., 2020; GUTERRES SILVA et al.,
19 2023).

20 Há uma diversidade de técnicas analíticas para a determinação de paraquate, como
21 espectrofotometria (YAÑEZ-SEDEÑO & DIEZ, 1986), colorimetria (SIANGPROH et al.,
22 2017), cromatografia gasosa e líquida (HAO et al., 2013; GAO et al., 2014), entre outras.
23 Embora sejam técnicas efetivas e que apresentam elevada seletividade e sensibilidade,
24 requerem tratamento de amostra, apresentam relativo custo alto, detecção fora do local de

1 amostragem, além de serem procedimentos demorados para aplicação(SUN et al., 2019;
2 GUTERRES SILVA et al., 2023). Conseqüentemente, há uma alta demanda no
3 desenvolvimento de metodologias de análise que sejam simples, ágeis e eficientes para rastrear
4 de forma rápida a concentração de paraquate *in loco*, a fim de obter informações em tempo real
5 (LAGHRIB et al., 2020; ZHANG et al., 2022b).

6 Com o tempo, o uso de *smartphones* deixou de ser apenas como meio de comunicação portátil,
7 com os avanços de tecnologias eletrônicas e inteligência artificial os *smartphones*, vêm sendo
8 empregados como recursos de detecção e medição em diferentes áreas científicas, como na
9 química, alimentos e biológica, mostrando-se como um instrumento analítico de laboratório
10 para aplicações espectroscópicas como em análises colorimétricas (QUESADA-GONZÁLEZ
11 & MERKOÇI, 2017; XING et al., 2022). Os *smartphones* apresentam alta capacidade de
12 memória interna, alta resolução de câmera para captura de imagens digitais, baixo custo,
13 conectividade e portabilidade, como também, promovem etapas operacionais e processamento
14 de dados simplificadas e descomplicadas, necessitando de um treinamento mínimo para as
15 medições analíticas (CHEN et al., 2021; ZHANG et al., 2022a).

16 Análises colorimétricas baseadas na aquisição de imagens digitais através do uso de
17 *smartphones*, como ferramenta de captura de imagem são realizadas através da avaliação da
18 intensidade de cor gerada da reação (DE MORAIS et al., 2016). As imagens digitais são
19 baseadas no sistema de cores RGB (vermelho, verde e azul), e, essas matrizes são usadas como
20 ferramenta de informação de intensidade da cor dos componentes da amostra. Sendo assim, é
21 possível estabelecer uma relação de concentração entre o analito e os componentes da cor que
22 são percebidas na região do espectro visível, semelhante aos dados de entrada de uma análise
23 multivariada de um espectrofotômetro (PESSOA et al., 2017; COSTA et al., 2020;
24 FERNANDES et al., 2020).

1 Neste contexto, há estudos que relatam o emprego de *smartphones* como ferramenta de análise
2 na quantificação de resíduos de agrotóxicos em alimentos; sistema de detecção rápida e visual
3 de thiram e paraquate por meio de análise colorimétrica baseada em *smartphone* (CHEN et al.,
4 2021) e detecção microfluídica de papel baseada em *smartphone* para quantificação de
5 paraquate mediado nanopartícula revestidas de citrato (KONGPREECHA et al., 2021), dentre
6 outros. Nestas pesquisas, os autores relataram o emprego do *smartphone* como uma alternativa
7 promissora nos ensaios avaliados, uma proposta efetiva, de fácil aplicabilidade e portátil.

8 Considerando a eficiência na aplicação dos *smartphones* em análises colorimétricas, o presente
9 estudo teve como objetivo propor um método alternativo amigável ao meio ambiente,
10 econômico, portátil e de fácil aplicabilidade na determinação de resíduos de paraquate em
11 alimentos, através da aquisição de imagens digitais, em formato RGB, adquiridas com o uso do
12 *smartphone* como ferramenta portátil e do aplicativo Colorgrab®.

13

14 **MATERIAL E MÉTODOS**

15 *Amostra*

16 Foram utilizadas amostras de frutas e legumes de uva, pêssigo, tomate e pimentão, as quais
17 foram preparadas através da obtenção de sucos das frações inteiras (polpa + casca) na proporção
18 final de 1:10 (p/v), filtrados em 44 µm e utilizados logo após o preparo. As amostras foram
19 obtidas em outubro de 2022 no comércio local de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil).

20 *Determinação do teor de paraquate*

21 A quantificação do paraquate foi determinada em triplicata baseada no método
22 espectrofotométrico descrita por. Para tanto, foi realizada uma reação de complexação
23 empregando ditonito de sódio 1% (p/v), preparado em solução de hidróxido de sódio 1 M e

1 solução de paraquate, resultando em uma coloração azul intensa. Para obtenção dos resultados
2 de concentração de paraquate, foi construída uma curva de calibração avaliando o efeito da
3 matriz. Para isso, alíquotas de 5 mL de amostras foram misturadas com diferentes quantidades
4 de uma solução padrão de paraquate (Sigma Aldrich, Switzerland, Alemanha) obtidas a partir
5 da solução inicial de 300 µg/mL, resultando nas concentrações de 1,2,4,6,8 e 10 µg/mL. A essa
6 fração foi adicionado 1 mL da solução de ditionito de sódio a 1% (p/v) e aferido o volume de
7 10 mL com água destilada. A absorbância da cor resultante foi mensurada a 600 nm em
8 espectrofotômetro UV-Vis logo após o preparo das soluções. A concentração de paraquate foi
9 expressa em mg equivalente de paraquate por Kg de amostra.

10 *Determinação do teor de paraquate empregando o smartphone*

11 O preparo das soluções para leitura foi realizado da mesma forma do método
12 espectrofotométrico, onde uma alíquota de 1,5 mL da solução resultante foi adicionada à uma
13 microplaca de Elisa de 48 poços. A aquisição das imagens digitais foi obtida através de um
14 smartphone modelo Samsung Galaxy A5 equipado com câmera de resolução de 13 MP
15 (Samsung Electronics, Suwon, Gyeonggi, Coréia do Sul) e capturadas diretamente no aplicativo
16 Colorgrab®, disponível para download gratuito na plataforma *Google Play Store*. As condições
17 experimentais foram ajustadas de acordo com a otimização feita no método descrito por
18 LUCAS et al., 2022, empregando para isso uma caixa contendo luz LED fria (6500K),
19 utilizando sinal analítico de saturação (S), volume de 1,5 mL da solução e altura de captura de
20 imagem de 7cm (LUCAS et al., 2022). Para fins de avaliação da exatidão do método proposto,
21 foi calculada a concordância com a metodologia oficial de análise através da comparação dos
22 resultados médios obtidos de 3 triplicatas.

23 *Determinação do Índice de Procedimento Analítico Verde (GAPI)*

1 A fim de comparar as vantagens e desvantagens do método por espectrofotometria e por
2 *smartphone* foi aplicado o índice de procedimento analítico verde (GAPI) com base nos
3 princípios da química analítica verde (PŁOTKA-WASYLKA & WOJNOWSKI, 2021). Essa
4 ferramenta fornece informações de comparação de métodos analíticos, classificando de acordo
5 com o verde de cada etapa de análise. No GAPI, avaliam-se a quantidade de reagentes
6 utilizados, procedimento e instrumentação, como também, saúde química, riscos ambientais e
7 consumo de energia, ou seja, avalia-se todo o protocolo analítico, no intuito de obter uma fácil
8 e rápida comparação dos métodos em busca da opção mais segura e ecológica para o estudo.
9 Neste sentido, o GAPI baseia-se no uso de 5 pictogramas subdivididos em 2,3 ou 4 regiões, as
10 quais correspondem a informações específicas do método analítico estudado, sendo que cada
11 região recebe uma cor (escala de verde, amarelo ou vermelho) dependendo do impacto
12 ambiental que podem ocasionar no meio ambiente (PŁOTKA-WASYLKA, 2018; PŁOTKA-
13 WASYLKA & WOJNOWSKI, 2021; SANTANA et al., 2022). Para essa avaliação, os dados
14 considerados para avaliação são mostrados na tabela 1.

15 *Análise estatística*

16 Todos os experimentos foram analisados utilizando o teste F (*Fischer-Snedecor*), a fim de
17 avaliar se as variâncias das amostras matrizadas e não-matrizadas podem ser consideradas
18 estatisticamente iguais, em cada nível de fortificação.

19

20 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

21 *Avaliação do método proposto*

22 A quantificação do teor de paraquate em quatro amostras de sucos de frutas e legumes foi
23 realizada pelo método espectrofotométrico e pelo método proposto empregando o uso de

1 imagens digitais através do *smartphone*. Os resultados obtidos foram comparados entre si
2 através do teste F a fim de considerá-los estatisticamente iguais (PINHO et al., 2009). Todas as
3 amostras analisadas pelo método proposto apresentaram similaridade com o convencional,
4 apresentando $F_{\text{calc}} < F_{\text{crít}}$, ao nível de significância de 5%, ou seja, a matriz não tem efeito
5 significativo sobre a precisão do método nos níveis de fortificação avaliados (BRASIL, 2011).
6 Os valores obtidos das amostras de uva, pêssigo, tomate e pimentão foram $F_{\text{cal}}=1,33$ e
7 $F_{\text{crít}}=6,25$, $F_{\text{cal}}=1,79$ e $F_{\text{crít}}=6,256$, $F_{\text{cal}}=1,35$ e $F_{\text{crít}}=6,38$, $F_{\text{cal}}=1,28$ e $F_{\text{crít}}=5,05$, respectivamente.

8 Na figura 1 estão demonstradas as curvas de calibração obtidas em ambos os métodos, podendo
9 ser observado que o método proposto apresenta boa linearidade entre a concentração e o sinal
10 analítico. Além disso, é possível observar que o coeficiente de determinação (r^2) foi muito
11 similar entre o método proposto e o convencional em todas as amostras analisadas. A fim de
12 avaliar se existiam pontos outliers foi aplicado o teste de Grubbs, o qual permitiu encontrar,
13 estatisticamente, valores que foram descartados da curva analítica para garantir o ajuste
14 (ASLAM, 2020).

15 O emprego das imagens digitais pelo uso de *smartphone* foi proposto a fim de obter uma forma
16 rápida e eficiente para quantificação de resíduos de agrotóxicos em frutas e legumes, na qual o
17 método apresentou curvas de calibração com boa linearidade, o que permite um grau de
18 confiança na quantificação de paraquate nas amostras. Na figura 2 estão expressos os valores
19 de concentrações obtidas em mg de paraquate por kg de amostra e os valores de desvio padrão
20 das amostras avaliadas.

21 A concentração do agrotóxico paraquate para as amostras de uva, pêssigo, tomate e pimentão
22 encontradas no método convencional foram de $0,254 \pm 0,013$ mg/Kg, $0,485 \pm 0,0016$ mg/Kg,
23 $0,593 \pm 0,0065$ mg/Kg e $0,341 \pm 0,013$ mg/Kg, respectivamente. No método proposto foram
24 encontrados os valores de $0,273 \pm 0,024$ mg/Kg, $0,483 \pm 0,0011$ mg/Kg, $0,584 \pm 0,013$ mg/Kg
25 e $0,323 \pm 0,012$ mg/Kg para uva, pêssigo, tomate e pimentão, respectivamente. Para todas as

1 amostras de suco avaliadas os valores indicaram que não houve diferença significativa entre os
2 métodos avaliados à nível de significância de 5%.

3 De acordo com os resultados encontrados, todas as amostras apresentaram níveis residuais do
4 agrotóxico avaliado e considerando a resolução - RDC nº 177, de 21 de setembro de 2017
5 (BRASIL, 2017), o Art. 1º estabelece a proibição do uso do ingrediente ativo paraquate em
6 produtos de agrotóxicos no país por apresentar alta toxicidade aguda e crônica aos seres
7 humanos. O limite máximo de resíduo (LMR) para o paraquate é de 0,2 mg/kg (BRASIL, 2017),
8 considerando a legislação vigente e o LMR, todas as amostras apresentaram concentrações
9 acima do limite permitindo, sendo impróprias para a comercialização.

10 Os métodos avaliados apresentaram precisão similar e a concordância entre os resultados
11 encontrados foi de 107% para amostra de uva, 99,5% pêssego, 98,4% tomate e para o pimentão
12 94,6%. A aplicação do método proposto às amostras de pêssego e tomate foram as que
13 apresentaram maiores valores de concordância indicando a adequada exatidão do método
14 proposto.

15 Há relatos da aplicação de técnicas portáteis para quantificação de resíduos de pesticidas em
16 alimentos, com o emprego de *smartphone*, como descrito por (CHEN et al., 2022). Neste
17 trabalho, os autores avaliaram as mudanças de cor geradas através da interação entre dois
18 pesticidas (tirame e paraquate) em diferentes concentrações utilizando um *smartphone* para
19 registro. Os resultados obtidos apresentaram relações lineares de detecção e um coeficiente de
20 determinação de 0,987 e 0,973 para os pesticidas tirame e paraquate, respectivamente, relatando
21 uma implementação de detecção rápida e eficaz para o monitoramento de resíduos de pesticidas
22 em alimentos a campo (CHEN et al., 2022). Jin et al., 2020 realizaram o monitoramento em
23 tempo real do pesticida oxalato em amostras de urina através da do desenvolvimento de um kit
24 de hidrogel combinado com análise portátil com *smartphone*, afim de obter análises

1 quantitativas precisas (JIN et al., 2020). Para tanto, utilizaram o software ImageJ, para captura
2 das imagens da reação e os resultados obtidos foi de acordo com a intensidade da cor gerada, o
3 qual apresentou uma boa relação linear com a concentração de oxalato e um coeficiente de
4 determinação de 0,992 (JIN et al., 2020).

5 Zhao et al., 2023 avaliaram um conjunto de sensores colorimétricos baseados em *smartphone*
6 usando nanopartículas de ouro para avaliar de forma rápida diferentes pesticidas presentes em
7 amostras de frutas, verduras e ervas chinesas (ZHAO et al., 2023). Os pesticidas foram distintos
8 através dos valores de RGB e foi possível identificar com sucesso os oitos pesticidas avaliados
9 (glifosato, thiram, imidacloprid, tribenurun methyl, nicosulfuron, tifensulturun methyl,
10 dichlorprp e fenoprop) em amostras reais (ZHAO et al., 2023). Patel et al. 2022 também
11 avaliaram o efeito combinado de *smartphone* (PATEL et al., 2022). O estudo foi projetado para
12 a determinação local de pesticida dimetoato em amostras de alimentos (tomate e rabanete)
13 empregando sensor de papel impresso integrado ao *smartphone*. A precisão do método foi
14 investigada através da medição da porcentagem do desvio padrão que foi de 3,5 a 4,2% em
15 comparação com o método convencional de UV-Vis, apresentou também uma boa faixa de
16 linearidade, limite de detecção de 0,990 e concordâncias de 94,2 a 97,8% para o tomate e 94,7
17 a 98,5% para o rabanete. Os resultados demonstraram que a metodologia desenvolvida é
18 eficiente para monitoramento no local de pesticidas em alimentos, por apresentar resultados
19 compatíveis com o método convencional (PATEL et al., 2022). Além disso, os pesquisadores
20 destacam que o emprego de dispositivos móveis, pela utilização de imagens digitais, é uma
21 ferramenta competitiva e eficaz, apresentando resultados de elevado potencial analítico e
22 adequada confiabilidade.

23 Os resíduos de agrotóxicos apresentam grandes riscos há saúde pública, exigindo a necessidade
24 de uma maior fiscalização e controle do uso destes ingredientes ativos, como o paraquate,
25 fazendo-se necessário a adoção de medidas preventivas para a melhoria e intensificação do

1 controle sanitário dos insumos oferecidos à população. Desta forma, é possível destacar as
2 vantagens do emprego de imagens digitais pelo uso de *smartphones*, sendo uma alternativa
3 promissora para análises de rotina, por apresentar portabilidade, fácil manipulação, *design* de
4 utilização simples, conectividade com portais digitais e ser facilmente aplicada em análises a
5 campo. Isso se deve ao fato de que foi possível quantificar o teor de paraquate nas amostras
6 avaliadas com adequada reprodutibilidade nos resultados obtidos, destaca-se também por ser
7 um método robusto, proporcionar economia na operação e menos ofensiva para o meio
8 ambiente.

9 *Determinação do Índice de Procedimento Analítico Verde*

10 A comparação entre o método convencional UV-Vis e o método proposto empregando o
11 *smartphone* na quantificação de paraquate nas amostras de frutas e legumes estão apresentados
12 na figura 3. No pictograma é possível identificar que o método proposto permite a quantificação
13 de paraquate de forma mais ambientalmente correta, levando em consideração a quantidade de
14 solventes utilizadas na reação, equipamento reciclável e segurança no processo de análise.
15 Desta forma, o método por *smartphone* torna-se uma alternativa segura e que se enquadra nos
16 padrões da química analítica verde. Destaca-se que o novo método representa 0,16% do volume
17 do método convencional, promovendo uma redução de 633,7 vezes o volume de reagentes
18 utilizados na quantificação, ou seja, promoveu a miniaturização do método analítico, resultado
19 na diminuição da geração de resíduos tóxicos. Além disso, destaca-se que com o uso método
20 proposto, ocorre a redução no consumo de energia e, é um método de fácil aplicabilidade, pois
21 o *smartphone* já faz parte do cotidiano das pessoas não necessitando do investimento em um
22 equipamento dispendioso, o qual permite ser transportado possibilitando a verificação *in loco*
23 e instantânea.

24

1 CONCLUSÃO

2 Os resultados obtidos no presente estudo permitiram a adequada quantificação para a
3 determinação de paraquate em amostras de pêssego e uva, tomate e pimentão através do uso de
4 imagens digitais obtidas pelo emprego de *smartphone*. A nova metodologia demonstrou
5 adequada exatidão, com concordâncias entre 95 a 107% em relação ao método analítico
6 convencional e apresentou também uma boa linearidade entre a concentração e o sinal analítico
7 em todas as amostras identificadas pêssego, uva, tomate e pimentão.

8 Desta forma, a metodologia analítica proposta possui adequada capacidade analítica para
9 quantificação de paraquate, a qual impulsiona o avanço do emprego de tecnologias portáteis
10 como o uso de *smartphone* para meio de miniaturização dos processos analíticos no controle de
11 qualidade na indústria de alimentos, sendo uma forma eficiente, de fácil aplicabilidade e
12 portabilidade, tornando-se uma tecnologia de análise inovadora e que se enquadra nos
13 princípios da química verde, para um desenvolvimento sustentável.

1 REFERÊNCIAS

- 2 ASGARI, S., et al. Nanofibrillar cellulose/Au@Ag nanoparticle nanocomposite as a SERS
3 substrate for detection of paraquat and thiram in lettuce. **Microchimica Acta**, v.187, n.7, p.390.
4 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00604-020-04358-9>>. Acesso em. doi:
5 10.1007/s00604-020-04358-9.
- 6 ASLAM, M. Introducing Grubbs's test for detecting outliers under neutrosophic statistics – An
7 application to medical data. **Journal of King Saud University - Science**, v.32, n.6, p.2696-
8 2700. 2020.
- 9 BRASIL. **Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para**
10 **alimentação e medicamentos veterinários**, v.1. 2011. 72 p.
- 11 BRASIL. Critérios para o reconhecimento de limites máximos de resíduos de agrotóxicos em
12 produtos vegetais in natura. A. N. D. Vigilância e Sanitária. 2017.
- 13 CHEN, L., et al. A ratiometric fluorescent sensing system for the selective and ultrasensitive
14 detection of pesticide residues via the synergetic effects of copper nanoclusters and carbon
15 quantum dots. **Food Chemistry**, v.379, p.132139. 2022. Disponível em:
16 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814622001005>>. Acesso em. doi:
17 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132139>.
- 18 CHEN, W., et al. Application of smartphone-based spectroscopy to biosample analysis: A
19 review. **Biosensors and Bioelectronics**, v.172, p.112788. 2021. Disponível em:
20 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566320307752>>. Acesso em. doi:
21 <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112788>.
- 22 COSTA, R. A., et al. Quantification of milk adulterants (starch, H₂O₂, and NaClO) using
23 colorimetric assays coupled to smartphone image analysis. **Microchemical Journal**, v.156,

1 p.104968. 2020. Disponível em:
2 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X20302952>>. Acesso em. doi:
3 <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104968>.

4 DE MORAIS, C. D. L. M., et al. Integrating a Smartphone and Molecular Modeling for
5 Determining the Binding Constant and Stoichiometry Ratio of the Iron(II)–Phenanthroline
6 Complex: An Activity for Analytical and Physical Chemistry Laboratories. **Journal of**
7 **Chemical Education**, v.93, n.10, p.1760-1765. 2016. Disponível em:
8 <<https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.6b00112>>. Acesso em. doi:
9 10.1021/acs.jchemed.6b00112.

10 EL HARMOUDI, H., et al. Sensitive determination of paraquat by square wave anodic stripping
11 voltammetry with chitin modified carbon paste electrode. **Talanta**, v.115, p.172-177. 2013.
12 Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914013002750>>.
13 Acesso em. doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.04.002>.

14 FERNANDES, G. M., et al. Novel approaches for colorimetric measurements in analytical
15 chemistry – A review. **Analytica Chimica Acta**, v.1135, p.187-203. 2020. Disponível em:
16 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267020307625>>. Acesso em. doi:
17 <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.030>.

18 GAO, L., et al. Fast determination of paraquat in plasma and urine samples by solid-phase
19 microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**,
20 v.944, p.136-140. 2014. Disponível em:
21 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023213005667>>. Acesso em. doi:
22 <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.10.028>.

23 GUTERRES SILVA, L. R., et al. 3D electrochemical device obtained by additive
24 manufacturing for sequential determination of paraquat and carbendazim in food samples. **Food**

1 **Chemistry**, v.406, p.135038. 2023. Disponível em:
2 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881462203000X>>. Acesso em. doi:
3 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135038>.

4 HAO, C., et al. Optimized liquid chromatography tandem mass spectrometry approach for the
5 determination of diquat and paraquat herbicides. **Journal of Chromatography A**, v.1304,
6 p.169-176. 2013. Disponível em:
7 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967313010777>>. Acesso em. doi:
8 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.033>.

9 INOUE, M. H., et al. Rendimento de grãos e qualidade de sementes de soja após a aplicação de
10 herbicidas dessecantes. **Ciência Rural**, v.33. 2003.

11 JIN, R., et al. Lab in hydrogel portable kit: On-site monitoring of oxalate. **Biosensors and**
12 **Bioelectronics**, v.167, p.112457. 2020. Disponível em:
13 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566320304516>>. Acesso em. doi:
14 <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112457>.

15 KIM, K.-H., et al. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Science of**
16 **The Total Environment**, v.575, p.525-535. 2017. Disponível em:
17 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004896971631926X>>. Acesso em. doi:
18 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.009>.

19 KONGPREECHA, P., et al. Smartphone-Based Paper Microfluidic Detection of Paraquat
20 Mediated by Citrate-Capped Silver Nanoparticles: Research Square 2021.

21 LAGHRIB, F., et al. Electrochemical sensors for improved detection of paraquat in food
22 samples: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v.107, p.110349. 2020.

1 Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493119320442>>.
2 Acesso em. doi: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110349>.

3 LUCAS, B., et al. Determination of total phenolic compounds in plant extracts via Folin-
4 Ciocalteu's method adapted to the usage of digital images. **Food Science and Technology**,
5 v.42. 2022. Disponível em: em. doi: 10.1590/fst.35122.

6 NARASIMHAN, M., et al. Hydrogen peroxide responsive miR153 targets Nrf2/ARE
7 cytoprotection in paraquat induced dopaminergic neurotoxicity. **Toxicology Letters**, v.228,
8 n.3, p.179-191. 2014. Disponível em:
9 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037842741400232X>>. Acesso em. doi:
10 <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.05.020>.

11 NARENDERAN, S. T., et al. Review of pesticide residue analysis in fruits and vegetables. Pre-
12 treatment, extraction and detection techniques. **Food Research International**, v.133,
13 p.109141. 2020. Disponível em:
14 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920301666>>. Acesso em. doi:
15 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109141>.

16 PATEL, S., et al. Smartphone-integrated printed-paper sensor designed for on-site
17 determination of dimethoate pesticide in food samples. **Food Chemistry**, v.383, p.132449.
18 2022. Disponível em:
19 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814622004113>>. Acesso em. doi:
20 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132449>.

21 PESSOA, K. D., et al. A digital image method of spot tests for determination of copper in sugar
22 cane spirits. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**,
23 v.185, p.310-316. 2017. Disponível em:

1 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142517304584>>. Acesso em. doi:
2 <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.072>.

3 PINHO, G. P., et al. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa.
4 **Química Nova**, v.32. 2009.

5 PŁOTKA-WASYLKA, J. A new tool for the evaluation of the analytical procedure: Green
6 Analytical Procedure Index. **Talanta**, v.181, p.204-209. 2018. Disponível em:
7 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914018300195>>. Acesso em. doi:
8 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.013>.

9 PŁOTKA-WASYLKA, J.; W. WOJNOWSKI. Complementary green analytical procedure
10 index (ComplexGAPI) and software. **Green Chemistry**, v.23, n.21, p.8657-8665. 2021.
11 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/D1GC02318G>>. Acesso em. doi:
12 10.1039/D1GC02318G.

13 QUESADA-GONZÁLEZ, D.; A. MERKOÇI. Mobile phone-based biosensing: An emerging
14 “diagnostic and communication” technology. **Biosensors and Bioelectronics**, v.92, p.549-562.
15 2017. Disponível em:
16 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095656631631082X>>. Acesso em. doi:
17 <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.10.062>.

18 RAJARAM, R.; L. NEELAKANTAN. Recent advances in estimation of paraquat using various
19 analytical techniques: A review. **Results in Chemistry**, v.5, p.100703. 2023. Disponível em:
20 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211715622004222>>. Acesso em. doi:
21 <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100703>.

22 RASHIDIPOUR, M., et al. Pectin/Chitosan/Tripolyphosphate Nanoparticles: Efficient Carriers
23 for Reducing Soil Sorption, Cytotoxicity, and Mutagenicity of Paraquat and Enhancing Its

1 Herbicide Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.67, n.20, p.5736-5745.
2 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01106>>. Acesso em. doi:
3 10.1021/acs.jafc.9b01106.

4 SANTANA, A. P. R., et al. (Re) thinking towards a sustainable analytical chemistry: Part I:
5 Inorganic elemental sample treatment, and Part II: Alternative solvents and extraction
6 techniques. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v.152, p.116596. 2022. Disponível em:
7 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993622000796>>. Acesso em. doi:
8 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116596>.

9 SIANGPROH, W., et al. Novel colorimetric assay for paraquat detection on-silica bead using
10 negatively charged silver nanoparticles. **Talanta**, v.174, p.448-453. 2017. Disponível em:
11 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003991401730677X>>. Acesso em. doi:
12 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.06.045>.

13 SINGH, R., et al. Progress and challenges in the detection of residual pesticides using
14 nanotechnology based colorimetric techniques. **Trends in Environmental Analytical**
15 **Chemistry**, v.26, p.e00086. 2020. Disponível em:
16 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214158820300143>>. Acesso em. doi:
17 <https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00086>.

18 SUN, L., et al. Synthesis of polyhedral gold nanostars as surface-enhanced Raman spectroscopy
19 substrates for measurement of thiram in peach juice. **Analyst**, v.144, n.16, p.4820-4825. 2019.
20 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C9AN00687G>>. Acesso em. doi:
21 10.1039/C9AN00687G.

22 XING, G., et al. Recent progress of smartphone-assisted microfluidic sensors for point of care
23 testing. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v.157, p.116792. 2022. Disponível em:

1 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993622002758>>. Acesso em. doi:
2 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116792>.

3 YAN, X., et al. Review of optical sensors for pesticides. **TrAC Trends in Analytical**
4 **Chemistry**, v.103, p.1-20. 2018. Disponível em:
5 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993617304260>>. Acesso em. doi:
6 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.03.004>.

7 YAÑEZ-SEDEÑO, P.; L. M. P. DIEZ. Spectrophotometric determination of paraquat with
8 BiI-4 in the presence of gum arabic. **Talanta**, v.33, n.9, p.745-747. 1986. Disponível em:
9 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0039914086801783>>. Acesso em. doi:
10 [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(86\)80178-3](https://doi.org/10.1016/0039-9140(86)80178-3).

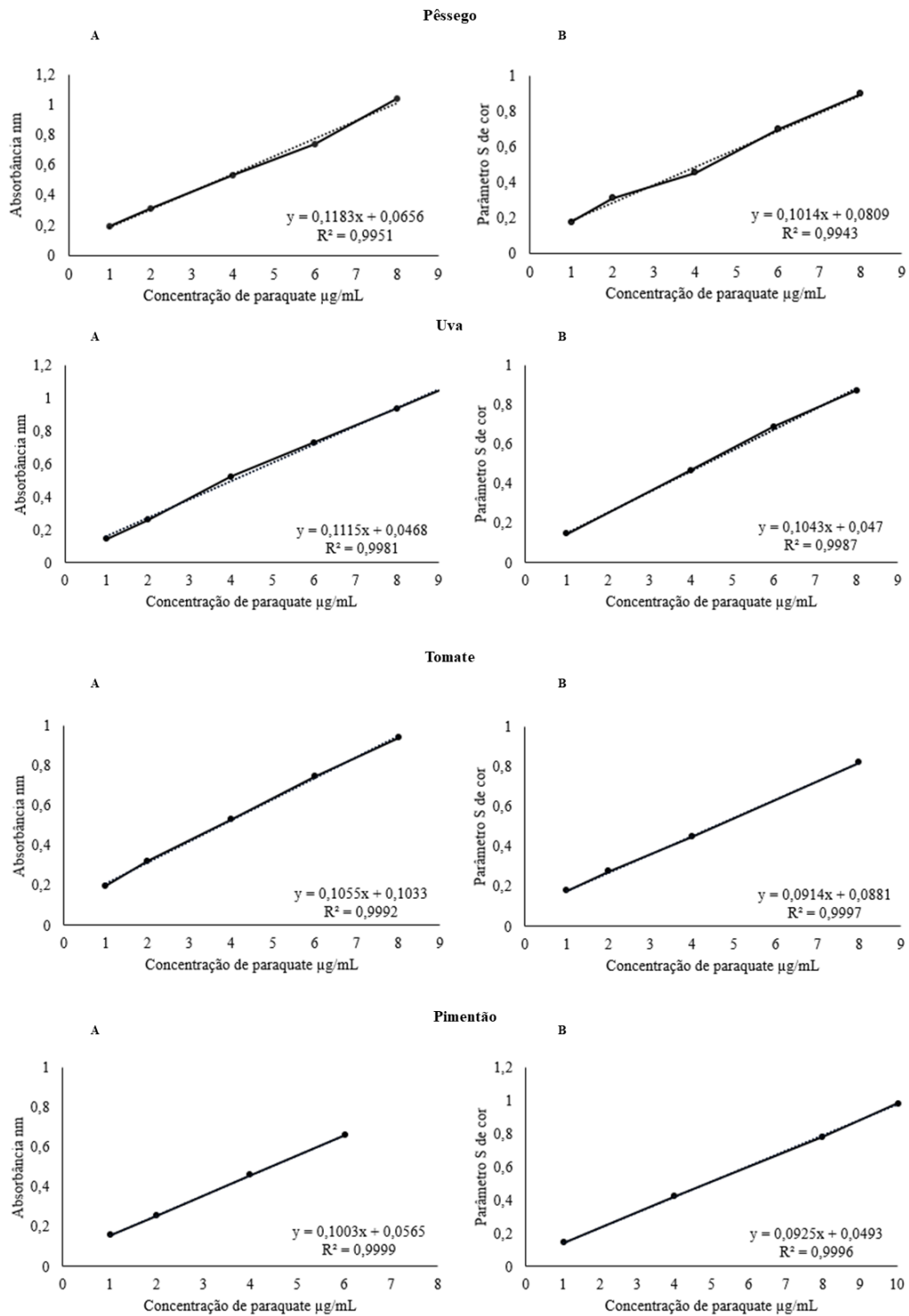
11 ZHANG, M., et al. Smartphone-based mobile biosensors for the point-of-care testing of human
12 metabolites. **Materials Today Bio**, v.14, p.100254. 2022a. Disponível em:
13 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590006422000527>>. Acesso em. doi:
14 <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100254>.

15 ZHANG, Y.-Y., et al. Ultrasensitive and rapid colorimetric detection of paraquat via a high
16 specific VHH nanobody. **Biosensors and Bioelectronics**, v.205, p.114089. 2022b. Disponível
17 em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566322001294>>. Acesso em.
18 doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114089>.

19 ZHAO, T., et al. Smartphone-based colorimetric sensor array using gold nanoparticles for rapid
20 distinguishment of multiple pesticides in real samples. **Food Chemistry**, v.404, p.134768.
21 2023. Disponível em:
22 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814622027303>>. Acesso em. doi:
23 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134768>.

1

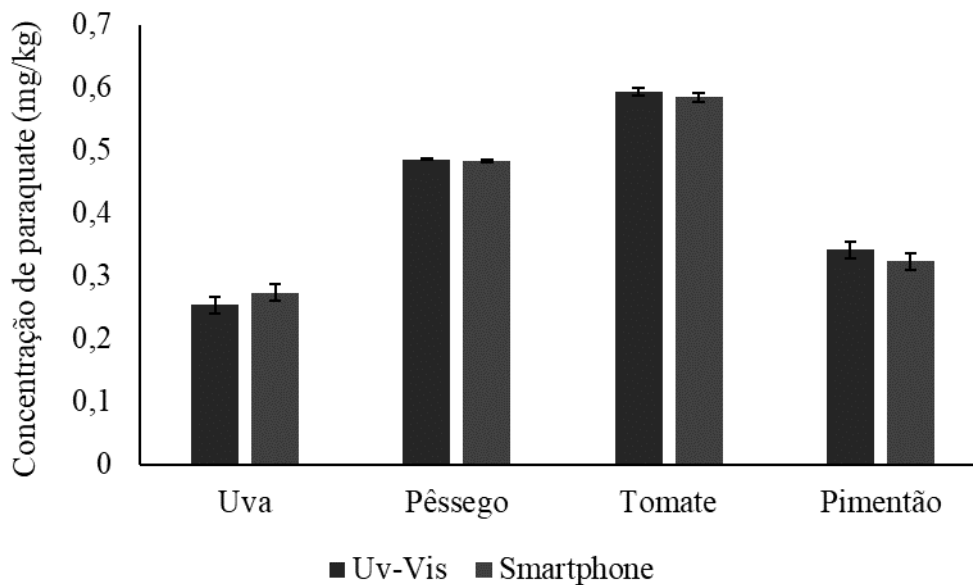
2



3

1 **Figura 1.** Curvas de calibração empregando o uso de *smartphone* para quantificação de
2 paraquate das amostras de pêsego, uva, tomate e pimentão. (A) método convencional (B)
3 método por *smartphone*.

4



5

6 **Figura 2.** Comparação dos métodos convencional UV-Vis por *smartphone*. Colunas
7 representam a concentração de paraquate presente nas amostras e a barra de erros os desvios
8 padrões.

9

10

11

12

13

14

15

16

1
2
3
4
5
6
7
8

Tabela 1. Parâmetros da determinação do índice de procedimento analítico verde para quantificação de paraquate em amostras de frutas e vegetais pelos métodos convencional UV-Vis e *smartphone*.

Categoria	UV-Vis	Smartphone
Preparo da amostra		
Coleção	-	-
Preservação	-	-
Transporte	-	-
Armazenamento	Amostra armazenada em temperature ambiente e sem luz	Amostra armazenada em temperature ambiente e sem luz
Tipo de Método: direto ou indireto	Requer procedimento simples	Requer procedimento simples
Escala de extração de amostra	-	-
Solventes/reagentes usados	Solventes/reagentes não verdes usados	Solventes/reagentes não verdes usados
Tratamentos adicionais	Nenhum	Nenhum
Reagentes e Solventes		
Quantidade	950 mL de água 100 g de amostra 1g de ditionito de sódio 1% 20 g de hidróxido de sódio 0,375 mL de gramoxone Total: 950,375 mL + 21 g	1,5 mL de água 2g de amostra 0,03 µL de gramoxone 0,06g de hidróxido de sódio 0,1 g de ditionito de sódio Total: 1.53 mL + 3,06g
Perigo a saúde	Solventes não verdes	Solventes não verdes
Risco de segurança	Baixa inflamabilidade ou instabilidade	Baixa inflamabilidade ou instabilidade.

Instrumentação		
Energia	1,88 kWh	0.0015 kWh
Risco ocupacional	Emissão de vapores para a atmosfera	Emissão de vapores para a atmosfera
Desperdício	950,375 mL + 21 g	1.53 mL + 3,06g
Tratamento de esgoto	Requer passivação	Reciclável
QUANTIFICAÇÃO	Sim	Sim

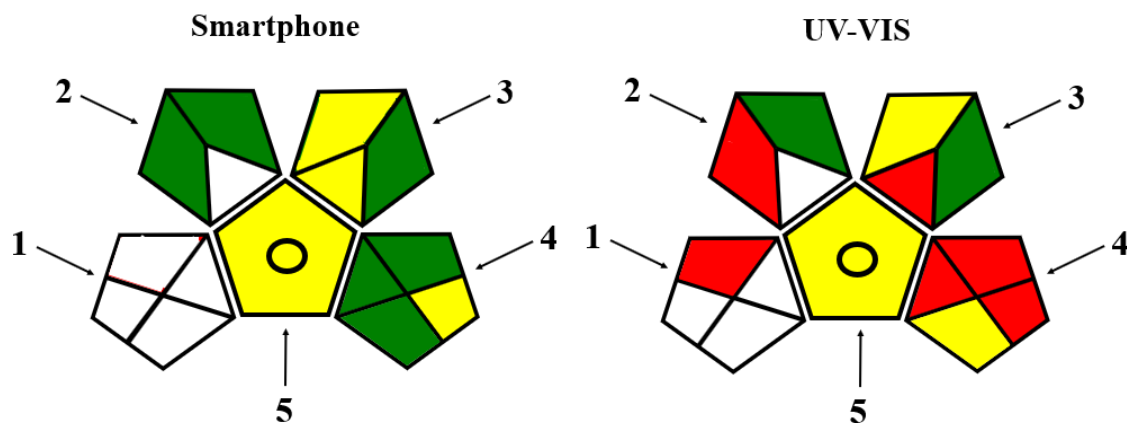


Figura 3. Avaliação GAPI do perfil verde do método Smartphone e UV-VIS para quantificação de paraquete em amostras de frutas e legumes. As cores verde, amarelo e vermelho representam as características de bom, regular e ruim em relação a química analítica verde e em branco estão relacionadas a não aplicável. 1. Coleta, preservação, transporte e armazenamento de amostras; 2. Preparação da amostra; 3. Reagentes e compostos utilizados; 4. Instrumentação; 5. Tipo de método geral.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos estão apresentados e discutido no artigo 1, publicado no periódico *Food Science & Technology* em 2022, intitulado “*Determination of total phenolic compounds in plant extracts via Folin-Ciocalteu’s method adapted to the usage of digital images*”, e no manuscrito 2 que será submetido ao periódico *Ciência Rural*, intitulado “*Use of digital images in smartphone-based colorimetric analysis for paraquat determination*”.

De maneira geral, ambos os métodos desenvolvidos na tese de doutorado demonstraram uma característica inovadora e vantajosa em comparação aos métodos convencionais de análise, permitindo o emprego de uma nova tecnologia de análise. O uso de imagens digitais adquiridas por um *smartphone* permitiu a execução de análises colorimétricas de compostos fenólicos e determinação de paraquate em amostras vegetais, possibilitando a execução de análises comumente realizadas de forma mais ambientalmente correta. Estas metodologias geram menores quantidades de resíduos tóxicos durante a análise, ou seja, miniaturizam o processo de análise. No método desenvolvido para determinação de paraquate em frutas e legumes a metodologia representou 0,16% do volume total em comparação ao método convencional, ou seja, houve uma redução de 633,7 vezes o volume de reagentes utilizados na análise.

Para a realização de todas as análises deste estudo foi realizada a substituição de um equipamento de espectrofotometria por um *smartphone* permitindo a detecção de diferentes cores e intensidades, através do software colorgrab® tornando as análises mais rápidas e portáteis, além de não necessitarem de grande treinamento dos operadores. O dispositivo possui uma câmera com alta resolução embutida, onde os dados colorimétricos foram adquiridos como imagem digital, que foi convertida para concentração de analito. Nesse sentido, pode-se destacar outro ponto positivo como o menor custo de operação, pois o *smartphone* já faz parte do cotidiano, não necessitando de investimento em um equipamento de análise sofisticado. Vale destacar ainda, que o equipamento empregado nos métodos desenvolvidos permitiu que as análises pudessem ser realizadas *in loco*, pela facilidade de transportar para outros locais, como também, foi obtido um menor consumo de energia, pois o aparelho *smartphone* possui bateria não necessitando estar conectada a uma fonte de energia durante o processo de análise.

Além disso, outras vantagens foram observadas em relação a rapidez de análise, pois as leituras pelo *smartphone* foram realizadas em microplacas de *Elisa* contendo 48 poços. Enquanto 1 amostra é lida por vez pelo método espectrofotométrico, pelo método proposto pode

fazer-se a leitura de uma maior quantidade de amostras por vez, além de possibilitar a leitura da curva padrão quase que ao mesmo tempo que a amostra, sem interferências.

Com base nos resultados obtidos, foi possível obter condições adequadas dos métodos, através da otimização das condições de análise, como volume, luz e distância da captura de imagem avaliadas no método de determinação de compostos fenólicos. Foram obtidas concordâncias entre 98,4 e 103,8% e adequada precisão dos resultados (RSD: 2,4%) em comparação ao método espectrofotométrico. Para o método desenvolvido para a determinação de paraquate foram obtidas concordâncias entre 95 e 107%. Ainda neste contexto, ambos os métodos avaliados apresentaram boa faixa de linearidade e os coeficientes de determinação foram muito similares entre o método proposto e o convencional em todas as amostras analisadas.

O emprego das imagens digitais baseados em *smartphone* para controle de qualidade é uma alternativa adequada e viável, que promove análises de forma mais rápida, ágil e portátil. Além disso, os métodos mostraram-se adequados para o formato em microplacas, permitindo a miniaturização com adequada precisão e exatidão, como também, a determinação de forma simultânea de 48 amostras em uma mesma placa.

Em suma, os métodos propostos promoveram um menor impacto ambiental em comparação com os métodos convencionais, possibilitando análises químicas com uma menor geração de resíduos tóxicos, menor gasto energético, sendo uma metodologia amigável ao meio ambiente e que se enquadra nos princípios da química analítica verde.

De acordo com os resultados obtidos nos estudos, é possível observar que o emprego de imagens digitais por meio do uso de *smartphone* mostrou-se uma alternativa viável para a determinação de compostos fenólicos totais e determinação de paraquate em extratos vegetais. Nos métodos propostos pode-se observar um menor tempo de análise, menor volume de solvente, como também dispensa a utilização de equipamentos sofisticados e treinamento do analista. Uma técnica promissora que pode ser aplicada em diversas análises colorimétricas, por adequada exatidão e precisão durante as análises. Desta forma, o emprego do uso de *smartphone* possibilita um avanço nas análises de rotina, promovendo a portabilidade, rapidez e economia, sendo uma boa alternativa para avaliação da qualidade na indústria de alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELKARIM, G., S. BENAICHA, N. ELMAJDOUB, M. BELLAOUI & A. HAMAL (2014). "What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus." **International Journal of Nutrition and Food Sciences** 3: 174-179.
- AGUIRRE, M., K. D. LONG, A. CANALS AND B. T. CUNNINGHAM (2019). "Point-of-use detection of ascorbic acid using a spectrometric smartphone-based system." **Food Chem** 272: 141-147.
- AHMAD BHAWANI, S., S. S. FONG AND M. N. MOHAMAD IBRAHIM (2015). "Spectrophotometric Analysis of Caffeine." **International journal of analytical chemistry** 2015: 170239.
- ALAHMAD, W., et al. Green chemistry methods for food analysis: Overview of sample preparation and determination. **Advances in Sample Preparation**, p.100053. 2023.
- ANASTAS, P. and N. EGHBALI (2010). "Green Chemistry: Principles and Practice." **Chemical Society Reviews** 39(1): 301-312.
- ANASTAS, P. T. and J. C. WARNER (1998). **Green Chemistry: Theory and Practice**. New York, Oxford University Press.
- ARMENTA, S., S. GARRIGUES, M. DE LA GUARDIA (2015). "The role of green extraction techniques in Green Analytical Chemistry." **TrAC Trends in Analytical Chemistry** 71: 2-8.
- BALASUNDRAM, N., K. SUNDRAM AND S. SAMMAN (2006). "Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses." **Food Chemistry** 99(1): 191-203.
- BALLARD, C. AND M. MARÓSTICA JR (2019). **Health Benefits of Flavonoids**: 185-201.
- BANWO, K., A. O. OLOJEDE, A. T. ADESULU-DAHUNSI, D. K. VERMA, M. THAKUR, S. TRIPATHY, S. SINGH, A. R. PATEL, A. K. GUPTA, C. N. AGUILAR AND G. L. UTAMA (2021). "Functional importance of bioactive compounds of foods with Potential Health Benefits: A review on recent trends." **Food Bioscience** 43: 101320.
- BRASIL. Critérios para o reconhecimento de limites máximos de resíduos de agrotóxicos em produtos vegetais in natura. A. N. D. **Vigilância Sanitária**. 2017.
- BELTRAME, K. K., T. R. GONÇALVES, P. H. MARÇO, S. T. M. GOMES, M. MATSUSHITA AND P. VALDERRAMA (2019). "Application of digital images and multivariate calibration for the quantification of anthocyanin and antioxidant activity in grape juice." **Australian Journal of Grape and Wine Research** 25(2): 156-160.
- BENDARY, E., R. R. FRANCIS, H. M. G. ALI, M. I. SARWAT AND S. EL HADY (2013). "Antioxidant and structure–activity relationships (SARs) of some phenolic and anilines compounds." **Annals of Agricultural Sciences** 58(2): 173-181.

BENZIE, I. F. AND J. J. STRAIN (1996). "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay." **Anal Biochem** **239**(1): 70-76.

CARAMÊS, E. T. D. S., M. R. BAQUETA, D. A. CONCEIÇÃO AND J. A. L. PALLONE (2021). "Near infrared spectroscopy and smartphone-based imaging as fast alternatives for the evaluation of the bioactive potential of freeze-dried açai." **Food Research International** **140**: 109792.

CHEN, S. W. (2000). "Detection of antioxidative capacity in plants by scavenging organic free radical of DPPH." **Prog. Biochem. Biophys.** **27**: 658-661.

CHIKEZIE, P., C. IBEGBULEM AND F. N. MBAGWU (2015). "Bioactive Principles from Medicinal Plants." **Research Journal of Phytochemistry** **9**: 88-115.

CHUNTIB, P., et al. Sequential injection differential pulse voltammetric method based on screen printed carbon electrode modified with carbon nanotube/Nafion for sensitive determination of paraquat. **Talanta**, v.170, p.1-8. 2017.

CONFORTI, F., F. MENICHINI, C. FORMISANO, D. RIGANO, F. SENATORE, N. APOSTOLIDES AND F. PIOZZI (2009). "Comparative chemical composition, free radical-scavenging and cytotoxic properties of essential oils of six *Stachys* species from different regions of the Mediterranean Area." **Food Chemistry** **116**: 898-905.

COSTA, D. C., H. S. COSTA, T. G. ALBUQUERQUE, F. RAMOS, M. C. CASTILHO AND A. SANCHES-SILVA (2015). "Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications." **Trends in Food Science & Technology** **45**(2): 336-354.

DASGUPTA, P. K., I.-Y. EOM, K. J. MORRIS AND J. LI (2003). "Light emitting diode-based detectors: Absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell." **Analytica Chimica Acta** **500**: 337-364.

DE MORAIS, C. D. L. M., S. R. B. SILVA, D. S. VIEIRA AND K. M. G. LIMA (2016). "Integrating a Smartphone and Molecular Modeling for Determining the Binding Constant and Stoichiometry Ratio of the Iron(II)–Phenanthroline Complex: An Activity for Analytical and Physical Chemistry Laboratories." **Journal of Chemical Education** **93**(10): 1760-1765.

DE OLIVEIRA, A. C., I. B. VALENTIM, C. A. SILVA, E. J. H. BECHARA, M. P. D. BARROS, C. M. MANO AND M. O. F. GOULART (2009). "Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues." **Food Chemistry** **115**(2): 469-475.

DEBOST-LEGRAND, A., et al. Prenatal exposure to persistent organic pollutants and organophosphate pesticides, and markers of glucose metabolism at birth. **Environmental Research**, v.146, p.207-217. 2016

DEL RIO, D., A. RODRIGUEZ-MATEOS, J. P. E. SPENCER, M. TOGNOLINI, G. BORGES AND A. CROZIER (2013). "Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases." **Antioxidants & redox signaling** **18**(14): 1818-1892.

ELDIN, A. B., O. A. ISMAIEL, W. E. HASSAN AND A. A. SHALABY (2016). "Green analytical chemistry: Opportunities for pharmaceutical quality control." **Journal of Analytical Chemistry** **71**(9): 861-871.

FAN, Y., J. LI, Y. GUO, L. XIE AND G. ZHANG (2021). "Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review." **Measurement** **171**: 108829.

FAOSTAT. Food and agriculture data for all FAO regional groupings. 2018 2019.

FERNANDES, G. M., W. R. SILVA, D. N. BARRETO, R. S. LAMARCA, P. C. F. LIMA GOMES, J. FLÁVIO DA S PETRUCI AND A. D. BATISTA (2020). "Novel approaches for colorimetric measurements in analytical chemistry – A review." **Analytica Chimica Acta** **1135**: 187-203.

FRANCO, D. S. P., et al. Advances made in removing paraquat herbicide by adsorption technology: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v.49, p.102988. 2022.

GALLEGOS, D., K. D. LONG, H. YU, P. P. CLARK, Y. LIN, S. GEORGE, P. NATH AND B. T. CUNNINGHAM (2013). "Label-free biodetection using a smartphone." **Lab on a Chip** **13**(11): 2124-2132.

GAO, L., et al. Fast determination of paraquat in plasma and urine samples by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v.944, p.136-140. 2014.

GILDEN, R. C., ET AL. PESTICIDES AND HEALTH RISKS. **Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing**, v.39, n.1, p.103-110. 2010.

GUNNELL, D., et al. The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: systematic review. **BMC Public Health**, v.7, p.357. 2007.

GUTERRES, S, L. R., et al. 3D electrochemical device obtained by additive manufacturing for sequential determination of paraquat and carbendazim in food samples. **Food Chemistry**, v.406, p.135038. 2023.

HANBURY, A. (2008). "Constructing cylindrical coordinate colour spaces." **Pattern Recognition Letters** **29**(4): 494-500.

HAQ, N., M. IQBAL, F. K. ALANAZI, I. A. ALSARRA AND F. SHAKEEL (2017). "Applying green analytical chemistry for rapid analysis of drugs: Adding health to pharmaceutical industry." **Arabian Journal of Chemistry** **10**(Supplement 1): S777-S785.

HAO, C., et al. Optimized liquid chromatography tandem mass spectrometry approach for the determination of diquat and paraquat herbicides. **Journal of Chromatography A**, v.1304, p.169-176. 2013.

HELPER, G., V. MAGNUS, F. BÖCK, A. TEICHMANN, M. FERRAO AND A. COSTA (2016). "PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices." **Journal of the Brazilian Chemical Society** **28**.

HONG, J. I. AND B. Y. CHANG (2014). "Development of the smartphone-based colorimetry for multi-analyte sensing arrays." **Lab Chip** **14**(10): 1725-1732.

IGNAT, I., I. VOLF AND V. I. POPA (2011). "A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables." **Food Chemistry** **126**(4): 1821-1835.

JEANDET, P., E. SOBARZO-SÁNCHEZ, M. S. UDDIN, R. BRU, C. CLÉMENT, C. JACQUARD, S. F. NABAVI, M. KHAYATKASHANI, G. E.-S. BATIHA AND H. KHAN (2021). "Resveratrol and cyclodextrins, an easy alliance: Applications in nanomedicine, green chemistry and biotechnology." **Biotechnology Advances**: 107844.

KIM, K.-H., et al. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Science of The Total Environment**, v.575, p.525-535. 2017.

KING, A. AND G. YOUNG (1999). "Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals." **J Am Diet Assoc** **99**(2): 213-218.

KONSTANTINIDI, M. AND A. E. KOUTELIDAKIS (2019). "Functional Foods and Bioactive Compounds: A Review of Its Possible Role on Weight Management and Obesity's Metabolic Consequences." **Medicines** **6**(3): 94.

LANDBERG, R., C. MANACH, F.-M. KERCKHOF, A.-M. MINIHANE, R. N. M. SALEH, B. DE ROOS, F. TOMAS-BARBERAN, C. MORAND AND T. VAN DE WIELE (2019). "Future prospects for dissecting inter-individual variability in the absorption, distribution and elimination of plant bioactives of relevance for cardiometabolic endpoints." **European Journal of Nutrition** **58**(2): 21-36.

LI Y, FANG R, LIU Z, JIANG L, ZHANG J, LI H, LIU C, LI F. The association between toxic pesticide environmental exposure and Alzheimer's disease: A scientometric and visualization analysis. **Chemosphere**. 2021.

LUCAS, B., et al. Uso de Smartphone como alternativa inovadora no controle de qualidade de alimentos: Uma breve revisão. *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 3 (pp.278-288). In: (Ed.) 2021.

LUCAS, B., et al. Determination of total phenolic compounds in plant extracts via Folin-Ciocalteu's method adapted to the usage of digital images. **Food Science and Technology**, v.42. 2022.

MAGDER, S. (2006). "Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life?" **Crit Care** **10**(1): 208.

MANDAL, S., et al. Review of extraction and detection techniques for the analysis of pesticide residues in fruits to evaluate food safety and make legislative decisions: Challenges and anticipations. **Journal of Chromatography B**, v.1215, p.123587. 2023

MANUELA, P., et al. Biological activity and sensory evaluation of cocoa by-products NADES extracts used in food fortification. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v.66, p.102514. 2020.

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, v.34, p.175. 2013

MARTINS, S., S. I. MUSSATTO, G. MARTÍNEZ-AVILA, J. MONTAÑEZ-SAENZ, C. N. AGUILAR AND J. A. TEIXEIRA (2011). "Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review." ***Biotechnology Advances* 29(3): 365-373.**

MASAWAT, P., A. HARFIELD AND A. NAMWONG (2015). "An iPhone-based digital image colorimeter for detecting tetracycline in milk." ***Food Chemistry* 184: 23-29.**

MILLER, N. J., C. RICE-EVANS, M. J. DAVIES, V. GOPINATHAN AND A. MILNER (1993). "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates." ***Clin Sci (Lond)* 84(4): 407-412.**

MUZAHID, A. A., et al. Analysis of bioactive compounds present in different crude extracts of *Benincasa hispida* and *Cucurbita moschata* seeds by gas chromatography-mass spectrometry. ***Heliyon***, v.9, n.1, p.e12702. 2023.

NARENDERAN, S. T., et al. Review of pesticide residue analysis in fruits and vegetables. Pre-treatment, extraction and detection techniques. *Food Research International*, v.133, p.109141. 2020.

OLIVEIRA, L. D. L. D., M. CARVALHO AND L. MELO (2014). **Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food.**

NEUWIETHOVÁ, N., et al. Pesticide residues remaining in soils from previous growing season(s) - Can they accumulate in non-target organisms and contaminate the food web? ***Science of The Total Environment***, v.646, p.1056-1062. 2019.

OMS. The WHO Recommended Classification of pesticides by Hazard 2009.

OU, B., M. HAMPSCH-WOODILL AND R. L. PRIOR (2001). "Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe." ***J Agric Food Chem* 49(10): 4619-4626.**

P.B, J. L., M. VILLAR NAVARRO, M. L. MORALES, C. UBEDA AND R. CALLEJÓN (2017). "The smartphone as an economical and reliable tool for monitoring the browning process in sparkling wine." ***Computers and Electronics in Agriculture* 141: 248-254.**

PLOTKA-WASYLKA, J. A new tool for the evaluation of the analytical procedure: Green Analytical Procedure Index. ***Talanta***, v.181, p.204-209. 2018.

PLOTKA-WASYLKA, J.; W. WOJNOWSKI. Complementary green analytical procedure index (ComplexGAPI) and software. *Green Chemistry*, v.23, n.21, p.8657-8665. 2021.

PEREIRA, J. M. G., M. FORMIGONI, F. L. G. VIELL, G. C. PANTE, E. BONA AND A. M. S. VIEIRA (2020). "Aditivos alimentares naturais emergentes: Uma revisão." **REALIDADES E PERSPECTIVAS**: 46.

PORTO, I. S. A., J. H. SANTOS NETO, L. O. DOS SANTOS, A. A. GOMES AND S. L. C. FERREIRA (2019). "Determination of ascorbic acid in natural fruit juices using digital image colorimetry." **Microchemical Journal** **149**: 104031.

QUIDEAU, S., D. DEFFIEUX, C. DOUAT-CASASSUS AND L. POUYSÉGU (2011). "Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis." **Angewandte Chemie International Edition** **50**(3): 586-621.

RAJARAM, R.; L. NEELAKANTAN. Recent advances in estimation of paraquat using various analytical techniques: A review. **Results in Chemistry**, v.5, p.100703. 2023.

RAMAKRISHNA, R., D. SARKAR AND K. SHETTY (2019). Functional Bioactives from Barley for Human Health Benefits: 61-85.

RASHIDIPOUR, M., et al. Pectin/Chitosan/Tripolyphosphate Nanoparticles: Efficient Carriers for Reducing Soil Sorption, Cytotoxicity, and Mutagenicity of Paraquat and Enhancing Its Herbicide Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.67, n.20, p.5736-5745. 2019.

RICO-YUSTE, A., V. GONZÁLEZ-VALLEJO, E. BENITO-PEÑA, T. DE LAS CASAS ENGEL, G. ORELLANA AND M. C. MORENO-BONDI (2016). "Furfural Determination with Disposable Polymer Films and Smartphone-Based Colorimetry for Beer Freshness Assessment." **Anal Chem** **88**(7): 3959-3966.

ROJAS, J. AND A. BUITRAGO (2019). Chapter 1 - Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Biosynthesized by Plants and Its Relationship With Prevention of Neurodegenerative Diseases. **Bioactive Compounds**. M. R. S. Campos, Woodhead Publishing: 3-31.

SHAHIDI, F. AND P. K. WANASUNDARA (1992). "Phenolic antioxidants." **Crit Rev Food Sci Nutr** **32**(1): 67-103.

SANTOS, M. S. F., et al. Adsorption of paraquat herbicide on deposits from drinking water networks. **Chemical Engineering Journal**, v.229, p.324-333. 2013.

SHRINET, K., et al. Chapter 17 - Bioactive compounds and their future therapeutic applications. In: R. P. Sinha e D.-P. Häder (Ed.). **Natural Bioactive Compounds: Academic Press**, 2021. Chapter 17 - Bioactive compounds and their future therapeutic applications, p.337-362.

SINGH, R., et al. Progress and challenges in the detection of residual pesticides using nanotechnology based colorimetric techniques. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v.26, p.e00086. 2020.

SILVA, M., R. COSTA, A. SANTANA AND M. KOBLITZ (2010). "Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products." **Semina: Ciências Agrárias** **31**: 669.

SINGLETON, V. L. AND J. A. ROSSI (1965). "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents." **American Journal of Enology and Viticulture** **16**(3): 144-158.

SIRIWARDHANA, N., N. S. KALUPAHANA, M. CEKANOVA, M. LEMIEUX, B. GREER AND N. MOUSTAID-MOUSSA (2013). "Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds." **J Nutr Biochem** **24**(4): 613-623.

SRIVASTAVA, N., et al. Chapter 21 - Advances in extraction technologies: isolation and purification of bioactive compounds from biological materials. In: R. P. Sinha e D.-P. Häder (Ed.). **Natural Bioactive Compounds**: Academic Press, 202, p.409-433.

TUFARELLI, V., E. CASALINO, A. G. D'ALESSANDRO AND V. LAUDADIO (2017). "Dietary Phenolic Compounds: Biochemistry, Metabolism and Significance in Animal and Human Health." **Curr Drug Metab** **18**(10): 905-913.

VALKO, M., D. LEIBFRITZ, J. MONCOL, M. T. CRONIN, M. MAZUR AND J. TELSER (2007). "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease." **Int J Biochem Cell Biol** **39**(1): 44-84.

VUOLO, M. M., V. S. LIMA AND M. R. MARÓSTICA JUNIOR (2019). Chapter 2 - Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. **Bioactive Compounds**. M. R. S. Campos, Woodhead Publishing: 33-50.

WANG, T. Y., Q. LI AND K. S. BI (2018). "Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate." **Asian J Pharm Sci** **13**(1): 12-23.

WAYNER, D. D., G. W. BURTON, K. U. INGOLD AND S. LOCKE (1985). "Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins." **FEBS Lett** **187**(1): 33-37.

YADAV, A., R. KUMARI, A. YADAV, J. P. MISHRA, D. S. SRIVASTAVA AND S. PRABHA (2016). "Antioxidants and its functions in human body - A Review." **Research in Environment and Life Science** **9**: 1328-1331.

YAÑEZ-SEDENÓ, P.; L. M. P. DIEZ. Spectrophotometric determination of paraquat with BiI-4 in the presence of gum arabic. **Talanta**, v.33, n.9, p.745-747. 1986.

YANG, Y., et al. The recent progress on the bioactive compounds from algal biomass for human health applications. **Food Bioscience**, v.51, p.102267. 2023.

ZAMORA-GARCIA, I., F. E. CORREA-TOME, U. H. HERNANDEZ-BELMONTE, V. AYALA-RAMIREZ AND J.-P. RAMIREZ-PAREDES (2021). "Mobile digital colorimetry for the determination of ammonia in aquaculture applications." **Computers and Electronics in Agriculture** **181**: 105960.

ZHAO, X., et al. Recent advances on bioactive compounds, biosynthesis mechanism, and physiological functions of *Nelumbo nucifera*. **Food Chemistry**, v.412, p.135581. 2023.