

**PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM SISTEMAS E PROCESSOS
INDUSTRIAIS - MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CONTROLE
E OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS INDUSTRIAIS**

Gelson Luis Peter Corrêa

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE UM PROTÓTIPO DE
COLORÍMETRO POR IMAGENS DIGITAIS**

Santa Cruz do Sul, agosto de 2015

Gelson Luis Peter Corrêa

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE UM PROTÓTIPO DE
COLORÍMETRO POR IMAGENS DIGITAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas e Processos Industriais - Mestrado, Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC, como requisito parcial para obtenção ao título de Mestre e Sistemas e Processos Industriais.

Orientador: Prof. Dr. Adilson Ben da Costa


Co-orientador: Prof. Dr. Rolf Fredi Molz

Santa Cruz do Sul, agosto de 2015

Gelson Luis Peter Corrêa

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE UM PROTÓTIPO DE COLORÍMETRO
POR IMAGENS DIGITAIS


Esta Dissertação foi submetida ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas e Processos Industriais – Mestrado – Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Sistemas e Processos Industriais.




Dr. Adilson Ben da Costa
Professor Orientador



Dr. Rolf Fredi Molz
Professor Coorientador



Dr. Leonel Pablo Tedesco
Examinador - UNISC



Dr. Manoel Leonardo Martins
Examinador - FURG

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre guiar meus passos, iluminar meus caminhos e proporcionar a graça de uma gestação a minha esposa e a mim no início deste ano.

Aos meus pais, minha irmã e minha tia bisavó, por todo carinho, paciência, compreensão e palavras de incentivo e motivação que recebi durante minha formação enquanto pessoa. Um agradecimento especial a minha mãe, que foi sempre uma mulher batalhadora com um coração enorme. Mãe tu és uma fonte de inspiração para todos nós.

A minha esposa Luciane pelos momentos de compreensão e carinho, além das palavras de motivação em toda nossa caminhada juntos, principalmente durante a realização deste trabalho. Ao seu lado aprendi que não por trás, mas ao lado de um homem sempre existe uma grande mulher.

Aos professores orientadores Adilson Ben da Costa e Rolf Fredi Molz pelos ensinamentos, motivação e oportunidade de crescimento profissional e acadêmico.

Aos colegas de laboratório Keiti, Andre e Gisele pelos momentos dedicados a me apoiar neste trabalho. Um agradecimento especial a Keiti por dedicar momentos de apoio à realização deste trabalho durante a elaboração de seu trabalho de conclusão de curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas e Processos Industriais pela oportunidade de crescimento.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense por acreditar e me confiar esta oportunidade de crescimento pessoal, profissional e acadêmico.

A todos os amigos, colegas e familiares que de alguma forma me apoiaram e estiveram juntos neste período de crescimento.

“Seja a mudança que você deseja para o mundo.”
MAHATMA GANDHI

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo desenvolver o protótipo de um sistema para determinações colorimétricas por imagens digitais, bem como realizar a avaliação de sua funcionalidade analisando concentrações de fósforo e flúor em águas naturais. Motivado a partir da percepção de que se faz necessária a existência de recursos portáteis, alternativos ao uso do espectrofotômetro, como forma de otimizar o tempo de análise, os custos de transporte e o acondicionamento das amostra. Desenvolvido, inicialmente, de forma genérica, o protótipo foi aplicado à análise de soluções coloridas artificialmente e, posteriormente, avaliado para a determinação de fósforo e flúor em águas naturais. Para tanto, inicialmente desenvolveu-se um software para aquisição e tratamento de imagens digitais, aplicando o modelo de cor RGB e duas de suas derivações. O software em questão, desenvolvido em MATLAB®2009a (MathWorks) e organizado de forma a apresentar uma interface gráfica de fácil utilização, permite a captura e tratamento da imagem colorida da amostra, armazenando os dados obtidos em um arquivo Excel. Entretanto, antes de chegar ao resultado das avaliações, fez-se necessária a construção de uma câmara para aquisição das imagens digitais para acondicionar uma *webcam*, um suporte para cubeta e uma fonte de iluminação, combinados e acomodados de forma estratégica, formando assim um caminho óptico e evitando ruídos de iluminação externa na captura da imagem. Aplicando as análises iniciais com corantes artificiais, obteve-se resultados com valores dos coeficientes de determinação superiores a 0,99 para as análises das cores azul, vermelho e verde. O método proposto foi comparado com o método de referência (espectrofotômetro) afim de validação. Devido à condição de fácil utilização tanto do software quanto do protótipo, o método proposto apresentou resultados equivalentes ao método de referência na determinação fósforo. Diante de tais resultados, pode-se afirmar que a utilização de um protótipo para determinações colorimétricas por imagens digitais foi relevante, mesmo que seja utilizado como método de varredura, de forma a identificar as amostras problemáticas e posteriormente encaminhar para uma análise através de metodologias de referência.

Palavras-chave: Água, espectrofotômetro, colorímetro, fósforo, flúor

ABSTRACT

This work aims to develop a prototype system for colorimetric determination of digital images, as well as evaluate its functionality to determine phosphorus and fluorine's concentration in natural waters. It is motivated by the necessity of portable tools, others than the use of the spectrometer, to optimize the analysis of time, transportation costs and storage of samples. Initially developed as a generic tool, the prototype was applied to artificial colourized solutions analysis, and, later it was evaluated to predict phosphorus and fluorine in natural waters. Therefore, it was first developed a computer software for acquisition and processing of digital images, applying the RGB colour model and two of its derivations. The software, developed in MATLAB®2009a (MathWorks) and organized to present an easy graphic interface, allows to capture and process color images of the sample, saving the data in an Excel file. However, before reaching the results of the evaluation, it was necessary to build up a camera to acquire the digital images to stow a web cam, a cuvette support and a light source, strategically combined and accommodated, creating an optical path and avoiding external light noises during the image acquisition. Applying the initial analysis with artificial colors, there were obtained results with values of correlation coefficients greater than 0.99 for the analysis of blue, red and green colors. The proposed method was compared to the reference method (spectrophotometer) in order for validation. Due to the usability condition of both the software and the prototype, the proposed method showed results equivalent to the reference method for determining phosphorus. Considering the results, it can be stated that the use of a prototype for colorimetric determination by digital images was relevant, even as a scanning method, identifying problematic samples and forwarding them to be analyzed through reference methods.

Keywords: water, spectrophotometer, colorimeter, phosphorus, fluorine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comportamento do Campo Elétrico (E) e Magnético (M). Fonte: Brys (2008)..	17
Figura 2. Espectros de absorção de luz em diversos comprimentos de onda (λ). Fonte: Micha <i>et al.</i> , 2011	18
Figura 3. Diagrama que mostra o caminho óptico. Fonte: O Autor, 2015	19
Figura 4. Componentes básicos de um colorímetro clássico. Fonte: O Autor, 2015.	20
Figura 5. Exemplo de imagem digital com: (a) imagem digital com grupo de pixels selecionados; (b) amostragem ampliada de um ponto de 9x9 pixels; (c) valores de cor em cada pixel, conforme função $f(x, y)$. Fonte: Brys, 2008	21
Figura 6. Círculos representando as cores primárias e formação das cores secundárias no modelo RGB. Fonte: Leão <i>et al.</i> , 2007	23
Figura 7. Modelo de cor RBG representado geometricamente. Fonte: O Autor, 2015.	24
Figura 8. Fluxograma executivo do projeto de pesquisa. Fonte: O Autor, 2015.	31
Figura 9. Vista superior do projeto da câmara de captura de imagens. Fonte: O Autor, 2015.	32
Figura 10. Vista lateral, corte, do projeto da câmara de captura de imagens, identificando o posicionamento da <i>webcam</i> , cubeta e fonte de iluminação. Fonte: O Autor, 2015.	33
Figura 11. Projeto elétrico do circuito de iluminação interna. Fonte: O Autor, 2015.	33
Figura 12. Fluxograma de funcionamento do programa de aquisição e tratamento de imagem. Fonte: O Autor, 2015.	34
Figura 13. Imagem das quatro corantes utilizados para confecção das amostras artificiais: (a) corante concentrado e (b) corante diluído (1%). Fonte: O Autor, 2015.	35
Figura 14. Câmara de captura de imagens construída em MDF. Fonte: O Autor, 2015.	40
Figura 15. Posicionamento da <i>webcam</i> da cubeta e da fonte de iluminação na câmara de captura de imagens. Fonte: O Autor, 2015.	41
Figura 16. Imagem da interface gráfica do software de controle de aquisição e tratamento de imagens digitais. Fonte: O Autor, 2015.	42
Figura 17. Imagem da interface gráfica do software de análise - Área de acionamento da <i>webcam</i> . Fonte: O Autor, 2015.	43
Figura 18. Fluxograma de funcionamento do software de captura e tratamento de imagens digitais – Área de calibração e análise. Fonte: O Autor, 2015.	43
Figura 19. Imagem da interface gráfica do software de análise - Área de calibração. Fonte: O Autor, 2015.	44
Figura 20. Imagem do arquivo <i>calibracao.xlsx</i> com valores de cor e normalização dos valores. Fonte: O Autor, 2015.	46
Figura 21. Imagem da interface gráfica do software – Área de análise das amostras. Fonte: O Autor, 2015.	47
Figura 22. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra artificial de cor verde. Fonte: O Autor, 2015.	50
Figura 23. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra artificial de cor azul. Fonte: O Autor, 2015.	52
Figura 24. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra artificial de cor amarela. Fonte: O Autor, 2015.	53

Figura 25. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra artificial de cor vermelha. Fonte: O Autor, 2015.....	55
Figura 26. Resultados de coeficiente de determinação e RMSECV obtidos utilizando as componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB. O eixo das ordenadas do RMSECV foi limitado em 3 mgL^{-1} . Fonte: O Autor, 2015.....	56
Figura 27. Imagem do protótipo desenvolvido em análise da concentração de fósforo em água.. Fonte: O Autor, 2015.	57
Figura 28. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra de referência de fósforo. Fonte: O Autor, 2015.	58
Figura 29. Curva de calibração obtida pelos valores médios de absorbância obtidos para as amostras de referência de fósforo utilizando o espectrofotômetro. Fonte: O Autor, 2015.	59
Figura 30. Resultados de limite de detecção (LD), quantificação (LQ), RMSEC, RMSECV obtidos utilizando as componentes de R (vermelho), B (azul), vetor RGB, soma RGB e o espectrofotômetro. Fonte: O Autor, 2015.....	60
Figura 31. Resultados comparativos de fósforo em água obtidos pelo sistema proposto, utilizando a componente de cor R (vermelho), e pelo método de referência. Fonte: O Autor, 2015.....	61
Figura 32. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra de referência de flúor. Fonte: O Autor, 2015.	63
Figura 33. Curva de calibração obtida pelos valores médios de absorbância obtidos para as amostras de referência de flúor utilizando o espectrofotômetro. Fonte: O Autor, 2015.	64
Figura 34. Resultados de limite de detecção (LD), quantificação (LQ), RMSEC, RMSECV obtidos utilizando as componentes de R (vermelho), B (azul), vetor RGB, soma RGB e o espectrofotômetro. Eixo das ordenadas foi limitado em $2,00 \text{ mgL}^{-1}$. Fonte: O Autor, 2015.	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Limites estabelecidos pela resolução nº 357/2005 do CONAMA para concentração de fósforo.....	30
Tabela 2 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB em função da concentração das amostras artificialmente coloridas: a) corante verde, b) corante azul, c) corante amarelo e d) corante vermelho.....	48
Tabela 3 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor verde, e respectivas figuras de mérito.	49
Tabela 4 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor verde, e respectivas figuras de mérito, para amostras até concentração de 4%.	51
Tabela 4 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor azul, e respectivas figuras de mérito.	52
Tabela 6 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor amarela, e respectivas figuras de mérito.	53
Tabela 7 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor vermelha, e respectivas figuras de mérito.....	54
Tabela 8 – Valores médios das componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, em função da concentração de fósforo.	57
Tabela 9 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração de fósforo, e respectivas figuras de mérito.	58
Tabela 10 – Valores médios de absorvância em função da concentração de fósforo, e respectivas figuras de mérito.	59
Tabela 11 – Valores médios (n=3) dos resultados de concentração de fósforo em água utilizando o sistema de análise proposto (componente R) e a metodologia de referência.	61
Tabela 12 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, em função da concentração de flúor.	62
Tabela 13 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração de flúor, e respectivas figuras de mérito.	62
Tabela 14 – Valores médios de absorvância em função da concentração de flúor, e respectivas figuras de mérito.	63

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Coeficiente angular
B	Ponto de intersecção
BMP	do inglês <i>Bitmap</i>
CCD	Dispositivo de Carga Acoplada (do inglês <i>Charge-Coupled Device</i>)
CMOS	Semicondutor de óxido metálico complementar (do inglês <i>Complementary Metal-Oxide Semiconductor</i>)
DIB	Baseada em Imagens Digitais (do inglês <i>Digital Image Based</i>)
FBA	Fluxo de lotes automático (do inglês <i>Flow Automatic Batch</i>)
FES	Espectrometria de emissão em chama (do inglês <i>Flame Emission Spectrometry</i>)
GND	Terra (do inglês <i>Ground</i>)
LD	Limite de detecção
LED	Diodo emissor de luz (do inglês <i>Light emitter diode</i>)
LQ	Limite de quantificação
R	Coeficiente de correlação
R ²	Coeficiente de determinação
RGB	Vermelho, verde e azul (do inglês <i>Red, Green and Blue</i>)
RMSEC	Raiz quadrada do erro médio de calibração (do inglês <i>Root Mean Square Error of Cross Calibration</i>)
RMSEV	Raiz quadrada do erro médio de validação cruzada (do inglês <i>Root Mean Square Error of Cross Validation</i>)
SPADNS	2-parasulfofenilazo- 1,8 dihidróxi 3,6-naftaleno dissulfonato de sódio
TIFF	do inglês <i>Tagged Image File Format</i>
USB	Porta universal (do inglês <i>Universal Serial Bus</i>)
UV	Ultravioleta
VIS	Visível
VGA	Padrão de gráficos de vídeo (do inglês <i>Video Graphics Array</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos específicos	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	Métodos colorimétricos de análise	16
3.1.1	Formação e propagação da luz	17
3.1.2	Espectrofotometria na região do espectro visível e ultravioleta.....	18
3.1.3	Principais componentes e funcionamento de um colorímetro clássico	20
3.2	Imagens digitais	21
3.2.1	Formação de uma imagem digital	22
3.2.2	Modelos de Cor	22
3.2.2.1	Modelo de cor RGB.....	23
3.3	Trabalhos relacionados a imagens digitais em química analítica.....	24
3.4	Características de águas naturais quanto a concentração de flúor e fósforo	29
4	METODOLOGIA	31
4.1	Câmara de aquisição de imagens e software de controle aquisição e tratamento de imagens	32
4.2	Software de controle de aquisição e tratamento de imagens digitais	33
4.3	Avaliação do sistema de análise colorimétrica com amostras artificiais.....	35
4.3.1	Avaliação do sistema em análises colorimétricas de águas naturais.....	35
4.3.1.1	Determinação da concentração de fluoretos.....	35
4.3.1.2	Determinação da concentração de fósforo.....	36
4.4	Avaliação do sistema de análise colorimétrica por imagens digitais	37
5	RESULTADOS	40
5.1	Câmara de aquisição de imagens digitais.....	40
5.2	Software de controle de aquisição e tratamento de imagens digitais	41
5.3	Análise das amostras artificiais de corantes	47
5.4	Determinação da concentração de fósforo em água	56
5.5	Análise da concentração de flúor em água.....	61
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	67
	REFERÊNCIAS	68
	ANEXO A - Trecho do programa desenvolvido no Matlab que ativa a <i>webcam</i> e determina os parâmetros para captura da imagem da amostra.	73
	ANEXO B- Trecho do programa desenvolvido no Matlab referente a área de calibração.	74
	ANEXO C- Trecho do programa desenvolvido no Matlab referente a área de análise	81

1 INTRODUÇÃO

As análises químicas são empregadas na indústria, na medicina e em todas as outras ciências, na quantificação dos constituintes dos materiais, cujos exemplos de aplicações cotidianas vão desde a análise de ligas de aço na indústria até a análise de amostras de sangue em laboratórios de análises clínicas (HOLLER *et al.*, 2009; GOMES *et al.*, 2008; SKOOG *et al.*, 2002).

Os procedimentos de análise são aplicados dependendo de sua necessidade e o comportamento de cada analito. Algumas substâncias quando entram em contato com reagentes formam compostos coloridos e, para analisar essas substâncias, são utilizados métodos colorimétricos de análise química, que compreende o escopo deste trabalho. Os íons de fluor presente na água de abastecimento público, por exemplo, reagem formando um composto na cor vermelha quando adicionada à amostra de água a solução de SPADNS. A intensidade de vermelho do composto varia conforme a concentração de íons de fluor na água, de forma inversamente proporcional, possibilitando a determinação deste composto na amostra analisada (COSTA *et al.*, 2010; BADINI *et al.*, 2003; BARGHOUTH E AMEREIH, 2012).

As amostras de materiais para análise colorimétrica normalmente são coletadas, lacradas em frascos específicos, livre de contaminantes externos e transportadas para um laboratório onde são analisadas (RODRIGUES *et al.*, 2013; FREITAS *et al.*, 2002; CUNHA *et al.*, 2012; YAMAGUCHI *et al.*, 2013). Para determinar a quantidade de substância colorida em uma amostra são utilizados normalmente os espectrofotômetros, que operam nas regiões do ultravioleta e visível do espectro eletromagnético (GOMES *et al.*, 2008).

Em alternativa aos espectrofotômetros, tem sido estudado e implementado o uso de sistemas que realizam análises colorimétricas por imagens digitais obtidas por câmeras digitais, *scanners*, *webcams* e câmeras de celular, ferramentas essas que podem introduzir maior mobilidade aos procedimentos analíticos, permitindo de maneira mais fácil a realização de análises *in situ* (SOUZA *et al.*, 2014; LYRA *et al.*, 2009; TÔRRES *et al.*, 2011; GAIÃO *et al.*, 2006).

Neste contexto, o desenvolvimento de um sistema de análise colorimétrico por imagens digitais portátil pode ser utilizado em substituição ao espectrofotômetro,

contribuindo para otimizar o tempo de análise, os custos de transporte e o acondicionamento das amostra.

Assim, este estudo pretende desenvolver um protótipo de um sistema portátil de análise colorimétrica por imagens digitais, o qual será desenvolvido, inicialmente, de forma genérica, aplicado à análise de soluções coloridas artificialmente e, posteriormente, avaliado para a determinação de fósforo e flúor em águas naturais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar um protótipo de um sistema para determinações colorimétricas aplicadas à análise de água, utilizando o processamento de imagens digitais obtidas através de câmera digital.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do projeto podem ser descritos como:

- Montar uma câmara de aquisição de imagem digital;
- Desenvolver um software para captura e tratamento de imagens digitais;
- Aplicar o sistema de aquisição e tratamento de imagens digitais em amostras coloridas artificialmente;
- Aplicar o sistema de aquisição e tratamento de imagens digitais para determinar a concentração de fósforo e flúor em águas de abastecimento.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão de literatura presente neste capítulo está dividida em quatro tópicos, abrangendo os fundamentos em análise colorimétrica e processamento de imagens digitais. O terceiro tópico trata de algumas aplicações recentes da análise de imagens digitais na química analítica. O último tópico apresenta algumas características de águas naturais quanto à concentração de flúor e fósforo, além de variáveis utilizadas para testar a metodologia proposta neste estudo.

3.1 Métodos colorimétricos de análise

A química analítica lida com métodos de separação, identificação e determinação das quantidades relativas dos componentes que compõem uma amostra. Essas informações podem ser obtidas por análises quantitativas e qualitativas (HOLLER *et al.*, 2009).

Uma análise qualitativa fornece informações sobre a identidade das espécies atômicas ou moleculares ou dos grupos funcionais presentes nas amostras (HOLLER *et al.*, 2009). Já a análise quantitativa determina numericamente a quantidade ou proporção de cada componente, ou um componente em especial, presente na amostra estudada (GOMES *et al.*, 2008; SKOOG *et al.*, 2002).

Segundo Holler *et al.* (2009) as análises quantitativa e qualitativa dividem-se em métodos clássicos e instrumentais, cujos métodos são aplicados dependendo da necessidade de análise e o comportamento do analito.

As aplicações da química analítica são encontradas em situações do nosso dia-a-dia, como análises clínicas e nutricionais, e para controle de qualidade, determinando e verificando uma grande variedade de substâncias que utilizamos cotidianamente (GOMES *et al.*, 2008). Em situações, como por exemplo, a avaliação da água para consumo humano, segundo a portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde, são previstas análises físico-químicas e microbiológicas da água que será distribuída para consumo (LIMA, 2012). Dentre as análises físico-químicas, destaca-se o método de análise colorimétrica, sendo este um método instrumental que permite analisar quantitativamente diferentes analitos em uma amostra, a partir de reações seletivas que produzam cor à solução da amostra, cuja intensidade é proporcional a concentração do analito. Por se tratar de um método satisfatoriamente preciso é muito utilizado em análises de rotina, como

determinação de fluoretos, fósforo, cloro residual, nitratos, nitritos, entre outros, em amostras de água. Nos últimos tempos diferentes autores tem procurado aprimorar os métodos colorimétricos no intuito de diminuir a geração de resíduos tóxicos que, muitas vezes, são de difícil descarte (BAZONI *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2010; BADINI *et al.*, 2003; FRAIGE *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2008; ANDRADE *et al.*, 2013).

3.1.1 Formação e propagação da luz

A luz é uma radiação eletromagnética, podendo ser entendida como uma forma de energia, que se comporta como partícula e como onda, sendo um conjunto de fótons se deslocando no espaço com frequência e comprimento de onda (λ , expressos em μm ou nm), tendo um comportamento de campos elétricos e magnéticos oscilantes, conforme Figura 1 (SKOOG *et al.*, 2002; LEMOS *et al.*, 2009; HOLLER *et al.*, 2009).

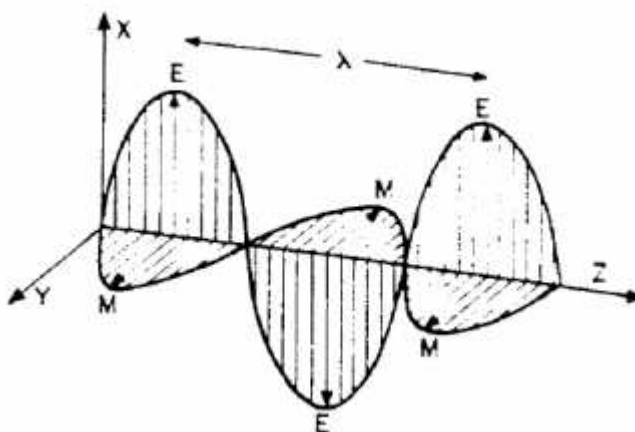


Figura 1. Comportamento do Campo Elétrico (E) e Magnético (M). Fonte: Brys (2008)

A relação entre frequência (ν) e comprimento de onda (λ) é dado pela equação 1 onde C, constante de proporcionalidade, é a velocidade da luz no vácuo ($3 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$). Outra grandeza relevante que podemos obter através da equação de Planck (Equação 2) é a energia da partícula do feixe de luz (fóton).

$$C = \lambda \cdot \nu \quad (1)$$

$$E = h \cdot \nu \quad (2)$$

Esta energia (E) é calculada a partir da multiplicação da constante de Planck ($6,626 \times 10^{-31} \text{ J s}$) e a frequência da onda do feixe de luz (Equação 3). Desta forma, conclui-

se que a energia está diretamente ligada ao valor da frequência de oscilação de um fóton e, segundo a equação abaixo, inversamente ligada ao comprimento de onda.

$$E = \frac{(h.C)}{\lambda} \quad (3)$$

De acordo com a Equação 3, constata-se que a luz se propaga e pode ser absorvida em diversos comprimentos de onda, conforme Figura 2 (LEMOS *et al.*, 2009; HOLLER *et al.*, 2009; SKOOG *et al.*, 2002).



Figura 2. Espectros de absorção de luz nos comprimentos de onda de 400 nm até 700 nm. Fonte: O Autor, 2015.

3.1.2 Espectrofotometria na região do espectro visível e ultravioleta

A espectrofotometria na região do espectro visível e ultravioleta consiste na análise da interação da luz com a matéria para determinações analíticas colorimétricas em diversas áreas. Este método baseia-se na formação de cores em amostras de uma determinada substância ou em reações químicas que são iluminadas por uma luz branca, onde estas amostras absorvem vários componentes de comprimentos de onda e transpassa outros, definindo a cor da substância, podendo assim, ser analisada pelo espectrofotômetro. Esta absorção de comprimentos de onda depende do número e do arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes, ou seja, a natureza da substância, sua concentração e espessura influenciam diretamente no comprimento de onda que transpassa a mesma (OLIVEIRA, 2001; BRITO *et al.*, 2013; NASCIMENTO *et al.*, 2010; SKOOG *et al.*, 2002).

Quando um feixe de luz branca atravessa uma substância a ser analisada percebemos a cor, pois parte da energia do feixe luminoso é absorvido. Com base nesta afirmação podemos concluir que a quantidade de luz que incide (L_i) é diferente da quantidade de luz que transpassou (L) a amostra. O trajeto que a luz faz a partir da fonte de luz até a detecção da luz não absorvida é chamado de caminho óptico (Figura 3).

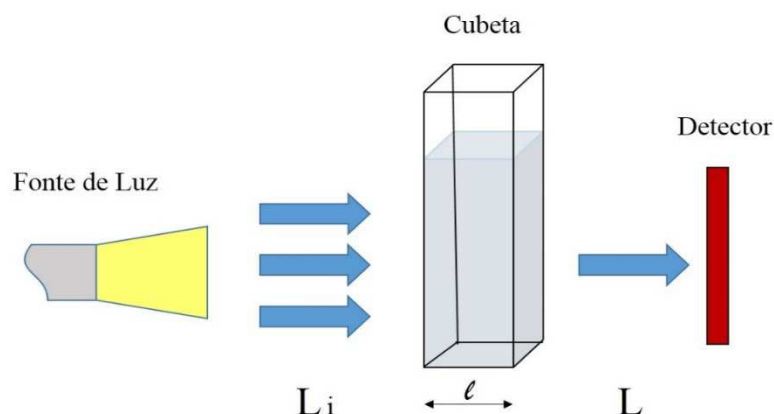


Figura 3. Diagrama que mostra o caminho óptico. Fonte: O Autor, 2015

A lei de Lambert-Beer representa matematicamente a possibilidade de calcular a transmitância (Equação 5) ou absorbância (Equação 6) de amostras de substâncias contidas em recipientes translúcidos em um caminho óptico através da Equação 4.

$$A = -\log T = \log \frac{L_i}{L} = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (4)$$

Onde c é a concentração de material absorvedor da amostra e ε a absorvidade molecular (SKOOG *et al.*, 2002; HOLLER *et al.*, 2009; BRITO *et al.*, 2013).

Como o analito está em um recipiente (célula ou cubeta) ocorrem perdas por reflexão, por espalhamento, por moléculas grandes e, às vezes, absorção pelo próprio recipiente. Para compensar essas perdas do feixe de luz, a quantidade de luz transmitida pela amostra da substância é comparada com uma amostra idêntica, mas apenas contendo solvente, que chamamos de branco. A partir deste contexto chegamos às equações considerando a amostra de branco (SKOOG *et al.*, 2002; GOMES *et al.*, 2008; BRITO *et al.*, 2013):

$$T = \frac{L_{\text{amostra}}}{L_{\text{branco}}} \quad (5)$$

$$A = \log \frac{L_{\text{branco}}}{L_{\text{amostra}}} \quad (6)$$

Os equipamentos comumente utilizados para determinar a quantidade da substância colorida são os espectrofotômetros, que operam nas regiões do ultravioleta e visível do espectro eletromagnético (GOMES *et al.*, 2008; NASCIMENTO *et al.*, 2010; SKOOG *et al.*, 2002). Esses equipamentos são compostos, resumidamente, por uma fonte contínua de radiação (luz) composta por uma lâmpada de tungstênio e deutério (lâmpada de deutério emite radiação UV e a de tungstênio emite luz visível), monocromador ou difusor para

seleção do comprimento de onda específico para a análise, recipiente para conter as amostras (cubas ou cubetas retangulares de vidro ou quartzo) e detector do comprimento de onda que transpassou a amostra e transfere para o visor e para o computador acoplado ao aparelho. Além desses componentes, alguns modelos possuem programas específicos para tratamento e armazenamento de dados das análises realizadas (SKOOG *et al.*, 2002; HOLLER *et al.*, 2009).

Segundo SKOOG *et al.*, (2002) e HOLLER *et al.*, (2009), o espectrofotômetro na região ultravioleta e região visível analisam a absorção de comprimento de ondas na faixa entre 160 nm e 780 nm, onde as medidas de absorção dessas regiões espectrais (ultravioleta – visível) tem diversas aplicações em análises quantitativas de várias substâncias orgânicas e inorgânicas, como mostram alguns trabalhos desenvolvidos.

3.1.3 Principais componentes e funcionamento de um colorímetro clássico

Um colorímetro clássico é composto, resumidamente, por uma fonte de iluminação, um monocromador (Filtro), uma cubeta e um detector de intensidade de luz (Figura 4) (SKOOG *et al.*, 2002).

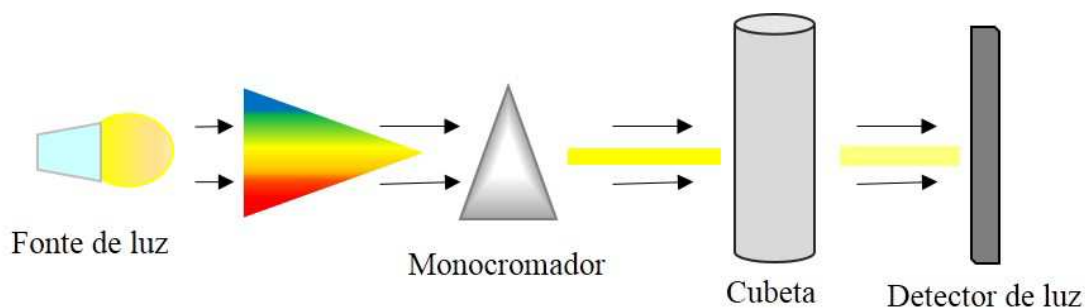


Figura 4. Componentes básicos de um colorímetro clássico. Fonte: O Autor, 2015.

A fonte de iluminação normalmente é composta por uma lâmpada que emite uma luz branca, constante, que é fracionada por um monocromador em um determinado comprimento de onda selecionado. Este comprimento de onda é incidido sobre uma cubeta transparente contendo a substância a ser analisada, onde transpassa apenas parte da luz que não foi absorvida pela amostra. A luz que transpassou a amostra é recebida por um detector que converte a radiação luminosa em sinal elétrico que é lido como uma absorbância e é proporcional à concentração da substância absorvente existente na cubeta. Alguns

colorímetros possuem programas específicos para tratamento e armazenamento de dados das análises realizadas (SKOOG *et al.*, 2002; HOLLER *et al.*, 2009; GOMES *et al.*, 2008).

3.2 Imagens digitais

Uma imagem digital pode ser definida como uma matriz de x linhas e y colunas que possuiu um conjunto finito de pixels. Os pixels são estruturas compostas por uma sequência de dígitos binários em série, geralmente quadriculada, e representam uma intensidade de luz e de cor, onde todos estes pixels em conjunto irão formar a imagem digital. A imagem digital é representada por uma função bidimensional de intensidade da luz $f(x,y)$, onde os valores de x e y representam as coordenadas espaciais e a amplitude de f representa a iluminação e reflectância ou o nível de cinza da imagem no ponto, conforme Figura 4 (GONZALEZ *et al.*, 2010; OLIVEIRA, 2012; LEÃO, 2005; BRYS, 2008). Estas imagens podem ser produzidas por diversos equipamentos, incluindo câmeras de vídeo e fotográficas digitais, *scanners*, aparelhos de raios-X, microscópios eletrônicos, aparelhos de ultrassom e radares, como também *webcams* e telefones celulares (TÔRRES *et al.*, 2011; MACHADO E SOUKI, 2004; LYRA, 2008; SOUZA, *et al.*, 2014).

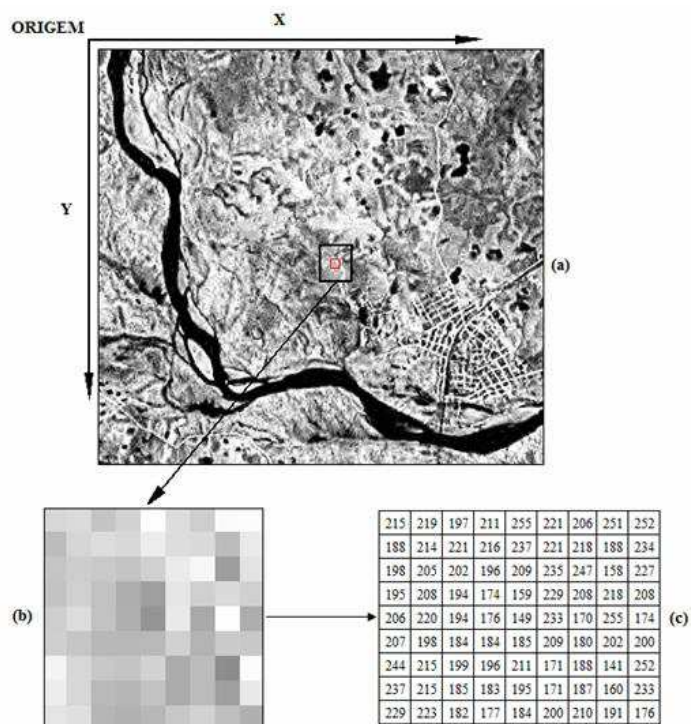


Figura 5. Exemplo de imagem digital com: (a) imagem digital com grupo de pixels selecionados; (b) amostragem ampliada de um ponto de 9x9 pixels; (c) valores de cor em cada pixel, conforme função $f(x, y)$.

Fonte: Brys, 2008

3.2.1 Formação de uma imagem digital

Quando capturada, uma imagem digital assume um tamanho definido pelo seu número de pixels e da resolução de captura. Por exemplo, uma imagem de 1400 x 900 pixels e resolução de 600 DPI (pontos por polegada, do inglês *dots per inch*), tem um tamanho real de 5,92662 x 3,80997 cm. Estas dimensões são calculadas pela Equação 7, onde se inicia calculando a resolução em DPC (pontos por centímetro, do inglês *dots per centimeter*), dividindo a resolução (600 DPI) por 2,45 cm (MACHADO E SOUKI, 2004; GONZALEZ *et al.*, 2010; GAIÃO *et al.*, 2006).

$$\text{Tamanho da imagem} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de pixels}}{\text{Resolução}} \quad (7)$$

A informação das cores de uma imagem está contida em cada pixel. A quantidade de cores que cada pixel pode representar depende da sua profundidade de cor. Esta profundidade de cor descreve o número de bits utilizados em cada pixel para determinar o número de tons da imagem, este conceito é conhecido como bpp (bits por pixel, do inglês *bits per pixel*) (SOUTO, 2003; LEÃO, 2005; OLIVEIRA, 2012; GONZALEZ *et al.*, 2010).

Segundo Gonzales *et al.* (2010) uma imagem colorida RGB (do inglês *red, green and blue*) pode ser decomposta em três imagens diferentes, uma vermelha, uma verde e outra azul, formando uma matriz cúbica $m \times n \times 3$, onde cada imagem representa um lado desta matriz. A partir desta concepção, quando cada componente de cor de uma imagem RGB tem 8 bits, podemos afirmar que a profundidade de cor de cada pixel desta imagem é de 24 bits (8 bits multiplicado por 3 planos). E, segundo equação 8, cada componente da imagem tem 256 tons diferentes (2^8) e a imagem RGB tem 16.777.216 cores (2^{24}).

$$2^n = \text{número de tons, onde } n = \text{número de bits} \quad (8)$$

3.2.2 Modelos de Cor

Os modelos de cores são utilizados para classificar e qualificar as cores quanto aos seus atributos de tonalidade, saturação e luminosidade ou brilho, em um determinado formato padronizado. Os modelos são representados em um sistema tridimensional de coordenadas, no qual uma cor é determinada pelo valor de cor primária atribuída no seu

eixo correspondente (SOUTO, 2003; LEÃO *et al.*, 2007; OLIVEIRA, 2012; GONZALEZ *et al.*, 2010).

Segundo Gonzalez *et al.* (2010), a maioria dos modelos de cores é utilizado em monitores e impressoras coloridas ou na manipulação de cores para criação e processamento de imagens.

Em análises colorimétricas utilizando imagens digitais podemos destacar a utilização dos modelos de cores RGB (*red, green, blue* – vermelho, verde, azul), HSI (*hue, saturation, intensity* – matiz, saturação, intensidade) e HSV (*hue, saturation, value* – matiz, saturação, valor) (OLIVEIRA, 2012; LYRA *et al.*, 2009; TÔRRES *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2013; CENTURIÓN *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2013). Neste trabalho foi aplicado o modelo de cor RGB e duas de suas derivações, o vetor resultante dos valores de RGB e a soma dos valores de RGB.

3.2.2.1 Modelo de cor RGB

O modelo de cores RGB pode ser definido como um sistema tridimensional de coordenadas cartesianas, baseado nas três cores primárias (vermelho, verde e azul), sendo o modelo de cores mais utilizado para processamento e armazenamento de dados digitais de imagens. Conforme Figura 6, notamos que somando as três cores, duas a duas, obtemos as cores ciano (verde + azul), magenta (vermelho + azul) e amarelo (vermelho + verde), que vêm a ser as cores secundárias (GONZALEZ *et al.*, 2010; SOUTO, 2003; LEÃO, *et al.*, 2007).

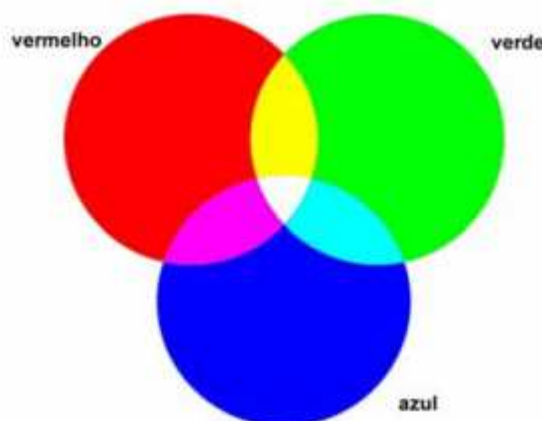


Figura 6. Círculos representando as cores primárias e formação das cores secundárias no modelo RGB. Fonte: Leão *et al.*, 2007

O espaço de cores RGB é representado geometricamente em um espaço tridimensional conforme o cubo de cor da Figura 7, onde mostra os três eixos principais com as cores primárias vermelho, verde e azul, variando de 0 a 255 em seus valores para a formação das demais cores. Os valores de cor do modelo RGB são de 8 bits (2^8) com 256 níveis de intensidade de cor, totalizando aproximadamente 16 milhões de cores. Nos vértices dos planos formados pelo deixo de duas cores primárias são representadas as cores secundárias geradas. A diagonal principal do cubo representa a escala dos valores de cinza, onde na origem é formada a cor preta e no final da reta, pela mistura dos valores máximos das três cores primárias, é formada a cor branca (GAIÃO *et al.*, 2006; LEÃO, *et al.*, 2007).

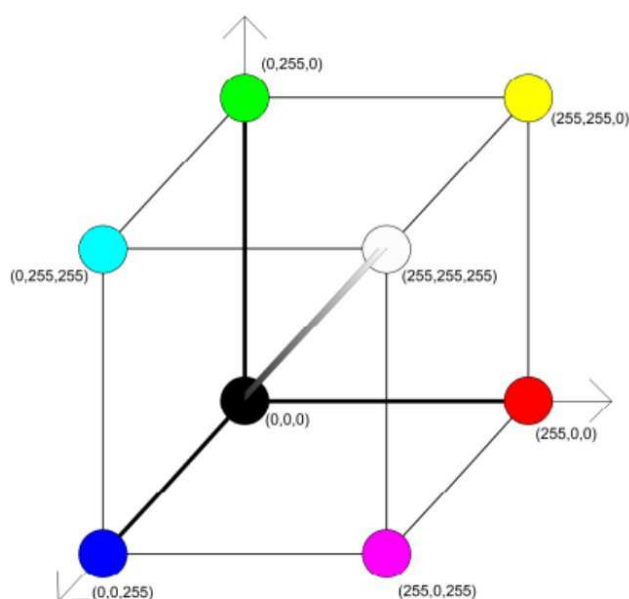


Figura 7. Modelo de cor RGB representado geometricamente. Fonte: O Autor, 2015.

3.3 Trabalhos relacionados a imagens digitais em química analítica

Segundo Lyra (2008), o uso de imagens digitais no contexto de análises químicas iniciou na década de 90 por Monemi *et al.* (1999), onde os autores propuseram a detecção da proteína de ligação do retinol por meio de quimiluminescência utilizando uma câmera CCD (Dispositivo de Carga Acoplada, do inglês *Charge-Coupled Device*). Após este trabalho outros pesquisadores buscaram o desenvolvimento de diferentes aplicações de imagens digitais na química analítica.

Gaião *et al.* (2006) desenvolveram um novo método para implementação de titulações baseado na exploração de imagens digitais adquiridas através de uma *webcam*, usando o sistema RGB de cores, a qual foi aplicada para a determinação de alcalinidade

total em águas. Segundo os autores, a titulação DIB (Baseada em Imagens Digitais, do inglês *Digital Image Based*) pode ser avaliada como uma ferramenta analítica promissora para a realização de análises químicas quantitativas, e ainda oferece uma alternativa economicamente viável para titulações que apresentam dificuldade de visualização do ponto final.

Gomes *et al.* (2008) propuseram um método para determinar o ácido ascórbico em medicamentos com o uso de um *scanner* de mesa para aquisição das imagens. As imagens digitalizadas da amostra foram convertidas numericamente com a utilização do padrão de cores RGB. A quantificação matemática para as soluções com o uso do complexo do azul da Prússia foi adotada para a determinação de vitamina C nas amostras de dois medicamentos comerciais. O nivelamento e o posicionamento da fôrma sobre a superfície do *scanner* foram fatores importantes, pois quando a fôrma foi disposta perpendicularmente ao feixe de luz foram obtidos melhores resultados por causa da menor reflexão da radiação. O efeito do volume da solução sobre a fôrma também foi importante, sendo que volumes maiores de amostra, i.e., maior caminho óptico, geraram menores desvios padrão. Comparando-se com o método espectrofotométrico, os autores mostram que a análise de imagens digitais pode ser aplicada para a determinação analítica, e, além disso, o uso das imagens digitais possibilitou análises simultâneas de onze soluções.

Lyra *et al.* (2009), propuseram um método usando a norma para vetores de posição em um conceito com o RGB tridimensional envolvendo três aplicações de diferentes matrizes e amostras, uma para determinação de lítio, em uma droga antidepressiva, outra para determinação de sódio em soro fisiológico, e a terceira consiste na análise de água envolvendo a determinação de cálcio. Para tal experimento, utilizou DIB-FES (Espectrometria de emissão em chama baseada em imagens digitais, do inglês *Digital Image Based - Flame Emission Spectrometry*) capturadas por *webcam*, configurada para capturar imagens com 24-bits, com 34 imagens por segundo e resolução espacial de 352 pixels×288 pixels. A esta *webcam*, foi acoplado um tubo de papelão para evitar interferências da luz ambiente com aproximadamente 4,0 cm de diâmetro interno e 13,0 cm de comprimento. Foi utilizada para o experimento uma caixa preta de madeira com aproximadamente 20,0 cm×16,0 cm×11,0 cm. Para as três aplicações o método DIB-FES proposto foi aplicado com sucesso. Quando usada uma *webcam* como detector analítico, a estratégia proposta oferece uma boa alternativa à fotometria tradicional, com algumas

vantagens, como por exemplo, uma maior sensibilidade, devido à natureza da detecção, e característica própria às imagens digitais relacionada à resolução espacial.

Tôrres *et al.* (2011) propuseram uma metodologia baseada em imagens digitais que determina a acidez total em vinhos tintos utilizando titulação ácido-base. O método foi realizado com dez amostras de vinhos tintos e os resultados foram comparados estatisticamente com os valores obtidos por métodos de referência. Foi utilizado um modelo comum CMOS 11090-CL Clone *webcam*, que foi disposta em frente à célula de fluxo (CF), com a finalidade de capturar as imagens digitais. A CF consiste em um tubo de vidro com 45 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno. As amostras foram iluminadas por uma luz de uma lâmpada fluorescente 5W da marca Avante. Esses componentes foram colocados em uma caixa de madeira, medindo 32,0 cm × 54,0 cm × 36,0 cm, coberta com papel branco (para proporcionar uma iluminação uniforme e para redução de brilho) para a captação das imagens. Com o método proposto concluiu-se que foram obtidos resultados mais precisos do que os resultados do método de referência, o que segundo os autores pode ser atribuído à natureza trivariada das medições associadas a imagens digitais.

Lima *et al.* (2013) utilizaram uma técnica de microfabricação baseada em litografia ultravioleta profunda, resina de cura a base de acrilato de uretano e lâminas de vidro, que foi utilizada para desenvolver um analisador DIB- μ FBA (Micro Fluxo de Lotes Automático (do inglês *Micro Flow Automatic Batch*). O DIB- μ FBA usa imagens digitais obtidas a partir de uma *webcam* com um sensor de CCD, baseado no modelo de cor RGB. Esta técnica foi utilizada para determinação de taninos em chá verde usando o conhecido método do tartarato ferroso, com amostras obtidas a partir de seis infusões de chá verde compradas de diferentes fabricantes e lotes. O DIB- μ FBA proposto foi desenvolvido com sucesso para analisar os taninos em chá verde e também pode ser aplicado, no mesmo DIB- μ FBA, para outros tipos de chá, como chá preto e chá branco, onde o tanino pode variar entre 10 e 100 mg/L. Com a utilização de *webcam* é possível implementar tratamentos quimiométricos devido à natureza trivariada da detecção, assim como das características essenciais de resolução espacial nas imagens digitais.

Andrade *et al.* (2013) propuseram um método de análise de fluxo de lotes automático com base em imagens digitais (DIB-FBA) para a determinação de alumínio (III) e crômio (VI), com o uso de uma *webcam* com um sensor CCD e dados RGB. O método utilizado para determinação de alumínio (III) em águas naturais baseia-se na

reação de Al (III), íon, quercetina e brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), que produz um complexo de cor amarela com um máximo de absorção a 428 nm. A determinação de crômio (VI) em água natural é baseada na reação do Cr (VI) com 1,5-difenilcarbazida (DPC). O produto da reação é um complexo de cor violeta com uma absorção máxima de 548 nm. Todas as adições de fluidos e imagens digitais foram conduzidas a partir do software de controle. Quando comparado com outros sistemas automatizados de fluxo do DIB-FBA o experimento foi realizado com sucesso. Este processo tem muitas aplicações possíveis para análise em determinações farmacêuticas, análises de alimentos, análises clínicas de fluidos biológicos etc. Ele também garante significativa redução do desperdício e consumo de ambos os reagentes nas amostras.

Oliveira *et al.* (2013) propuseram um método para determinação de crômio em solos do continente Antártico através de imagens digitais e reagentes de qualidade analítica (grau analítico) e a água ultrapura. As imagens digitais foram obtidas usando uma impressora multifuncional (Deskjet F4180, Hewlett-Packard). Para a realização dos testes, placas de vidro de Petri (de aproximadamente 50 mm de diâmetro) com as soluções foram colocadas diretamente sobre o vidro do *scanner*, e as imagens foram coletadas com 300 pontos por polegada de resolução em escala RGB. Foram utilizadas duas capas, uma branca e uma preta, simultaneamente, a primeira para permitir a reflexão da luz (sendo que as soluções eram translúcidas) e a segunda (acima da primeira) para evitar interferência da iluminação da sala. Esse método possibilita uma inspeção inicial de crômio em solos de locais remotos com um instrumento não muito sofisticado, mostrando-se eficiente, de baixo custo e alta sensibilidade. Assim, detecta locais potencialmente contaminados para que se possa fazer análises mais aprofundadas.

Morais e Lima (2014) desenvolveram um método rápido e barato de análise simultânea de glucose, creatinina, triglicérides, colesterol total e proteínas totais em amostras de sangue. O método foi adaptado a um formato de placa de 64 micropoços, e utiliza um *scanner* de mesa. Além de desenvolver uma interface gráfica para obter curvas de análise e automatizar cálculos estatísticos e melhorar a frequência do método analítico. Para os testes sintéticos foram realizadas oito diluições em água, com base na concentração inicial do composto bioquímico que foi imobilizado. A primeira amostra foi diluída (100%). A segunda, terceira, quarta, quinta, sexta, sétima e oitava amostras tinham 50,0%, 25,0%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56% e 0,781% da concentração inicial, respectivamente. Esta forma de diluição foi aplicada para todas as amostras. Foi utilizado sangue humano, a

partir de quatro voluntários adultos. O sangue foi colocado em tubos de ensaio e centrifugado durante 10 min a 2000 rpm. Logo após, foi colocado o soro e deixado reagir por 10 min a 37°C. Após as reações serem concluídas, foram colocadas na microplaca ELISA para realização de uma varredura. Simultaneamente, essas análises eram relacionadas com o método de referência. Com a obtenção de imagens digitais das microplacas com os modelos sintéticos em formato .BMP (do inglês *Bitmap*), as imagens foram convertidas para o formato .TIFF (do inglês *Tagged Image File Format*), e uma porção elíptica de cada região foi capturada utilizando o software livre GIMP 2.0. Os resultados deste estudo mostraram que a análise de imagem digital poderia ser utilizada como substituto para as medidas espectrofotométricas que se utilizam hoje para ensaios bioquímicos (glicose, creatinina, triglicerídeos, colesterol total e da proteína total) de sangue, com a vantagem de redução na quantidade de reagentes e de resíduos, além da redução significativa de custos, podendo ser utilizado em países não-desenvolvidos, como um método alternativo que não é caro. Além disso, este método tem potencial para ser portátil.

Dominguez e Centurián (2015) propuseram um método de medição de cor do mel da Argentina através de imagens digitais. A análise foi feita com base em dados de cor obtidos pelo método de referência e histogramas de cor, um modelo de calibração multivariada usando mínimos quadrados parciais (PLS) foi construído. Foi utilizada uma *webcam* Philips *Webcam* SPC900NC VGA com sensor CCD para a captura das imagens, que foram processadas para obtenção do histograma de cor correspondente. O tratamento dos dados quimiométricos foi implementado com o software The Unscrambler 9.7 (CAMO S/A), e o software Matlab® 6.5 (The Mathworks). Um graduador de cor do tipo Koehler (New York, USA) foi empregado para determinar a cor, de acordo com os regulamentos argentinos. Segundo os autores, o método proposto, simples e rápido, e de fácil automatização. Também permite uma avaliação objetiva da cor do mel, reduzindo possíveis erros humanos, sendo uma boa alternativa no controle de qualidade das amostras de mel.

Este trabalho propõe, diferentemente dos trabalhos apresentados, desenvolver um sistema de análise colorimétrica genérico, ou seja, o dispositivo adapta-se automaticamente a variação de cor analisada através da escolha do melhor componente de cor obtido pelo modelo RGB. O componente é selecionado através do maior coeficiente de determinação das curvas de calibração obtidas de cada componente.

3.4 Características de águas naturais quanto a concentração de flúor e fósforo

As análises físico-químicas da água buscam identificar e quantificar substâncias associando suas propriedades às questões ambientais, a fim de compreender melhor a alteração do meio ambiente e os processos naturais. Diante das respostas dessas análises pode-se dizer se as substâncias encontradas na água e suas concentrações são nocivas ou não aos ecossistemas e/ou à saúde humana (PARRON *et al.*, 2011).

O flúor, como exemplo, em concentração adequada é um componente essencial para os seres humanos. Além de evitar a cárie dentária na idade adulta, o flúor ingerido em quantidades adequadas é de extrema importância na fase de crescimento das crianças até a adolescência, pois os compostos de fluoretos são distribuídos por todo o corpo e retidos nos ossos, dentes, tecidos moles e fluidos corporais (POHLING, 2009; BASTOS *et al.*, 2006; FUNASA, 2009).

Quando não há um controle da concentração de flúor na água, a ingestão em excesso pode provocar a fluorose dental (AMANTHEA, 2004). Neste contexto, se faz necessário o controle da concentração de flúor nas estações de tratamento de água, em quantidades entre $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ (POHLING, 2009; Bastos *et al.*, 2006; FUNASA, 2009). A Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde, determina que a concentração máxima permitida para íons fluoreto em águas de abastecimento é de $1,5 \text{ mgL}^{-1}$. Contudo, a Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul através da portaria nº 10, de 19 de agosto de 1999, com base em estudos específicos, definiu em $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ a concentração ideal para íons fluoreto em águas de consumo humano no estado do Rio Grande do Sul, devido a sua ação na inibição da cárie dental, e teores entre $0,6$ e $0,9 \text{ mg L}^{-1}$ como limites mínimos e máximos, respectivamente.

O fósforo é considerado essencial para o crescimento dos organismos, e é o nutriente responsável por limitar a produtividade primária dos organismos aquáticos. Em concentrações elevadas provocam a proliferação excessiva de algas (eutrofização), causando a desestabilização do ecossistema, e também grandes alterações nas condições físico-químicas da água e na comunidade de organismos aquáticos (APHA, 2005).

Conforme descrito em WETZEL (1993), a concentração de fósforo em águas naturais pode ser utilizada para definir o estado trófico de um ambiente aquático, uma medida do potencial de eutrofização. Segundo a Resolução nº 357 do CONAMA

(Conselho Nacional do Meio Ambiente) de 17 de março 2005, a concentração máxima de fósforo em águas naturais varia em função das características do recurso hídrico. A Tabela 1 observam-se os valores limites estabelecidos pela Resolução nº 357/2005 do CONAMA para a classificação das águas doces.

Tabela 1 – Limites estabelecidos pela resolução nº 357/2005 do CONAMA para concentração de fósforo

Parâmetros	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Fosfato total, mg L ⁻¹ P (ambiente lêntico)	0,02	0,03	0,05	> 0,05
Fosfato total, mg L ⁻¹ P (ambiente intermediário)	0,025	0,05	0,075	> 0,075
Fosfato total, mg L ⁻¹ P (ambiente lótico)	0,1	0,1	0,15	> 0,15

Fonte: CONAMA, 2005

Em águas de abastecimento, conforme a Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde, e em águas subterrâneas conforme a Resolução nº 396 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) de 07 de abril 2008, não são estabelecidos limites máximos para fósforo.

Dentre os métodos de análise quantitativa de substâncias que compõem as águas naturais, destacam-se os métodos colorimétricos que utilizam reagentes seletivos, que produzem cor à solução da amostra, em função da presença e concentração de um determinado analito.

Os métodos colorimétricos para determinação da concentração de fósforo e flúor em águas naturais foram utilizados para testar o desempenho sistema desenvolvido neste trabalho, pois são métodos utilizados rotineiramente em laboratórios de análises químicas. Após essas análises foram calculados os mesmos parâmetros apresentados nas análises com corantes, além da comparação dos resultados das análises entre o método proposto e o método de referência.

4 METODOLOGIA

A pesquisa buscou desenvolver um sistema de análise colorimétrica por imagens digitais que permita analisar concentrações flúor e fósforo em água para consumo humano, podendo este sistema ser utilizado como alternativa ao espectrofotômetro que atua na região de espectro visível. Desta forma, conforme Santos (2000), quanto aos seus objetivos trata-se de uma pesquisa acadêmica e descritiva, e quanto à coleta de dados e à fonte de informação utilizada, este estudo é de caráter experimental e laboratorial.

O projeto foi desenvolvido nos laboratórios do Curso de Química da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, e para atingir os objetivos específicos deste trabalho o presente projeto é dividido em cinco etapas (Figura 8).

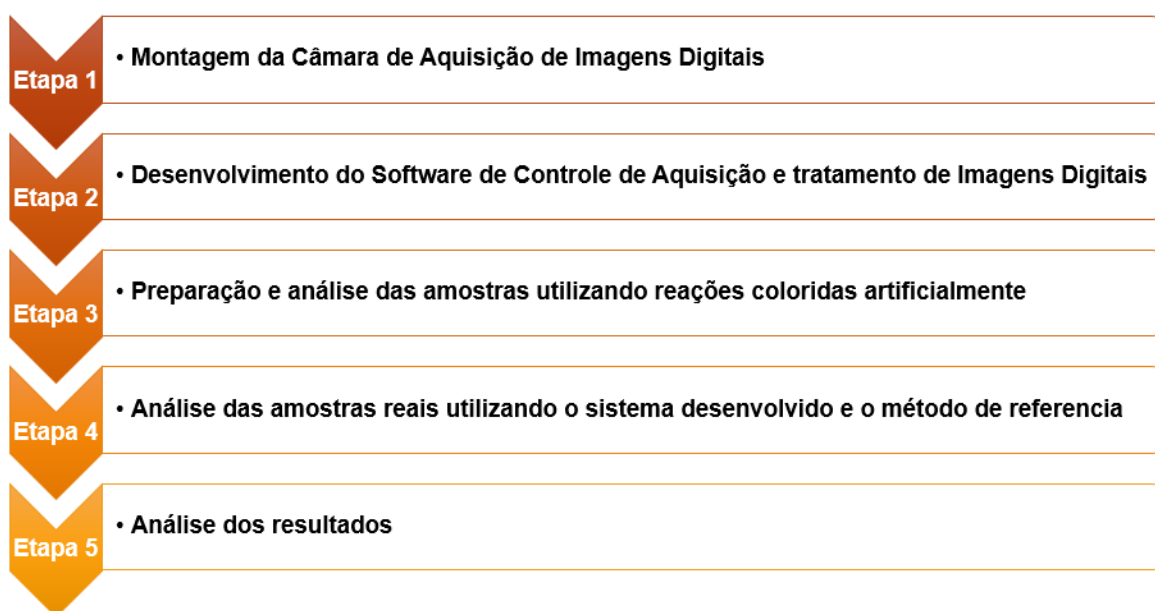


Figura 8. Fluxograma executivo do projeto de pesquisa. Fonte: O Autor, 2015.

A primeira etapa compreendeu a montagem da câmara de aquisição de imagens de forma a promover uma uniformidade do ambiente de captura das imagens das amostras pela câmera digital. Posteriormente, foi desenvolvido o software para aquisição e tratamento das imagens digitais. Na terceira etapa, o sistema de foi testado com amostras artificiais, coloridas com corantes alimentícios, para averiguar a eficiência do sistema. Posteriormente, o sistema foi testado na determinação de flúor e fósforo em amostras de águas naturais, e por fim, a última etapa compreendeu a compilação de dados e análise das figuras de mérito do sistema proposto.

4.1 Câmara de aquisição de imagens e software de controle aquisição e tratamento de imagens

A câmara de aquisição de imagens digitais foi projetada com dimensões aproximadas de 100 x 62 x 52 mm, uma *webcam* USB (do inglês *Universal Serial Bus*), suporte para cubeta de 10 mm de caminho óptico, e fonte de iluminação.

Além de abrigar todos os componentes da câmara de aquisição de imagens, suas dimensões reduzidas tornam a câmara portátil, facilitando a sua utilização em análises de campo, conforme apresentado na Figura 9.

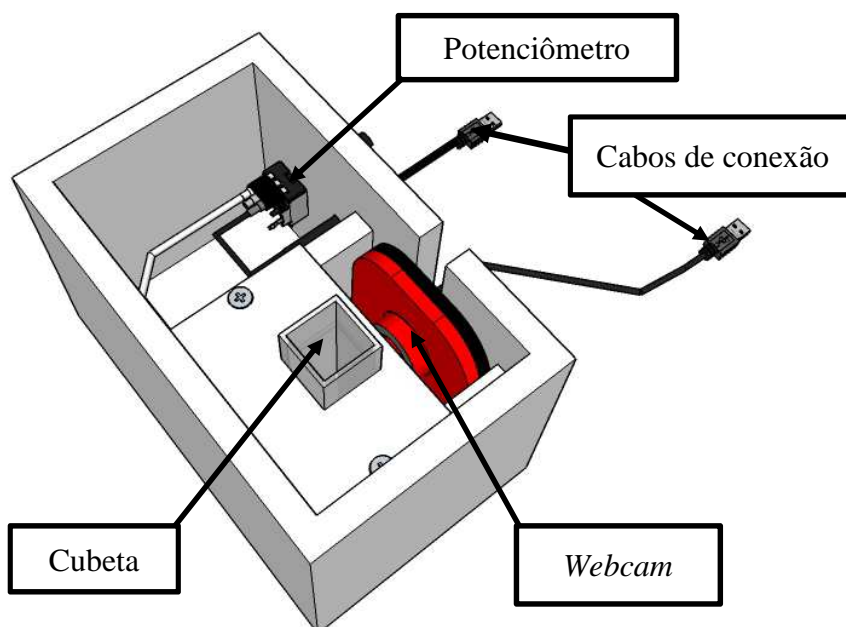


Figura 9. Vista superior do projeto da câmara de captura de imagens. Fonte: O Autor, 2015.

O projeto de construção da câmara de captura de imagens foi proposto de forma que o suporte da cubeta estivesse posicionado entre a *webcam* e a fonte de iluminação, formando um caminho óptico (Figura 10), onde a luz emitida pela fonte de iluminação incide na cubeta contendo a amostra, permitindo que apenas os espectros de cor não absorvidos pela reação sejam capturados pela *webcam* (TÓRRES *et al*, 2011; LYRA *et al*, 2009).

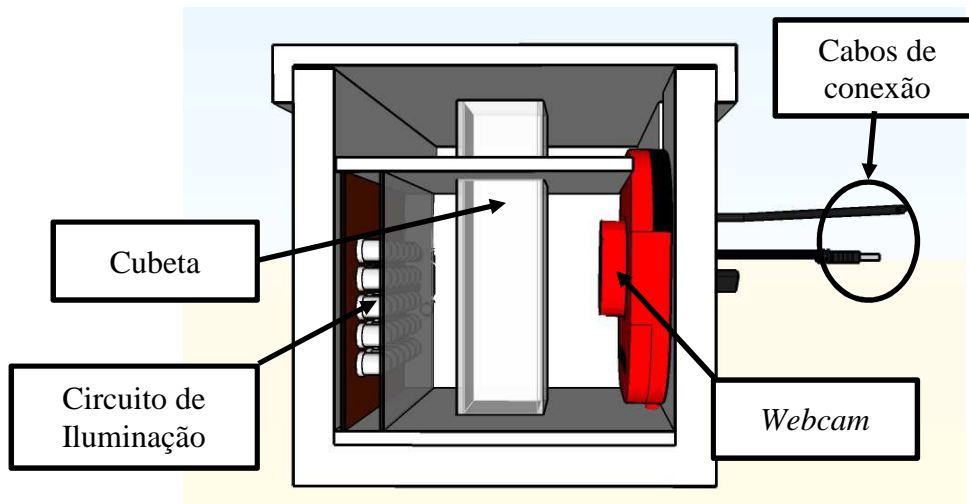


Figura 10. Vista lateral, corte, do projeto da câmara de captura de imagens, identificando o posicionamento da *webcam*, cubeta e fonte de iluminação. Fonte: O Autor, 2015.

O circuito de iluminação da câmara foi proposto para iluminar a amostra de forma constante, sendo alimentado pela USB do computador ou notebook, onde for ligado, e conter Leds (do inglês *Light emitter diode*) e um potenciômetro de $1k\Omega$ ajustado em 5Ω , conforme circuito da Figura 11.

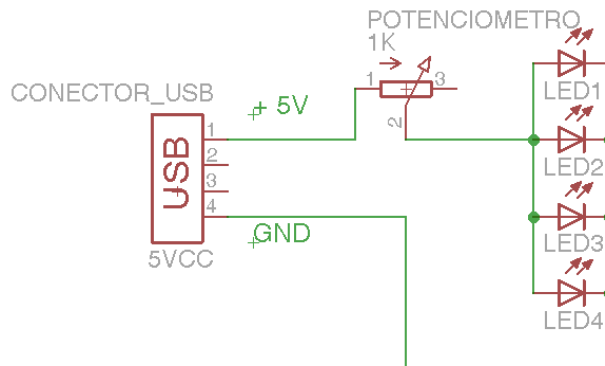


Figura 11. Projeto elétrico do circuito de iluminação interna. Fonte: O Autor, 2015.

4.2 Software de controle de aquisição e tratamento de imagens digitais

O software para controle de aquisição e tratamento de imagens digitais foi desenvolvido em ambiente MATLAB®2009a (MathWorks), e organizado de forma a apresentar uma interface gráfica de fácil utilização, com área de calibração e análise contendo botões, caixas de texto para apresentação de resultados e caixas de texto para

colocação de parâmetros necessários para as análises. O software utiliza um arquivo em Excel, afim de armazenar os dados de calibração e os resultados das análises.

O método escolhido para determinar a melhor componente de cor, oriunda do modelo RGB, que representa a análise colorimétrica efetuada foi o cálculo do coeficiente de determinação da reta de calibração (R^2).

O fluxograma da Figura 12 mostra a proposta de funcionamento do software integrada ao arquivo calibração.xlsx para escrever e ler dados.

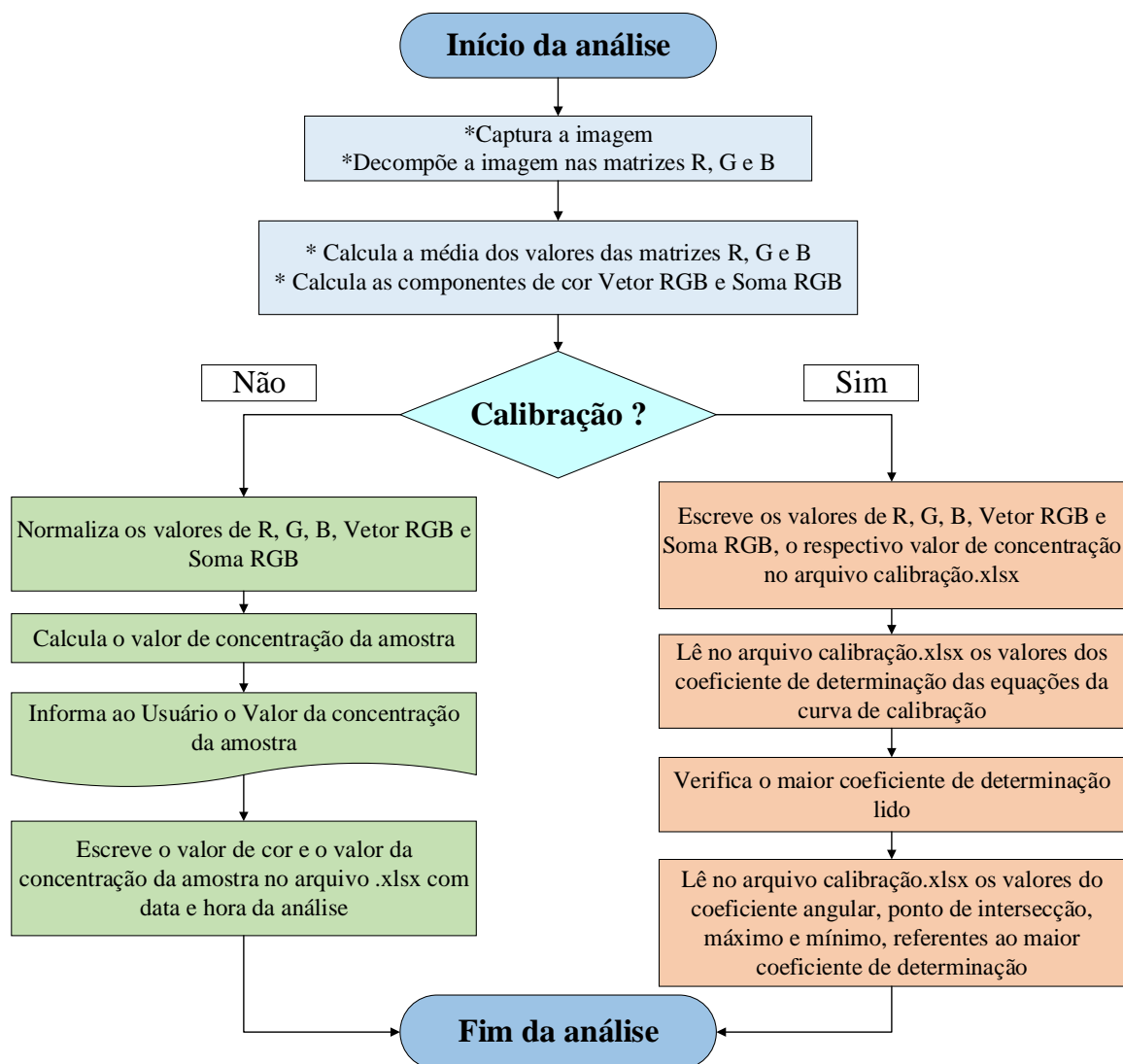


Figura 12. Fluxograma de funcionamento do programa de aquisição e tratamento de imagem. Fonte: O Autor, 2015.

4.3 Avaliação do sistema de análise colorimétrica com amostras artificiais

O protótipo do sistema de análise colorimétrica foi testado primeiramente com amostras artificiais de corantes com o intuito de identificar as melhores configurações do sistema e determinar características do sistema, tais como limite de detecção, limite de quantificação, coeficiente de correlação de Person, coeficiente de determinação, coeficiente angular (sensibilidade), ponto de intersecção, raiz quadrada do erro médio de calibração e raiz quadrada do erro médio de validação cruzada.

As amostras artificiais, foram produzidas a partir de corantes alimentícios nas cores azul, verde, vermelho e amarelo diluídos em água, que diluídos em água desionizada produziram soluções de concentração entre 0,01 e 0,05% (Figura 13).

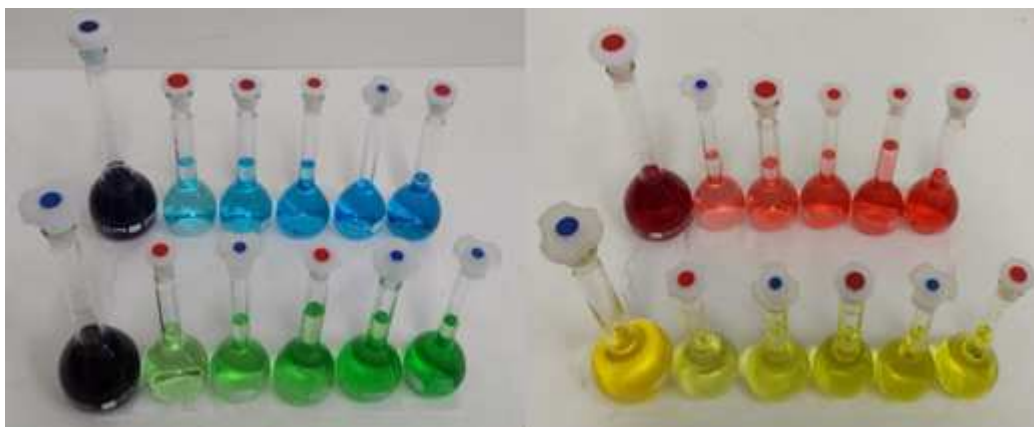


Figura 13. Imagem das quatro corantes utilizados para confecção das amostras artificiais, diluídas entre 0,01% e 0,05%. Fonte: O Autor, 2015.

4.3.1 Avaliação do sistema em análises colorimétricas de águas naturais

A determinação da concentração de fósforo e flúor em águas naturais foi utilizada para avaliar o desempenho do sistema desenvolvido, afim de aplicar com análises colorimétricas reais. Os métodos de preparação das amostras foram realizados conforme APHA (2005) e FUNASA (2009).

4.3.1.1 Determinação da concentração de fluoretos

Dentre os métodos de análise da concentração de flúor em águas descritos pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, os mais usados são os

métodos de Spadns, o Scott-Sanchis e o método do eletrodo específico para íons de fluoretos (APHA, 2005, FUNASA, 2009).

Neste estudo, foi utilizado o método de Spadns para analisar as amostras de água com o sistema desenvolvido, pela simplicidade da técnica e custos reduzidos (MOTTER *et al.*, 2011).

No método de Spadns, diferente da maioria dos métodos analíticos por espectrofotometria, o aumento da concentração de íons fluoreto provoca uma redução na intensidade de cor vermelha da solução contendo $ZnOCl_2$ (reagente de SPADNS), provocada pela formação de um ânion complexo incolor de ZrF_6^{-2} . Desta forma, produzindo curva de calibração onde a absorbância é inversamente proporcional a concentração de íons de fluoreto nas amostras.

Para determinação de íons de fluoreto, foi adotada a metodologia descrita em APHA (2005), adaptada aos objetivos deste estudo. Primeiramente, a curva de calibração foi preparada, em balões de 50 mL, utilizando concentrações de íons fluoreto entre 0,5 – 1,4 mgL^{-1} além do branco com água desionizada livre de flúor.

A solução de Spadns foi preparada em três etapas. Inicialmente foi preparada a solução de Spadns, dissolvendo 958 mg 2 - parasulfonilazo - 1,8 dihidróxi 3,6 - naftaleno dissulfonato de sódio, em 500 mL de água desionizada. Posteriormente foi preparado o reagente ácido de zirconila, pela dissolução de 133 mg de cloreto de zircônio octahidratado ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$) em cerca de 25 mL de água destilada, seguido da adição de 350 mL de HCl concentrado, e ajuste do volume final para 500 mL. Por fim, as duas soluções foram misturadas, constituindo a solução de Spadns utilizada nas determinações de íons fluoreto.

Para o tratamento das amostras adicionou-se 1 mL do reagente de Spadns em 5 mL de cada amostra, em copos de polietileno de 50 mL, e a aquisição das imagens e análise das amostras ocorreu 30 min após a adição do reagente de Spadns. Como procedimento de referência foi utilizado um espectrofotômetro FEMTO (modelo 600 Plus), ajustado em 580 nm.

4.3.1.2 Determinação da concentração de fósforo

Para a determinação de fósforo foi adotada o método do azul de molibdênio, descrito pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005) e adaptada aos objetivos deste estudo. Primeiramente, a curva de calibração foi

preparada em balões de 50 ml, utilizando concentrações de fósforo entre 0,1 – 2,5 mgL⁻¹, além do branco com água desionizada livre de fósforo.

Com as amostras de referência prontas, adicionou-se 2 mL do reagente combinado em 12,5 mL das amostras de referência em copos de polietileno de 50 mL.

O reagente combinado foi preparado a partir da mistura de quatro reagentes: ácido sulfúrico 5N (50%), tartarato de antimônio e potássio (5%), molibdato de amônio (15%) e ácido ascórbico (30%).

O ácido forte foi preparado pela dissolução de 150 mL de H₂SO₄ concentrado em 300 mL de água deionizada, seguido da adição de 2 mL de HNO₃ concentrado; após completa homogeneização a solução foi transferida para balão volumétrico de 500 mL e avolumada com água desionizada. A solução de ácido sulfúrico 5 N (aproximadamente) foi preparada pela dissolução de 70 mL de H₂SO₄ concentrado 500 mL de água desionizada. Já a solução de molibdato de amônio foi preparada pela dissolução de 20 g de (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O, com água desionizada, em balão volumétrico de 500 mL. O tartarato de antimônio e potássio foi preparado pela dissolução de 1,3715 g de K(SbO)C₄H₄O₆.1/2 H₂O com água desionizada, em balão volumétrico de 500 mL. Por fim, a solução de ácido ascórbico foi preparada pela dissolução de 1,76 g de ácido ascórbico com água desionizada, em balão volumétrico de 100 mL.

A determinação da concentração de fósforo em água foi realizada utilizando o protótipo de sistema desenvolvido neste trabalho e um espectrofotômetro FEMTO (modelo 600 Plus), ajustado em 880 nm.

4.4 Avaliação do sistema de análise colorimétrica por imagens digitais

O protótipo do sistema de análise colorimétrica desenvolvido foi testado primeiramente com amostras artificiais de corantes, simulando diferentes cores no intuito de verificar os valores obtidos de desvio padrão, limite de detecção, limite de quantificação, coeficiente de correlação de Pearson, coeficiente de determinação, coeficiente angular (sensibilidade), ponto de intersecção, raiz quadrada do erro médio de calibração e raiz quadrada do erro médio de validação cruzada.

O desvio padrão foi calculado conforme a equação 9 e mostra a variabilidade das amostras em torno da média, ou seja, quanto mais o valor das amostras se afasta da média entre elas, maior será o desvio padrão.

$$\text{Desvio Padrão} = \sqrt{\frac{\sum_{x=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}} \quad (9)$$

O limite de detecção foi determinado conforme descrito em INMETRO (2010), correspondendo a concentração média de 10 amostras do branco mais três vezes o desvio-padrão (equação 10), expressando o menor valor de concentração de um analito, que pode ser detectado pelo sistema de análise, diferente do branco. Já o limite de quantificação, definido como a menor quantidade do analito que pode ser determinada quantitativamente, correspondeu concentração média de 10 amostras do branco mais 10 vezes o desvio-padrão (equação 11).

$$LD = \bar{x} + 3s \quad (10)$$

$$LQ = \bar{x} + 10s \quad (11)$$

Os coeficientes de correlação de Pearson (R), de determinação (R^2) e angular (a) foram definidos, respectivamente, através das equações 12, 13 e 14.

$$R = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{(\sum(x_i - \bar{x})^2)(\sum(y_i - \bar{y})^2)}} \quad (12)$$

$$R^2 = \frac{n \cdot \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{[n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2][n \cdot \sum y^2 - (\sum y)^2]}} \quad (13)$$

$$a = \frac{n \cdot \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad (14)$$

Já os valores do ponto de intersecção (b), raiz quadrada do erro médio de calibração (RMSEC - do inglês, *Root Mean Square Error of Cross Calibration*) e raiz quadrada do erro médio de validação cruzada (RMSECV - do inglês, *Root Mean Square Error of Cross Validation*) foram calculados, respectivamente, utilizando as equações 15, 16 e 17.

$$b = \bar{Y} - a * \bar{X} \quad (15)$$

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{nc}} \quad (16)$$

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{nv}} \quad (17)$$

Para os calculos de RMSEC e RMSECV os valores de n_c e n_v foram, respectivamente, o número de amostras utiizadas na calibração e o número de amostras utilizadas na validação, enquanto os valor de y_i é o calculado após a calibração e \hat{y}_i o valor verdadeiro de concentração da amostra.

Para a comparação dos resultados obtidos entre a metodologia proposta e a de referência foi aplicado o test t de *Student* pareado, com nível de confiança de 95%, utilizando o software GraphPad InStat ® versão 3.00.

5 RESULTADOS

5.1 Câmara de aquisição de imagens digitais

A câmara de aquisição de imagens digitais (Figura 14) foi construída em MDF (do inglês *Medium-Density Fiberboard*) e pintada de branco fosco, para proporcionar iluminação uniforme e evitar o efeito de reflexão especular, e totalmente fechada, para minimizar a interferência da luz ambiente (TÔRRES *et al.*, 2011; LYRA *et al.*, 2009; ANDRADE *et al.*, 2013).

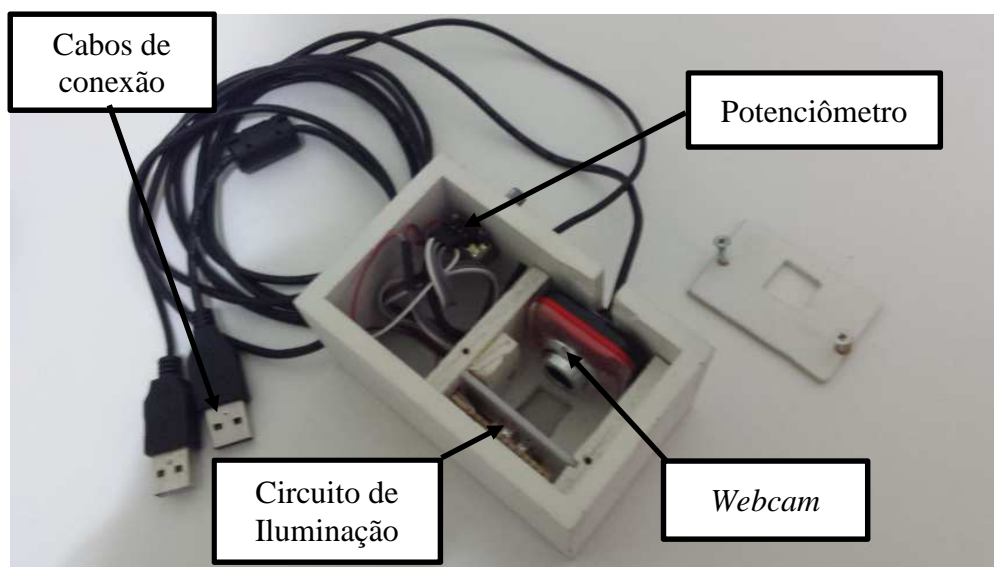


Figura 14. Câmara de captura de imagens construída em MDF. Fonte: O Autor, 2015.

A câmera utilizada foi a *webcam* de marca FORTREK, modelo C159, com resolução máxima real de 1280x960 (1.3MP) e sensor de imagem de tipo CMOS VGA. A *webcam* foi conectada ao notebook via USB e configurada para capturar imagens de 24-bits (aproximadamente 16,7 milhões de cores) e de resolução espacial de 45 x 45 pixels. Após a captura, as imagens foram armazenadas em um arquivo de extensão “jpg”.

O suporte da cubeta foi posicionado entre a *webcam* e a fonte de iluminação (Figura 15), desta forma a luz emitida pela fonte de iluminação incide na cubeta contendo a reação colorimétrica permitindo que apenas os espectros de cor não absorvidos pela reação sejam capturados pela *webcam*, formando assim um caminho óptico.

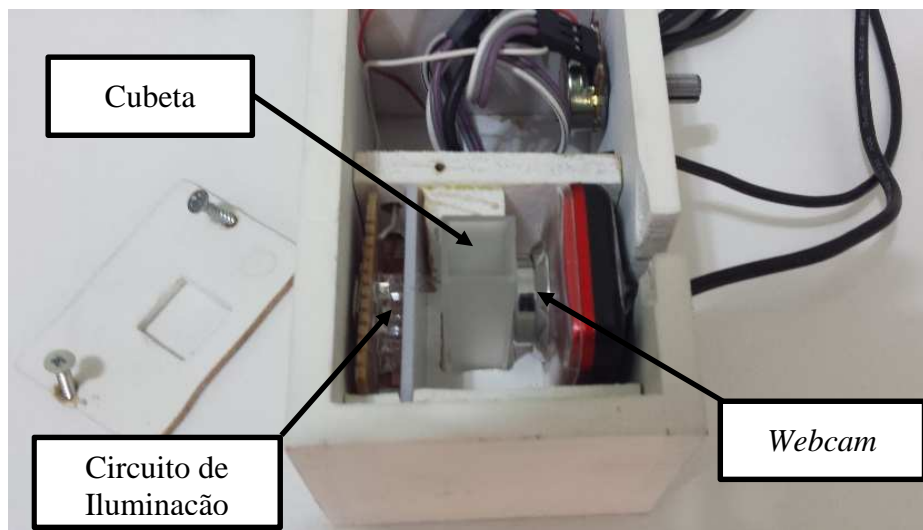


Figura 15. Posicionamento da *webcam* da cubeta e da fonte de iluminação na câmara de captura de imagens. Fonte: O Autor, 2015.

A fonte de iluminação é composta por 30 Leds brancos de alta intensidade ligados em paralelo e posicionados na parte oposta da *webcam* e, no intuito de uniformizar a incidência da luz sobre a amostra contida na cubeta, foi utilizado um acrílico branco difuso entre os Leds e o suporte da cubeta. A iluminação interna da câmara de aquisição utilizando Leds contribuiu para a miniaturização do aparato, pois em outros trabalhos desenvolvidos utilizando imagens digitais, como o de Tôrres *et al.* (2011), a iluminação era efetuada por lâmpadas fluorescentes compactas.

5.2 Software de controle de aquisição e tratamento de imagens digitais

O software de controle de aquisição e tratamento de imagens do sistema de análise colorimétrica por imagens digitais foi escrito, buscando atender as necessidades descritas no capítulo 4, em ambiente MATLAB® 2009a da MathWorks e dividido em três principais áreas: a área reservada para ligar a *webcam*, a área de calibração onde são analisadas amostras com concentrações conhecidas e a área de análise que apresenta a concentração da amostra analisada.

A área do software reservada para ligar a *webcam* foi criada para ativar a câmera mantendo a imagem da amostra visível para o usuário. A imagem foi alinhada no centro da amostra e no centro de um dos Leds de iluminação para promover uma imagem uniforme.

Já, a programação da área de calibração foi desenvolvida com o propósito de gerar a curva de calibração do sistema com seis valores de concentração, definidos pelo usuário. Sendo que o primeiro ponto da curva é o ponto zero e seu valor de cor é obtido através do tratamento da imagem do Branco.

O software permite controlar a *webcam* que captura as imagens e efetuar o tratamento das imagens capturadas retornando para a interface gráfica o valor da concentração do composto analisado na amostra. Além dessas características, o software adapta-se automaticamente à análise colorimétrica pretendida, ou seja, podem ser utilizados diversos tipos de variações de cor (Figura 16).

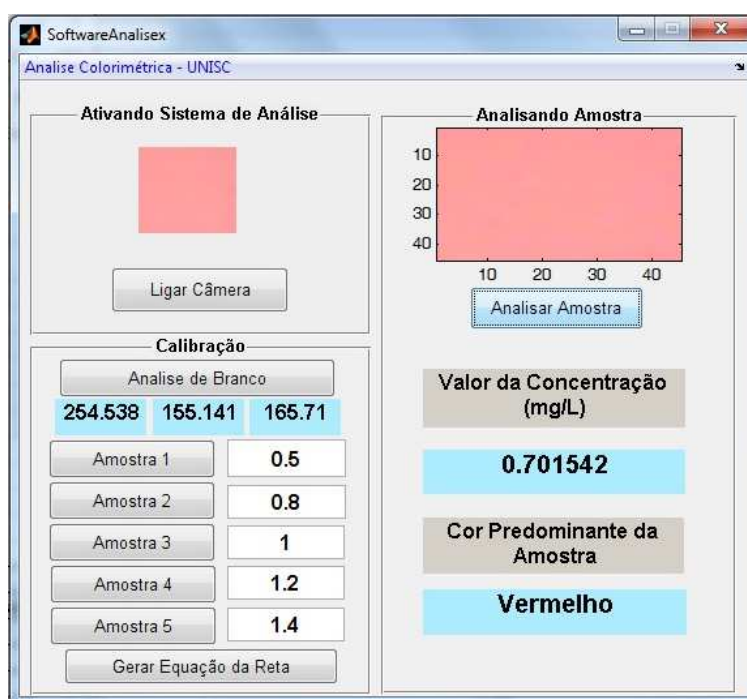


Figura 16. Imagem da interface gráfica do software de controle de aquisição e tratamento de imagens digitais. Fonte: O Autor, 2015.

A primeira área desenvolvida foi a área responsável por ligar a *webcam* e apresentar a imagem na tela. No código de programação (Anexo A), nesta área foi definida a dimensão da imagem, a posição da imagem e o modelo de cor. Esta área do software permite detectar automaticamente a *webcam* secundária do notebook utilizado e apresenta um botão (Ligar Câmera) para acionamento da mesma antes de efetuar as análises, independentemente do software de operação da *webcam* disponibilizado pelo fabricante.

Após acionar no botão “Ligar Câmera”, a imagem da amostra a ser analisada aparece logo acima do botão, conforme Figura 17.



Figura 17. Imagem da interface gráfica do software de análise - Área de acionamento da *webcam*.

Fonte: O Autor, 2015.

A Figura 18 mostra a sequência de funcionamento das áreas de calibração e análise, onde verifica-se que as duas áreas iniciam com a captura da imagem, que corresponde a um *frame*, decompõe esta imagem em três matrizes numéricas (R, G e B) de 45x45 pixels e, por fim, realiza o pré-processamento das médias das matrizes que são pré-processadas. Após esses três passos cada área do software continua seu fluxo específico.

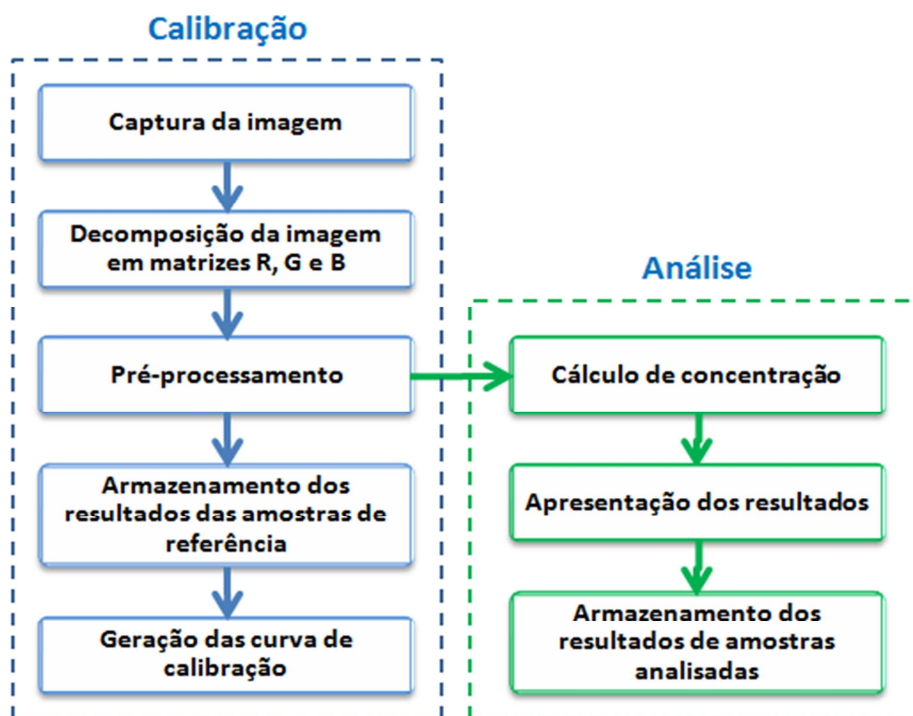


Figura 18. Fluxograma de funcionamento do software de captura e tratamento de imagens digitais – Área de calibração e análise. Fonte: O Autor, 2015.

No pré-processamento de dados, tanto na área de calibração, quanto na área de análise da amostra, são calculados os valores de R, G, B, Vetor (RGB) e Soma (RGB) a partir das três matrizes (R, G e B) obtidas através da decomposição da imagem capturada. Os valores de R, G, B e Soma (RGB) foram obtidos, respectivamente, através da média dos valores das matrizes R, G e B, e pela soma dos valores R, G e B (Equação 19).

Já o valor do Vetor (RGB) foi calculado utilizando a equação 18, que se refere ao vetor resultante dos valores R, G e B (Lyra *et al.*, 2009).

$$V_{(RGB)} = \sqrt[2]{R^2 + G^2 + B^2} \quad (18)$$

$$Soma_{(RGB)} = R + G + B \quad (19)$$

Com o pré-processamento realizado, o software segue seu fluxo de funcionamento dependendo da área que está sendo acionada.

Na área de calibração disponível na interface do software estão disponíveis botões para calibração do sistema, com até cinco amostras de referência, além da amostra de branco, e posterior geração da equação da reta (Figura 19). Além dos botões existem cinco caixas de texto de entrada de dados, ao lado de cada botão, para definir as concentrações de cada um dos cinco pontos da curva, necessários para gerar a equação da reta. O código de programação desta área pode ser visto no Anexo B.

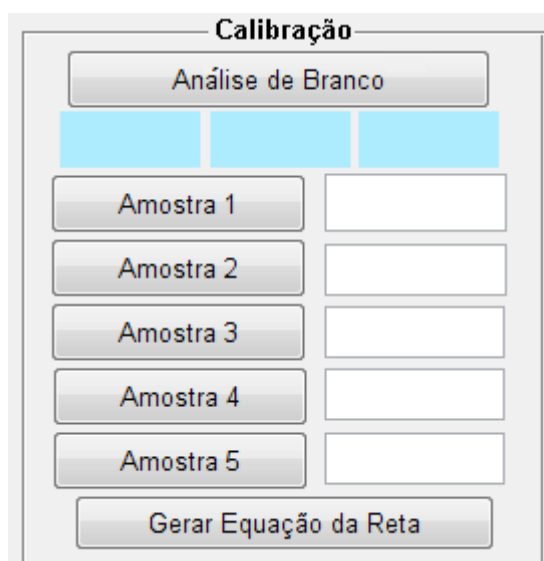


Figura 19. Imagem da interface gráfica do software de análise - Área de calibração. Fonte: O Autor, 2015.

Ao acionar o botão “Análise de Branco” o programa inicia seu funcionamento conforme descrito anteriormente chegando até o pré-processamento onde são calculados os valores de cada componente de cor e estes são armazenados no arquivo “calibração.xlsx” para serem utilizados na calibração do sistema como concentração zero. Além de armazenar os valores de branco, estes são mostrados na tela para o usuário, a fim de possibilitar os cálculos dos limites de detecção e quantificação do sistema.

Com a cubeta posicionada na câmara de análise e o valor da concentração digitada na caixa de texto, aciona-se o botão com o ponto da curva de calibração pretendido, de um a cinco. Após o botão ser clicado, tem seu processo inicial realizado calculando os valores de cada componente de cor que são armazenados junto com o valor de concentração digitado pelo usuário no mesmo arquivo, onde foi armazenado o valor de branco.

O arquivo citado, contém todos os dados para calibração do sistema (Figura 20). Neste arquivo estão definidas equações que normalizam os dados, após a captura de imagens de calibração, e retorna ao programa o maior coeficiente de determinação (R^2) e posteriormente o coeficiente angular (a), ponto de intersecção (b) e valores de máximo e mínimo referente a reta com maior coeficiente de determinação. Estes valores são lidos do arquivo quando o botão “Gerar Equação” é acionado.

A normalização dos dados é obtida segundo o método de máximos e mínimos (GONZÁLEZ *et al.*, 2014) e inicia com o calculo da inversa de cada um dos valores de cor de cada ponto da curva. Com o conjunto de valores invertidos ($1/x$) define-se o valor máximo e mínimo do conjunto para que estes sejam utilizados na equação 20 que define cada ponto da curva de 0 até 1. Após normalizados, todos os valores estarão entre 0 e 1.

$$valor\ normalizado = (valor - min)/(max - min) \quad (20)$$

Valores de cor salvos															
	mediaR	mediaG	mediaB	Vetor (RGB)	Soma (RGB)	Concentração	Media R	Media G	Media B	Vetor (RGB)	Soma (RGB)				
Branco	254,845432	154,839012	223,701235	372,778160	575,388642	0,000000	0,003924	0,000000	0,006458	1,000000	0,004470	0,000000	0,002683	0,000000	0,001738
Amostra1	254,564938	157,429136	159,175309	339,004453	571,169383	0,500000	0,003928	0,605109	0,006352	0,661108	0,006282	0,874442	0,002950	0,974287	0,001751
Amostra2	254,420247	159,878519	158,924938	339,923431	573,223704	0,800000	0,003931	0,917773	0,006255	0,350732	0,006292	0,879218	0,002942	0,945215	0,001745
Amostra3	254,434074	161,003457	154,119506	338,247887	569,557037	1,000000	0,003930	0,887879	0,006211	0,211349	0,006488	0,973891	0,002956	0,998340	0,001756
Amostra4	254,382222	162,186667	152,844938	338,195809	569,413827	1,200000	0,003931	1,000000	0,006166	0,066833	0,006543	1,000000	0,002957	1,000000	0,001756
Amostra5	254,528889	162,739753	155,856790	339,941938	573,125432	1,400000	0,003929	0,682975	0,006145	0,000000	0,006416	0,938990	0,002942	0,944631	0,001745
Somatório	1527,175802	958,076543	1004,622716	2068,091678	3431,878025	4,900000	0,003931	4,093736	0,006458	2,290023	0,006543	4,666542	0,002957	4,862473	0,001756
Média	254,529300	159,679424	167,437119	344,681946	571,979671	0,816667	0,003924	0,682289	0,006145	0,381670	0,004470	0,777757	0,002683	0,810412	0,001738
Normalização dos valores															
	(Xi - Xm)	(Xi - Xm) ²	(Xi - Xm)*Yi	(Xi - Xm)	(Xi - Xm) ²	(Xi - Xm)*Yi	(Xi - Xm)	(Xi - Xm) ²	(Xi - Xm)*Yi	(Xi - Xm)	(Xi - Xm) ²	(Xi - Xm)*Yi	(Xi - Xm)	(Xi - Xm) ²	(Xi - Xm)*Yi
Branco	-0,816667	0,666944	0,000000	-0,816667	0,666944	-0,816667	0,666944	0,000000	-0,816667	0,666944	0,000000	-0,816667	0,666944	0,000000	-0,816667
Amostra1	-0,316667	0,100278	-0,191618	-0,316667	0,100278	-0,209351	-0,316667	0,100278	-0,276907	-0,316667	0,100278	-0,308524	-0,316667	0,100278	-0,222934
Amostra2	-0,166667	0,000278	-0,015296	-0,166667	0,000278	-0,005846	-0,166667	0,000278	-0,014654	-0,166667	0,000278	-0,015754	-0,166667	0,000278	-0,005999
Amostra3	0,183333	0,033611	0,162778	0,183333	0,033611	0,038747	0,183333	0,033611	0,178547	0,183333	0,033611	0,183029	0,183333	0,033611	0,178894
Amostra4	0,383333	0,146944	0,383333	0,383333	0,146944	0,025619	0,383333	0,146944	0,383333	0,383333	0,146944	0,383333	0,383333	0,146944	0,383333
Amostra5	0,583333	0,340278	0,398402	0,583333	0,340278	0,000000	0,583333	0,340278	0,547744	0,583333	0,340278	0,551035	0,583333	0,340278	0,219311
Somatório	1,288333	0,737599	1,288333	1,288333	0,967496	1,288333	1,288333	0,818064	1,288333	0,793119	1,288333	0,793119	1,288333	0,552825	
Valores	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	
Nome	Valor R ²														
rR	0,630158		Inversa	1/x											
rG	0,988275		Normaliza	(x-min)/(max-min)											
rB	0,703480														
rVetor	0,617211														
rSoma	0,306464														

Figura 20. Imagem do arquivo calibracao.xlsx com valores de cor e normalização dos valores. Fonte: O Autor, 2015.

Ainda durante a etapa que gera a equação da curva de calibração, são criadas cinco curvas diferentes, mas apenas a equação com maior coeficiente de determinação (R^2) é utilizada para os cálculos da concentração do analito, pois este coeficiente determina o quanto que a equação da reta da amostragem se ajusta aos dados, e com isso, apenas o componente de cor que melhor expressa a cor em análise é utilizado para o cálculo da concentração.

Já a área do software referente à análise da amostra conta com uma interface gráfica composta por um botão denominado “Analisar Amostra”, uma caixa de texto que mostra ao usuário o valor da concentração final da análise da imagem em mgL^{-1} e outra caixa de texto com a cor predominante da amostra, ou seja, vermelho, verde ou azul (Figura 21). A programação desta área permite que, ao acionar o botão “Analisar Amostra”, inicia-se a análise conforme mostrado na Figura 18 gerando dados que são normalizados e utilizados para o cálculo da concentração segundo a equação da reta de calibração formada pelo coeficiente angular (a) e o ponto de intersecção (b).

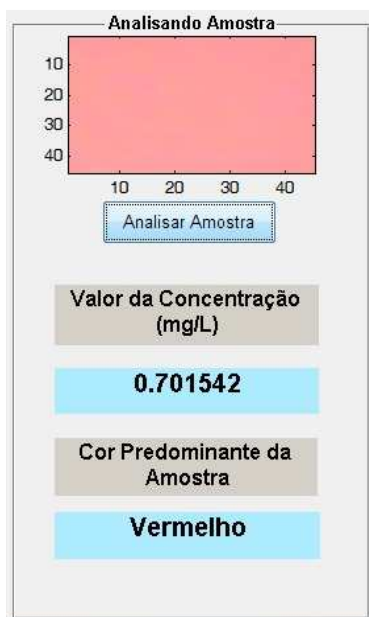


Figura 21. Imagem da interface gráfica do software – Área de análise das amostras. Fonte: O Autor, 2015.

Após a análise ser concluída os dados obtidos são armazenados em arquivo com extensão “.xlsx” com a data e o horário da análise, diferente do arquivo “calibração.xlsx”, permitindo uma visualização futura e a criação de um banco de dados.

5.3 Análise das amostras artificiais de corantes

Com o sistema de análise colorimétrica desenvolvido, iniciou-se a comprovação do método proposto utilizando amostras de corantes de quatro cores diferentes, vermelho, azul, verde e amarelo, conforme procedimento descrito no item 4.3. Todas as análises de corante foram realizadas em triplicata, obtendo-se valores médios normalizados de cada componente de cor gerado a partir do modelo RGB. Os resultados de branco foram obtidos a partir de 10 replicatas.

A Tabela 2 apresenta a média dos valores de cor obtidos na análise da amostra artificial de corante verde, azul, amarelo e vermelho utilizando os diferentes componentes de cor: R, G e B, bem como o Vetor RGB e a Soma RGB.

Tabela 2 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB em função da concentração das amostras artificialmente coloridas: a) corante verde, b) corante azul, c) corante amarelo e d) corante vermelho

	Conc., %	Comp. R Média*	Comp. G Média*	Comp. B Média*	Comp. Vetor (RGB) Média*	Comp. Soma (RGB) Média*
a	0,00	224,5553	245,4436	254,5970	418,9120	724,5959
	0,01	205,8672	251,8839	254,1630	412,8264	711,9141
	0,02	195,2542	250,6327	254,0875	406,8186	699,9744
	0,03	183,2298	248,6218	253,7206	399,7000	685,5722
	0,04	174,9723	246,9693	254,0223	395,1411	675,9639
	0,05	157,4183	243,7610	235,9864	374,0181	637,1657
b	0,00	224,5553	245,4436	254,5970	418,9120	724,5959
	0,01	198,4965	252,7774	254,0603	409,6876	705,3342
	0,02	178,7795	251,5433	253,9006	399,6269	684,2234
	0,03	164,6063	249,1406	253,8406	391,9201	667,5876
	0,04	150,3537	244,8976	253,9350	383,4893	649,1863
	0,05	128,9247	240,5142	254,0925	372,8695	623,5314
c	0,00	224,5553	245,4436	254,5970	418,9120	724,5959
	0,01	212,1662	253,3288	254,2076	416,9070	719,7026
	0,02	206,6318	252,8779	254,3320	413,9187	713,8417
	0,03	203,1270	251,9561	237,9306	401,6882	693,0137
	0,04	199,1548	250,9862	219,0221	388,1075	669,1631
	0,05	184,0881	250,5382	197,1310	368,1284	631,7574
d	0,00	224,5553	245,4436	254,5970	418,9120	724,5959
	0,01	220,3436	228,4354	253,5144	406,2064	702,2934
	0,02	223,6133	204,2662	253,8827	395,2012	681,7622
	0,03	221,7540	185,7882	254,2518	385,1442	661,7940
	0,04	222,3536	169,5853	253,9237	377,7268	645,8626
	0,05	221,1450	143,2322	231,7822	350,9182	596,1594

Fonte: O Autor, 2015.

Já a Tabela 3 verifica-se os valores das componentes de cor verde normalizados e Figura 22 apresentam os resultados obtidos na análise da amostra artificial de corante verde, utilizando os diferentes componentes de cor: R, G e B, bem como o Vetor RGB e a Soma RGB.

Como pode ser observado, os melhores resultados de regressão foram obtidos com as componentes de cor R, Vetor RGB e Soma RGB, caracterizadas pelos melhores resultados de coeficiente de correlação, sensibilidade e erros de calibração e validação cruzada.

A componente de cor B apresentou uma baixa sensibilidade às alterações de concentração do corante verde na amostra, e a componente G não apresentou uma relação linear com o modelo proposto. Ao se observar os valores originais das componentes de cor obtidas (Tabela 2a) estes resultados podem ser explicados. Como na amostra predomina a coloração verde, os componentes de cor B (azul), e R (vermelho) especialmente, tendem a reduzir seus valores a medida que aumenta a intensidade da cor verde. Ou seja, a intensidade da coloração verde se dá principalmente pela redução dos valores da componente vermelha (em 30% entre a amostra do branco e a 5% de corante), do que pelo aumento dos valores da componente G (verde), que foi apenas de 1,3% entre as amostras do branco e 5% de corante. Quanto a componente B esta redução atinge apenas 7,3%.

Observou-se, também, na Tabela 3 que o maior coeficiente de determinação da reta apresentado entres as componentes de cor analisadas foi referente a componente R. Isto significa que ao calibrar o sistema desenvolvido esta componente seria a utilizada para as análises, gerando assim, a equação para o sistema. Além do melhor R^2 , a componente R apresentou os menores erros de calibração e validação cruzada, provando que a seleção da reta pelo maior coeficiente de determinação é a melhor alternativa para a calibração do sistema utilizando cinco pontos da reta.

Cabe lembrar, que estes valores da Tabela 3 são processados antes de confecção das curvas de calibração, quando foi aplicada inversa dos dados originais ($1/x$) seguida de sua normalização em máximos e mínimos, estabelecendo relação diretamente proporcional este as componentes de cor R e B, e por consequência Vetor RGB e Soma RGB.

Tabela 3 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor verde, e respectivas figuras de mérito.

Conc., %	Comp. R		Comp. G		Comp. B		Vetor RGB		Soma RGB	
	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP
0,00	0,000	0,005	0,787	0,027	0,000	0,002	0,000	0,006	0,000	0,006
0,01	0,213	0,009	0,000	0,000	0,022	0,002	0,123	0,014	0,130	0,013
0,02	0,352	0,002	0,149	0,028	0,025	0,004	0,248	0,007	0,256	0,006
0,03	0,529	0,003	0,393	0,023	0,044	0,008	0,400	0,002	0,415	0,002
0,04	0,664	0,003	0,597	0,024	0,029	0,004	0,501	0,002	0,524	0,002
0,05	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000
R	0,9895		0,4346		0,6756		0,9487		0,9562	

R²	0,9791	0,1889	0,4564	0,9001	0,9144
a	18,66	8,85	14,40	17,97	18,12
b	-0,0069	0,2666	-0,1734	-0,0705	-0,0655
LD	0,000725	0,098008	0,000516	0,001066	0,000967
LQ	0,00002414	0,119072	0,001719	0,003552	0,003223
RMSEC	0,001221	0,012727	0,008808	0,002675	0,002456
RMSECV	0,002261	1,006632	0,239662	0,006129	0,005480

Onde: R – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de Determinação; a – coeficiente angular (sensibilidade); b – ponto de intersecção; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; RMSEC – Raiz quadrada do erro médio de calibração; RMSECV - raiz quadrada do erro médio de validação cruzada. * n amostras = 3; n branco = 10.

Fonte: O Autor, 2015.

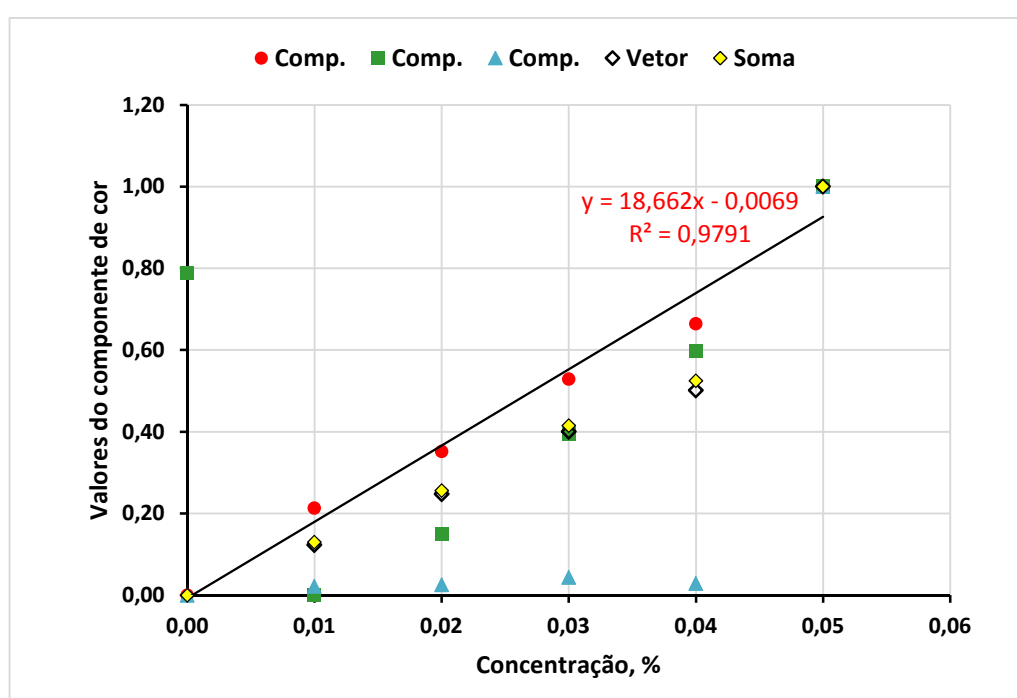


Figura 22. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios normalizados das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra artificial de cor verde. Fonte: O Autor, 2015.

Além disto, ao se observar a Figura 22, os resultados de regressão linear apresentados nos componentes G, B, Vetor RGB e Soma RGB são prejudicados quando a concentração do corante excede a 0,04% de concentração, indicando que o limite de linearidade do método foi atingido. Para exemplificar essa situação, na Figura 22 é apresentado a linha de tendência, e respectiva equação e coeficiente de determinação para os dados obtidos na componente R, onde se observa um aumento dos valores de resíduo em função a amostra de concentração 0,05%.

Assim, a amostra de concentração 0,05% foi excluída, e na Tabela 4 estão apresentados os resultados obtidos na análise da amostra artificial de corante verde,

utilizando os diferentes componentes de cor: R, G e B, bem como o Vetor RGB e a Soma RGB, utilizando o intervalo de concentração até 0,04%. Apresentando uma expressiva melhora nos resultados.

Tabela 4 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor verde, e respectivas figuras de mérito, para amostras até concentração de 4%.

Conc., %	Comp. R		Comp. G		Comp. B		Vetor RGB		Soma RGB	
	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP
0,00	0,000	0,005	0,787	0,027	0,000	0,002	0,000	0,006	0,000	0,006
0,01	0,213	0,009	0,000	0,000	0,022	0,002	0,123	0,014	0,130	0,013
0,02	0,352	0,002	0,149	0,028	0,025	0,004	0,248	0,007	0,256	0,006
0,03	0,529	0,003	0,393	0,023	0,044	0,008	0,400	0,002	0,415	0,002
0,04	0,664	0,003	0,597	0,024	0,029	0,004	0,501	0,002	0,524	0,002
R	0,9971		0,0060		0,7944		0,9986		0,9989	
R²	0,9941		0,0000		0,6311		0,9971		0,9977	
a	16,45		0,12		0,79		12,80		13,34	
b	0,0226		0,3830		0,0080		-0,0017		-0,0017	
LD	0,000822		7,142969		0,009340		0,001496		0,001314	
LQ	0,002739		8,678081		0,031133		0,004985		0,004378	
RMSEC	0,000500		1,023360		0,005495		0,000423		0,000377	
RMSECV	0,000847		0,615939		0,008959		0,000700		0,000600	

Onde: R – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de determinação; a – coeficiente angular (sensibilidade); b – ponto de intersecção; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; RMSEC – Raiz quadrada do erro médio de calibração; RMSECV - raiz quadrada do erro médio de validação cruzada. * n amostras = 3; n branco = 10.

Fonte: O Autor, 2015.

Como este fenômeno foi observado em todos os demais testes (soluções artificiais de cor vermelho, azul e amarelo), e para facilitar a leitura e apresentações dos resultados deste trabalho, os resultados dos testes com concentração até 0,05% não serão apresentados para as demais amostras.

Os resultados obtidos para a amostra artificial de corante azul estão apresentados na Tabela 5 e Figura 23. Os melhores resultados de regressão foram obtidos com as componentes de cor R, Vetor RGB e Soma RGB, caracterizadas pelos melhores resultados de coeficiente de correlação, sensibilidade e erros de calibração e validação cruzada. No mesmo modo que ocorrido nos testes com a amostra artificial de cor verde, neste a componente R apresentou a maior variação de valores em função concentração, chegando a 42,6% entre os valores de branco e a amostra de 0,04% de corante.

Tabela 5 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor azul, e respectivas figuras de mérito.

Conc., %	Comp. R		Comp. G		Comp. B		Vetor RGB		Soma RGB	
	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP
0,00	0,000	0,003	0,586	0,017	0,000	0,066	0,000	0,006	0,000	0,005
0,01	0,177	0,005	0,000	0,000	0,659	0,031	0,182	0,003	0,169	0,003
0,02	0,345	0,014	0,096	0,009	0,855	0,069	0,391	0,010	0,364	0,011
0,03	0,491	0,018	0,288	0,026	0,933	0,116	0,558	0,018	0,527	0,018
0,04	0,665	0,014	0,626	0,068	0,810	0,222	0,748	0,017	0,717	0,015
R	0,9995		0,2065		0,7933		0,9996		0,9997	
R²	0,9991		0,0426		0,6293		0,9991		0,9994	
a	16,45		3,68		18,95		18,71		17,92	
b	0,0068		0,2456		0,2725		0,0016		-0,0030	
LD	0,000473		0,173366		0,010373		0,000994		0,000828	
LQ	0,001575		0,206564		0,034575		0,003315		0,002759	
RMSEC	0,000219		0,029487		0,004888		0,000231		0,000196	
RMSECV	0,000295		0,288058		0,006806		0,000306		0,000279	

Onde: R – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de determinação; a – coeficiente angular (sensibilidade); b – ponto de intersecção; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; RMSEC – Raiz quadrada do erro médio de calibração; RMSECV - raiz quadrada do erro médio de validação cruzada. * n amostras = 3; n branco = 10.

Fonte: O Autor, 2015.

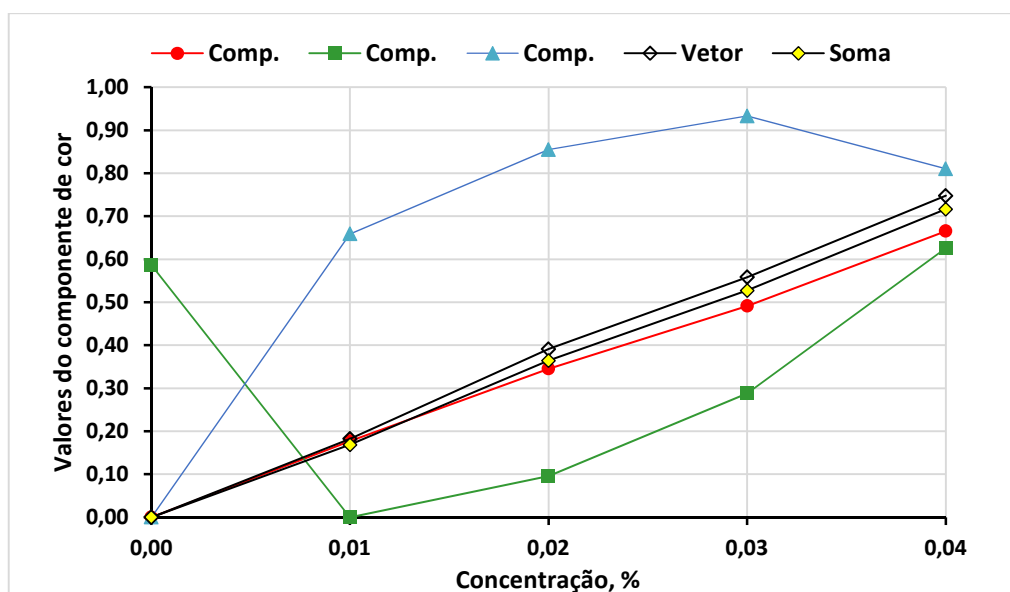


Figura 23. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra artificial de cor azul. Fonte: O Autor, 2015.

Os resultados obtidos para a amostra artificial de corante amarelo estão apresentados na Tabela 6 e Figura 24. Os melhores resultados de regressão foram obtidos com as componentes de cor R, Vetor RGB e Soma RGB, no entanto se observa valores baixos para os coeficientes de determinação (inferiores a 0,97) em todos os modelos, e maiores

erros de calibração e validação cruzada. Estes resultados podem ser explicados em função da composição desta cor (amarelo) ser resultante da combinação das duas cores primárias, vermelho e verde, de forma que o aumento da intensidade da cor amarela se dá pela redução do componente vermelho e aumento do componente verde (Tabela 2c).

Tabela 6 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor amarela, e respectivas figuras de mérito.

Conc., %	Comp. R		Comp. G		Comp. B		Vetor RGB		Soma RGB	
	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP
0,00	0,000	0,009	1,000	0,028	0,000	0,001	0,000	0,006	0,000	0,005
0,01	0,266	0,011	0,000	0,000	0,005	0,001	0,035	0,006	0,046	0,006
0,02	0,395	0,007	0,055	0,044	0,004	0,000	0,087	0,006	0,103	0,006
0,03	0,480	0,007	0,170	0,027	0,240	0,008	0,311	0,008	0,310	0,008
0,04	0,580	0,037	0,291	0,039	0,557	0,030	0,575	0,009	0,564	0,009
R	0,9689		-0,4869		0,8743		0,9345		0,9435	
R²	0,9389		0,2371		0,7644		0,8733		0,8902	
a	13,75		-12,48		13,50		14,27		13,91	
b	0,0691		0,5528		-0,1087		-0,0836		-0,0737	
LD	0,001908		-0,086808		0,000149		0,001168		0,001176	
LQ	0,006358		-0,102389		0,000496		0,003893		0,003919	
RMSEC	0,001579		0,010994		0,003901		0,002631		0,002439	
RMSECV	0,002406		0,011973		0,011649		0,006215		0,005694	

Onde: R – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de determinação; a – coeficiente angular (sensibilidade); b – ponto de intersecção; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; RMSEC – Raiz quadrada do erro médio de calibração; RMSECV - raiz quadrada do erro médio de validação cruzada. * n amostras = 3; n branco = 10.

Fonte: O Autor, 2015.

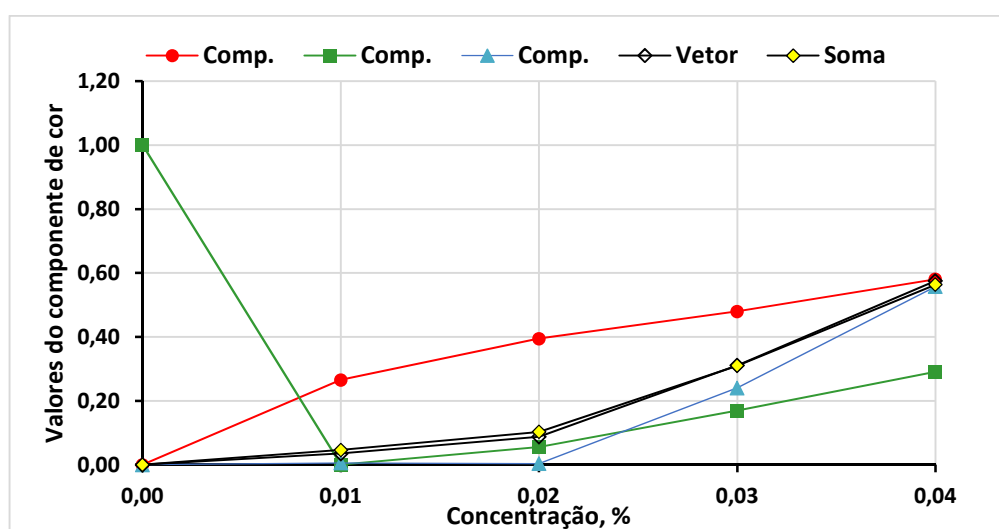


Figura 24. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios normalizados das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra artificial de cor amarela. Fonte: O Autor, 2015.

Os resultados normalizados obtidos para a amostra artificial de corante vermelho estão apresentados na Tabela 7 e Figura 25. Semelhante ao observado para os testes com a amostra artificial de cor verde, a variação na intensidade da cor vermelha, em função da concentração do corante vermelho, se dá principalmente pela redução dos valores da componente verde (em 41,6% entre a amostra do branco e a 0,05% de corante), do que pelo aumento dos valores do componente predominante (vermelho), que foi apenas de 1,5% entre as amostras do branco e 5% de corante. Quanto a componente B esta redução atinge apenas 9,0%.

Assim, os melhores resultados de regressão foram obtidos com as componentes de cor G, Vetor RGB e Soma RGB, caracterizadas pelos melhores resultados de coeficiente de correlação, sensibilidade e erros de calibração e validação cruzada.

Tabela 7 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração da amostra artificial de cor vermelha, e respectivas figuras de mérito.

Conc., %	Comp. R		Comp. G		Comp. B		Vetor RGB		Soma RGB	
	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP
0,00	0,000	0,101	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,004	0,000	0,004
0,01	0,926	0,128	0,104	0,003	0,044	0,006	0,162	0,006	0,148	0,005
0,02	0,185	0,080	0,283	0,014	0,029	0,004	0,310	0,020	0,292	0,018
0,03	0,608	0,086	0,450	0,022	0,014	0,003	0,454	0,031	0,442	0,029
0,04	0,480	0,085	0,627	0,029	0,027	0,003	0,564	0,040	0,567	0,038
R	0,2799		0,9964		0,2338		0,9978		0,9996	
R²	0,0783		0,9928		0,0546		0,9956		0,9992	
a	6,41		16,01		0,24		14,21		14,29	
b	0,3115		-0,0272		0,0179		0,0139		0,0040	
LD	0,047079		0,000227		0,008216		0,000835		0,000781	
LQ	0,156867		0,000757		0,027387		0,002782		0,002603	
RMSEC	0,024249		0,000525		0,027343		0,000462		0,000217	
RMSECV	0,020653		0,000899		0,019226		0,000872		0,000419	

Onde: R – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de determinação; a – coeficiente angular (sensibilidade); b – ponto de intersecção; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; RMSEC – Raiz quadrada do erro médio de calibração; RMSECV - raiz quadrada do erro médio de validação cruzada. * n amostras = 3; n branco = 10.

Fonte: O Autor, 2015.

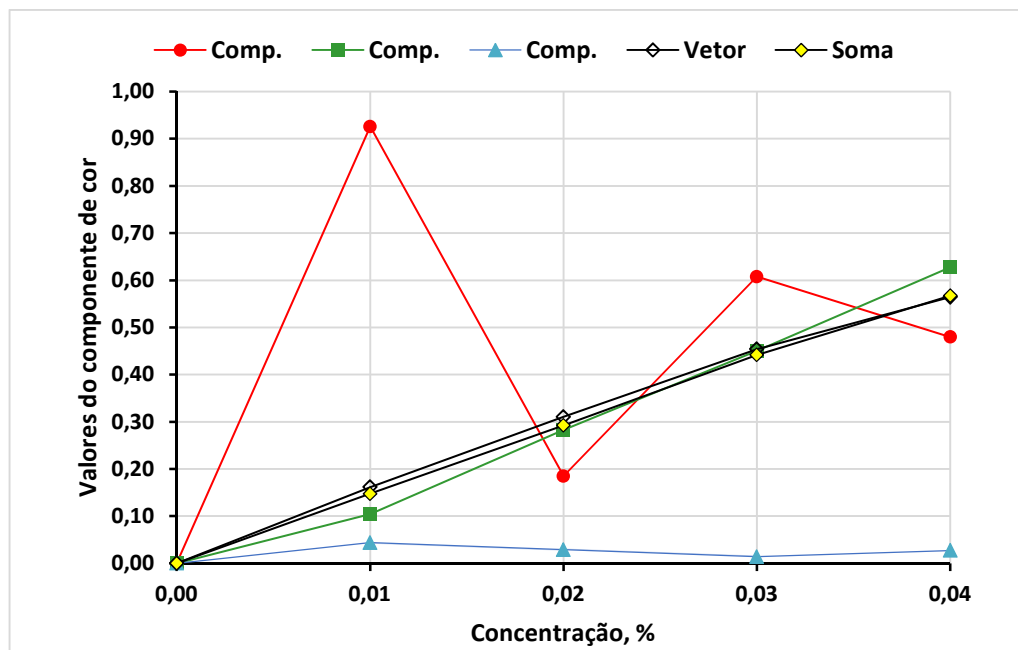


Figura 25. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra artificial de cor vermelha. Fonte: O Autor, 2015.

A Figura 26 apresenta um comparativo entre os resultados de coeficiente de determinação e RMSECV obtidos para as quatro amostras artificiais, utilizando os diferentes componentes de cor, R, G, e B, bem como o vetor RGB e a soma RGB.

De forma geral o sistema de análise proposto apresenta um desempenho satisfatório nas amostras de coloração predominante verde, azul e vermelha com valor do coeficiente de determinação por volta de 0,99, e apresenta os erros mais elevados quando aplicado em amostras onde predomina a cor amarela. No que diz respeito as componentes de cor R, G e B, os melhores resultados são obtidos utilizando a componente R para confecção das curvas de calibração, nas amostras de coloração verde e azul. Já, para amostras de coloração predominante vermelha a componente G apresenta os melhores resultados. Observa-se também que o vetor RGB e a soma RGB conseguem unificar as qualidades de determinação individual das componentes em um único modelo, ou seja, erros menores e maior coeficiente de determinação.

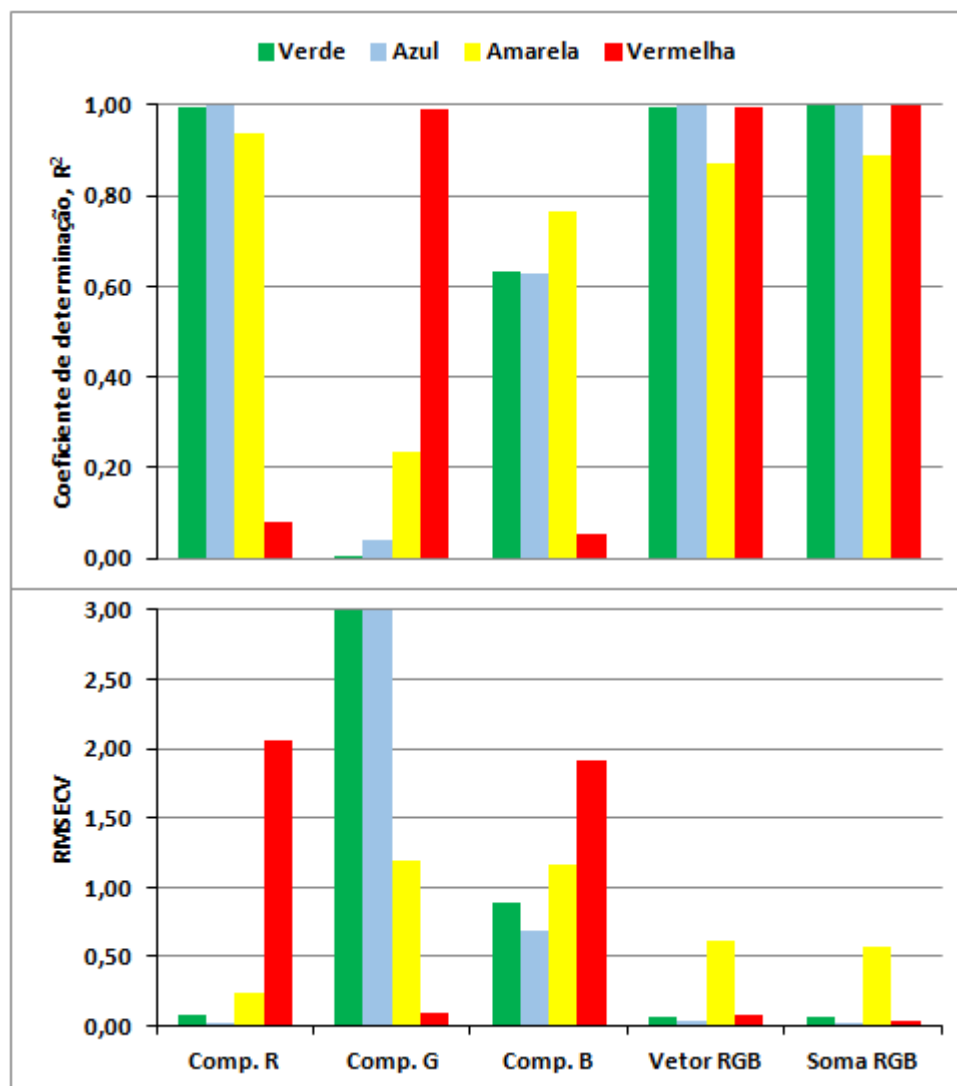


Figura 26. Resultados de coeficiente de determinação e RMSECV obtidos utilizando as componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB. O eixo das ordenadas do RMSECV foi limitado em 3 mgL^{-1} . Fonte: O Autor, 2015.

5.4 Determinação da concentração de fósforo em água

A determinação da concentração de fósforo em água foi realizada utilizando o protótipo de sistema desenvolvido neste trabalho (Figura 27) e um espectrofotômetro FEMTO (modelo 600 Plus), ajustado em 880 nm. O procedimento de preparação das amostras foi descrito no item 4.3.1.2.

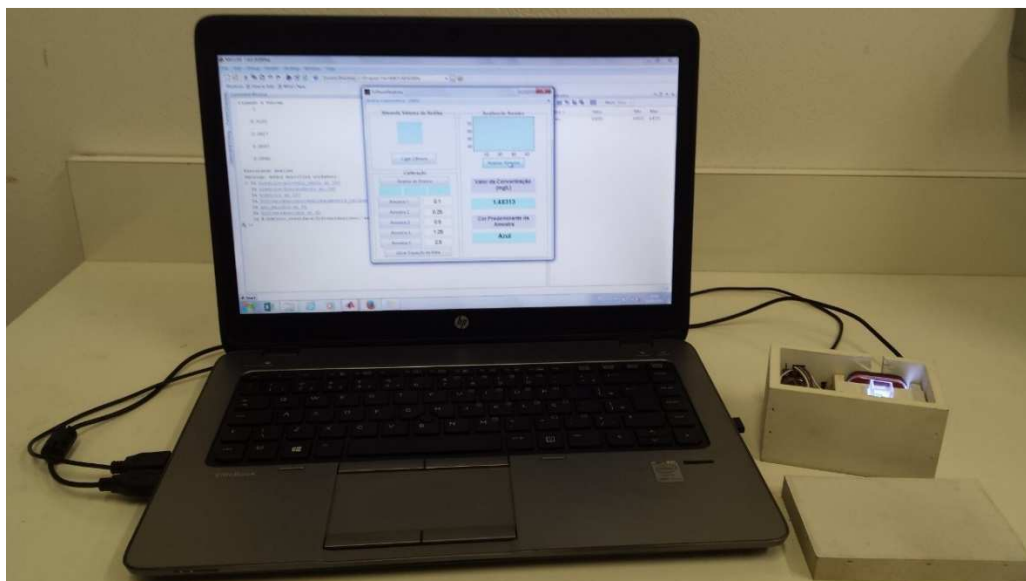


Figura 27. Imagem do protótipo desenvolvido em análise da concentração de fósforo em água. Fonte: O Autor, 2015.

Inicialmente a curva de calibração foi desenvolvida com 5 amostras de referência, além do branco (0,0 – 0,1 – 0,25 – 0,50 – 1,25 – 2,50), obtendo-se os valores de cor das componentes RGB, vetorRGB e somaRGB, conforme Tabela 8. Após esses valores foram normalizados e calculados os valores das figuras de mérito como mostra a Tabela 9.

Tabela 8 – Valores médios das componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, em função da concentração de fósforo.

Conc., mL ⁻¹	Comp. R Média*	Comp. G Média*	Comp. B Média*	Comp. Vetor (RGB) Média*	Comp. Soma (RGB) Média*
0	250,4095	254,9035	254,8381	438,8886	760,1511
0,1	242,9343	254,8030	254,8626	434,6223	752,5998
0,25	233,5574	251,4713	254,7230	427,3999	739,7516
0,5	216,9570	239,4876	254,3648	411,2494	710,8094
1,25	185,9860	214,3305	254,7743	381,3638	655,0909
2,5	174,3490	206,4418	254,5768	371,2481	635,3676

No entanto identificou se que a faixa de linearidade do método era prejudicada com valores superiores a 1,25 mgL⁻¹, desta forma as amostras de concentração 2,5 mgL⁻¹, foram excluídas do modelo de calibração.

Como a cor predominante nas soluções analíticas é o azul, formado pelo azul de molibdênio, se observa que os resultados obtidos aqui foram similares aos apresentados pelos testes com a amostra artificial de cor azul, onde a componente de cor azul não apresenta bons resultados de regressão.

Os melhores resultados de regressão foram obtidos com as componentes de cor R, G, Vetor RGB e Soma RGB, caracterizadas pelos melhores resultados de coeficiente de correlação, sensibilidade e erros de calibração e validação cruzada, como pode ser observado na Tabela 9 e Figura 28.

Tabela 9 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração de fósforo, e respectivas figuras de mérito.

Conc., mgL ⁻¹	Comp. R		Comp. G		Comp. B		Vetor RGB		Soma RGB	
	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP
0,00	0,000	0,002	0,000	0,001	0,000	0,239	0,000	0,002	0,000	0,002
0,10	0,043	0,005	0,023	0,004	0,161	0,263	0,054	0,004	0,047	0,003
0,25	0,187	0,003	0,105	0,010	1,000	0,000	0,219	0,007	0,198	0,006
0,50	0,302	0,002	0,253	0,003	0,640	0,018	0,373	0,001	0,341	0,001
1,25	0,693	0,001	0,769	0,022	0,498	0,194	0,804	0,010	0,772	0,009
R	0,9962		0,9968		0,3071		0,9950		0,9969	
R²	0,9924		0,9936		0,0943		0,9899		0,9938	
a	0,5526		0,6314		0,2427		0,6409		0,6170	
b	0,0130		-0,0353		0,3579		0,0210		0,0124	
LD	0,0095		0,0024		2,9547		0,0116		0,0104	
LQ	0,0318		0,0081		9,8482		0,0387		0,0348	
RMSEC	0,0211		0,0144		0,6828		0,0239		0,0191	
RMSECV	0,0456		0,0653		0,8279		0,0596		0,0451	

Onde: R – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de determinação; a – coeficiente angular (sensibilidade); b – ponto de intersecção; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; RMSEC – Raiz quadrada do erro médio de calibração; RMSECV - raiz quadrada do erro médio de validação cruzada. * n amostras = 3; n branco = 10.

Fonte: O Autor, 2015.

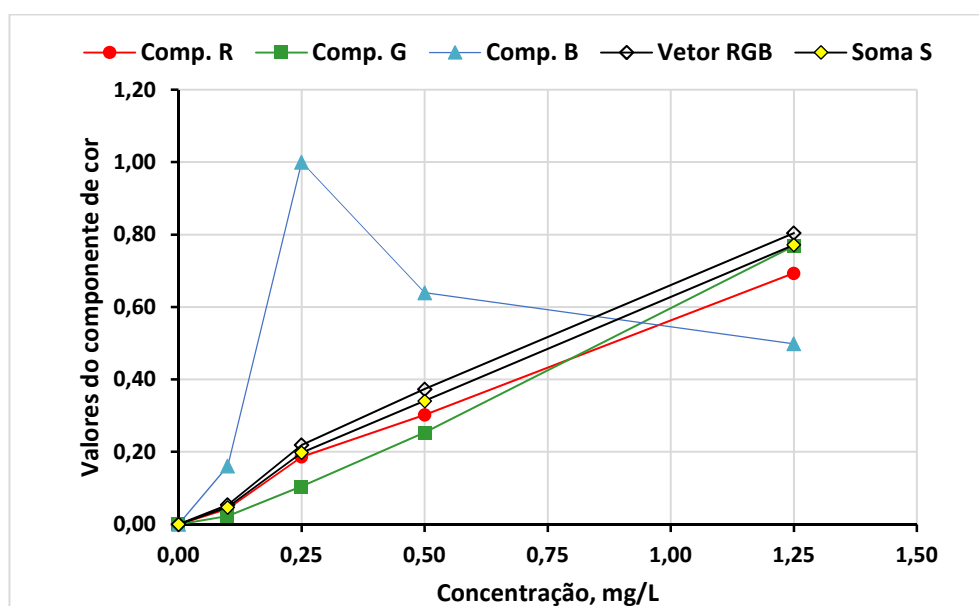


Figura 28. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra de referência de fósforo. Fonte: O Autor, 2015.

Os resultados obtidos na calibração do espectrofotômetro estão apresentados na Tabela 10 e Figura 29.

Tabela 10 – Valores médios de absorvância em função da concentração de fósforo, e respectivas figuras de mérito.

Concentração, mgL ⁻¹	Absorvância	DP
0,00	0,000	0,002
0,10	0,043	0,005
0,25	0,187	0,003
0,50	0,302	0,002
1,25	0,693	0,001
R	0,9997	
R²	0,9995	
a	0,6012	
b	0,0043	
LD	0,0024	
LQ	0,0073	
RMSEC	0,0054	
RMSECV	0,0169	

Onde: R – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de determinação; a – coeficiente angular (sensibilidade); b – ponto de intersecção; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; RMSEC – Raiz quadrada do erro médio de calibração; RMSECV - raiz quadrada do erro médio de validação cruzada. * n amostras = 3; n branco = 10.

Fonte: O Autor, 2015.

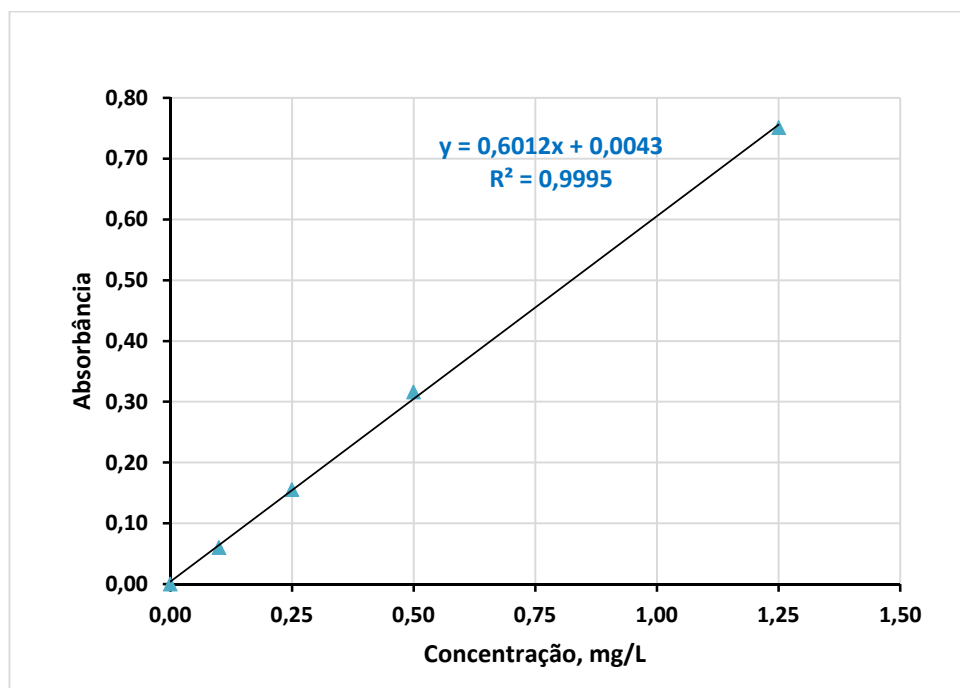


Figura 29. Curva de calibração obtida pelos valores médios de absorvância obtidos para as amostras de referência de fósforo utilizando o espectrofotômetro. Fonte: O Autor, 2015.

A Figura 30 apresenta um comparativo entre as figuras de mérito (limite de detecção, limite de quantificação, RMSEC e RMSECV), obtidas pelo sistema proposto e os obtidos pelo procedimento de referência, utilizando o espectrofotômetro. Para facilitar a visualização, os resultados obtidos com a componente de B, que não apresentou bons resultados de regressão, foram excluídos deste comparativo. Estes resultados revelam que a utilização da componente de cor G, foi a que apresentou resultados de LD e LQ mais semelhantes aos apresentados pela metodologia de referência, no então os erros de calibração e validação cruzada foram significativamente superiores ($P > 0,05$).

Os valores de limite de detecção e quantificação apresentados pela metodologia proposta permitem sua aplicação na determinação de fósforo total em águas naturais, uma vez que o limite para águas naturais de Classe especial, segundo a resolução nº 357 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) de 2005 determina como limite $0,02 \text{ mgL}^{-1}$, o limite máximo fósforo total em ambientes lênticos.

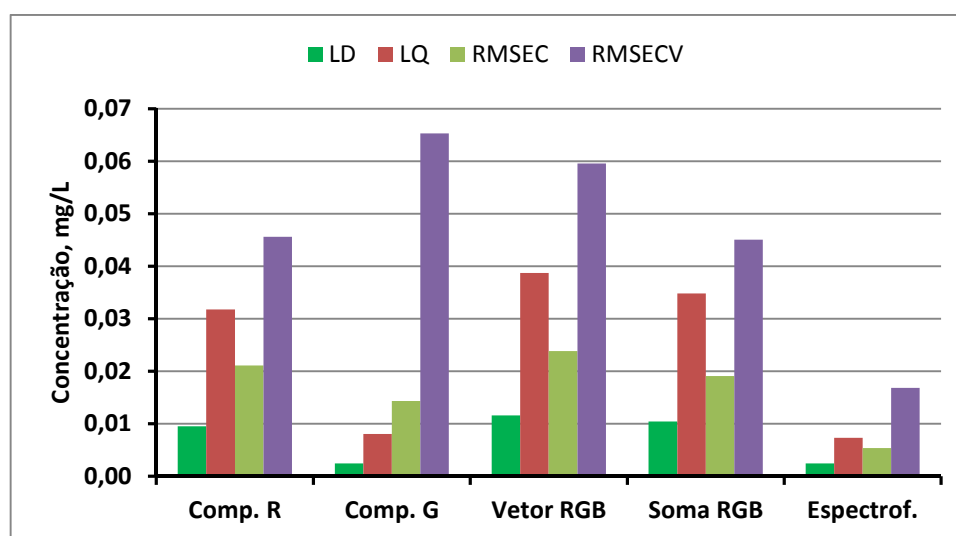


Figura 30. Resultados de limite de detecção (LD), quantificação (LQ), RMSEC, RMSECV obtidos utilizando as componentes de R (vermelho), B (azul), vetor RGB, soma RGB e o espectrofotômetro. Fonte: O Autor, 2015.

A Tabela 11, apresenta os resultados obtidos pelo sistema proposto e pelo método de referência, na determinação de fósforo em sete amostras de águas de poço filtradas em carvão ativado de osso. Esse processo de filtração é conhecido por liberar uma quantidade significativa de fósforo na água filtrada e por isso foi selecionado para este experimento. Estes valores foram obtidos utilizando a calibração com a componente de cor R, pois essa componente apresentou a maior variação entre o branco e a concentração de $2,5 \text{ mgL}^{-1}$, além de apresentar um coeficiente de determinação acima de 0,99.

Aplicando o teste t de *Student*, pareado, não foram identificadas diferenças significativas entre as duas metodologias utilizadas ($p > 0,05$).

Tabela 11 – Valores médios (n=3) dos resultados de concentração de fósforo em água utilizando o sistema de análise proposto (componente R) e a metodologia de referência.

Amostras	Método proposto (Comp. R)	Método de referência
Amostra 1	< LD (0,0095)	< LD (0,0024)
Amostra 2	0,019 ± 0,044	0,035 ± 0,010
Amostra 3	< LD (0,0095)	< LD (0,0024)
Amostra 4	0,287 ± 0,060	0,326 ± 0,004
Amostra 5	0,347 ± 0,048	0,333 ± 0,011
Amostra 6	1,303 ± 0,077	1,405 ± 0,056
Amostra 7	1,288 ± 0,036	1,375 ± 0,053

Fonte: O Autor, 2015.

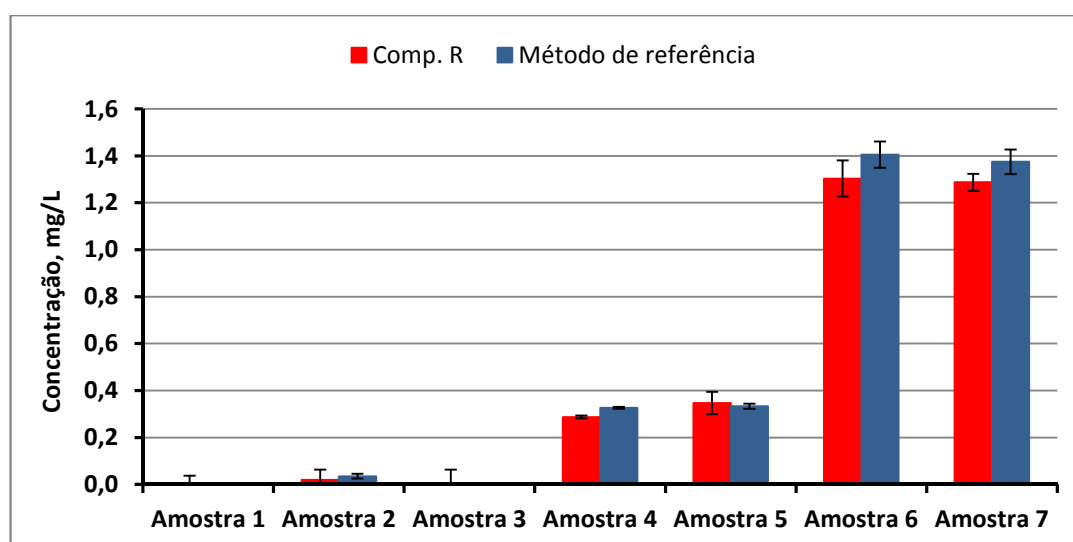


Figura 31. Resultados comparativos de fósforo em água obtidos pelo sistema proposto, utilizando a componente de cor R (vermelho), e pelo método de referência. Fonte: O Autor, 2015.

5.5 Análise da concentração de flúor em água

Da mesma forma que para a determinação de fósforo, a determinação da concentração de flúor em água foi realizada utilizando o protótipo de sistema desenvolvido neste trabalho e um espectrofotômetro FEMTO (modelo 600 Plus), ajustado em 580 nm. O procedimento de preparação das amostras foi descrito no item 4.3.1.1 A mesma amostra preparada foi analisada três vezes, tanto no protótipo desenvolvido, quanto no espectrofotômetro, obtendo-se valores médios de cada componente de cor gerado a partir do modelo RGB, conforme a Tabela 12. Após os valores de cor foram normalizados e calculados os valores das figuras de mérito mostrados na Tabela 13.

Tabela 12 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, em função da concentração de flúor.

Conc., mL ⁻¹	Comp. R Média*	Comp. G Média*	Comp. B Média*	Comp. Vetor (RGB) Média*	Comp. Soma (RGB) Média*
0	254,4412	155,4742	169,5815	343,0312	579,4969
0,5	254,5197	156,9338	158,3776	338,3666	569,8311
0,8	254,3702	160,2545	158,9560	340,0775	573,5807
1	254,4318	160,6978	153,9612	338,0286	569,0907
1,2	254,3044	161,8257	153,1592	338,1065	569,2892
1,4	254,3694	162,6854	154,1195	339,0032	571,1743

Como a cor predominante nas soluções analíticas é o vermelho, formado pelo oxiclureto de zircônio, se observa que os resultados obtidos aqui foram similares aos apresentados pelos testes com a amostra artificial de cor vermelha, onde a componente de cor vermelha não apresenta bons resultados de regressão.

Os melhores resultados de regressão foram obtidos com as componentes de cor G, caracterizada pelos melhores resultados de coeficiente de correlação, sensibilidade e erros de calibração e validação cruzada, como pode ser observado na Tabela 13 e Figura 32.

Tabela 13 – Valores médios para os componentes de cor RGB, Vetor RGB e Soma RGB, normalizados, em função da concentração de flúor, e respectivas figuras de mérito.

Conc., mgL ⁻¹	Comp. R		Comp. G		Comp. B		Vetor RGB		Soma RGB	
	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP	Média*	DP
0,00	0,365	1,068	1,001	0,048	0,019	0,422	-0,005	0,813	0,010	0,768
0,50	0,036	0,062	0,790	0,060	0,632	0,031	0,888	0,097	0,885	0,100
0,80	0,466	0,463	0,328	0,030	0,597	0,113	0,559	0,175	0,538	0,188
1,00	0,364	0,364	0,269	0,097	0,907	0,009	0,951	0,034	0,952	0,029
1,20	0,717	0,254	0,118	0,137	0,959	0,070	0,932	0,118	0,929	0,124
1,40	0,433	0,493	0,000	0,000	0,897	0,098	0,767	0,191	0,762	0,191
R	0,5483		-0,9803		0,9575		0,8285		0,8222	
R²	0,3007		0,9609		0,9168		0,6865		0,6761	
a	0,2861		-0,7596		0,7637		0,7190		0,7042	
b	0,1895		1,0379		0,0884		0,1618		0,1697	
LD	11,2019		0,1901		1,6583		3,3906		3,2731	
LQ	37,3395		0,6335		5,5276		11,3022		10,9103	
RMSEC	0,3231		0,0447		0,0669		0,1475		0,1521	
RMSECV	1,1943		0,0599		0,0868		0,1778		0,1831	

Onde: R – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de determinação; a – coeficiente angular (sensibilidade); b – ponto de intersecção; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; RMSEC – Raiz quadrada do erro médio de calibração; RMSECV - raiz quadrada do erro médio de validação cruzada. * n amostras = 3; n branco = 10.

Fonte: O Autor, 2015.

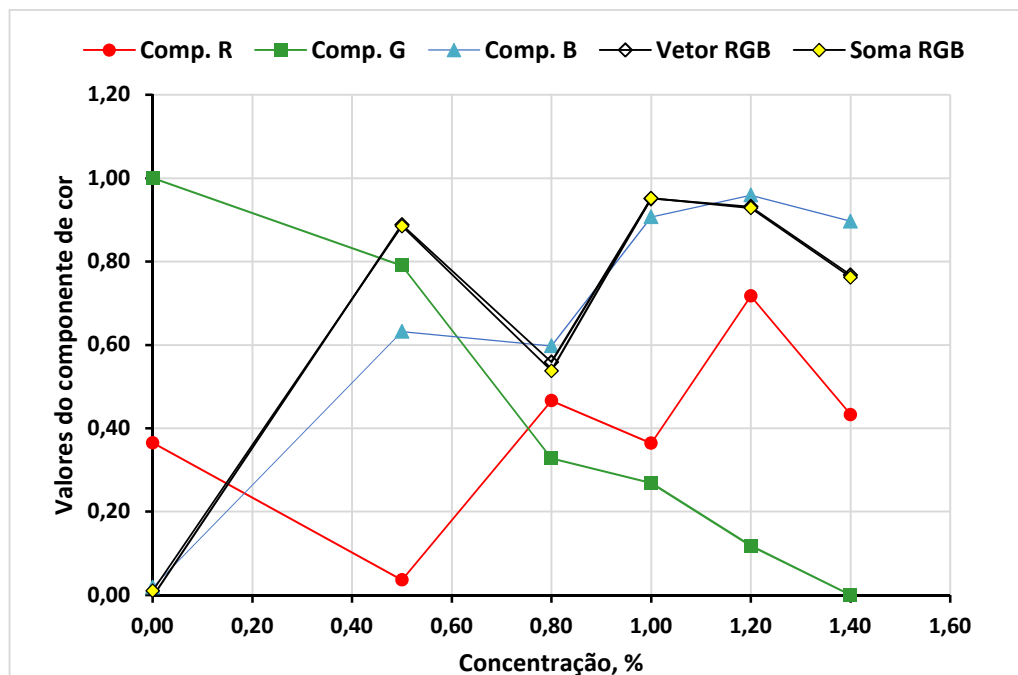


Figura 32. Curvas de calibração obtidas pelos valores médios das componentes de R (vermelho), G (verde), B (azul), vetor RGB e soma RGB, na amostra de referência de flúor. Fonte: O Autor, 2015.

Os resultados obtidos na calibração do espectrofotômetro estão apresentados na Tabela 14 e Figura 33.

Tabela 14 – Valores médios de absorbância em função da concentração de flúor, e respectivas figuras de mérito.

Concentração, mgL ⁻¹	Absorbância	DP
0,00	0,455	0,0050
0,50	0,379	0,0032
0,80	0,325	0,0101
1,00	0,302	0,0134
1,20	0,272	0,0081
1,40	0,229	0,0155
<hr/>		
R	-0,9983	
R ²	0,9967	
a	-0,1582	
b	0,4562	
LD	0,0759	
LQ	0,2529	
RMSEC	0,0130	
RMSECV	0,0191	

Onde: R – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de determinação; a – coeficiente angular (sensibilidade); b – ponto de intersecção; LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação; RMSEC – Raiz quadrada do erro médio de calibração; RMSECV - raiz quadrada do erro médio de validação cruzada. * n amostras = 3; n branco = 10.

Fonte: O Autor, 2015.

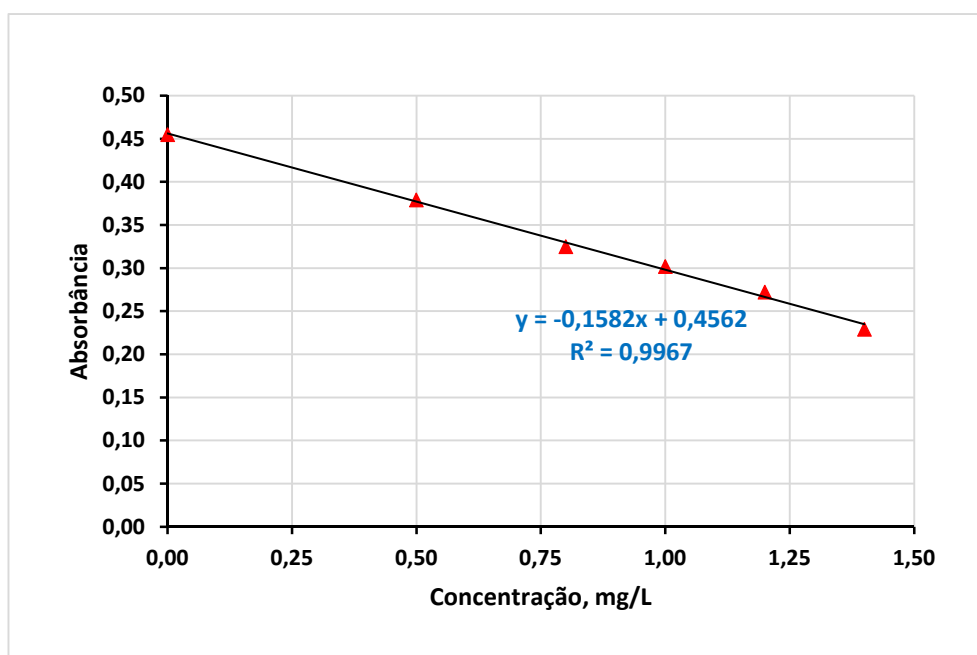


Figura 33. Curva de calibração obtida pelos valores médios de absorbância obtidos para as amostras de referência de flúor utilizando o espectrofotômetro. Fonte: O Autor, 2015.

A Figura 34 apresenta um comparativo entre as figuras de mérito (limite de detecção, limite de quantificação, RMSEC e RMSECV), obtidas pelo sistema proposto e os obtidos pelo procedimento de referência, utilizando o espectrofotômetro. Para facilitar a visualização, os melhores resultados, o eixo das ordenadas foi limitado em 2 mgL^{-1} .

Estes resultados revelam que a utilização da componente de cor G, foi a que apresentou os melhores resultados, quando comparados ao método de referência. No entanto, os altos valores de limite de detecção e quantificação identificados, compromete a aplicação deste método na análise de água para consumo humano. Uma vez que segundo a Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde, a concentração máxima permitida para íons fluoreto em águas de abastecimento é de $1,5 \text{ mgL}^{-1}$. Contudo, a Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul através da portaria nº 10, de 19 de agosto de 1999, com base em estudos específicos, definiu em $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ a concentração ideal para íons fluoreto em águas de consumo humano no estado do Rio Grande do Sul, devido a sua ação na inibição da cárie dental, e teores entre $0,6$ e $0,9 \text{ mg L}^{-1}$ como limites mínimos e máximos, respectivamente. Assim, valores de limite de quantificação da ordem de $0,6 \text{ mgL}^{-1}$ estão muito próximos aos valores de interesse, podendo representar riscos quando este procedimento for adotado em programas de monitoramento da qualidade da água. Entretanto, não se descarta a aplicação deste procedimento como método de varredura, de

forma a identificar as amostras problemáticas e posteriormente encaminhar para uma análise através de metodologias de referência.

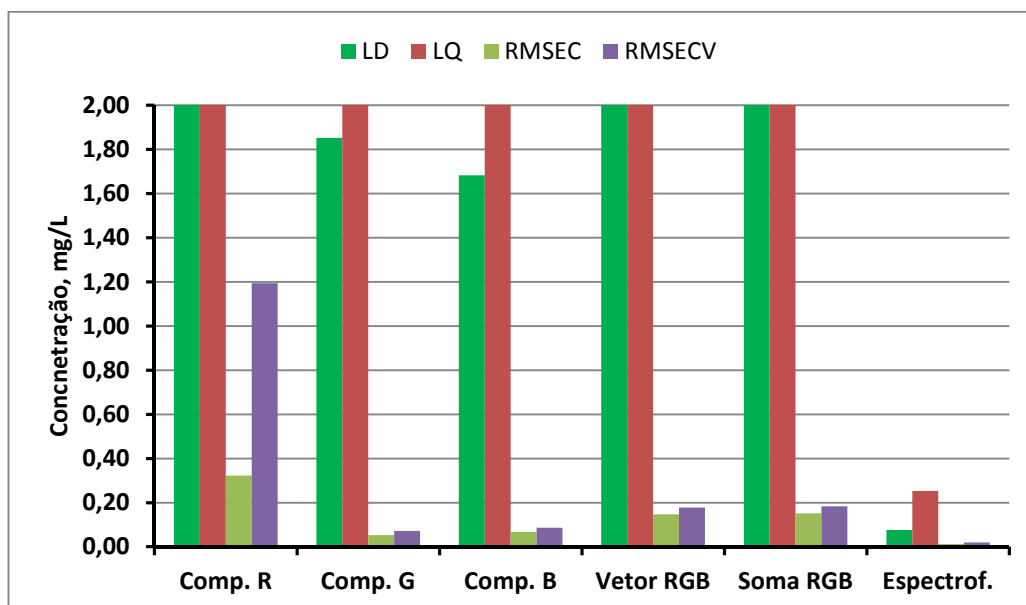


Figura 34. Resultados de limite de detecção (LD), quantificação (LQ), RMSEC, RMSECV obtidos utilizando as componentes de R (vermelho), B (azul), vetor RGB, soma RGB e o espectrofotômetro. Eixo das ordenadas foi limitado em $2,00 \text{ mgL}^{-1}$. Fonte: O Autor, 2015.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, foram exploradas as aplicações do uso de imagens digitais, capturadas por uma *webcam*, para análises químicas colorimétricas, mostrando assim a viabilidade do método proposto.

A câmara construída para aquisição das imagens digitais contribuiu de forma significativa para a aquisição das imagens das amostras evitando ruídos oriundos de iluminação externa, além de facilitar o transporte do sistema para análises de campo pelas suas dimensões reduzidas em relação ao método tradicional, onde é utilizado um espectrofotômetro convencional. Outra questão a ser considerada foi o custo de construção do aparato por volta de 10 vezes menos que o equipamento comumente utilizado, considerando todos os acessórios utilizados.

O problema de interferências no espectro de cor citado por Lyra (2010) foi contornado no desenvolvimento do software de controle e tratamento de imagens digitais com o método automático de seleção da melhor componente de cor gerada pelo modelo RGB e derivados, pois o sistema escolhe automaticamente a componente cor com o melhor coeficiente de determinação (R^2) durante a calibração.

O software de controle e tratamento de imagens digitais desenvolvido tem uma interface amigável, de fácil utilização durante as análises.

A análise de amostras coloridas artificialmente, pelo método proposto neste trabalho, apresentou resultados satisfatórios para os corantes verde, azul e vermelho, com valores dos coeficientes de determinação (R^2), superiores a 0,99 e baixos valores de erro (RMSECV). Já a análise com corante amarelo apresentou um menor coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9389$) e um erro (RMSECV = 0,2406) maior. Quanto ao desempenho das componentes de cor que melhor se adequaram a análise colorimétrica pode-se destacar a componente de cor Soma (RGB) apresentou os melhores valores de R^2 , referente as amostras de cor verde, azul e vermelho. Já a componente de cor vermelho (R) adequou-se melhor apenas para a amostra de corante amarelo.

Nos testes com amostras reais de água para análise da concentração de flúor utilizando o reagente de Spadns os resultados obtidos utilizando o protótipo desenvolvido neste trabalho não foram satisfatórios em comparação ao método de referência. No entanto os testes desenvolvidos para a determinação de fósforo produziram resultados equivalentes ao método de referência.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com o término do projeto e análise dos resultados, surgiram novas propostas que visam otimizar o colorímetro desenvolvido.

O desenvolvimento de um software utilizando o mesmo algoritmo construído neste projeto seria interessante no intuito de desvincular o protótipo desenvolvido do software Matlab, afim de criar um programa que possa ser instalado em qualquer computador, *tablet* ou *smartphone*.

Conforme verificou-se nos resultados, algumas cores não apresentaram valores das componentes de cor satisfatórios, como por exemplo o corante amarelo, então poderia ser estudado a inserção de outros modelos de cor na análise da cor da imagem, afim de obter outras componentes de cor.

O material utilizado para construção da câmara de aquisição de imagens digitais pode ser alterado por outro que não seja vulnerável a ação dos reagentes utilizados, evitando corrosão nas partes que possam ter contato com a amostra.

O desenvolvimento de uma câmara de aquisição de imagens na cor preta é importante para comparação dos resultados com a câmara de aquisição de imagens na cor branca construída neste projeto, verificando em qual das câmaras os resultados das componentes de cor seriam mais satisfatórios.

REFERÊNCIAS

AMANTHEA, N. R. “*De volta para o futuro: o Aquífero Guarani como alternativa viável ao desenvolvimento da região de Londrina*”. Dissertação de Mestrado, Universidade de Estadual de Maringá/ Universidade Estadual de Londrina, 2004.

ANDRADE, S. I. E.; LIMA, M. B.; BARRETO, I. S.; LYRA, W. S.; ALMEIDA, L. F.; ARAÚJO, M. C. U.; SILVA, E. C. *A digital image-based flow-batch analyzer for determining Al(III) and Cr(VI) in water*. Microchemical Journal. v. 109, p. 106-111, 2013.

APHA; AWWA; WEF. *Standard methods for the examinations of water and wastewater*. Washington, 2005.

BANDINI, T. B.; VILELA, M. A. P.; MACÊDO, J. M. *Utilização do método colorimétrico spadns para análise de fluoreto em águas de abastecimento em Juiz de Fora (mg)*. Revista Analytica, n. 04, p 59-64, 2003.

BARGHOUTHIN, Z.; AMEREIH, S. *Spectrophotometric Determination of Fluoride in Groundwater Using Resorcin Blue Complexes*. American Journal of Analytical Chemistry, v. 3, p. 651-655, 2012.

BASTOS, L. F.; ALESSIO, K. O.; COSTA, A. B. da; LOBO, E. *A Desfluoretação de águas subterrâneas por processo de adsorção/precipitação por contato*. Tecnológica, Santa Cruz do Sul, RS, v.10, p. 09-13, 2006.

BAZONI, C. H. V.; KLEINERT, J. J.; GERMANO, M. G.; LEITE, R. S.; OLIVEIRA JUNIOR, A. de. *Determinação de matéria orgânica em amostras de solo – Estudo comparativo de métodos*. VIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja, v. 8, p. 65 -69, 215 p., 2013.

BRITO, R.S.; FERREIRA, F.; LOURENÇO, N. D.; PINHEIRO, H. M.; MATOS, J. S. *Espectrofotometria para monitorização da qualidade de água residual em drenagem urbana*. Revista Recursos Hídricos, v. 34, n. 1, 5-16, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. *Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*. Brasília, 2011.

BRYN, L. M. *Página dinâmica para aprendizado do sensoriamento remoto*. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Sensoriamento Remoto), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

COSTA, A. B. *Água e Saúde*. 1ª ed., Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 115 p., 2010.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005. *Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências*. Brasília 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução N° 396, de 3 de abril de 2008. *Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências*. Brasília 2008. Disponível em: http://www.mma.gov.br/port/conama/legislacao/CONAMA_RES_CONS_2008_396.pdf

CUNHA, H. F. A.; LIMA, D. C. I.; BRITO, P. N. de F.; CUNHA, A. C. da; SILVEIRA JUNIOR, A. M. da; BRITO, D. C. *Qualidade físico-química e microbiológica de água mineral e padrões da legislação*. *Ambi-Agua*, Taubaté, v. 7, n. 3, p. 155-165, 2012.

DOMINGUEZ, M. A.; CENTURIÓN, M. E. *Application of digital images to determine color in honey samples from Argentina*. *Microchemical Journal*. v.118, p. 110-114, 2015.

FRAIGE, K.; CRESPILO, F. N.; REZENDE, M. O. O. *Determinação de zinco em solo utilizando colorimetria*. *Química Nova*, v, 30, n. 3, 588-591, 2007.

FREITAS, V. P. S.; BRÍGIDO, B. M.; BADOLATO, M. I. C.; ALABURDA, J. *Padrão físico-químico da água de abastecimento público da região de Campinas*. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 61, n. 1, p. 51-58, 2002.

FUNASA – Fundação Nacional de Saúde. *Manual prático de análise de água*. Brasília: Funasa, 145 p., 2009.

GAIÃO, E. N.; MARTINS, V. L.; LYRA, W. S.; ALMEIDA, L. F.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U. *Digital image-based titrations*. *Analytica Chimica Acta*. v. 570, p. 283-290, 2006.

GOMES, M.S.; TREVIZAN, L. C.; NÓBREGA, J. A.; KAMOGAWA, M. Y. *Uso de scanner em espectrofotometria de absorção molecular: aplicação em experimento didático enfocando a determinação de ácido ascórbico*. *Química Nova*, v. 31, n. 6, p. 1577-1581, 2008.

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

GONZÁLEZ, W. J. G.; FLÓRES, J. J. M.; LONDOÑO, S. M. P. *Análisis del procesamiento de los datos de entrada para un localizador de fallas en sistemas de distribución*. *Tectura*, v. 18, n. 41, p. 64-75, 2014.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. *Princípios de Análise Instrumental*. 6^a ed., Porto Alegre: Bookman, 2009.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia Brasil. *Orientações sobre validação de Métodos Analíticos*. 2010. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_04.pdf

LIMA, L. A. *Dossiê Técnico: Água potável*. Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico - CDT/UnB, 2012.

LIMA M. B.; ANDRADE, S. I. E.; BARRETO, I. S.; ALMEIDA, L. F.; ARAÚJO, M. C. U. *A digital image-based micro-flow-batch analyzer*. *Microchemical Journal*. v. 106, p. 238-243, 2013.

LEÃO, A. C. *Gerenciamento de cores para imagens digitais*. Dissertação (Curso de Mestrado em Artes Visuais da Escola de Belas Artes), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

LEÃO, A. C.; SOUZA, L. A. C.; ARAÚJO, A. de A. *Gerenciamento de cores – ferramenta fundamental para a documentação digital de bens culturais*. *Revista Brasileira de Arqueometria, Restauração e Conservação*. Vol.1, No.4, p. 215 – 220, 2007.

LYRA, W. S. *Espectrometria de Emissão em Chama Baseada em Imagens Digitais*. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

LYRA, W. S.; SANTOS, V. B.; DIONÍZIO, A. G. G.; MARTINS, V. L.; ALMEIDA, L. F.; GAIÃO, E. N.; DINIZ, P. H. G. D.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U. *Digital image-base d flame emission spectrometry*. *Talanta*. v. 77, p. 1584-1589, 2009.

MACHADO, A.W.; SOUKI, B. Q. *Simplificando a obtenção e a utilização de imagens digitais - scanners e câmeras digitais*. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial*, Maringá, v. 9, n. 4, p. 133-156, 2004.

MICHA, D. N.; PENELLO, G. M.; KAWABATA, R. M. S.; CAMAROTTI, T. “*Vendo o invisível*”. *Experimentos de visualização do infravermelho feitos com materiais simples e de baixo custo*. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, v. 33, n. 1, 1501, 2011.

MONEMI, N.; RAMANATHAN, K.; LARSSON, P. O.; DANIELSSON, B.; BENGMARK, S.; KHAYYAMI, M. *CCD-camera based capillary chemiluminescent detection of retinol binding protein*. *Analytica Chimica Acta*, v. 387, n. 1, p. 21-27, 1999.

MORAIS, C. L. M.; LIMA, K. M. G. *A colorimetric microwell method using a desktop scanner for biochemical assays*. *Talanta*. v. 126, p. 145-150, 2014.

MOTTER, J.; MOYSES, S. T.; FRANÇA, B. H. S; CARVALHO, M. L.; MOYSÉS, S. J. *Análise da concentração de flúor na água em Curitiba, Brasil: comparação entre técnicas*. *Revista Panam Salud Publica*. v.29, n.2, p.120–125, 2011.

NASCIMENTO, J. A.; DIONÍSIO, A. G. G.; NASCIMENTO, E. C. L. do; FREITAS, S. K. B.; DE ARAÚJO, M. C. U. *Análise screening de vinhos empregando um analisador fluxo-batelada, espectroscopia uv-vis e quimiometria*. *Química Nova*, João Pessoa, v. 33, p. 351-357, 2010.

OLIVEIRA, L. F. *Uso de imagens digitais e ferramentas quimiométricas para identificação e determinação de CR (VI) em solos contaminados*. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.

OLIVEIRA, L. F.; CANEVARI, N. T.; GUERRA, M. B. B.; PEREIRA, F. M. V.; SCHAEFER, C. E. G. R.; PEREIRA-FILHO, E. R. *Proposition of a simple method for chromium (VI) determination in soils from remote places applying digital images: A case study from Brazilian Antarctic Station*. *Microchemical Journal*, v.109, p. 165-169, 2013.

OLIVEIRA, L. F. C. de. *Espectroscopia molecular*. Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, São Paulo, Cadernos Temáticos, n. 4, 2001.

PARRON, L. M.; MUNIZ, D. H. de F.; PEREIRA, C. M. *Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água*. Colombo, Paraná, p. 69, 2011.

PEREIRA, A. R. P.; DA SILVA, M. J. DE S. F.; OLIVEIRA, J. A. DOS S. *Análise química de pigmentos minerais naturais de Itabirito (MG)*. *Cerâmica*, Minas Gerais, v.53, p. 35-41, 2007.

POHLING, R. *Reações Químicas na Análise de Água*. 1ª edição, Fortaleza: Editora Arte Visual, 334 p, 2009.

RODRIGUES, S. V.; ARAÚJO, G. M.; OLIVEIRA, A. P. M.; VIANA, M. B. *Qualidade da água consumida pela população do povoado do baracho em Sobral –CE no período de estiagem*. XX Simpósio brasileiro de recursos hídricos, Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul, 2013.

SANTOS, A. R. dos. *Metodologia científica: a construção do conhecimento*. 3. ed., Rio de Janeiro: DP&A, 139 p., 2000.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Princípios de Análise Instrumental*. 5ª ed., Porto Alegre: Bookman, 2002.

SOUTO, R. P. *Segmentação de imagem multiespectral utilizando-se o atributo matiz*. Dissertação (Pós-Graduação em Sensoriamento Remoto), Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 2003.

SOUZA, F. R.; DUARTE JUNIOR, G. F.; GARCIA, P. T.; COLTRO, W. K. T. *Avaliação de dispositivos de captura de imagens digitais para detecção colorimétrica em microzonas impressas*. *Química Nova*, v. 37, n. 7, p. 1171-1176, 2014.

TÔRRES, A. R.; LYRA, W. S.; ANDRADE, S. I. E.; ANDRADE, R. A. N.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U.; GAIÃO, E. N. *A digital image-based method for determining of total acidity in red wines using acid–base titration without indicator*. *Talanta*. v. 84, p. 601-606, 2011.

VON SPERLING, M. *Estudos e Modelagem da Qualidade da Água de Rios*. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

WANG, H.; WANG, Y.; JIN, J.; YANG, R. *Gold Nanoparticle-Based Colorimetric and “Turn-On” Fluorescent Probe for Mercury(II) Ions in Aqueous Solution*. *Analytical Chemistry*, v. 80, n. 23, p. 9021–9028, 2008.

WETZEL, R.G. *Limnologia*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 919 p, 1993.

YAMAGUCHI, M. U.; CORTEZ, L. E. R.; OTTONI, L. C. C.; JOYAMA, J. *Qualidade microbiológica da água para consumo humano em instituição de ensino de Maringá-PR*. O Mundo da Saúde, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 312-320, 2013.

ANEXO A - Trecho do programa desenvolvido no Matlab que ativa a *webcam* e determina os parâmetros para captura da imagem da amostra.

```
%Função responsável por ativar a webcam
function ligarcam
clc;
disp('Ligando a Webcam')
global video;
video = videoinput('winvideo', 2, 'YUY2_640x480'); %YUY2_640x480
video.FramesPerTrigger = 1;
video.ReturnedColorSpace = 'RGB'; % Modelo de cor da imagem
video.ROIPosition=[250 160 45 45 ]; % Posicionamento da área de captura
da câmera
%Abre a image para ver simultâneo o video e a captura
subplot(221)
axis([-10 100 -10 100]) % Dimensões da imagem na tela
h1 = image; % criando a image
axis ij;
preview(video,h1) % Mostra a imagem
```

ANEXO B- Trecho do programa desenvolvido no Matlab referente a área de calibração.

```

%Função responsável por analisar a amostra de branco
function analisebranco_Callback(hObject, eventdata, handles)
disp('Executando Análise')
global video;
amostra=0;
while(amostra~=2)
    %número ciclos
    amostra=amostra+1;
    % Defini tempo entre ciclos
    pause(1);
    % Plota Imagem Capturada na tela
    subplot(322)
    axis([100 200 100 200], 'square');
    axis off;
    imagem = getsnapshot(video); %Captura um frame
    image(imagem);
    %title('Imagem Capturada')
    %Salva imagem no arquivo
    imwrite(imagem,'C:\Users\Documents\MATLAB\branco.jpg');
    %início da análise de cor
    f=imread('C:\Users\Documents\MATLAB\branco.jpg');
    % Decompõe imagem RGB
    fR = f(:, :, 1); % Matriz Vermelha
    fG = f(:, :, 2); % Matriz Verde
    fB = f(:, :, 3); % Matriz Azul
    % Média da componente R
    brancoR = mean2(fR);
    % Média da componente G
    brancoG = mean2(fG);
    % Média da componente B
    brancoB = mean2(fB);
    % Calculo do valor de branco para os dados de V(RGB)
    brancoVRGB = sqrt((brancoR^2)+(brancoG^2)+(brancoB^2));
    % Calculo do valor de branco para os dados de Soma(RGB)
    brancoSomaRGB = brancoR+brancoG+brancoB;
    vetorbranco=[brancoR,brancoG,brancoB,brancoVRGB,brancoSomaRGB];
end
set(handles.valorbrancoR,'string',brancoR);
set(handles.valorbrancoG,'string',brancoG);
set(handles.valorbrancoB,'string',brancoB);
nome=strcat('C:\Users\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx');
xlswrite(nome,vetorbranco,'Valor da Analise','B2');

%Função responsável por analisar a amostra 1
function amostral_Callback(hObject, eventdata, handles)
disp('Executando Análise')
global video;
amostra=0;
while(amostra~=2)
    %número ciclos
    amostra=amostra+1;
    % Defini tempo entre ciclos
    pause(1);
    % Plota Imagem Capturada na tela

```

```

subplot(322)
axis([100 200 100 200], 'square')
axis off;
imagem = getsnapshot(video); %Captura um frame
image(imagem);
%title('Imagem Capturada')
%Salva imagem no arquivo
imwrite(imagem,'C:\Users\Documents\MATLAB\amostral.jpg');
%início da análise de cor
f=imread('C:\Users\Documents\MATLAB\amostral.jpg');
% Decompõe imagem RGB
fR = f(:, :, 1); % Matriz Vermelha
fG = f(:, :, 2); % Matriz Verde
fB = f(:, :, 3); % Matriz Azul
% Média da componente R
mediaR = mean2(fR);
% Média da componente G
mediaG = mean2(fG);
% Média da componente B
mediaB = mean2(fB);
% Cálculo do valor de cor pelo método do vetor resultante de RGB -
V(RGR)
VetorRGB = sqrt((mediaR^2)+(mediaG^2)+(mediaB^2));
% Cálculo do valor de cor utilizando a soma das componentes de cor
RGB
SomaRGB = mediaR+mediaG+mediaB;
vetoramostral=[mediaR,mediaG,mediaB,VetorRGB,SomaRGB];
disp(vetoramostral)
end
concentracaoamostral=get(handles.concentracao1,'string');
concentracaoamostral=str2double(concentracaoamostral);
nome=strcat('C:\Users\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx');
xlswrite(nome,vetoramostral,'Valor da Analise','B3');
xlswrite(nome,concentracaoamostral,'Valor da Analise','G3');

```

%Função responsável por analisar a amostra 2

```

function amostra2_Callback(hObject, eventdata, handles)
disp('Executando Análise')
global video;
amostra=0;
while(amostra~=2)
    %número ciclos
    amostra=amostra+1;
    % Defini tempo entre ciclos
    pause(1);
    % Plota Imagem Capturada na tela
    subplot(322)
    axis([100 200 100 200], 'square')
    axis off;
    imagem = getsnapshot(video); %Captura um frame
    image(imagem);
    %title('Imagem Capturada')
    %Salva imagem no arquivo
    imwrite(imagem,'C:\Users\Documents\MATLAB\amostra2.jpg');
    %início da análise de cor
    f=imread('C:\Users\Documents\MATLAB\amostra2.jpg');
    % Decompõe imagem RGB
    fR = f(:, :, 1); % Matriz Vermelha
    fG = f(:, :, 2); % Matriz Verde
    fB = f(:, :, 3); % Matriz Azul

```

```

    % Média da componente R
    mediaR = mean2(fR);
    % Média da componente G
    mediaG = mean2(fG);
    % Média da componente B
    mediaB = mean2(fB);
    % Calculo do valor de cor pelo método do vetor resultante de RGB -
V(RGR)
    VetorRGB = sqrt((mediaR^2)+(mediaG^2)+(mediaB^2));
    % Calculo do valor de cor utilizando a soma das componentes de cor
RGB
    SomaRGB = mediaR+mediaG+mediaB;
    vetoramostra2=[mediaR,mediaG,mediaB,VetorRGB,SomaRGB];
    disp(vetoramostra2)
end
concentracaoamostra2=get(handles.concentracao2,'string');
concentracaoamostra2=str2double(concentracaoamostra2);

nome=strcat('C:\Users\IFSul\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx');
xlswrite(nome,vetoramostra2,'Valor da Analise','B4');
xlswrite(nome,concentracaoamostra2,'Valor da Analise','G4');

% --- Executes on button press in amostra3.
function amostra3_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to amostra3 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
disp('Executando Análise')
global video;
amostra=0;
while(amostra~=2)
    %número ciclos
    amostra=amostra+1;
    % Defini tempo entre ciclos
    pause(1);
    % Plota Imagem Capturada na tela
    subplot(322)
    axis([100 200 100 200], 'square')
    axis off;
    imagem = getsnapshot(video); %Captura um frame
    image(imagem);
    %title('Imagem Capturada')
    %Salva imagem no arquivo
    imwrite(imagem,'C:\Users\Documents\MATLAB\amostra3.jpg');
    %início da análise de cor
    f=imread('C:\Users\Documents\MATLAB\amostra3.jpg');
    % Decompõe imagem RGB
    fR = f(:, :, 1); % Matriz Vermelha
    fG = f(:, :, 2); % Matriz Verde
    fB = f(:, :, 3); % Matriz Azul
    % Média da componente R
    mediaR = mean2(fR);
    % Média da componente G
    mediaG = mean2(fG);
    % Média da componente B
    mediaB = mean2(fB);
    % Calculo do valor de cor pelo método do vetor resultante de RGB -
V(RGR)
    VetorRGB = sqrt((mediaR^2)+(mediaG^2)+(mediaB^2));

```

```

    % Calculo do valor de cor utilizando a soma das componentes de cor
    RGB
    SomaRGB = mediaR+mediaG+mediaB;
    vetoramostra3=[mediaR,mediaG,mediaB,VetorRGB,SomaRGB];
    disp(vetoramostra3)
end
    concentracaoamostra3=get(handles.concentracao3,'string');
    concentracaoamostra3=str2double(concentracaoamostra3);
    nome=strcat('C:\Users\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx');
    xlswrite(nome,vetoramostra3,'Valor da Analise','B5');
    xlswrite(nome,concentracaoamostra3,'Valor da Analise','G5');

% --- Executes on button press in amostra4.
function amostra4_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to amostra4 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
disp('Executando Análise')
global video;
amostra=0;
while(amostra~=2)
    %número ciclos
    amostra=amostra+1;
    % Defini tempo entre ciclos
    pause(1);
    % Plota Imagem Capturada na tela
    subplot(322)
    axis([100 200 100 200], 'square')
    axis off;
    imagem = getsnapshot(video); %Captura um frame
    image(imagem);
    %title('Imagem Capturada')
    %Salva imagem no arquivo
    imwrite(imagem,'C:\Users\Documents\MATLAB\amostra4.jpg');
    %início da análise de cor
    f=imread('C:\Users\Documents\MATLAB\amostra4.jpg');
    % Decompõe imagem RGB
    fR = f(:, :, 1); % Matriz Vermelha
    fG = f(:, :, 2); % Matriz Verde
    fB = f(:, :, 3); % Matriz Azul
    % Média da componente R
    mediaR = mean2(fR);
    % Média da componente G
    mediaG = mean2(fG);
    % Média da componente B
    mediaB = mean2(fB);
    % Calculo do valor de cor pelo método do vetor resultante de RGB -
    V(RGR)
    VetorRGB = sqrt((mediaR^2)+(mediaG^2)+(mediaB^2));
    % Calculo do valor de cor utilizando a soma das componentes de cor
    RGB
    SomaRGB = mediaR+mediaG+mediaB;
    vetoramostra4=[mediaR,mediaG,mediaB,VetorRGB,SomaRGB];
    disp(vetoramostra4)
end
    concentracaoamostra4=get(handles.concentracao4,'string');
    concentracaoamostra4=str2double(concentracaoamostra4);
    nome=strcat('C:\Users\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx');
    xlswrite(nome,vetoramostra4,'Valor da Analise','B6');
    xlswrite(nome,concentracaoamostra4,'Valor da Analise','G6');

```

```

% --- Executes on button press in amostra5.
function amostra5_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to amostra5 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
disp('Executando Análise')
global video;
amostra=0;
while(amostra~=2)
    %número ciclos
    amostra=amostra+1;
    % Defini tempo entre ciclos
    pause(1);
    % Plota Imagem Capturada na tela
    subplot(322)
    axis([100 200 100 200], 'square')
    axis off;
    imagem = getsnapshot(video); %Captura um frame
    image(imagem);
    %title('Imagem Capturada')
    %Salva imagem no arquivo
    imwrite(imagem,'C:\Users\Documents\MATLAB\amostra5.jpg');
    %início da análise de cor
    f=imread('C:\Users\Gelson\Documents\MATLAB\amostra5.jpg');
    % Decomposição imagem RGB
    fR = f(:, :, 1); % Matriz Vermelha
    fG = f(:, :, 2); % Matriz Verde
    fB = f(:, :, 3); % Matriz Azul
    % Média da componente R
    mediaR = mean2(fR);
    % Média da componente G
    mediaG = mean2(fG);
    % Média da componente B
    mediaB = mean2(fB);
    % Calculo do valor de cor pelo método do vetor resultante de RGB -
V(RGR)
    VetorRGB = sqrt((mediaR^2)+(mediaG^2)+(mediaB^2));
    % Calculo do valor de cor utilizando a soma das componentes de cor
RGB
    SomaRGB = mediaR+mediaG+mediaB;
    vetoramostra5=[mediaR,mediaG,mediaB,VetorRGB,SomaRGB];
    disp(vetoramostra5)
end
    concentracaoamostra5=get(handles.concentracao5,'string');
    concentracaoamostra5=str2double(concentracaoamostra5);
    nome=strcat('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx');
    xlswrite(nome,vetoramostra5,'Valor da Analise','B7');
    xlswrite(nome,concentracaoamostra5,'Valor da Analise','G7');

% --- Executes on button press in gerarequacaodareta.
function gerarequacaodareta_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to gerarequacaodareta (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
global aReta;
global bReta;
global rReta;
global maximo;

```

```

global minimo;
format short
vetorr= xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da
Analise','B23:B27');
rR = vetorr(1);
rG = vetorr(2);
rB = vetorr(3);
rVetor = vetorr(4);
rSoma = vetorr(5);
% Definindo reta com menor desvio padrão (maior "R")entre
% mediaR,mediaG,mediaB,VetorRGB e SomaRGB
maiorR=max(rR,rG);
maiorR=max(maiorR,rB);
maiorR=max(maiorR,rVetor);
maiorR=max(maiorR,rSoma);
if (maiorR==rR)
    aReta = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','B21');
    bReta = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','C21');
    maximo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','H9');
    minimo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','H10');
    rReta=1;
end
if (maiorR==rG)
    aReta = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','E21');
    bReta = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','F21');
    maximo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','J9');
    minimo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','J10');
    rReta=2;
end
if (maiorR==rB)
    aReta = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','H21');
    bReta = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','I21');
    maximo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','L9');
    minimo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','L10');
    rReta=3;
end
if (maiorR==rVetor)
    aReta = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','K21');
    bReta = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','L21');
    maximo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','N9');
    minimo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','N10');
    rReta=4;
end

```



```
if (maiorR==rSoma)
    aReta = xlsread('C:\Users\Gelson
IFSul\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da
Analise','N20');
    bReta = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','O20');
    maximo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','P9');
    minimo = xlsread('C:\Users\Gelson
\Documents\MATLAB\analises\calibracao.xlsx','Valor da Analise','P10');
    rReta=5;
end
disp(rReta)
disp(aReta)
disp(bReta)
```

ANEXO C- Trecho do programa desenvolvido no Matlab referente a área de análise

```

function analisaramostra_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to analisaramostra (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
disp('Executando Análise')
global video;
global rReta;
global aReta;
global bReta;
global maximo;
global minimo;
amostra=0;
while(amostra~=1)
    %número ciclos
    amostra=amostra+1;
    % Defini tempo entre ciclos
    pause(1);
    % Plota Imagem Capturada na tela
    subplot(322)
    axis([100 200 100 200], 'square')
    axis off;
    imagem = getsnapshot(video); %Captura um frame
    image(imagem);
    %title('Imagem Capturada')
    %Salva imagem no arquivo
    imwrite(imagem,'C:\Users\Documents\MATLAB\A.jpg');
    %início da análise de cor
    f=imread('C:\Users\Documents\MATLAB\A.jpg');
    % Decompõe imagem valordaconcentracao
    fR = f(:, :, 1); % Matriz Vermelha
    fG = f(:, :, 2); % Matriz Verde
    fB = f(:, :, 3); % Matriz Azul
    % Calculo da concentração das amostras
    mediaR = mean2(fR);
    if (rReta==1)
        mediaRnormalizada =((1/mediaR)-minimo)/(maximo-minimo);
        concentracao = (mediaRnormalizada - bReta)/aReta;
        valordecor = mediaR;
    end
    % Média da componente G
    mediaG = mean2(fG);
    if (rReta==2)
        mediaGnormalizada =((1/mediaG)-minimo)/(maximo-minimo);
        concentracao = (mediaGnormalizada - bReta)/aReta;
        valordecor = mediaG;
    end
    % Média da componente B
    mediaB = mean2(fB);
    if (rReta==3)
        mediaBnormalizada =((1/mediaB)-minimo)/(maximo-minimo);
        concentracao = (mediaBnormalizada - bReta)/aReta;
        valordecor = mediaB;
    end
    % Definindo "menor" valor da componte de cor entre RGB
    m=min(mediaR,mediaG);

```

```

m=min(m,mediaB);
% Definindo "maior" valor da componente de cor entre RGB
M=max(mediaR,mediaG);
M=max(M,mediaB);
% Definindo Cor da Análise
% Escreve na interface concentração de Azul
if (M == mediaR)
    set(handles.valordecor,'string','Vermelho');
end
% Escreve na interface concentração de Azul
if (M == mediaG)
    set(handles.valordecor,'string','Verde');
end
% Escreve na interface concentração de Azul
if (M == mediaB)
    set(handles.valordecor,'string','Azul');
end
% Calculo da concentração da amostra pelo método do vetor resultante
de RGB - V(RGR)
if (rReta==4)
    VetorRGB = sqrt((mediaR^2)+(mediaG^2)+(mediaB^2));
    VetorRGBnormalizado =((1/VetorRGB)-minimo)/(maximo-minimo);
    concentracao = (VetorRGBnormalizado - bReta)/aReta;
    valordecor = VetorRGB;
end
% Calculo da concentração da amostra utilizando a soma das
componentes de cor RGB
if (rReta==5)
    SomaRGB = mediaR+mediaG+mediaB;
    SomaRGBnormalizado =((1/SomaRGB)-minimo)/(maximo-minimo);
    concentracao = (SomaRGBnormalizado - bReta)/aReta;
    valordecor = SomaRGB;
end
% Fim
end
set(handles.valorconcentracao,'string',concentracao);
nome=datestr(now,'dd_mm_yyyy HH_MM');
nome=strcat('C:\Users\Documents\MATLAB\analises\',nome, '.xls');
xlswrite(nome,'Concentracao','Valor da Analise','A1');
xlswrite(nome,concentracao,'Valor da Analise','B2');
xlswrite(nome,valordecor,'Valor da Analise','B3');

```