

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

Fernanda Carla Böck

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE ANÁLISE DE SUPERFÍCIE  
E CALIBRAÇÃO UTILIZANDO IMAGENS DIGITAIS**

Santa Cruz do Sul

2016

Fernanda Carla Böck

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE ANÁLISE DE SUPERFÍCIE  
E CALIBRAÇÃO UTILIZANDO IMAGENS DIGITAIS**

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

Orientador: Prof. Dr. Adilson Ben da Costa


Santa Cruz do Sul

2016


Fernanda Carla Böck

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE ANÁLISE DE SUPERFÍCIE E  
CALIBRAÇÃO UTILIZANDO IMAGENS DIGITAIS

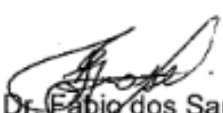
Esta Dissertação foi submetida ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas e Processos Industriais – Mestrado – Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Sistemas e Processos Industriais.



Dr. Adilson Ben da Costa  
Professor Orientador



Dr. Rolf Fredi Molz  
Examinador - UNISC



Dr. Fábio dos Santos Grasel  
Examinador - TANAC

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por sempre guiar meus passos, pela sabedoria e discernimento necessários para chegar ao final deste trabalho.

Aos meus pais Neli e Edio, e ao meu irmão Evandro, por todo carinho, paciência, compreensão e palavras de incentivo e motivação que recebi durante minha formação enquanto pessoa. Obrigada pelo amor incondicional!

Ao meu namorado Guilherme, por ser tão importante na minha vida. Sempre a meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Devido a seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado.

Ao professor orientador Dr. Adilson Ben da Costa pela paciência, ensinamentos, dedicação, competência e especial atenção nas revisões e sugestões, fatores fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Ao prof. Gilson Augusto Helfer que sempre esteve disponível para auxiliar no desenvolvimento do trabalho, a Aline Teichmann pela disposição em auxiliar na revisão do trabalho.

Aos professores do PPGSPI que de alguma forma contribuíram para o crescimento do meu conhecimento.

Às funcionárias do PPGSPI Janaína Haas e Carla Viviane de Oliveira pela disponibilidade em auxiliar sempre que necessário.

Aos colegas do PPGSPI, que compartilharam conhecimento e horas de estudo.

À Capes, pelo apoio financeiro.

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

## RESUMO

No presente trabalho foram estudados métodos de análise de imagens, como análise multivariada de imagens visando classificar um conjunto de amostras de painéis de média densidade (MDF do inglês *Medium Density Fiberboard*), e amostras de placas de mármore e granitos. Para a análise com MDF, foram coletadas 57 amostras na forma de mostruários comerciais de diferentes fornecedores, a fim de se obter espécies semelhantes de MDF de diferentes origens, para a análise de componentes principais. As imagens das amostras foram capturadas através de uma impressora multifuncional dotada de um escâner de mesa e processadas através do software CHEMOSTAT<sup>®</sup>. Já para a análise de mármore e granitos, as imagens foram adquiridas na marmoraria diretamente nas placas, através de um escâner de mão, e processadas através do software SOLO<sup>®</sup>+MIA (Eigenvector Research, Inc.). Também foi testada a utilização de análise univariada de imagens utilizando um aplicativo de celular denominado PhotoMetrix para a construção de curvas de calibração, e quantificação de analito nas amostras. Este aplicativo foi testado na determinação de ferro em amostras de suplemento vitamínico a base de sulfato ferroso e nitrito em amostras de água, aplicando metodologias adaptadas de ASTM E 394 (2004) e APHA (2005), respectivamente. As metodologias estudadas apresentaram resultados satisfatórios, podendo identificar a semelhança e a relação de agrupamentos formados pelas amostras de MDF a partir da reprodução do gráfico de *scores* com as imagens impressas, e classificação das amostras de granitos através da análise de componentes principais de imagens. Também permitiu a quantificação dos analitos nas amostras estudadas, com a utilização de um aplicativo de celular, no entanto problemas com interferências foram identificadas nas determinações de nitrito em água.

Desta forma, os resultados produzidos no desenvolvimento desta dissertação de mestrado contribuíram para o desenvolvimento do Grupo de Pesquisa em Quimiometria da UNISC, especialmente na área de análise de imagens, uma vez que os resultados aqui produzidos foram utilizados na avaliação e aperfeiçoamento dos softwares CHEMOSTAT<sup>®</sup> e PhotoMetrix, que resultou na produção de três artigos (dois já publicados), e no encaminhamento do registro destes softwares junto ao INPI.

**Palavras-chave:** Análise multivariada de imagens, PCA, Calibração univariada

## ABSTRACT

In this work were studied image analysis methods, such as multivariate analysis of images to classify a set of medium density fiberboard samples (MDF), and samples of marble and granite. For the analysis of MDF, were collected 57 samples in the form of trade showcases from different vendors, in the order to obtain similar kinds of MDF from different origins, to principal component analysis. The image captured of the samples through a multifunctional printer provided with a scanner and processed through CHEMOSTAT® software. To the analysis of marble and granite, the images were acquired in the marble factory directly on the plates by means of a hand-held scanner, and processed through SOLO®+MIA software (Eigenvector Research, Inc.). Was also tested the use of univariate analysis of images using a mobile application called PhotoMetrix for the construction of calibration curves, and quantification of analyte in samples. This application has been tested on the determination of iron in samples of vitamin supplement the base of ferrous sulphate and nitrite in water samples, applying methods adapted from ASTM E 394 (2004) and APHA (2005), respectively. The methodologies studied showed satisfactory results, and may identify the similarity and the relationship of groups formed by the MDF samples from the graphic reproduction of scores with images printed, and classification of granite samples by principal component analysis of images. Also allowed the quantification of analytes in the samples studied, with the use of a mobile application, however were identified problems with interference in the determination of nitrite in water. In this way, the results produced in the development of this master thesis contributed to the development of the research group on Chemometrics of UNISC, especially in the area of analysis, since the results produced were used in evaluation and improvement of CHEMOSTAT® software and PhotoMetrix, which resulted in the production of three articles (two already published), and in the registry of these software with the INPI.

**Keywords:** Multivariate image analysis, PCA, Univariate calibration.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplo de pré-processamento de dados para 4 variáveis fictícias: dados originais, dados centrados na média e dados autoescalados.....	18
Figura 2. Decomposição de uma matriz X com N linhas e K colunas em vetores de <i>scores</i> (t) e <i>loadings</i> (p) e uma matriz de erros E. ....	19
Figura 3. Representação de uma Componente Principal (CP) no caso de duas variáveis...	20
Figura 4 – Representação gráfica do espaço de cores do modelo RGB.....	25
Figura 5. Hexágono representando modelo de cores HSV.....	26
Figura 6. Representação gráfica do modelo de cor HSI.....	27
Figura 7. Representação do modelo de cor HSL.....	28
Figura 8. Esquema de aquisição de imagens com escâner para MDF.....	30
Figura 9. Esquema de aquisição das imagens de mármore e granito.....	31
Figura 10. Esquema das etapas para realizar análise de componentes principais em amostras de MDF. ....	32
Figura 11. Esquema das etapas para realizar análise de componentes principais em amostras de mármore e granito por textura. ....	34
Figura 12. Representação da captura das imagens para análise.....	36
Figura 13. Reação de complexação do ferro pela o-fenantrolina.....	37
Figura 14. Amostras de suplementos vitamínicos analisados neste estudo.....	38
Figura 15. Mecanismo de reação usado no método Griess. ....	40
Figura 16. Relação de amostras de MDF utilizadas no estudo.....	43
Figura 17. Gráfico de <i>scores</i> PC1 x PC2 das amostras de MDF.....	44
Figura 18. Gráfico de <i>loadings</i> da PC1 das amostras de MDF. ....	45
Figura 19. Gráfico de <i>loadings</i> da PC2 das amostras de MDF. ....	46
Figura 20. Representação com imagens do gráfico de <i>scores</i> da PC1 x PC2. ....	47
Figura 21. Relação de amostras de mármore e granito utilizadas no estudo.....	48
Figura 22. Gráfico de <i>scores</i> PC1 x PC2 das amostras de mármore e granito.....	49
Figura 23. Gráfico de <i>scores</i> PC1 x PC2 das amostras de mármore e granito pela análise por textura.....	50
Figura 24. Representação da forma de determinação das regiões de interesse para análise de componentes principais. ....	51

Figura 25. Relação das regiões de interesse selecionadas das amostras de granitos utilizadas no estudo. ....	52
Figura 26. Gráfico de <i>scores</i> PC1 x PC2 das amostras de granito cinza.....	53
Figura 27. Gráfico de <i>scores</i> PC1 x PC2 das amostras de granito pela análise de textura. ....	55
Figura 28. Microplacas de polietileno tereftalato utilizadas para a aquisição das imagens	56
Figura 29. Curva de calibração microplaca de 6 cavidades para quantificação de Fe II....	57
Figura 30. Curva de calibração microplaca de 12 cavidades para quantificação de Fe II... ..	57
Figura 31. Curva de calibração microplaca de 24 cavidades para quantificação de Fe II... ..	58
Figura 32. Curva de calibração microplaca de 96 cavidades para quantificação de Fe II... ..	58
Figura 33. Curva de calibração de ferro obtida através de análise com espectrofotômetro.	59
Figura 34. Comparação dos resultados da determinação de ferro obtidos pelos dois métodos estudados.....	59
Figura 35. Microplacas de polietileno tereftalato utilizadas para a aquisição das imagens.	60
Figura 36. Curva de calibração microplaca de 6 cavidades para quantificação de NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> . ...	61
Figura 37. Curva de calibração microplaca de 12 cavidades para quantificação de NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> .	61
Figura 38. Curva de calibração microplaca de 24 cavidades para quantificação de NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> .	62
Figura 39. Curva de calibração microplaca de 96 cavidades para quantificação de NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> .	62
Figura 40. Curva de calibração de nitrito obtida através de análise com espectrofotômetro. ....	63
Figura 41. Comparação dos resultados da determinação de nitrito obtidos pelos dois métodos estudados.....	63



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA com amostras de MDF.....	44
Tabela 2. Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA com amostras de mármore e granitos.....	49
Tabela 3. Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA por textura com amostras de mármore e granitos. ....	50
Tabela 4. Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA com amostras granitos. ....	52
Tabela 5. Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA com amostras de granitos.....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANN	Redes Neurais Artificiais, do inglês, <i>Artificial Neural Networks</i>
CMYK	Ciano, magenta, amarelo, e preto, do inglês, <i>cyan, magenta yellow, e black (key)</i>
GA	Algoritmo Genético, do inglês, <i>Genetic Algorithms</i>
HCA	Análise por Agrupamento Hierárquico, do inglês, <i>Hierarchical Cluster Analysis</i>
HSI	Matiz, saturação e intensidade, do inglês, <i>hue, saturation e intensity</i>
HSL	Matiz, saturação e luminosidade, do inglês, <i>hue, saturation e luminance</i>
HSV	Matiz, saturação e valor, do inglês, <i>hue, saturation e value</i>
MDF	Painéis de Média Densidade, do inglês <i>Medium Density Fiberboard</i>
MIA	Análise Multivariada de Imagens, do inglês <i>Multivariate Image Analysis</i>
MLR	Regressão Linear Múltipla, do inglês <i>Multiple Linear Regression</i>
N-PLS	Quadrados Mínimos Parciais Não Lineares, do inglês <i>Multilinear Partial Least Squares</i>
PC	Componentes Principais, do inglês <i>Principal Components</i>
PCA	Análise por Componentes Principais, do inglês <i>Principal components Analysis</i>
PCR	Regressão por Componentes Principais, do inglês <i>Principal Components Regression</i>
PLS	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais, do inglês <i>Partial Least Squares</i>
RGB	Vermelho, Verde e Azul, do inglês <i>Red, Green, Blue</i>

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
3.1 Análise multivariada de dados.....	15
3.1.1 Planejamento e otimização de experimentos.....	16
3.1.2 Pré-processamento.....	17
3.1.3 Reconhecimento de padrões.....	19
3.2 Métodos de calibração.....	22
3.3 Modelos de cor.....	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1 Análise Multivariada de Imagens.....	29
4.1.1 Amostragem.....	29
4.1.2 PCA de Imagens com amostras de MDF.....	31
4.1.3 PCA de imagens com amostras de mármore e granito.....	33
4.2 Análise Univariada de Imagens.....	35
4.2.1 Determinação de ferro em amostras de suplemento vitamínico.....	36
4.2.2 Determinação de nitrito em amostras de água.....	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
5.1 Análise multivariada de imagens com amostras de MDF.....	42
5.2 Análise multivariada de imagens com amostras de mármore e granito.....	47
5.3 Determinação de ferro em vitamina.....	55
5.4 Determinação de nitrito em água.....	60
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	65
7. REFERÊNCIAS.....	67

## 1. INTRODUÇÃO

Os recentes avanços nas tecnologias para aquisição e tratamento de imagens, bem como a popularização de equipamentos e aplicativos móveis para esta finalidade tem despertado interesse da comunidade científica para a utilização de imagens digitais em aplicações antes restritas a equipamentos específicos, como colorímetros, espectrofotômetros, fluorímetros (ANTONELLI *et al.*, 2004; BENASSI *et al.*, 2012; GALO e COLOMBO, 2009; SCRAMIN *et al.*, 2002).

Imagens digitais são compostas por pixels, podendo ser definidas por uma função bidimensional da intensidade de luz refletida ou emitida por uma cena, sendo definida como uma distribuição de energia luminosa, onde parte dessa energia é absorvida, parte transmitida e parte refletida, sendo então capturada por um dispositivo (AZEVEDO *et al.*, 2008; GOMES e VELHO, 2002; GONZALES e WOODS, 2008).

Após sua aquisição, diversas técnicas de processamento podem ser aplicadas para realçar a visualização de alguns aspectos presentes nas imagens, entre elas surge um maior interesse na análise de imagem associada às ferramentas de análise multivariada (ANTONELLI *et al.*, 2004; GODINHO *et al.*, 2008; LUPETTI *et al.*, 2005; MATOS *et al.*, 2003).

A análise multivariada de dados, através de ferramentas como a análise de componentes principais (PCA, do inglês, *Principal component analysis*), análise de agrupamento hierárquico (HCA, do inglês, *Hierarchical cluster analysis*), Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês, *Partial Least Squares*), permite extrair o máximo de informações de matrizes complexas, como as produzidas por imagens digitais (NASCIMENTO *et al.*, 2010).

Segundo Barros Neto *et al.* (2006) os estudos em quimiometria desenvolvidos no Brasil podem ser agrupados em três áreas principais: planejamento e otimização de experimento (onde os planejamentos mais usados são os fatoriais, completos ou fracionários e os compostos centrais), reconhecimento de padrões (métodos de análise exploratória e classificação) e calibração multivariada tendo como os métodos mais usados regressões por componentes principais (PCR, do inglês, *Principal components regression*), PLS, algoritmo genético (GA – *Genetic Algorithms*), redes neurais artificiais (ANN, do inglês, *Artificial neural networks*) e os mínimos quadrados parciais não lineares (N-PLS, do inglês, *Multilinear partial least squares*).

Neste sentido este trabalho busca investigar utilização de imagens digitais, através de métodos univariados e multivariados de análise, na análise qualitativa e quantitativa de materiais.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Implantar a técnica de análise univariada e multivariada de imagem no âmbito do Programa de Mestrado em Sistemas e Processos Industriais, através da aplicação de métodos quantitativos clássicos e métodos quimiométricos para a quantificação de analitos e análise de superfície.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Aplicar a análise multivariada de imagens na análise de superfície de materiais como placas MDF, mármore e granito;
- Aplicar a análise univariada de imagens na quantificação de analitos, utilizando o aplicativo Photometrix;
- Produzir subsídios para o desenvolvimento da área de quimiometria de imagens dentro do grupo de pesquisa em Quimiometria da Universidade de Santa Cruz do Sul.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A fundamentação teórica deste trabalho está dividida em 3 tópicos principais. Inicialmente serão apresentados os princípios fundamentais da análise multivariada de dados, posteriormente, são apresentados princípios de métodos de calibração, com ênfase em calibração de ordem zero, e por último são demonstrados modelos de cores utilizados para segregação de pixels.

#### 3.1 Análise multivariada de dados

A análise multivariada de dados consiste em um conjunto de técnicas matemáticas capazes de processar dados de diversas variáveis simultaneamente, considerando o efeito de cada variável sobre a amostra. Ela permite o agrupamento de amostras segundo sua maior similaridade, e a seleção de variáveis de maior importância na discriminação de grupos pré-selecionados (BENITES *et al.*, 2010; RODRIGUES e SELITTO, 2009; SOUZA e FERRÃO, 2006).

Na química, devido à grande quantidade de dados gerados nas análises, tem-se a necessidade de ferramentas matemáticas que consigam converter o máximo de informação útil dos grandes conjuntos de dados. A análise multivariada foi cada vez mais utilizada, resultando no surgimento e rápido desenvolvimento da quimiometria descrita como aplicação de ferramentas matemáticas e estatísticas à química, sendo atualmente considerada uma disciplina da química inserida na grade de diversos cursos de graduação (FERREIRA, 2015; SOUZA e POPPI, 2012).

Dentro das diversas subáreas da quimiometria podem ser citadas como principais o planejamento e otimização de experimento, pré-processamento, reconhecimento de padrões (método de análise exploratória e classificação) e calibração multivariada (BARROS NETO *et al.*, 2006; SOUZA e POPPI, 2012).

A análise multivariada de imagens (MIA, do inglês *multivariate image analysis*) pode ser aplicada para diferentes fins, tais como classificação, segmentação, detecção de defeitos e até mesmo previsão. A MIA está baseada em avaliar cada pixel da imagem com intensidades de cor RGB (Vermelho, verde e azul, do inglês, *red, green, blue*), transformando a imagem em uma matriz de valores RGB para posterior análise dos dados (PRATS-MONTALBÁN *et al.*, 2011).

A análise multivariada de imagens teve início utilizando a informação contida em um pixel individual, onde cada pixel presente na imagem era tratado como uma amostra, e as variáveis eram as intensidades de cor RGB. Porém quando o objetivo final da análise de imagem não é um objeto ou um segmento da imagem, mas sim usar toda ela para classificação ou previsão, tem-se a necessidade de avaliar cada imagem como uma amostra, levando em consideração todos seus pixels. Para isso deve-se transformar a imagem em uma matriz de dados, onde podem ser utilizados os modelos de cor RGB, Lab (um componente de luminosidade (L), e dois componentes de cromaticidade a= de verde a vermelho e b= de azul a amarelo), HSL (matiz, saturação e luminância, do inglês, *hue, saturation e luminance*) CMYK (ciano, magenta, amarelo e preto, do inglês, *cyan, magenta, yellow e black (key)*), entre outros (PRATS-MONTALBÁN *et al.*, 2011).

Recentemente, Damasceno *et al.* (2015) utilizaram análise multivariada de imagens para determinar o pH de águas potáveis, os autores utilizaram MIA-PLS para construir uma curva de calibração, e prever valores de pH a partir das imagens adquiridas. As imagens foram adquiridas com um escâner de mesa, onde as amostras foram colocadas em uma placa de cultura e então a placa foi escaneada, e as imagens foram processadas com o software GNU Octave usando o toolbox Image, e o toolbox Mvartool para a calibração multivariada.

Para a construção do modelo PLS os autores utilizaram 17 amostras de soluções tampões (pH 5 – 9,02), e 9 amostras de validação externa. Com os resultados obtidos foi possível prever os valores de pH das amostras conforme sua imagem, e os autores concluem que não há uma diferença significativa entre os valores medidos com pHmetro e os estimados através de MIA-PLS, podendo equivaler o método MIA-PLS ao método convencional para análise de águas potáveis (DAMASCENO *et al.*, 2015).

### **3.1.1 Planejamento e otimização de experimentos**

O planejamento e otimização de experimentos busca encontrar as variáveis que mais afetam um determinado processo, e suas interações. Consiste em projetar um experimento de forma que ele seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação que procuramos, melhorando assim o desempenho de um sistema, para fazer o planejamento precisamos saber em primeiro lugar o que se está procurando (BARROS NETO *et al.*, 2003; PEREIRA, 2014; POJIC *et al.*, 2015).



O primeiro passo para a realização do planejamento de experimentos, é a escolha das variáveis de entrada que deverão ser analisadas, após, devem ser escolhidas as variáveis de saída para serem monitoradas. Existem diversas técnicas de planejamento e otimização de experimentos, entre elas podemos citar planejamentos fracionários, planejamentos fatoriais completos, modelagem por mínimos quadrados, entre outros (BARROS NETO *et al.*, 2003; PIMENTA *et al.*, 2014; POJÍČ *et al.*, 2015).

O planejamento fatorial por exemplo, é utilizado em experimentos que envolvem diversos fatores, onde há o interesse sobre os efeitos de cada fator nos resultados. Para a execução do planejamento fatorial tem-se a necessidade de especificar os níveis de cada fator, o mais utilizado nesses casos é o chamado planejamento fatorial 2k, que utiliza k fatores de dois níveis cada (BARROS NETO *et al.*, 2003; PIMENTA *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2008).

Já o planejamento fracionário é útil em situações onde há um número elevado de variáveis e se deseja identificar as variáveis mais importantes para um sistema, isto pode implicar na realização de um elevado número de experimentos. Aplicando-se um planejamento fracionário é possível reduzir o número de experimentos e determinar as variáveis mais importantes para um determinado sistema em estudo (GRAZIANI, 2010).

### **3.1.2 Pré-processamento**

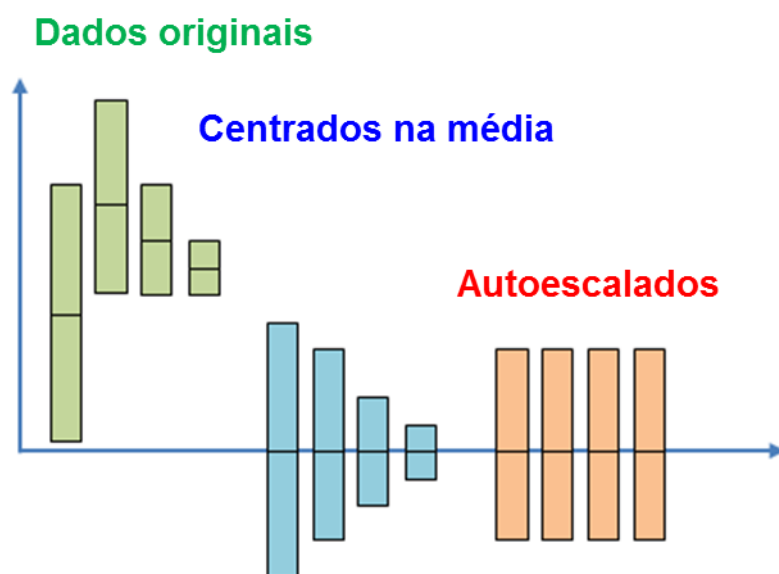
Após a coleta dos dados experimentais e a sua organização na forma de matriz, esses dados podem ter a necessidade de um pré-tratamento antes da análise quimiométrica. O pré-tratamento tem como objetivo reduzir variações indesejáveis que não foram removidas na coleta de dados, e que podem influenciar na análise dos resultados finais. Dentre as formas de pré-tratamento, existem aqueles que são aplicados nas amostras, ou seja, nas linhas da matriz, sendo então chamados de transformação, ou os aplicados nas variáveis, colunas da matriz, sendo então denominado pré-processamento (FERREIRA, 2015).

As técnicas de pré-processamento são utilizadas para reduzir ou remover fontes de variação irrelevantes, como por exemplo, ruídos, espalhamento de luz, entre outros. É uma operação orientada entre as variáveis para um conjunto de amostras de duas ou mais amostras, permitindo compará-las em diferentes dimensões (SOUZA e POPPI, 2012).

Dentre os pré-processamentos mais utilizados em análise multivariada destacam-se o processo de centrar na média e autoescalar os dados. O processo de centrá-los na média

(Figura 1), mais utilizado para dados espectrais, tem como objetivo prevenir que os pontos mais distantes do centro dos dados tenham maior influência que os mais próximos. Centrar os dados na média significa colocar todas as variáveis em zero (consiste em subtrair cada intensidade pelo respectivo valor médio), tendo como resultado uma translação de eixos para o valor médio de cada um deles, preservando a estrutura dos dados (BABAMORADI et al., 2013; FERREIRA, 2015; MATOS *et al.*,2003).

O autoescalamto é usado quando se quer dar a mesma importância a todas as variáveis, ou seja, quando as variáveis têm diferentes unidades, igualando o impacto de cada uma delas, minimizando o efeito de uma variável dominante. Autoescalar os dados representa centrar os dados na média e dividir pelo desvio-padrão (Figura 1) (FERREIRA, 2015; MATOS *et al.*,2003).



**Figura 1.** Exemplo de pré-processamento de dados para 4 variáveis fictícias: dados originais, dados centrados na média e dados autoescalados. As linhas horizontais representam as médias de cada variável.

Fonte: Adaptado de MATOS *et al.*, 2003

Muitas vezes a imagem digital obtida do processo de aquisição pode conter inúmeras imperfeições, havendo a necessidade do tratamento dessas imagens. O processamento e a análise de imagens baseiam-se na forma, textura, níveis de cinza ou nas cores dos objetos presentes nas imagens. Para a extração das informações e para a melhor visualização das imagens são aplicadas operações como redução de ruído, aumento de contraste, realce de imagem, entre outras (PEDRINI e SCHWARTZ, 2008; AZEVEDO *et al.*, 2008).

### 3.1.3 Reconhecimento de padrões

O reconhecimento de padrões é uma das principais técnicas usadas em análise multivariada, permite a análise de um elevado número de informações (medidas químicas ou espectrais, por exemplo) onde pretende-se encontrar agrupamento de amostras que são similares entre si, tendo como resultado a representação dos gráficos de uma maneira fácil de ser compreendida, e assim detectar tendência nos dados. Entre os métodos mais utilizados para reconhecimento de padrões pode-se destacar a análise por PCA (CORREIA e FERREIRA, 2007; LYRA *et al.*, 2010).

A PCA é a base para diversos métodos de reconhecimentos de padrões, classificação e calibração multivariada. Ela busca reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados original em um novo sistema de eixos, denominados componentes principais (PC, do inglês, *Principal component*), permitindo a visualização da natureza multivariada dos dados em poucas dimensões, preservando a maior quantidade de informação possível, ela normalmente é utilizada com objetivo de visualizar a estrutura dos dados, encontrar similaridade entre amostras, detectar amostras anômalas (AZILAWATI *et al.*, 2015; CHANDRASEKARAN *et al.*, 2015; SOUZA e POPPI, 2012; ZUNIN *et al.*, 2015).

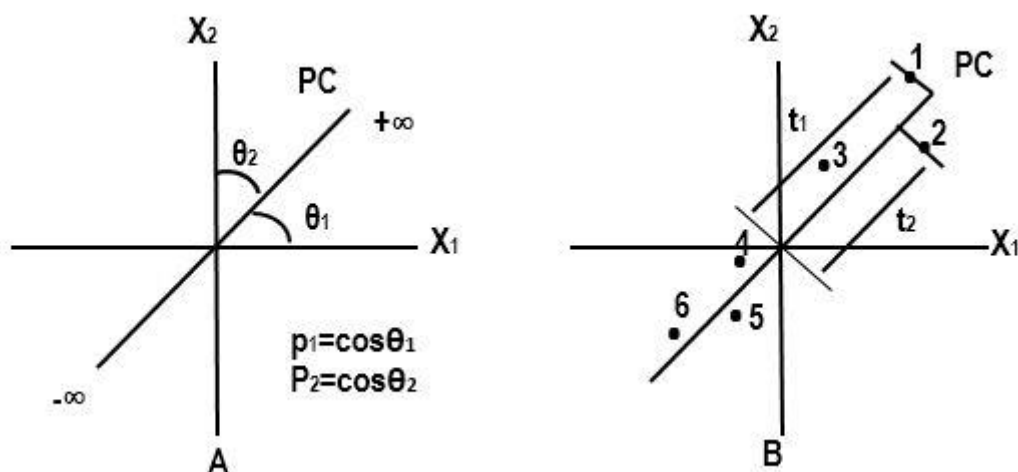
Com a redução de dimensionalidade proporcionada pela PCA, as amostras passam a serem pontos localizados em espaços de dimensões reduzidas definidas pelas PCs, por exemplo, bi- ou tridimensionais. A PCA decompõe uma matriz X formada por N linhas (amostras), e K colunas (variáveis), a Figura 2 mostra a decomposição dos dados originais em *scores* (t), *loadings* (p) e uma matriz de erros (CORVUCCI *et al.*, 2015; MATOS *et al.*, 2003; SENA *et al.*, 2000; SOUZA e POPPI, 2012).

$$\begin{array}{c}
 \text{K} \\
 \begin{array}{|c|} \hline \text{X} \\ \hline \end{array} \\
 \text{N}
 \end{array}
 =
 \begin{array}{c}
 \text{p}_1 \\
 \begin{array}{|c|} \hline \text{t}_1 \\ \hline \end{array}
 \end{array}
 +
 \begin{array}{c}
 \text{p}_2 \\
 \begin{array}{|c|} \hline \text{t}_2 \\ \hline \end{array}
 \end{array}
 + \dots
 \begin{array}{c}
 \text{E} \\
 \begin{array}{|c|} \hline \text{E} \\ \hline \end{array}
 \end{array}$$

**Figura 2.** Decomposição de uma matriz X com N linhas e K colunas em vetores de *scores* (t) e *loadings* (p) e uma matriz de erros E.

Fonte: Adaptado de MATOS *et al.*, 2003

Cada PC é constituída pela combinação linear das variáveis originais, os coeficientes dessas combinações são denominados *loadings*. Os *loadings* são os cossenos dos ângulos entre as variáveis originais e as PCs, representando o quanto cada variável contribui para cada PC, e os *scores* representam as coordenadas das amostras no sistema de eixos formados pelas PCs. A primeira componente principal (PC1) é traçada no sentido da maior variação no conjunto de dados, a segunda (PC2) é traçada ortogonalmente à primeira, tendo o objetivo de descrever a maior porcentagem da variação que não foi explicada pela PC1 e assim sucessivamente com as outras PCs (CORVUCCI *et al.*, 2015; SENA *et al.*, 2000; SOUZA e POPPI, 2012). Para exemplificar a Figura 3 demonstra o plano bidimensional das variáveis  $X_1$  e  $X_2$ , na Figura 3A está representada uma componente principal, e a reta que aponta na direção de maior variabilidade das amostras (pontos de 1 a 6) da Figura 3B (SENA *et al.*, 2000).



**Figura 3.** Representação de uma Componente Principal (CP) no caso de duas variáveis: (A) os loadings são os ângulos do vetor direção; (B) os scores são as projeções das amostras 1-6 na direção da PC.

Fonte: Adaptado de SENA *et al.*, 2000

Os *scores* representam as relações de similaridade entre as amostras, já na avaliação dos *loadings* permite entender quais variáveis mais contribuem para os agrupamentos observados no gráfico dos *scores*. Através da análise conjunta dos gráficos, é possível verificar quais variáveis são responsáveis pelas diferenças observadas entre as amostras. O número de componentes principais a ser utilizado no modelo PCA é determinado pela porcentagem de variância explicada. Assim, seleciona-se um número de componentes de

tal maneira que a maior porcentagem da variação presente no conjunto de dados originais seja capturada (SOUZA e POPPI, 2012).

O primeiro passo para a análise de componentes principais por imagens é transformar as imagens em uma matriz de dados correspondente aos pixels de cada imagem. Depois de gerada a matriz, a PCA pode ser aplicada com o fim de revelar os padrões de agrupamentos naturais das imagens, podendo com isso classificar os materiais quanto à semelhança ou diferença de informação (GHASEMZADEH-BARVARZ *et al.*, 2014).

Godinho *et al.* (2008) utilizou PCA de imagens para classificar diferentes tipos de refrigerantes (guaraná, cola e laranja), para adquirir as imagens dos refrigerantes, os autores utilizaram um escâner de mesa. Depois de adquiridas as imagens, foi utilizado o programa Scilab para efetuar a decomposição das imagens nos vetores RGB, e então realizar a PCA de imagens.

Através dos resultados obtidos os autores conseguiram observar tendências nas amostras, onde as PCs separaram amostras de refrigerantes mais escuras das amostras de refrigerantes mais claras, e ainda relacionaram alguns parâmetros físico-químicos à classificação ocorrida. Nas amostras de guaraná os autores verificaram que na maioria das amostras pode-se relacionar a separação das amostras com o teor de sacarose, sendo essa a variável que mais se correlaciona com a separação realizada pela PCA de imagens (GODINHO *et al.*, 2008).

Já nas amostras de refrigerante cola os autores relacionam a separação das imagens com a variável de ácido ascórbico, onde no lado negativo relaciona as imagens com a falta ou baixa presença de ácido ascórbico, e no lado positivo um valor mais elevado do composto. Para as amostras de refrigerante de laranja os autores atribuíram a separação das imagens a variável pH, onde visualizaram que a medida que o pH vai aumentando as imagens vão se tornando mais claras (GODINHO *et al.*, 2008).

Silva *et al.* (2011) desenvolveu um trabalho semelhante com o descrito anteriormente, onde utilizaram PCA de imagens como ferramenta de reconhecimento de padrões para classificação de cervejas do tipo *pale lager*. Para aquisição das imagens utilizaram um escâner de mesa, colocando as amostras em uma placa de *petri* capturando a imagem, e para a análise de componentes principais utilizaram o *software* Scilab.

No trabalho foram coletadas amostras de diferentes marcas de cervejas de um mesmo estilo, e analisadas para verificar suas semelhanças. Através da PCA de imagem foi

possível identificar uma tendência nos resultados, gerando quatro grupos onde as amostras se dividiram entre tons mais claros e tons mais escuros (SILVA *et al.*, 2011).

### 3.2 Métodos de calibração

A calibração é uma operação que relaciona uma grandeza de saída com uma grandeza de entrada, para um sistema de medida sob determinadas condições (BARROS NETO *et al.*, 2002). Modelos de calibração são desenvolvidos para relacionar uma quantidade X de interesse (concentração de uma amostra) com seu valor medido Y, obtido através de uma análise, como por exemplo, espectrofotometria (BRAGA e POPPI, 2004; FRANÇOIS *et al.*, 2004; KOSCIELNIAK, 2001). Os métodos podem ser divididos em calibração de ordem zero, primeira e segunda ordem, em relação à complexidade ou dimensionalidade dos dados (VALDERRAMA *et al.*, 2009).

Em calibração de ordem zero, denominada calibração univariada, um único valor de medida experimental é utilizado, um valor escalar. Aplicações de calibração univariada requerem que a grandeza medida pelo sistema, como por exemplo, absorvância de um composto, esteja livre de interferentes que possam provocar uma quantificação equivocada (SENA *et al.*, 2005; VALDERRAMA *et al.*, 2009).

Na calibração de primeira ordem podem ser usados dados multivariados, obtidos através de instrumentos como por exemplo, espectrômetros e cromatógrafos, onde suas respostas fornecem um vetor de dados para cada amostra (tensor de 1ª ordem). Em casos de calibração de primeira ordem é possível a presença de interferentes na amostra, desde que estejam presentes no conjunto de calibração. Os modelos de calibração mais utilizados são Regressão Linear Múltipla (MLR, do inglês, *Multiple linear regression*), PCR e PLS (BRAGA e POPPI, 2004; SENA *et al.*, 2005; VALDERRAMA *et al.*, 2009).

A calibração de segunda ordem é realizada com dados obtidos de instrumentos que fornecem como resposta uma matriz de dados para cada amostra, gerando dados de segunda ordem. Calibrações de segunda ordem permitem a determinação de compostos de interesse na presença de interferentes, mesmo não estando presentes nas amostras de calibração (SENA *et al.*, 2005; VALDERRAMA *et al.*, 2009).

Os métodos de calibração univariada são a forma mais simples de construção de modelos de calibração, o exemplo clássico é da lei de Beer-Lambert, equação (1), que relaciona uma quantidade de luz absorvida, à concentração das espécies absorventes. A lei

leva em consideração que a amostra seja homogênea, de forma que toda a amostra contenha as mesmas propriedades óticas. (FERREIRA, 2015).

$$A\lambda = \alpha\lambda lc \quad (1)$$

Onde  $A\lambda$  é a absorvância de uma determinada espécie química,  $c$  é a concentração,  $\alpha\lambda$  seu coeficiente de absorvidade molar em determinado comprimento de onda, e  $l$  o caminho ótico (FERREIRA, 2015).

Existem duas etapas no processo de calibração, a primeira considera uma série de amostras com os valores  $X$  (concentrações) conhecidos, onde são medidas as respostas ( $Y$ ) e ajustados os valores na curva de calibração. Na segunda etapa, as amostras com valores  $X$  desconhecidos são analisadas, e os valores de  $X$  são previstos a partir das respostas de  $Y$  obtidos invertendo a curva de calibração (FRANÇOIS *et al.*, 2004).

A relação entre a resposta instrumental  $Y$  e a concentração do analito  $X$  na maioria das análises está próxima da linear, e pode ser descrita pela equação (2) (KIRKUP e MULHOLLAND, 2004).

$$Y=a +b.X \quad (2)$$

A calibração univariada é muito utilizada para a calibração de instrumentos utilizados rotineiramente em laboratórios, tais como pHmetros, espectrofotômetros UV-Vis, espectrômetros de absorção ou emissão atômica. Já a calibração multivariada se destaca pela utilização de equipamentos que fornecem um elevado número de dados, que necessitam de um processamento mais complexo, como espectrofotômetros de infravermelho, cromatógrafos, espectrofotômetros ultravioleta (UV).

A calibração univariada determina a concentração de uma substância, em condições bem definidas através da absorção de luz, tendo como referência a absorção da substância em uma concentração conhecida (SILVA *et al.*, 2013). Outros métodos de quantificação de analito estão sendo estudados, como por exemplo, quantificação através de imagens.

No trabalho de Shen *et al.* (2012), foi utilizado um celular para determinar pH através de imagens, os autores construíram uma curva de calibração com imagens de cada faixa de pH (pH 2 ao pH 10), utilizando fitas identificadoras de pH. Para a construção da curva foram definidos 6 valores de pH (1, 4, 6, 7, 8, 10), onde submeteram regiões da fita

em soluções com essas concentrações, tendo como resultado da calibração um  $R^2$  de 0,9974.

Os autores também avaliaram a influência da luminosidade, onde construíram uma curva de calibração considerando os efeitos de diferentes condições de iluminação na aquisição das imagens com o aparelho celular. Com a avaliação da iluminação concluíram que os resultados podem ser reproduzidos em diferentes condições de luminosidade, desde que seja realizada a calibração e quantificação nas mesmas condições de iluminação (SHEN *et al.*, 2012).

A calibração multivariada foi utilizada por Francesquett *et al.* (2013), para propor uma metodologia alternativa para a quantificação do poder calorífico de amostras de gasolina. Os autores utilizaram espectroscopia no infravermelho próximo como alternativa a metodologia tradicional.

Foram utilizadas 111 amostras de gasolina comum e aditivada, onde 2/3 das amostras foram utilizadas na construção do modelo de calibração, e o restante das amostras foi utilizado para predição. Os algoritmos utilizados na análise multivariada para a seleção da faixa espectral foram iPLS e siPLS (FRANCESQUETT *et al.*, 2013).

Com os resultados obtidos dos testes da metodologia de referência e da metodologia proposta, os autores puderam concluir que os resultados foram similares para os dois métodos, onde a metodologia proposta teve erros de predição inferiores a 1% (FRANCESQUETT *et al.*, 2013).

### **3.3 Modelos de cor**

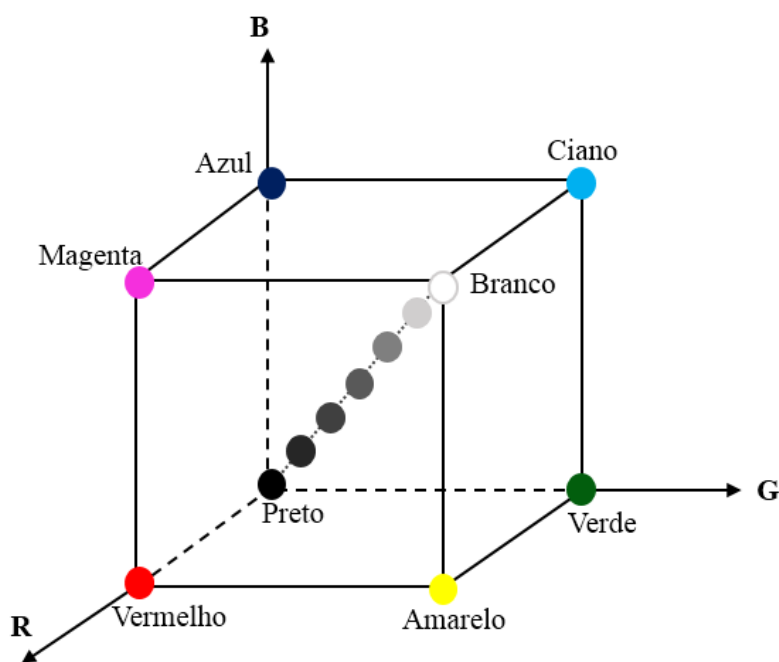
Os modelos de cor são utilizados para classificar e quantificar as cores de acordo com alguns atributos como tonalidade, saturação e luminosidade ou brilho (Leão *et al.*, 2007). O propósito dos modelos de cor é facilitar as especificações das cores de uma forma padrão, é basicamente uma especificação de um sistema de coordenadas tridimensionais e um subespaço dentro deste sistema onde cada cor é representada por um único ponto (GONZALES e WOODS, 2008).

Em análise multivariada de imagens tem se destacado o uso do modelo de cor RGB (*red, green, blue* – vermelho, verde, azul) (DAMASCENO *et al.*, 2015; GODINHO *et al.*, 2008; GODINHO *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2011). Neste trabalho foram testados componentes do modelo RGB, e do modelo HSV (*hue, saturation, value* – matiz,



saturação, valor), HSI (*hue, saturation, intensity* – matiz, saturação, intensidade) e HSL (*hue, saturation, luminance* – matiz, saturação, iluminação).

O modelo de cor RGB é um sistema baseado na sensibilidade do olho, e usa um sistema de coordenadas cartesianas, que pode ser visto em um cubo onde em três de seus vértices há cores primárias (vermelho, verde e azul), três de seus vértices cores secundárias (ciano, magenta e amarelo), o vértice de origem é a cor preta, e o vértice mais afastado o branco, como está representado na Figura 4. Neste modelo, a escala de cinza se estende através de uma linha diagonal do cubo, que sai da origem (preto) até o vértice mais distante (branco). RGB é um modelo de cor aditivo, onde as cores primárias misturam-se para produzir uma ampla gama de cores (AZEVEDO e CONCI, 2003; GONZALES e WOODS, 2008; SANCHEZ-CUEVAS *et al.*, 2013).



**Figura 4** – Representação gráfica do espaço de cores do modelo RGB.

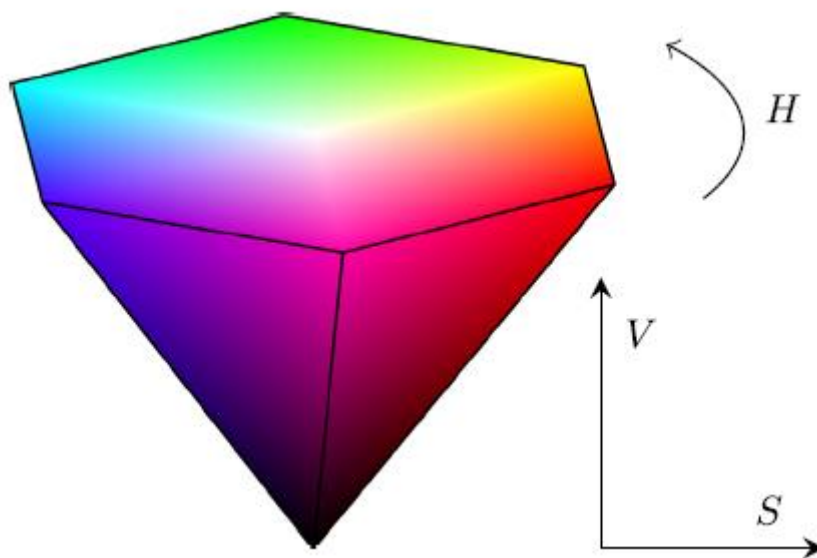
Fonte: Adaptado de GONZALES e WOODS, 2008

Apesar de muito utilizado, segundo Chernov *et al.* (2015) o modelo de cor RGB tem uma série de desvantagens, pois não é intuitivo para interpretação humana, as propriedades de luminância e cromaticidade não são separadas. Além disto, todos os componentes são altamente correlacionados e, são altamente sensíveis as variações de iluminação e ruído.

O modelo de cor HSV define a cor por meio de três componentes: matiz (H), saturação (S) e Valor (V), é um modelo de cores criado com base nas misturas de cores

descritas por artistas (AZEVEDO e CONCI, 2003). A componente H representa uma cor verdadeira, como vermelho, amarelo, verde, ciano, azul, magenta, entre outros. Os valores puros contêm cores primárias, secundárias e misturas lineares dos pares adjacentes. O componente S representa a pureza da cor, e um baixo percentual do canal S produz a cor acinzentada, e um percentual elevado produz uma cor profunda. Desta forma, a diminuição do canal S representa o aumento do branco. O componente V é análogo ao brilho, ele mede do preto ao branco, diminuir V corresponde ao aumento da escuridão (CHERNOV *et al.*, 2015).

O modelo HSV pode ser representado geometricamente como um cone hexagonal (Figura 5), o eixo vertical central (eixo cinza) corresponde a diagonal principal, o componente V contém cores acromáticas variando ao longo do eixo cinza de preto a branco. O H e S especificam um ponto no hexágono, a tonalidade H é uma quantidade circular visualizada em torno do eixo cinza. De acordo com o esquema clássico a matiz H descreve o pigmento de uma cor medido em graus, de 0 a 359 onde, por exemplo, 0° é vermelho, 60° amarelo, 120° verde, 180° ciano, 240° azul e 300° magenta. A saturação S é a distância entre o eixo cinza ao longo do eixo horizontal, onde varia de 0 na linha central (eixo V), até 1, nos lados do hexágono (AZEVEDO e CONCI, 2003; CHERNOV *et al.*, 2015).

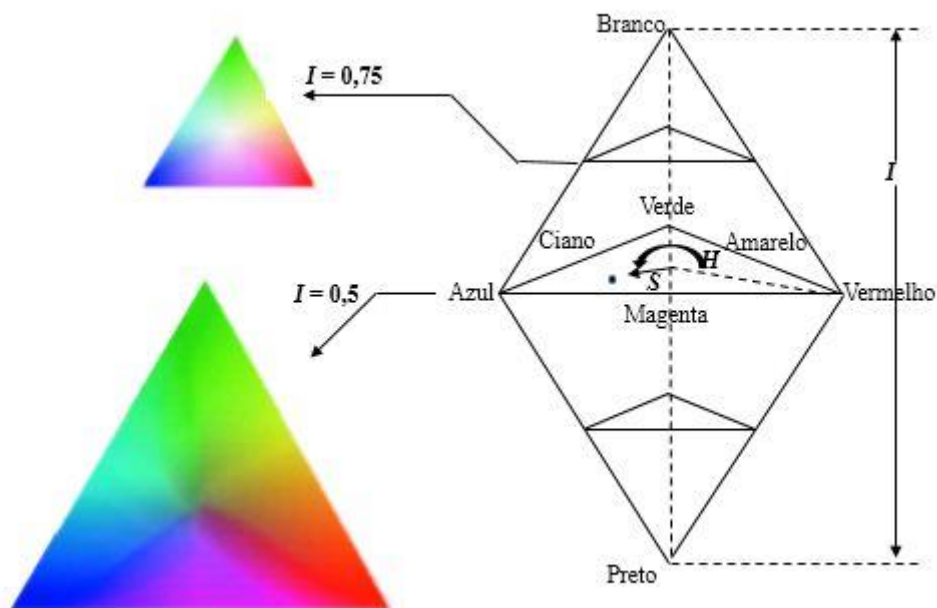


**Figura 5.** Hexágono representando modelo de cores HSV.

Fonte: CHERNOV *et al.*, 2015

Dependendo da finalidade e objetivos da representação, existem várias possibilidades de obtenção do valor que representa o brilho, entre elas podemos citar o modelo HSI, onde I representa intensidade (intensity), e o modelo HSL, onde o L representa a iluminação (luminance).

A intensidade do modelo HSI é a medida da energia total envolvida em todos os comprimentos de onda, sendo responsável pela sensação de brilho. Ela é medida aplicando-se a média das componentes de RGB, através de uma linha perpendicular ao triângulo, passando através de seu centro como mostra a Figura 6. As intensidades ao longo dessa linha tendem do claro ao branco, na parte superior do triângulo, e do escuro ao preto na parte inferior do triângulo (GONZALES e WOODS, 2008).

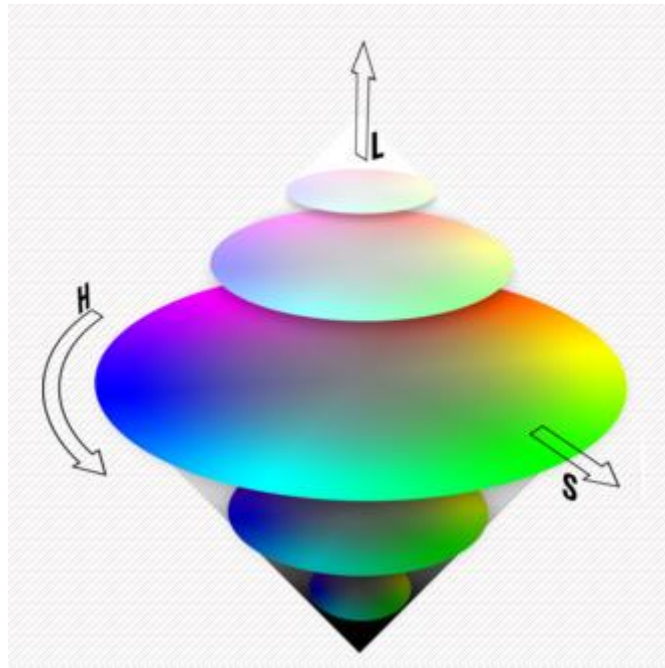


**Figura 6.** Representação gráfica do modelo de cor HSI.

Fonte: Adaptado de GONZALES e WOODS, 2008

O modelo HSL permite que se pensem em termos de cores mais claras e mais escuras, as cores são especificadas através de ângulos. No modelo de cor HSL as cores do arco íris estão localizadas no círculo horizontal central conforme pode ser visualizada na Figura 7, a mudança em relação ao eixo vertical permite cores mais claras para cima, e mais escuras para baixo, a iluminação é definida como a média dos maiores e menores

componentes de cor RGB. Esta definição coloca as cores primárias e secundárias em um mesmo plano, que passa no meio do caminho entre o branco e o preto (SANZ *et al.*, 2015).



**Figura 7.** Representação do modelo de cor HSL  
Fonte: Adaptado de SANZ *et al.*, 2015

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo trata-se de uma pesquisa de nível acadêmico com o objetivo de despertar o interesse pela busca intelectual autônoma, o modelo da pesquisa é experimental, com o objetivo exploratório descritivo, onde se procura criar uma maior familiarização com o tema e após descrever sobre os conhecimentos adquiridos. A coleta de dados foi experimental, onde os dados foram coletados em laboratório de forma a ter controle sobre as variáveis. Foi realizada uma pesquisa bibliográfica buscando informações já publicadas por outros autores. Quanto as fontes de informações foi utilizado o laboratório onde foram realizados os testes, e bibliografia onde foram pesquisadas informações sobre fatos semelhantes (SANTOS, 2000).

### 4.1 Análise Multivariada de Imagens

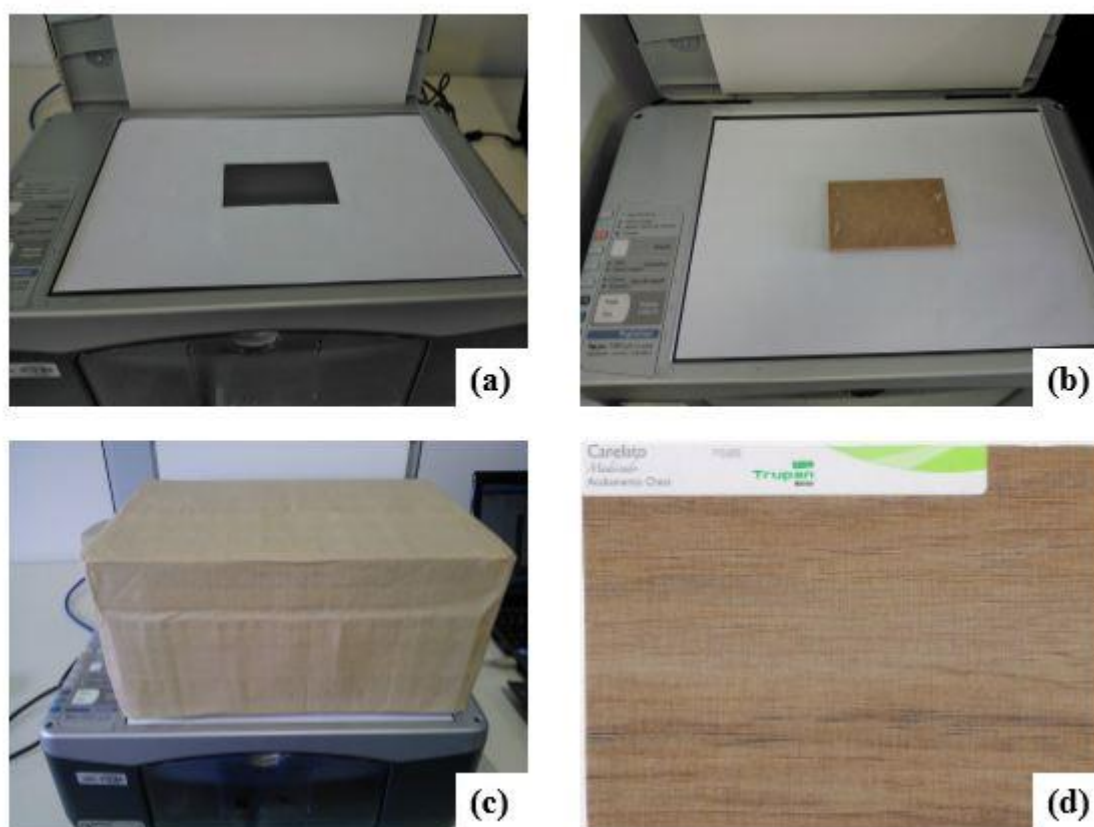
Os estudos com análise multivariada de imagens foram conduzidos em dois tipos de materiais, utilizando um conjunto de amostras de painéis de média densidade (MDF do inglês *Medium Density Fiberboard*), e um conjunto de amostras de placas de mármore e granitos. No primeiro conjunto de amostras foi utilizado o *software* CHEMOSTAT®, um *software* livre desenvolvido pelo grupo de pesquisa do Programa de Mestrado em Sistemas e Processos Industriais (HELFER *et al.*, 2015), cujos resultados serviram de subsídio para publicação do artigo “Uma Proposta Didática no Ensino de Análise Exploratória de Dados com Imagens de MDF (*Medium-Density Fiberboard*)”, na Revista Virtual de Química (<http://www.uff.br/RVQ/index.php/rvq/article/view/1240/682>) (BÖCK *et al.*, 2015).

Já para as amostras de mármore e granitos, a técnica de coleta de imagens foi aprimorada utilizando equipamentos portáteis para escanear as amostras, e foi utilizado além do *software* CHEMOSTAT® o SOLO® + MIA (Eigenvector Research Incorporated, <http://www.eigenvector.com/>) adquirido recentemente pelo Grupo de Pesquisa em Quimiometria da UNISC.

#### 4.1.1 Amostragem

Para a análise com MDF, as amostras foram coletas de mostruários comerciais de diferentes fornecedores, a fim de se obter espécies semelhantes de MDF de diferentes origens, para posterior tratamento dos dados e análise dos resultados.

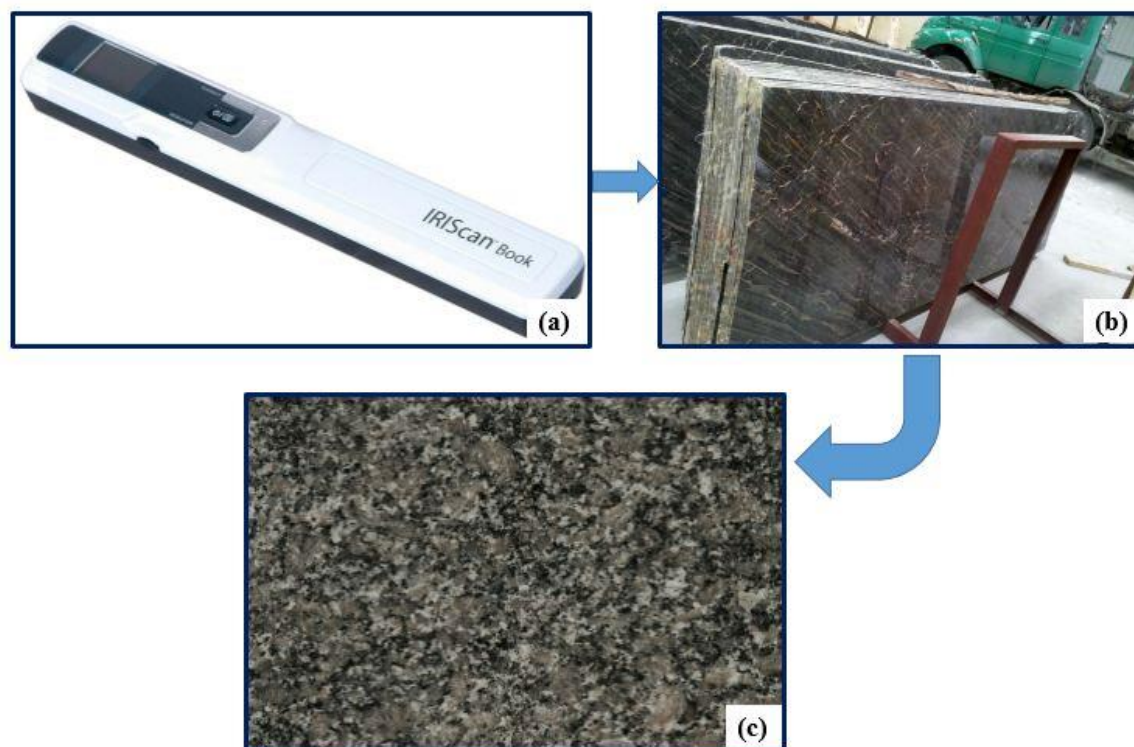
A aquisição das imagens das amostras foi realizada pelo escâner de uma impressora multifuncional HP (modelo PSC 1350). Para isso, foi instalada uma máscara de cartolina branca sobre a superfície de leitura do escâner, com abertura central próximo do tamanho da placa, permitindo a captura de imagens sempre na mesma posição do equipamento. A Figura 8 representa os passos para a aquisição das imagens, onde a Figura 8 (a) mostra a máscara branca utilizada, em seguida a Figura 8 (b) representa a amostra na posição de coleta da imagem, na Figura 8 (c) é representada uma caixa com fundo preto fosco para cobertura e proteção da luz externa, e na Figura 8 (d) um exemplo da imagem adquirida.



**Figura 8.** Esquema de aquisição de imagens com escâner para MDF. a) Impressora multifuncional e papel-máscara, b) amostra à ser escaneada, c) tampa com fundo preto fosco para evitar entrada de luz e d) imagem resultante do escaneamento.

Já para a análise de mármore e granitos, as imagens foram adquiridas na marmoraria diretamente nas placas, através de um escâner de mão modelo IRIScan Book 3. Para a aquisição das imagens, foram definidas as placas de interesse, foi limpa a região que seria escaneada, e então foi obtida a imagem, a Figura 9 mostra os passos para a aquisição das imagens, onde na Figura 9 (a) está representado o escâner utilizado, na

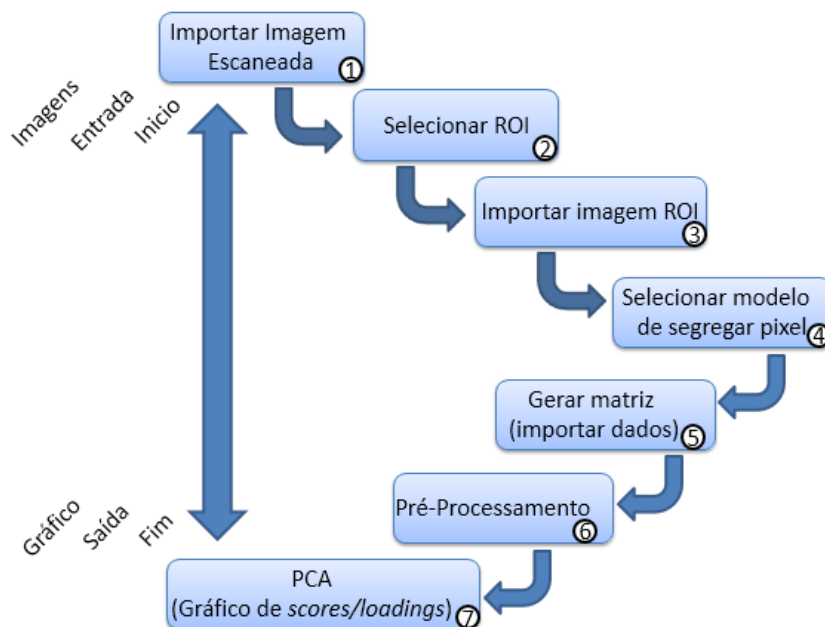
Figura 9 (b) um exemplo de placas de mármore e granitos, e na Figura 9 (c) o resultado da imagem adquirida. Após realizada a aquisição das amostras, foi realizada a análise de componentes principais de imagens.



**Figura 9.** Esquema de aquisição das imagens de mármore e granitos. (a) Escâner de mão; (b) Placas de mármore/granito para aquisição das imagens; (c) Imagem resultante do escaneamento.

#### 4.1.2 PCA de Imagens com amostras de MDF

Após a aquisição das imagens, estas foram exportadas para o *software* CHEMOSTAT® para gerar os gráficos dos *scores* e *loadings*, e efetuar a análise dos componentes principais das imagens, conforme fluxograma apresentado na Figura 10.



**Figura 10.** Etapas para realizar análise de componentes principais em amostras de MDF.

A primeira etapa foi a de “Importar a imagem escaneada” para o *software* CHEMOSTAT®, seguido da etapa de seleção da região de interesse, do inglês *region of interest* (ROI). A seleção da ROI deve ser realizada para adquirir imagens com o mesmo número de pixels, obtendo assim um padrão de imagens para a PCA.

Para determinar os parâmetros da ROI, selecionou-se a opção “*tools*” na barra de ferramentas do *software*, seguida da opção “*image cutter*”, onde uma nova janela é aberta para a seleção dos parâmetros. Neste trabalho os parâmetros escolhidos para a seleção da ROI foram “pixel central” e o tamanho de 260 x 260 pixels, após a escolha dos parâmetros seleciona-se a opção “*cut & save*” e então as imagens geradas podem ser salvas.

Com todas as imagens salvas e padronizadas, passou-se para a terceira etapa, de “importar as imagens da ROI”. O novo conjunto de amostras é importado selecionando a opção “*add image file*”. Então o *software* habilita para a próxima etapa, “selecionar o modelo de segregar o pixel”, permitindo a escolha de dois tipos de segregação para a criação da matriz, que são “*histogram*” e “*color model*”.

A opção “*histogram*” realiza uma distribuição de frequência baseada em 256 tons para cada componente de cor RGB (do inglês *red*, *green* e *blue*). A opção “*color model*” permite extrair informações dos modelos de cor RGB, e RGB relativo, definidos como “r%”, “g%” e “b%”, HSV (do inglês *hue*, *saturation* e *brightness*), incluindo ainda as



informações de intensidade (“I”) e luminância (“L”), quando selecionados. É possível optar por um ou mais componentes, separadamente.

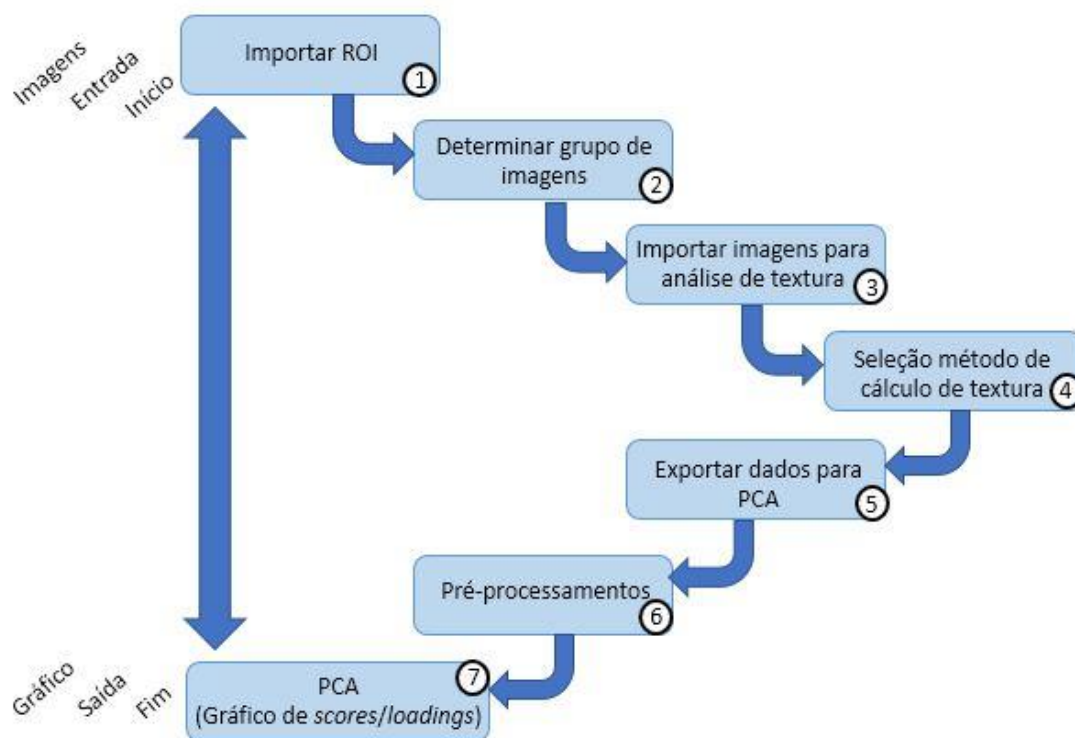
Os dados extraídos pixel a pixel podem ser agrupados numa média, selecionando a opção “*average*”, ou em uma mediana, com a opção “*median*”. O modelo de segregação de pixel utilizado nesse trabalho foi considerando os parâmetros HSVLI e a opção de agrupamento selecionada foi “*average*”.

Selecionado o modelo de segregação de pixel, a matriz de dados é produzida utilizando a função “*import data*”. Antes de gerar os gráficos dos *scores* e *loadings*, executou-se a etapa de “pré-processamento”. Acionando o botão direito do mouse, sobre a matriz, e na opção PCA, estão disponíveis dois tipos de pré-processamento, o “*meancenter*” e “*autoescale*”. Para este trabalho foi utilizado o pré-processamento “*autoescale*”, no qual os dados são centrados na média e divididos pelo desvio-padrão.

Ao final deste procedimento são apresentados os gráficos de *scores* e *loadings* das amostras de imagens.

#### **4.1.3 PCA de imagens com amostras de mármore e granitos**

Após a aquisição das imagens, estas foram exportadas para o *software* CHEMOSTAT® para a seleção da região de interesse conforme descrito na seção anterior. Depois de selecionadas as regiões de interesse as imagens foram importadas nos *softwares* CHEMOSTAT® e SOLO®+MIA para gerar os gráficos dos *scores* e *loadings*, e efetuar a análise dos componentes principais das imagens. No CHEMOSTAT® foi realizado o mesmo procedimento usado para análise das amostras de MDF, já para a análise no SOLO®+MIA sete etapas foram realizadas, conforme descrito na Figura 11.



**Figura 11.** Etapas para realizar análise de componentes principais em amostras de mármore e granito por textura.

A primeira etapa foi a de “Importar ROI” para o *software* SOLO®+MIA, essa etapa foi realizada através da opção “*Image Manager*” presente na barra de ferramentas de análises “*Image Processing*”. Em seguida, a segunda etapa é a determinação do grupo de imagens para realizar a análise de textura, onde na janela “*Image Manager*” as imagens são agrupadas para possíveis edições caso necessitem, e após agrupadas podem ser encaminhadas para a análise de textura clicando em “*Export Image or Group to Textures*” na barra de ferramentas superior.

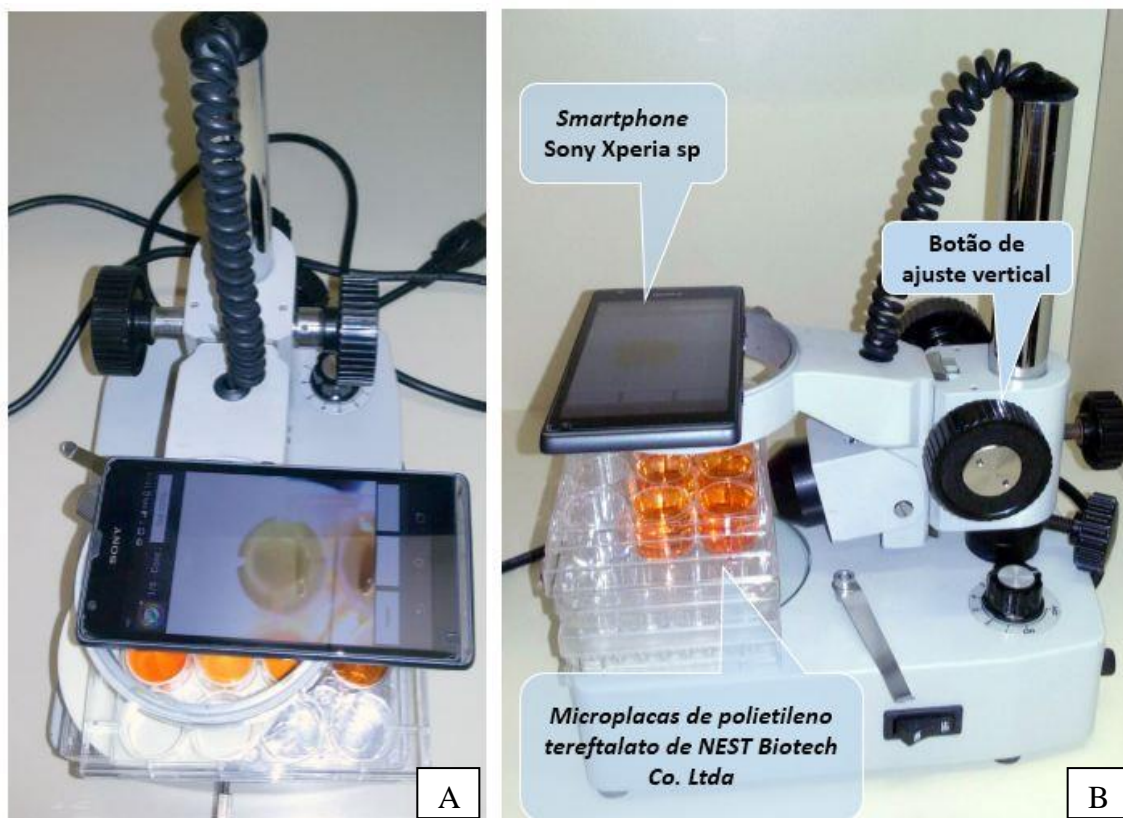
Na quarta etapa estão disponíveis quatro formas para o cálculo da textura, sendo “*autocorrelation*”, “*Fast Fourier Transform*”, “*Semivariance*” e “*Singular Value Decomposition*”, a opção de cálculo utilizada nesse trabalho foi a de “*Fast Fourier Transform*”. Após selecionada a opção tem-se a necessidade de determinar se o cálculo será realizado através das linhas da matriz, opção “*rows*”, das colunas opção “*columns*” ou através das duas na opção “*both*”, no trabalho foi selecionado a opção “*both*”, como resposta o software fornece o espectro do cálculo para as linhas e outro espectro para colunas. Ao importar o grupo de imagens para a análise de textura, cada imagem passa a ter três variáveis (R, G e B).

Com os resultados do cálculo de textura a próxima etapa (5) foi “exportar dados para PCA”, a exportação dos dados é realizada clicando no botão “*Export Current Textures to Analysis*” localizado na barra de ferramentas. Realizada a exportação uma nova janela foi aberta, onde se tem a necessidade de escolher o tipo de análise de interesse, no caso do trabalho foi selecionada a opção PCA. Após definido o tipo de análise, no caso do trabalho foi selecionada a opção análise de componentes principais, a etapa 6 permite a seleção do método de pré-processamento que foi o autoescalamento dos dados. Como última etapa, são gerados os gráficos de *loadings* e *scores* para a análise dos resultados.

#### **4.2 Análise Univariada de Imagens**

Para a análise univariada de imagens foi utilizado um aplicativo de celular denominado PhotoMetrix, desenvolvido pelo Grupo de Pesquisa em Quimiometria da UNISC, instalado em um *smartphone* Sony Xperia sp operando com Android 4.3, câmera de 8 MP e ROI de 32 x 32. Para padronizar o processo de aquisição das imagens, o *smartphone* foi posicionado sobre a estrutura de um microscópio estereoscópio (lupa).

As amostras para calibração e para análise foram dispostas em microplacas de polietileno tereftalato de diferentes tamanhos (6, 12, 24 e 96 cavidades), NEST Biotech Co. Ltda ([www.cell-nest.com](http://www.cell-nest.com)). As imagens das amostras de calibração e para análise foram coletadas em triplicata. Na Figura 12 está representada a forma como foi realizada a captura das imagens para a determinação do analito nas amostras.



**Figura 12.** Representação da captura das imagens para análise: (A) smartphone posicionado para captura da ROI; (B) posição das microplacas com amostras.

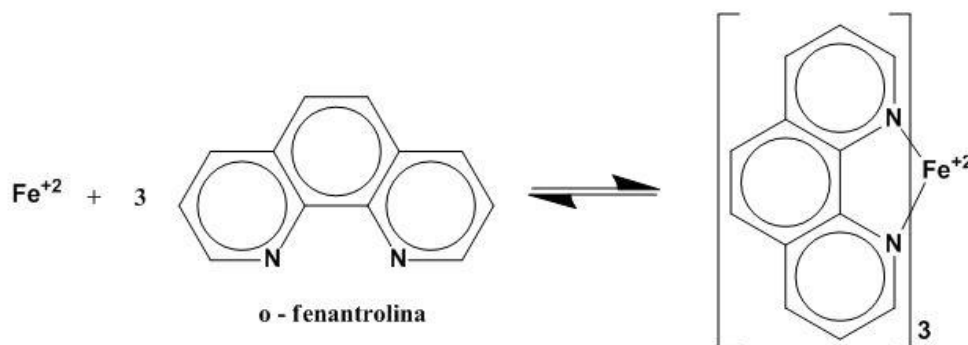
Este aplicativo foi testado na determinação de ferro em amostras de suplemento vitamínico a base de sulfato ferroso, aplicando uma metodologia adaptada do ASTM E 394 (2004), intitulada *Standard Test Method for Iron in Trace Quantities Using the 1,10-Phenanthroline Method* (ASTM E 394, 2004), e para a determinação de nitrito em amostras de água aplicando a metodologia Standard 4500-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> NITROGEN (NITRITE) (APHA, 2005). Os resultados obtidos neste teste serviram de subsídios para artigo intitulado *PHOTOMETRIX: An application for the univariate calibration and principal components analysis using colorimetry on mobile devices*, em fase final de revisão para submissão à revista *Lab on a Chip* (<http://pubs.rsc.org/en/journals/journalissues/lc#!recentarticles&adv>).

#### 4.2.1 Determinação de ferro em amostras de suplemento vitamínico

Essa metodologia tem por objetivo determinar concentração de ferro em suplementos vitamínicos através da reação do medicamento com a o-fenantrolina formando um complexo colorido. Na reação o Fe<sup>2+</sup> reage com a 1,10-fenantrolina

formando um complexo vermelho-alaranjado, podendo através da medida de luz absorvida deste complexo determinar a concentração de ferro na amostra (ASTM E 394, 2004).

Para que ocorra a formação do complexo, o ferro precisa ser reduzido a  $\text{Fe}^{2+}$ , que pode ocorrer através do cloreto de hidroxilamina. A o-fenantrolina reage com o ferro para formar o íon 1,10 fenantrolínio ( $\text{o-phenH}^+$ ) em meio ácido (pH em torno de 3,5), permitindo a complexação do ferro de acordo com a Figura 13 (ASTM E 394, 2004).



**Figura 13.** Reação de complexação do ferro pela o-fenantrolina.

#### 4.2.1.1 Procedimentos

A curva de calibração de ferro foi preparada a partir de uma solução estoque de ferro  $0,02 \text{ mg L}^{-1}$  de ferro (II), que foi preparada a partir da diluição de Sulfato ferroso amoniacal ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Synth, Diadema, Brasil). Foram preparadas também soluções de cloridrato de hidroxilamina 5% (m/v) ( $\text{HONH}_2\text{HCl}$ , Vetec, Duque de Caxias, Brasil), acetato de sódio 2 M ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ , Vetec, Duque de Caxias, Brasil), e fenantrolina 0,25% (m/v) ( $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , Sigma-Aldrich, St. Louis, US).

Os pontos da curva de calibração foram preparados acrescentando 12, 20, 28, 36 e 44 mL da solução estoque de ferro, 8 mL de cloridrato de hidroxilamina, 8 mL de acetato de sódio e 16 mL de fenantrolina, em balões volumétricos de 100 mL.

Para a determinação de ferro em vitaminas foram coletadas 3 amostras de medicamentos de diferentes marcas, com concentrações de 14, 40 e 50 mg de ferro por comprimido. As amostras foram preparadas diluindo um comprimido de vitamina em 25 mL de ácido clorídrico 6 M ( $\text{HCl}$ , Synth, Diadema, Brasil), a qual foi fervida durante 15 minutos e então filtrada e avolumada a 100 mL em balão volumétrico. A partir dessa solução, foram diluídos 10 mL da solução da amostra de vitamina com 14 mg, e 5 mL das amostras de 40 e 50 mg para um balão volumétrico de 100 mL, e após foram retirados 20

mL para um balão volumétrico de 100 mL, adicionado 8 mL de uma solução de cloridrato de hidroxilamina, 8 mL de solução de acetato de sódio, e 16 mL de fenantrolina, e realizada a leitura da amostra (Adaptado de ASTM E 394, 2004.).

Ao todo foram analisadas três amostras de comprimidos de suplementos vitamínicos (sulfato ferroso), com concentrações de 14, 40 e 50 mg de ferro por comprimido (Figura 14).



**Figura 14.** Amostras de suplementos vitamínicos analisados neste estudo. A) Suplefer – 14 mg; B) Ferronil – 40 mg e C) Sulferbel – 50 mg.

Os resultados obtidos pelo aplicativo PhotoMetrix foram comparados aos obtidos por um espectrofotômetro FEMTO 600plus ([www.femto.com.br](http://www.femto.com.br)), em 510 nm, usando caminho ótico de 10 mm. Um luxímetro (LD-500, ICEL, [www.icel-manaus.com.br](http://www.icel-manaus.com.br)) foi utilizado para determinar a luminosidade do ambiente.

Os resultados obtidos através da metodologia desenvolvida nesta pesquisa foram comparados com os resultados obtidos pelo método de referência usando o teste ANOVA *one-way*, usando o *software* GraphPad InStat® versão 3.00. A diferença do valor quadrático médio (RMSD, do inglês *root mean squares difference*), foi utilizada para indicar o erro de média na análise (equação 3), e o erro médio relativo (MRE%, do inglês *mean relative error*) foi determinado utilizando a equação 4 (Zarei *et al.*, 2005).

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - x_i)^2}$$
(3)

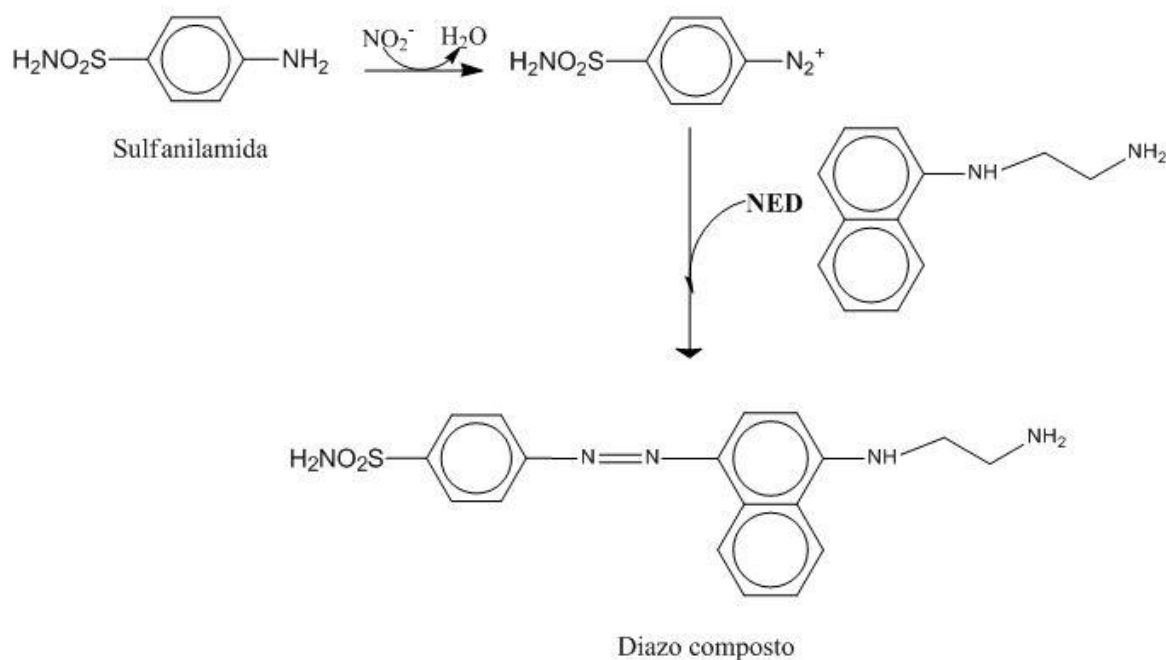
$$MRE = \frac{1}{n} \left( \sum_{i=1}^n \frac{|\bar{x}_i - x_i|}{x_i} \right) \times 100$$
(4)

Onde  $x_i$  é a média do resultado obtido pelo método proposto ( $n = 3$ ),  $\bar{x}_i$  é a média da concentração real (obtido pelo método de referência), e  $n$  é o total das repetições.

#### 4.2.2 Determinação de nitrito em amostras de água

Essa metodologia tem por objetivo determinar a concentração de nitrito em amostras de água através de um procedimento espectrofotométrico baseado na reação de Griess, onde o nitrito reage com a sulfanilamida em meio ácido, como representado na Figura 15 (PROMEGA, 2009).

Na reação o diazo composto formado reage com o cloridrato de N-(1-naftil) etilenodiamina (NED), formando um azo colorido púrpura avermelhado, essa reação é controlada pelo tempo, onde deve ser realizada a determinação entre 10 minutos e 2 horas após a mistura dos reagentes (APHA, 2005).



**Figura 15.** Mecanismo de reação usado no método Griess.

#### 4.2.2.1 Procedimentos

A curva de calibração de nitrito foi preparada a partir de uma solução estoque de nitrito  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{NO}_2^-$ , que foi preparada a partir da diluição de Nitrito de Sódio ( $\text{NaNO}_2$ , Synth, Diadema, Brasil). Foi preparado também o reagente de cor através da diluição de 2,5 g de sulfanilamida ( $\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$ , NeoN, São Paulo, Brasil) em 25 mL de ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ , Synth, Diadema, Brasil), foi adicionado 0,25 g de N-(1-naftil)-etilenodiamino dihidroclorato ( $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$ , Darmstadt, Alemanha) e completado com água deionizada até 250 mL (APHA, 2005).

Os pontos da curva de calibração foram preparados acrescentando 0,4, 1,2, 2 e 3 mL da solução estoque de nitrito em balões volumétricos de 100 mL, e foram adicionados 3 mL do reagente de cor.

Para a determinação de nitrito em água, foram coletadas duas amostras de água de diferentes locais, uma amostra foi coletada da rede de abastecimento (CORSAN) e a outra foi coletada de poço tubular profundo. Devido à baixa concentração de analito nestas amostras, inferior a  $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ , a concentração destas amostras foi enriquecida com  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{NO}_2^-$ . Para a amostra coletada da rede de abastecimento foi adicionado 0,5 mL de EDTA 1% para diminuir a relação dos interferentes.



Os resultados obtidos através da metodologia desenvolvida nesta pesquisa foram comparados com os resultados obtidos pelo método de referência usando o teste ANOVA *one-way*, usando o *software* GraphPad InStat® versão 3.00. A diferença do valor quadrático médio (RMSD, do inglês *root mean squares difference*), foi utilizada para indicar o erro de média na análise (equação 3), e o erro médio relativo (MRE%, do inglês *mean relative error*) foi determinado utilizando a equação 4 (Zarei *et al.*, 2005).

Onde  $\bar{x}_i$  é a média do resultado obtido pelo método proposto ( $n = 2$ ),  $\bar{x}_r$  é a média da concentração real (obtido pelo método de referência), e  $n$  é o total das repetições.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Nesse capítulo serão apresentados os resultados obtidos com os testes de análise multivariada de imagens com amostras de MDF, com amostras de mármore e granito, e de calibração univariada para determinação de ferro em suplementos vitamínicos, e nitrito em águas de abastecimento público.

### **5.1 Análise multivariada de imagens com amostras de MDF**

Ao todo foram coletadas 57 amostras de MDF de 3 fornecedores diferentes, 5 amostras fornecidas pela NR Painel Canaletado, 5 da marca Madelei e 47 da marca Trupan, as imagens foram adquiridas em triplicada gerando 171 imagens para a análise de componentes principais, Figura 16.

Amostra	Nome	Amostra	Nome	Amostra	Nome	Amostra	Nome
	#Beringela		*Canelato		*Grafito		*Nude
	#Cipres		*Carvalho Dakar		*Imbuia		*Palissandro Bahia
	#Cobre		*Carvalho Europeu		*Kashmir		*Rovere Canova
	#Oliva		*Carvalho Ibiza		*Lassen		*Rovere Chiaro
	#Ônix		*Carvalho Leggero		*Linheiro Grigio		*Rovere Miró
	+Branco		*Carvalho Mezzo		*Linheiro Tabaco		*Teka Ártico
	+Maple		*Carvalho Ristretto		*Lino		*Teka Barcelona
	+Marfim		*Carvalho Sevilha		*Lino Piombo		*Terrarum
	+Preto		*Ciliegio Florença		*Marfim Morano		*Tokai
	+Tabaco		*Cinza Cristal		*Mezzo Bianco		*Topázio
	*Abedul		*Connect		*Mezzo Castani		*Vanilla
	*Argila		*Duetto Moro		*Noce Naturale		*Venezia
	*Branco Supremo		*Ébano		*Nodo		*Walnut
	*Canela		*Ébano Natural		*Nogal Terracota		*Wengue
							*Wengue Castanho

Fornecedores: # Madeleij; +NR Painel Canaletado; \*Trupan.

Figura 16. Relação de amostras de MDF utilizadas no estudo.

A PCA foi executada no *software* CHEMOSTAT®, onde foram testados os modelos de cores utilizando as componentes RGB, e a combinação das componentes HSVLI. Os resultados obtidos com o modelo RGB foram preteridos, pois a primeira componente principal assumia 98% da variância total, já o resultado apresentado para a combinação das componentes HSVLI apresentou uma melhor distribuição da variância nas demais componentes, permitindo uma melhor segregação das amostras.

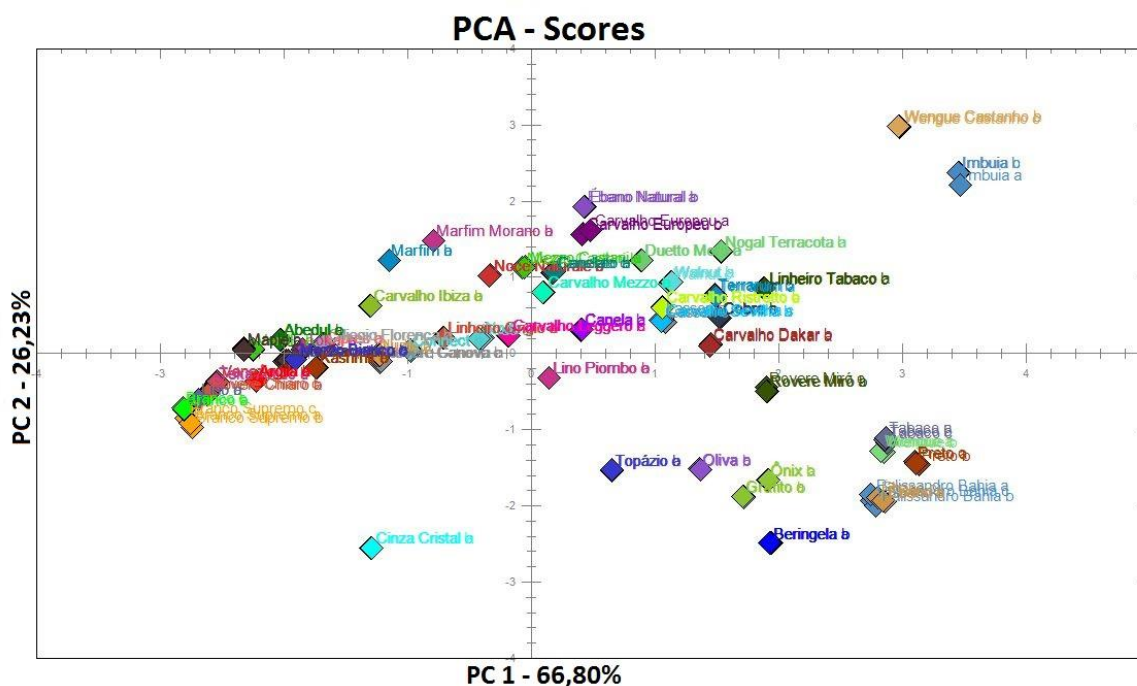
Assim, a partir dos resultados o modelo de segregação utilizando as componentes HSVLI, o modelo foi escolhido com o objetivo de considerar a maior variação entre as amostras para classificá-las do modo mais próximo do real. A PCA mostrou que as duas

primeiras componentes principais explicam 93,03% da variância dos dados, conforme apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA com amostras de MDF.

PC	Variância (%)	Variância Acumulada (%)
1	66,8	66,8
2	26,2	93,0
3	6,9	99,9
4	0,1	100

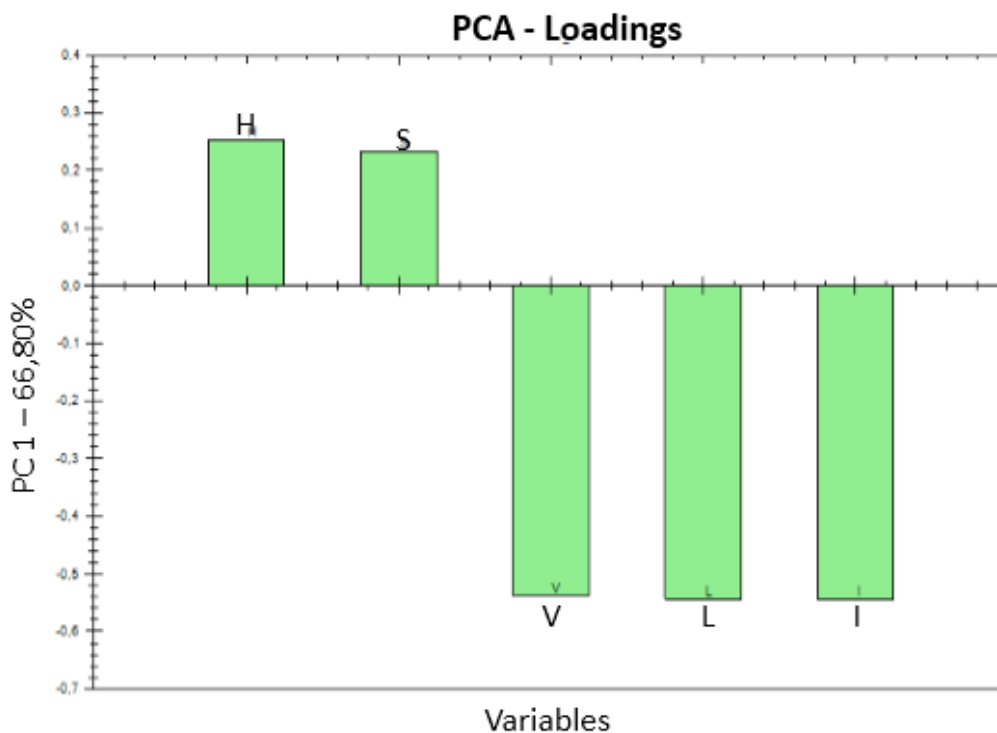
Analisando o gráfico dos *scores* da PC1 x PC2 com os dados autoescalados representado na Figura 17, é possível visualizar que não há uma formação de agrupamentos bem definidos, onde não é possível classificar as amostras quanto a determinados grupos. O que pode ser observado é uma tendência na distribuição das amostras, onde em alguns pontos do gráfico pode ser visualizado uma maior semelhança em determinadas amostras.



**Figura 17.** Gráfico de *scores* PC1 x PC2 das amostras de MDF.

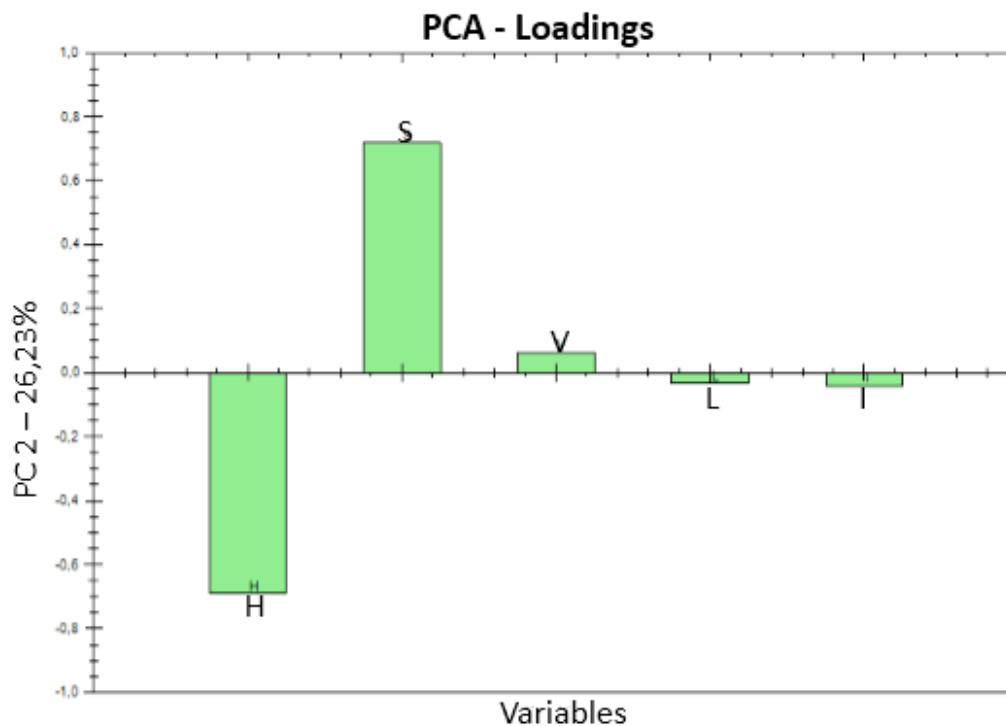
Nos gráficos de *loadings* podem ser observadas as variáveis que possuem maior influência na separação das amostras. A Figura 18 apresenta as variáveis com maior

influência na separação das amostras na PC1 são V, L e I, que influenciam a separação para o lado negativo da PC, já no lado positivo são as variáveis H e S.



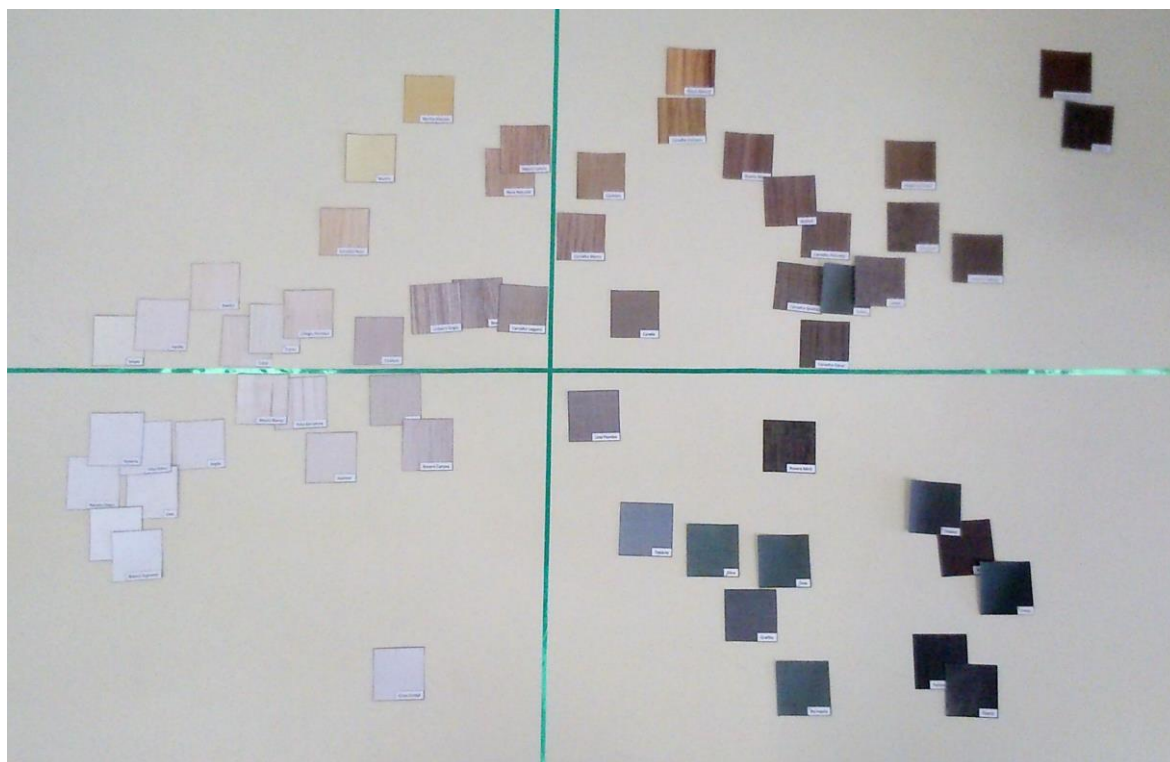
**Figura 18.** Gráfico de *loadings* da PC1 das amostras de MDF.

Na Figura 19 observa-se que duas variáveis têm maior influência na separação das amostras pela PC2, a variável H para o lado negativo, e a S para o lado positivo. As variáveis V (lado positivo) e L, I (lado negativo) não apresentam muita influência na separação das amostras pela PC2.



**Figura 19.** Gráfico de *loadings* da PC2 das amostras de MDF.



Para auxiliar na interpretação dos resultados, foi elaborado um gráfico com recortes das imagens utilizadas neste estudo, simulando a distribuição destas nos *scores* de PC1 x PC2 (Figura 20). Através dessa representação é possível visualizar que a PC1 separa as amostras com tons mais claros (lado negativo), com maiores valores para V, L e I, daquelas com tons mais escuros (lado positivo), com maiores valores para H e S. A PC2 aparentemente separa as amostras que possuem uma tonalidade mais sólida (lado negativo), com maiores valores para H, das amostras que possuem algum efeito de textura em outras cores, como por exemplo, linhas presentes nas amostras (lado positivo).



**Figura 20.** Representação com imagens do gráfico de *scores* da PC1 x PC2.

## 5.2 Análise multivariada de imagens com amostras de mármore e granitos

Ao todo foram coletadas 35 amostras de mármore e granitos, sendo 10 de amostras de mármore e 25 de granitos. As imagens foram adquiridas em triplicada gerando 105 imagens para a análise de componentes principais, Figura 21.

Amostra	Nome	Amostra	Nome	Amostra	Nome
	Amarelo capri - G		Gialho Califórnia - G		Verde Bamboo - G
	Amarelo Ornamental - G		Marrom Guaíba - G		Branco Carrara - M
	Amarelo Vitória - G		Marrom Itu - G		Branco Rajado - M
	Amazon Flower - G		Marrom Sucuri - G		Crema Macil - M
	Arezo - G		Preto São Gabriel - G		Daino Reale - M
	Branco Dalas - G		Red Dragon - G		Itamarati Cristalizado - M
	Branco Itaunas - G		Tobacco - G		Marrom Imperador - M
	Cinza Cristal - G		Verde Labrador - G		Namomarmoglas - M
	Cinza Gorumbá - G		Verde Pantanal - G		Rosa Egeo - M
	Crema Chianti - G		Verde Peacock - G		Rosso Verona - M
	Elegant Braun - G		Wood Stone - G		Travertino Romano Bruto - M
	Galápagos - G		Wood Stone (2) - G		

G – Granito, M – Mármore

**Figura 21.** Relação de amostras de mármore e granitos utilizadas no estudo.

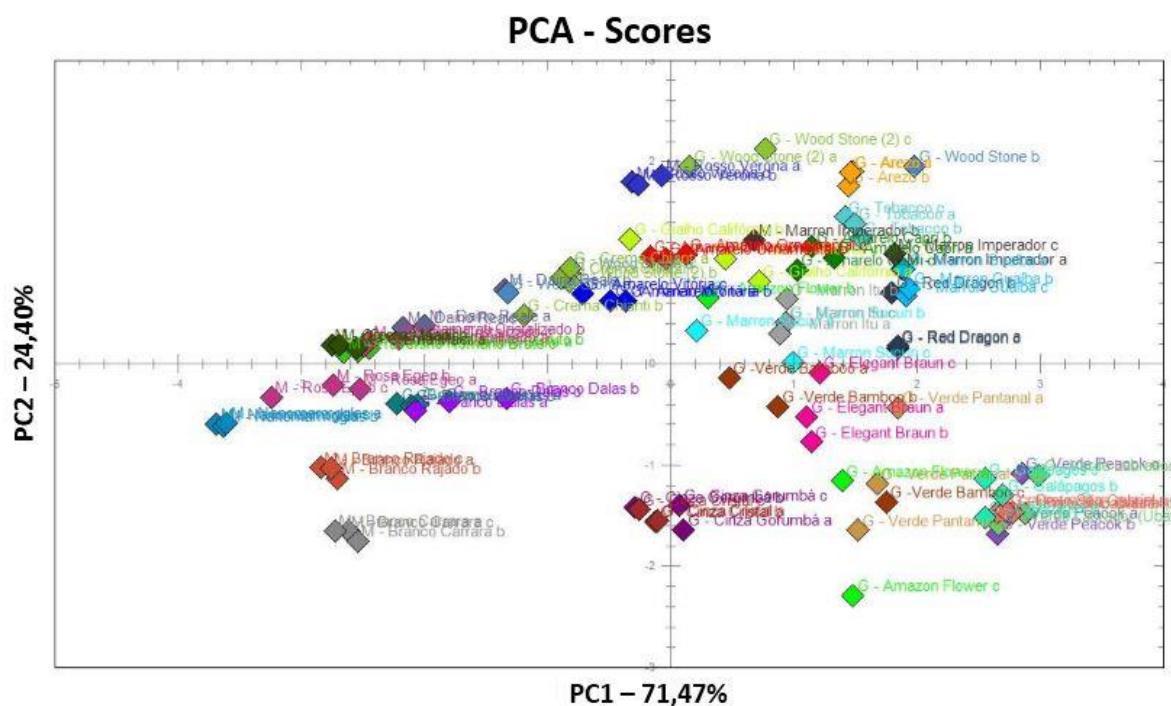
A PCA foi primeiramente executada com o *software* CHEMOSTAT® a partir do modelo de segregação utilizando as componentes HSVLI, a PCA mostrou que as duas primeiras componentes principais explicam 95,87% da variância dos dados, conforme apresentado na Tabela 2.



**Tabela 2.** Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA com amostras de mármore e granitos.

PC	Variância (%)	Variância Acumulada (%)
1	71,47	71,47
2	24,40	95,87
3	4,03	99,90
4	0,10	100

Analisando o gráfico dos *scores* da PC1 x PC2 com os dados autoescalados representado na Figura 22, não foi possível identificar a formação de agrupamentos entre as amostras de mármore e granitos, o que pode ser visualizado é que existem algumas amostras diferentes em relação ao grande grupo, podendo ser identificadas.



**Figura 22.** Gráfico de *scores* PC1 x PC2 das amostras de mármore e granito.

Com o objetivo de tentar uma melhor classificação para as amostras de mármore e granito, foi realizada a análise de componentes principais utilizando a análise de textura no *software* SOLO®+MIA.

O método utilizado para o cálculo de textura foi Transformada rápida de Fourier (*Fast Fourier Transform*), a transformada permite uma análise mais rápida da matriz, onde ela seleciona valores pares das linhas/colunas da matriz e define como a imagem real, e

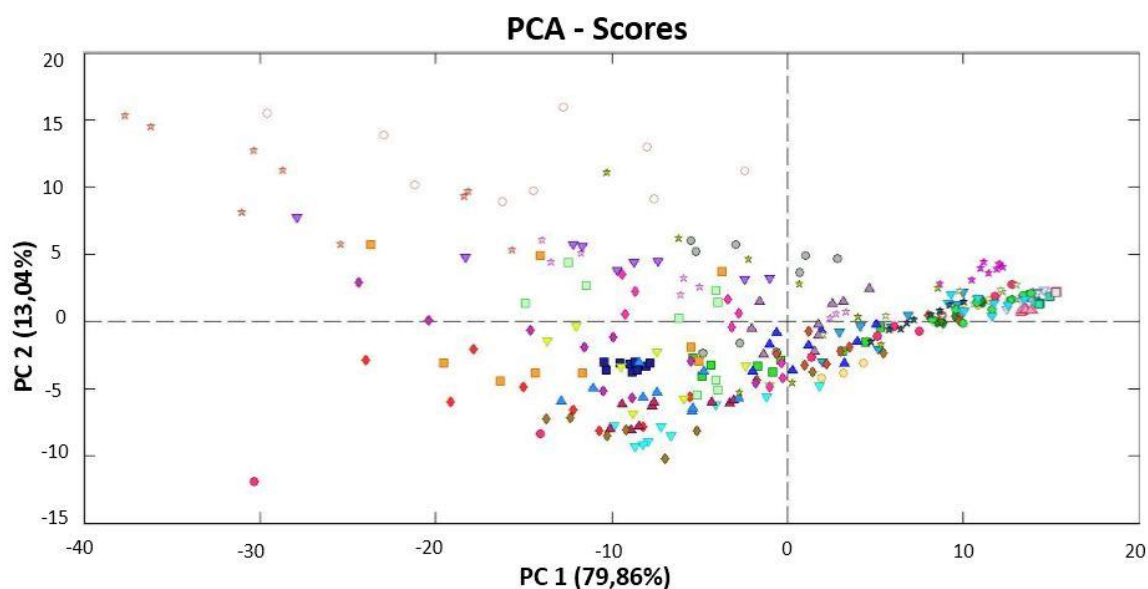
valores ímpares como imaginária. E através da matriz real é realizada a análise de componentes principais.

A PCA executada a partir do cálculo de textura utilizando transformada rápida de Fourier mostrou que as duas primeiras componentes principais explicam 92,90% da variância dos dados, conforme apresentado na Tabela 3.

**Tabela 3.** Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA por textura com amostras de mármore e granito.

PC	Variância (%)	Variância Acumulada (%)
1	79,86	79,86
2	13,04	92,90
3	2,45	95,35
4	0,74	96,09

Analisando o gráfico dos *scores* da PC1 x PC2 com os dados autoescalados representado na Figura 23, é possível visualizar que não houve melhorias para a classificação das amostras de mármore e granito através da análise pelo método de textura.



**Figura 23.** Gráfico de *scores* PC1 x PC2 das amostras de mármore e granito pela análise por textura.

Após observar a dificuldade na separação das amostras de mármore e granito, se buscou avaliar entre as amostras coletadas quais seriam as amostras mais semelhantes para






realizar uma análise de componentes principais entre elas, verificando se é possível a separação de amostras aparentemente parecidas.

Com isso duas amostras de granito foram avaliadas, amostra de granito Cinza Cristal e a amostra de granito Cinza Gorumbá. Com o objetivo de avaliar a maior variação presente em cada placa, foram selecionadas 8 regiões de interesse de cada imagem da placa para realizar a análise de componentes principais, conforme demonstrado na Figura 24. As regiões de interesse foram selecionadas utilizando o *software* CHEMOSTAT®, o número de amostras gerados para a PCA foi de 16 imagens, sendo 8 referente a cada placa.



**Figura 24.** Representação da forma de determinação das regiões de interesse para análise de componentes principais.

A Figura 25 apresenta as imagens obtidas após a seleção das regiões de interesse para cada placa, 8 amostras para a placa Cinza Cristal e 8 imagens para a placa Cinza Gorumbá.

Amostra	Nome	Amostra	Nome	Amostra	Nome
	Cinza Cristal a		Cinza Cristal G		Cinza Gorumbá e
	Cinza Cristal b		Cinza Cristal H		Cinza Gorumbá f
	Cinza Cristal c		Cinza Gorumbá a		Cinza Gorumbá g
	Cinza Cristal d		Cinza Gorumbá b		Cinza Gorumbá h
	Cinza Cristal e		Cinza Gorumbá c		
	Cinza Cristal f		Cinza Gorumbá d		

**Figura 25.** Relação das regiões de interesse selecionadas das amostras de granitos utilizadas no estudo.

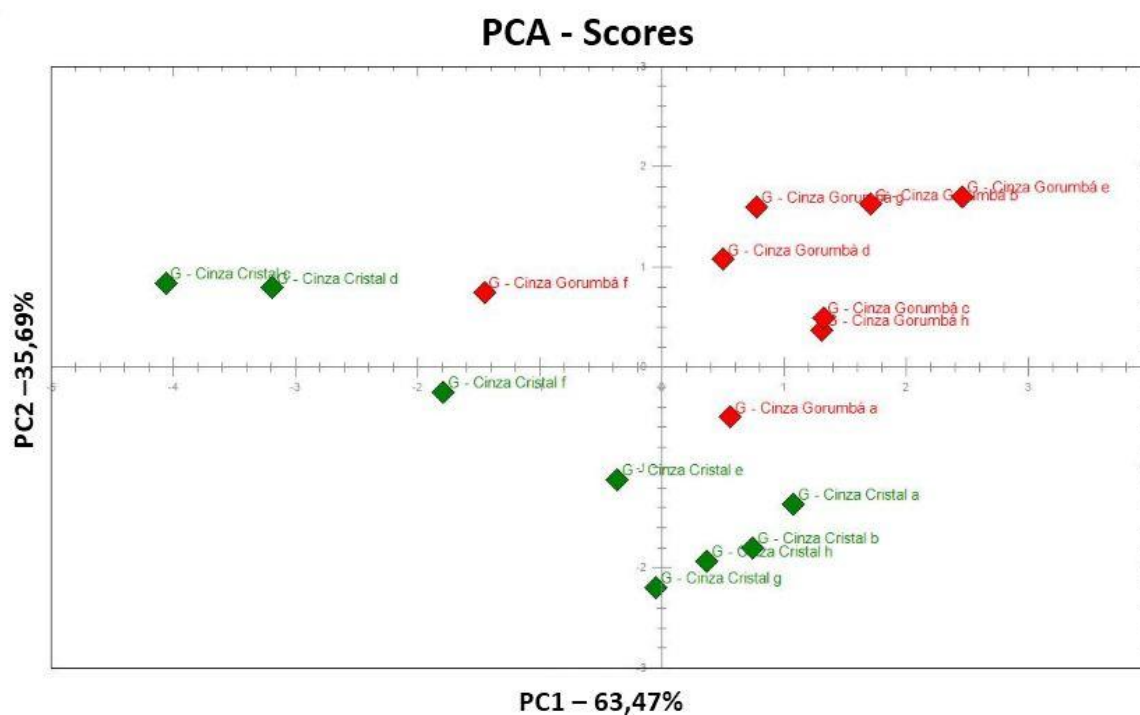
A PCA executada com o *software* CHEMOSTAT® a partir do modelo de segregação utilizando as componentes HSVLI, com os dados autoescalados mostrou que as duas primeiras componentes principais explicam 99,16% da variância dos dados, conforme apresentado na Tabela 4.

**Tabela 4.** Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA com amostras granitos.

PC	Variância (%)	Variância Acumulada (%)
1	63,47	63,47
2	35,69	99,16
3	0,84	100

Analisando o gráfico dos *scores* da PC1 x PC2 com os dados autoescalados representado na Figura 26, é possível verificar que não ocorre uma separação bem definida das amostras. Do lado positivo da PC1 estão dispostas 7 das 8 amostras de Cinza Gorumbá, sendo que a maioria das amostras estão localizadas do lado positivo da PC2.

Já para amostras de Cinza Cristal é possível visualizar a variância encontrada em toda a placa, pois além das amostras não estarem apresentadas no mesmo lado de uma componente principal, elas encontram-se distribuídas pelo gráfico. Cabe destacar que estas imagens foram adquiridas da mesma peça de granito, o que comprova a heterogeneidade deste tipo de amostra.



**Figura 26.** Gráfico de scores PC1 x PC2 das amostras de granito cinza.

A PCA executada a partir do cálculo de textura utilizando transformada rápida de Fourier mostrou que as duas primeiras componentes principais explicam 75,73 % da variância dos dados, conforme apresentado na Tabela 5.

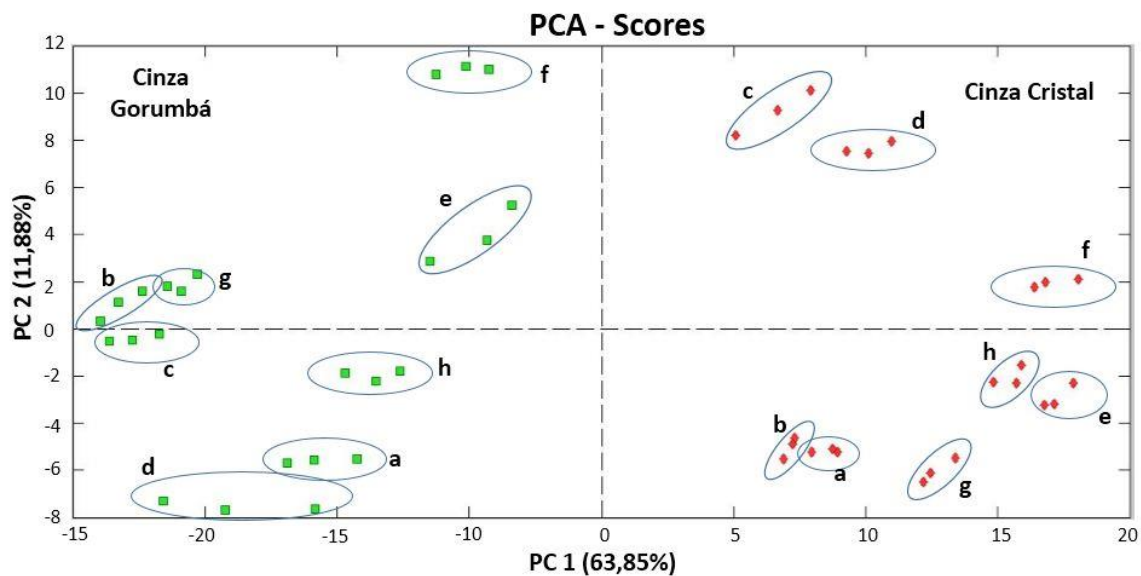
**Tabela 5.** Valores de variância e variância acumulada das componentes principais para a PCA com amostras de granitos.

PC	Variância (%)	Variância Acumulada (%)
1	63,85	63,85
2	11,88	75,73
3	5,61	81,65
4	2,77	84,12
5	2,15	86,27
6	1,99	88,27
7	1,94	90,21
8	1,73	91,94
9	1,35	93,29
10	1,30	94,59

Analisando os gráficos dos *scores* da PC1 x PC2 com os dados autoescalados representados na Figura 27, é possível visualizar que ocorre uma melhor separação das amostras de granito pela PC1. Do lado positivo da PC1 estão representadas as amostras de granito Cinza Cristal, e do lado negativo da PC1 estão as amostras do granito Cinza Gorumbá.

A PC2 separa as amostras quanto ao tamanho de partícula presente nas regiões de interesse analisadas, agrupando as amostras mais similares, ao relacionar o gráfico de *scores* com a tabela de imagens das regiões de interesse pode ser observado que as amostras c, d e f do granito Cinza Cristal apresentam maior número de partículas claras na amostra.

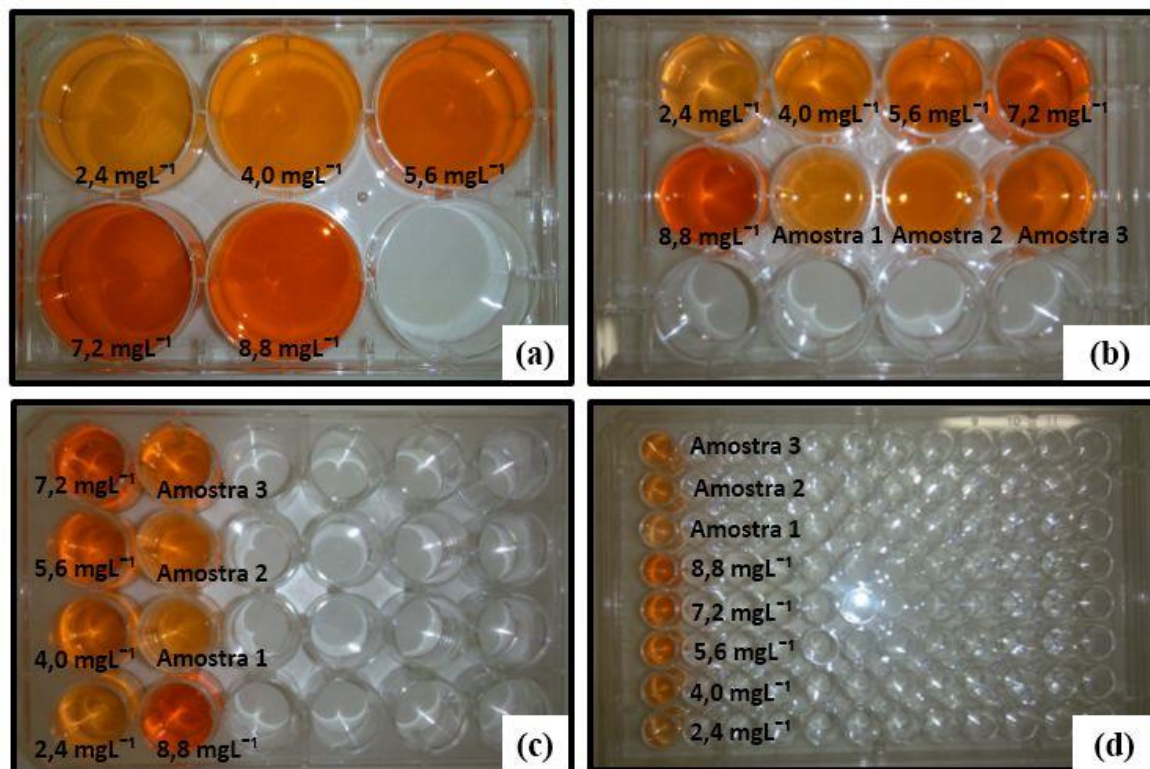
Avaliando o gráfico em geral pode-se verificar a variância presente na amostra de uma placa, sendo que apesar de a componente principal 1 separar as amostras das diferentes placas, elas possuem muita variância entre si. Cada região circulada no gráfico representa uma amostra segregada nos canais R, G e B, pois para realizar o cálculo de textura primeiramente o *software* faz a decomposição da imagem nos 3 canais.



**Figura 27.** Gráfico de *scores* PC1 x PC2 das amostras de granito pela análise de textura.

### 5.3 Determinação de ferro em vitamina

Na Figura 28 estão representados os pontos das curvas de calibração e as amostras para quantificação de ferro, a Figura 28 (a) apresenta apenas os pontos das curvas, nas Figuras 28 (b), (c) e (d) estão os pontos da curva seguidos das amostras de vitamina.

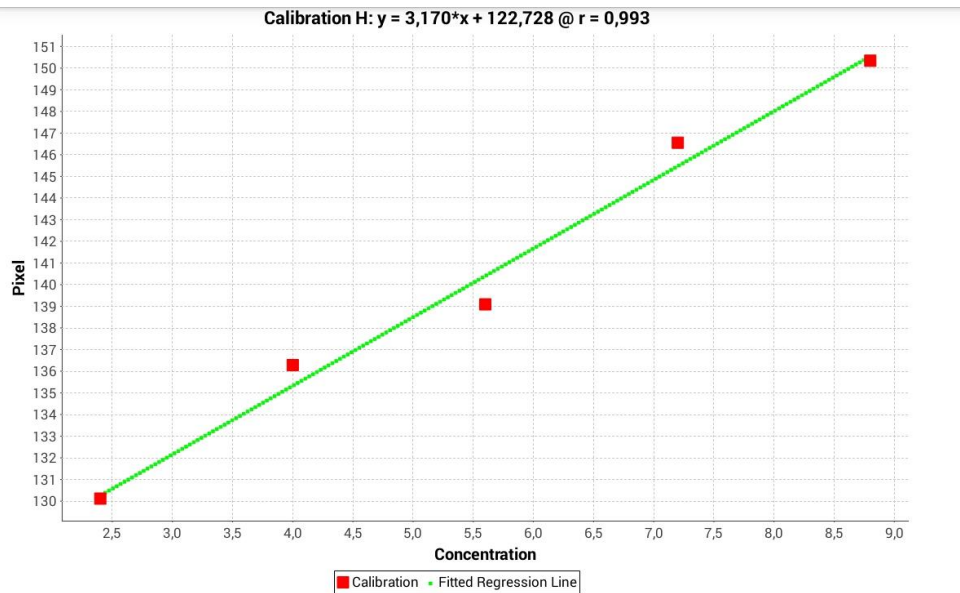


**Figura 28.** Microplacas de polietileno tereftalato utilizadas para a aquisição das imagens. (a) placa com 6 cavidades, (b) 12 cavidades, (c) 24 cavidades e (d) 96 cavidades.

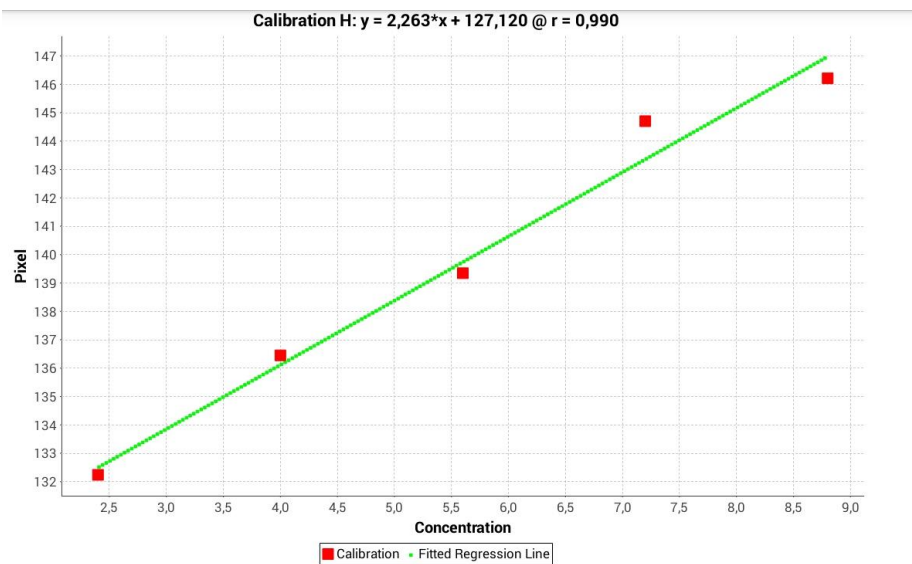
A distância de coleta da imagem foi de 5,5 cm para as placas de 6 e 12 cavidades, e aproximadamente 4,5 cm para as placas de 24 e 96 cavidades.

Nas Figuras 29, 30, 31 e 32 é possível observar as curvas de calibração (pixel *versus* concentração) para cada ensaio produzidas pelo aplicativo utilizando o canal de cor H, onde para a microplaca de 6 cavidades o coeficiente de determinação de Person foi de 0,993, para a de 12 cavidades foi de 0,990, a de 24 cavidades 0,999 e para a microplaca de 96 cavidades foi de 0,993.

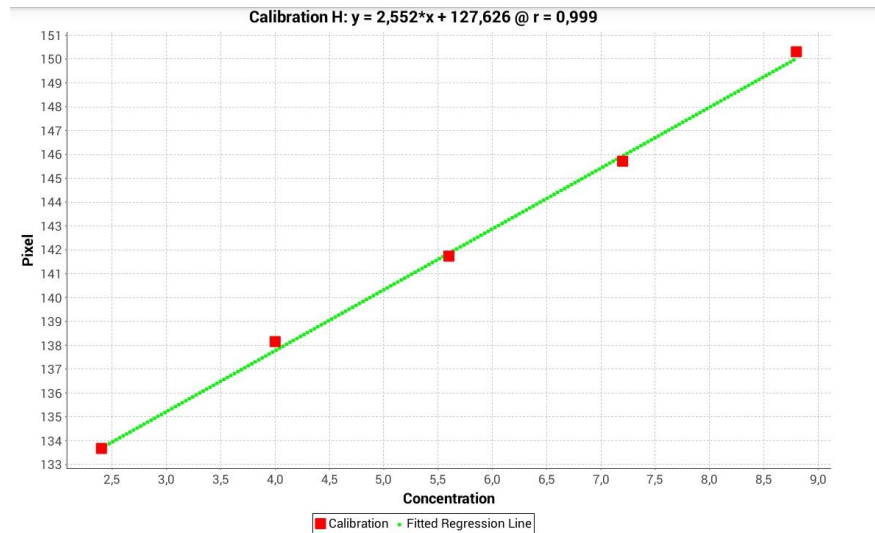




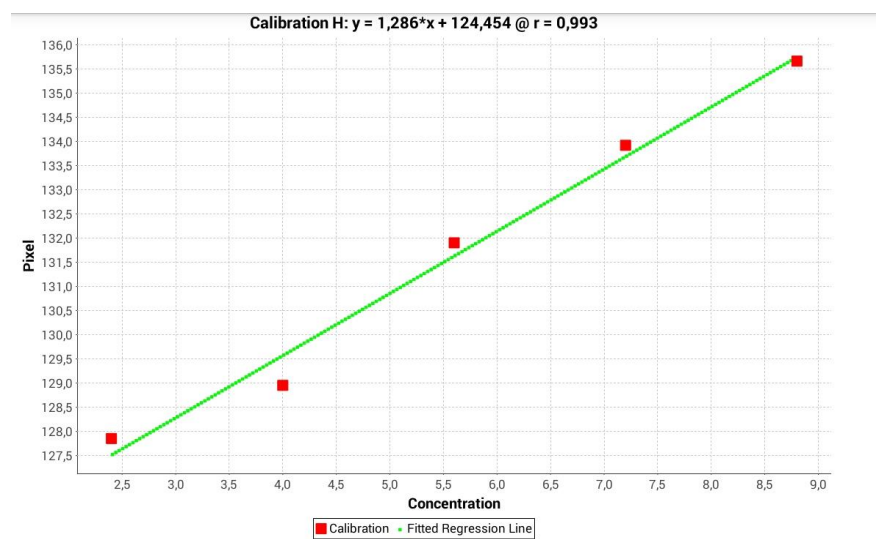
**Figura 29.** Curva de calibração microplaca de 6 cavidades para quantificação de Fe II.



**Figura 30.** Curva de calibração microplaca de 12 cavidades para quantificação de Fe II.

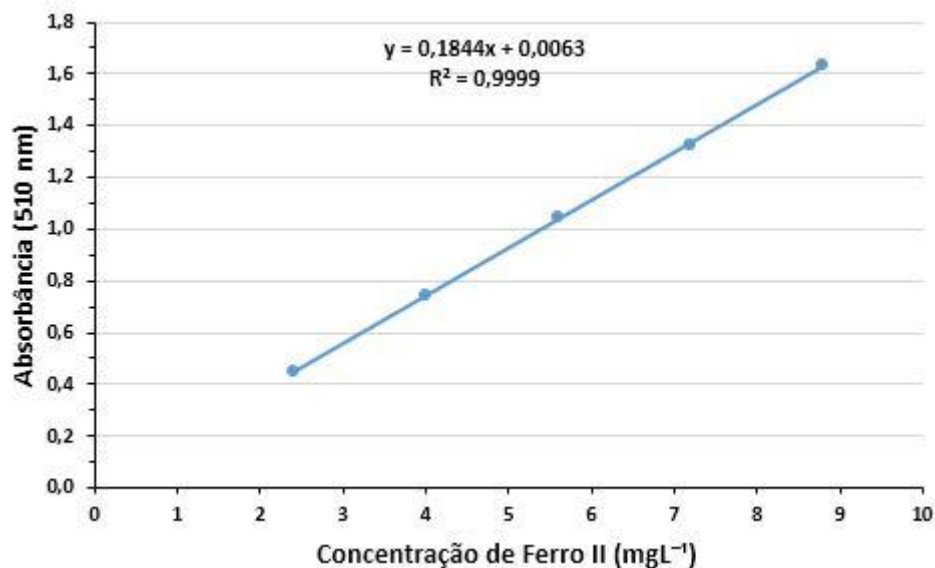


**Figura 31.** Curva de calibração microplaca de 24 cavidades para quantificação de Fe II.



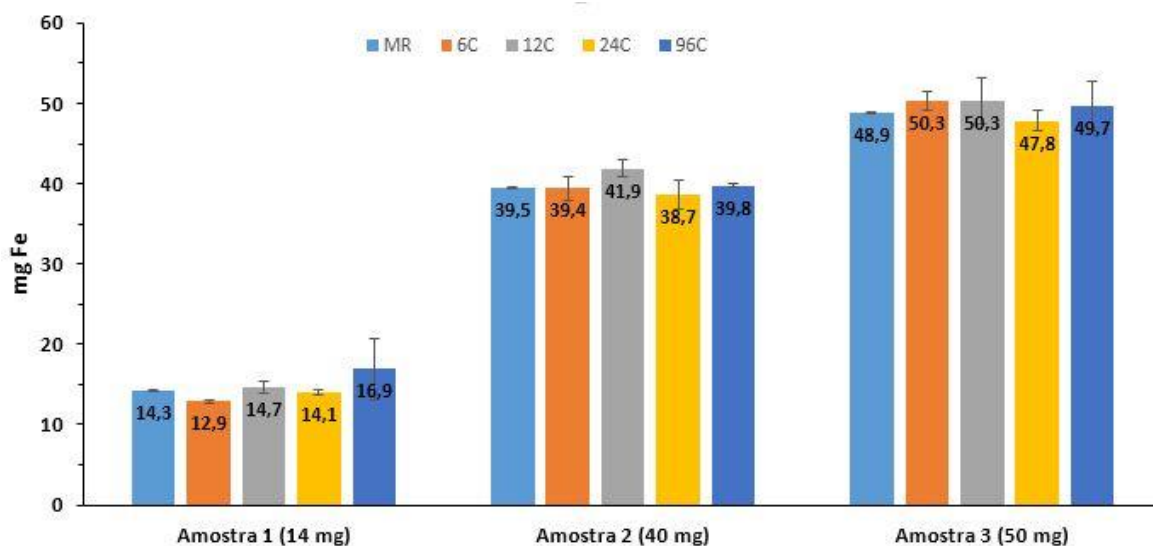
**Figura 32.** Curva de calibração microplaca de 96 cavidades para quantificação de Fe II.

Na Figura 33 está apresentada a curva de calibração obtida utilizando o método de referência (ASTM E 394, 2004), com um coeficiente de determinação de Pearson de 0,9999.



**Figura 33.** Curva de calibração de ferro obtida através de análise com espectrofotômetro.

Na Figura 34 está apresentado o gráfico com os valores das médias e desvio-padrão para a quantificação de ferro nas amostras de suplementos vitamínicos pelo método desenvolvido neste estudo em comparação ao método de referência (ASTM E 394, 2004).



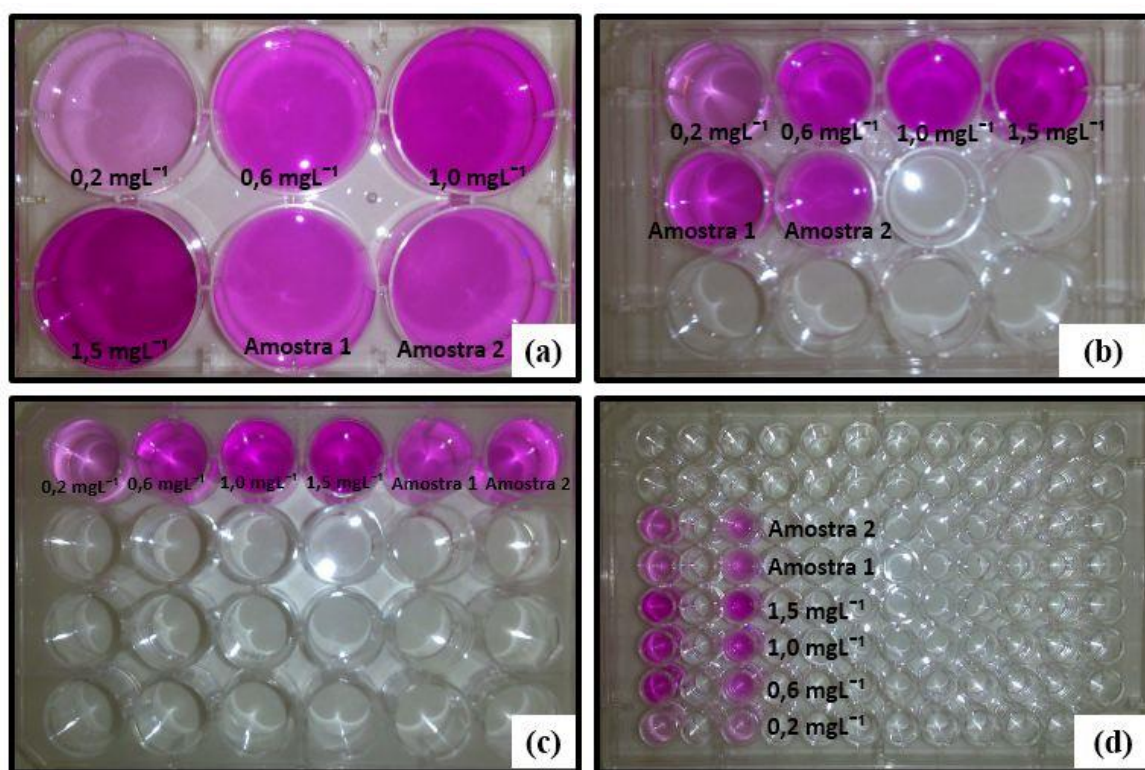
**Figura 34.** Comparação dos resultados da determinação de ferro obtidos pelos dois métodos estudados.

A análise comparativa entre as concentrações de ferro nas amostras de vitaminas obtidos pelo método de referência (MR) e os apresentados pelo método proposto demonstraram que, apesar dos resultados obtidos pelo aplicativo apresentarem um desvio padrão mais elevado em relação ao método de referência, não foram identificadas

diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os dois métodos de quantificação. Além disso, os resultados de RMSD foram de 0,66, 0,93, 0,48 e 0,91 para as microplacas de 6, 12, 24 e 96 cavidades, e MER% de 4,62%, 3,74%, 1,92% e 4,84% para as microplacas de 6, 12, 24 e 96 cavidades, respectivamente, semelhante aos resultados apresentados por Zarei *et al.* (2005), RMSD = 0,17 a 0,37 e MRE = 3,6 a 5,3, com o reagente cromogénico misturado pela rede neural artificial de componentes principais (PC -Ann) e calibração multivariada por PCR e PLS para a determinação de ferro em formulações farmacêuticas.

#### 5.4 Determinação de nitrito em água

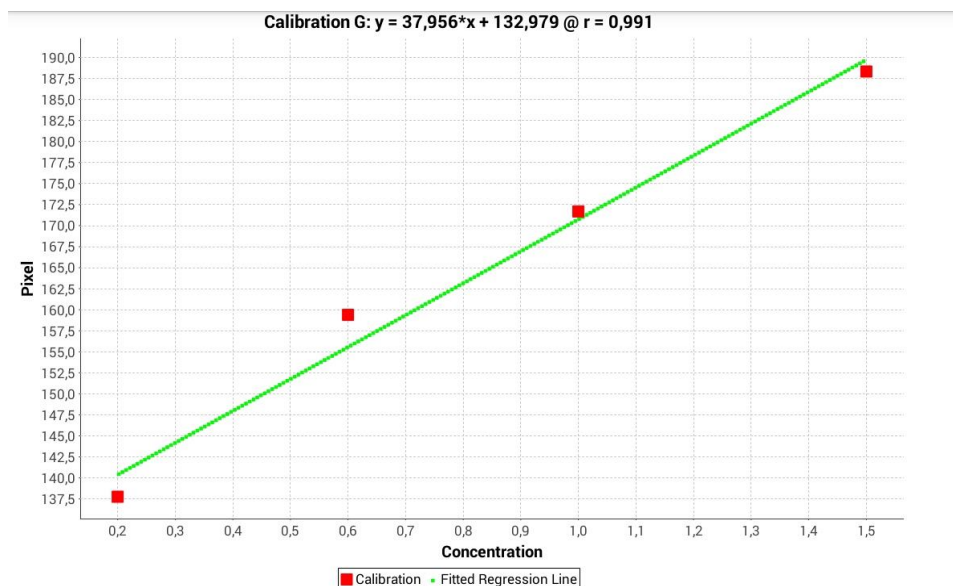
Na Figura 35 estão representados os pontos das curvas de calibração e as amostras para quantificação de ferro, a Figura 35 (a) apresenta apenas os pontos das curvas, nas Figuras 35 (b), (c) e (d) estão os pontos da curva seguidos das amostras de água.



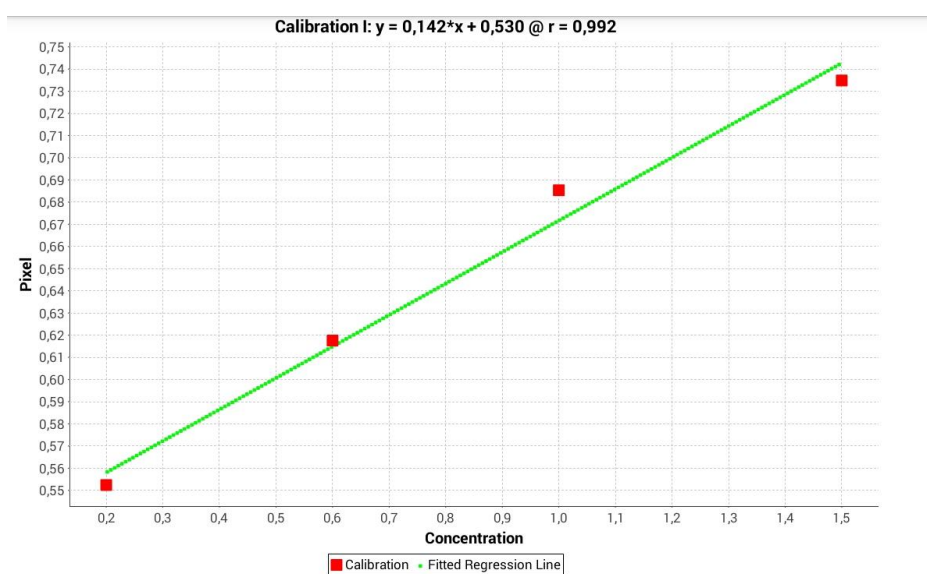
**Figura 35.** Microplacas de polietileno tereftalato utilizadas para a aquisição das imagens. (a) placa com 6 cavidades, (b) 12 cavidades, (c) 24 cavidades e (d) 96 cavidades.

A distância de coleta da imagem foi de 5,5 cm para as placas de 6 e 12 cavidades, e aproximadamente 4,5 cm para as placas de 24 e 96 cavidades.

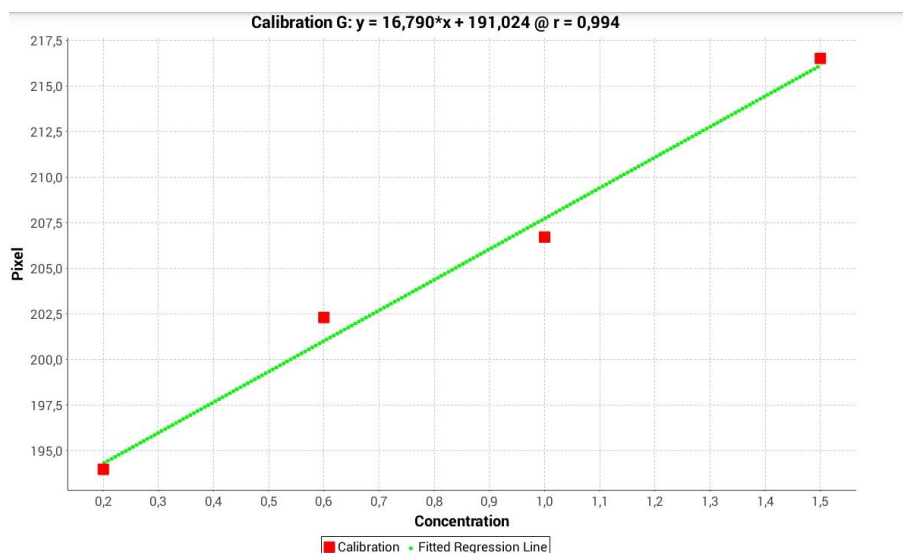
Nas Figuras 36, 37, 38 e 39 é possível observar as curvas de calibração (pixel *versus* concentração) para cada ensaio produzidas pelo aplicativo utilizando os canais de cor G, I e L, onde para a microplaca de 6 cavidades o coeficiente de determinação de Person foi de 0,991 pelo canal G, para a de 12 cavidades foi de 0,992 pelo canal I, a de 24 cavidades 0,994 pelo canal G e para a microplaca de 96 cavidades foi de 0,994 pelo canal L.



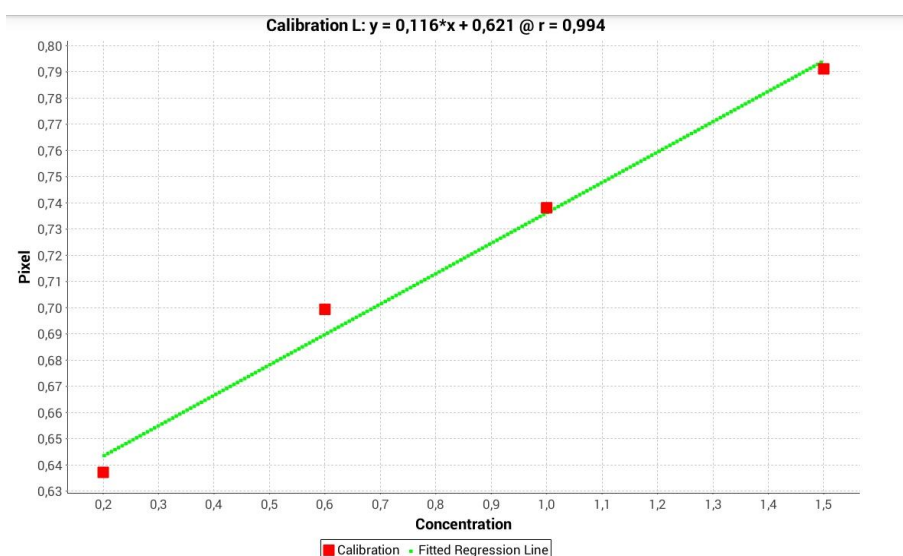
**Figura 36.** Curva de calibração microplaca de 6 cavidades para quantificação de  $\text{NO}_2^-$ .



**Figura 37.** Curva de calibração microplaca de 12 cavidades para quantificação de  $\text{NO}_2^-$ .



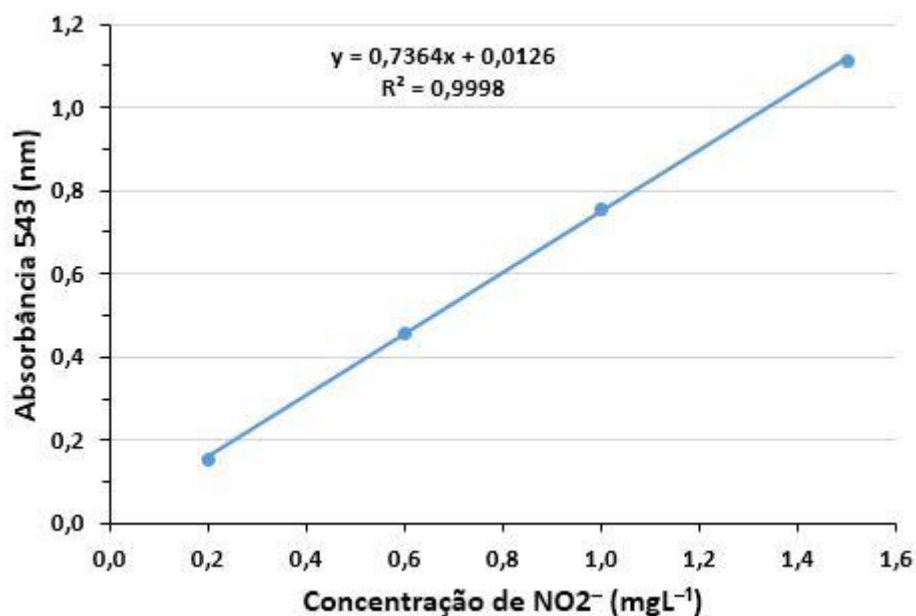
**Figura 38.** Curva de calibração microplaca de 24 cavidades para quantificação de  $\text{NO}_2^-$ .



**Figura 39.** Curva de calibração microplaca de 96 cavidades para quantificação de  $\text{NO}_2^-$ .

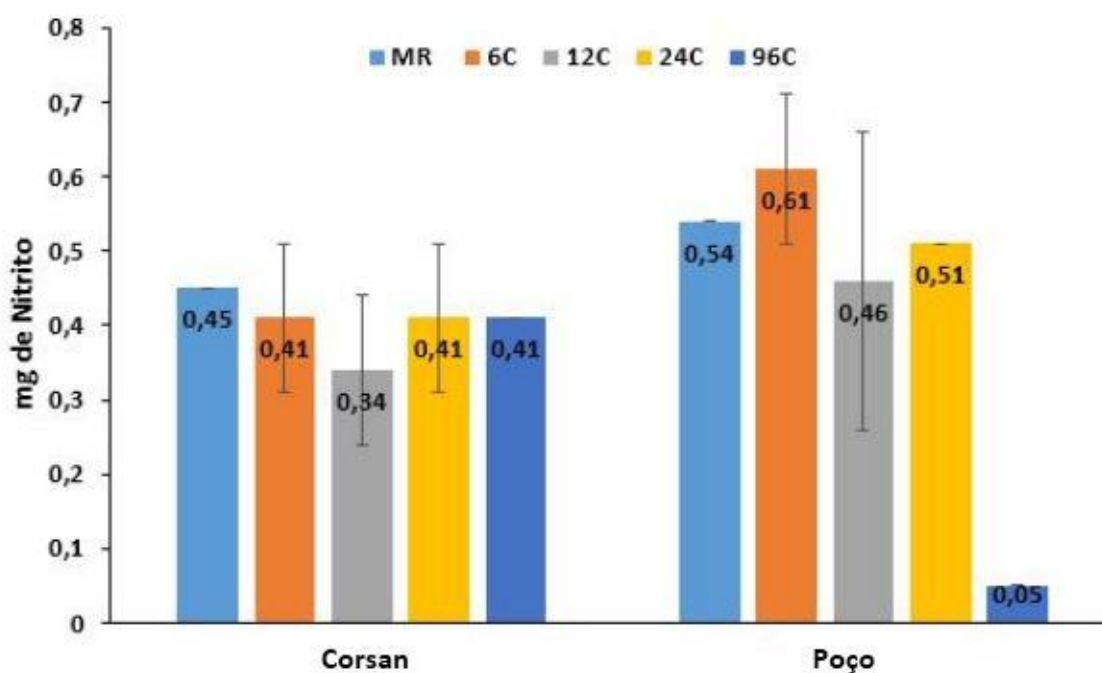
As curvas de calibração apresentadas para cada placa, foram definidas de acordo com os melhores resultados adquiridos durante a análise. A diferença de luminosidade e volume de amostra em cada placa pode ser um fator influenciador na diferença entre os canais de cores apresentados para as diferentes placas.

Na Figura 40 está apresentada a curva de calibração obtida utilizando o método de referência, com um coeficiente de determinação de Pearson de 0,9998 (APHA, 2005).



**Figura 40.** Curva de calibração de nitrito obtida através de análise com espectrofotômetro.

Na Figura 41 está apresentado o gráfico com os valores das médias e desvio-padrão para a quantificação de nitrito nas amostras de água pelo método desenvolvido neste estudo em comparação ao método de referência.



**Figura 41.** Comparação dos resultados da determinação de nitrito obtidos pelos dois métodos estudados.

Com os resultados apresentados na Figura 41 é possível visualizar que existem diferenças entre os métodos estudados, principalmente para amostra coletado no poço, onde além de apresentar alto desvio-padrão também apresenta valores distantes de concentração em relação ao método de referência.

Na comparação dos resultados obtidos, utilizando a ANOVA, com nível de confiança de 95%, utilizando o *software* GraphPad InStat® versão 3.00. O valor obtido de P foi de 0,0057, considerado muito significativo, onde foi possível identificar através do teste de Tukey, que os resultados obtidos pela placa de 96 cavidades, comprometem a qualidade dos resultados.

Os resultados de RMSD foram de 0,04, 0,07, 0,02 e 0,24 para as microplacas de 6, 12, 24 e 96 cavidades, e MER% de 9,44%, 26,18%, 7,76% e 470,45% para as microplacas de 6, 12,24 e 96 cavidades, mostrando a alto erro médio relativo comparado com o método de determinação de ferro.

Mesmo desconsiderando os resultados obtidos com a placa de 96 cavidades, observa-se uma variação significativa dos resultados obtidos quando utilizado o aplicativo para quantificação de nitritos em água.

Este fato pode ocorrer devido a maior suscetibilidade a interferências que esta técnica apresenta, pois diferentemente do espectrofotômetro, onde é quantificada a radiação transmitida através da amostra (e aplicada a lei de Lambert-Beer), a técnica utilizada pelo aplicativo quantifica a luz refletida pela amostra (a imagem) não permitindo a quantificação da luz incidente.

Foram realizados testes com níveis mais concentrados e menos concentrados de nitrito para avaliar a interferência da concentração da cor na análise, em testes com amostras com teor de nitrito mais elevado ocorre um erro ainda maior devido a intensidade refletida da amostra, já para amostras mais diluídas, o fundo do frasco (placa) pode interferir na qualidade dos resultados.



## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados produzidos durante o desenvolvimento desta dissertação de mestrado contribuíram para o desenvolvimento do Grupo de Pesquisa em Quimiometria da UNISC, especialmente na área de análise de imagens, uma vez que os resultados aqui produzidos foram utilizados na avaliação e aperfeiçoamento dos *softwares* CHEMOSTAT® e PhotoMetrix, que resultou na produção de três artigos (dois já publicados), e no encaminhamento do registro destes *softwares* junto ao INPI.

Quanto aos resultados propriamente ditos, os resultados das análises das amostras de MDF pela PCA, a partir do modelo de segregação HSVLI identificaram que as duas primeiras componentes principais explicam 93,03% da variância dos dados, podendo identificar a semelhança e a relação de agrupamento formados pelas amostras a partir da reprodução do gráfico de *scores* com as imagens impressas, mostrando-se uma ferramenta útil para a comparação de materiais de diferentes procedências, bem como para o monitoramento e controle de qualidade de processos produtivos, seja de placas de MDF ou mesmo de móveis.

Da mesma forma, os resultados de PCA executada para as amostras de granitos a partir do cálculo de textura utilizando transformada rápida de Fourier (*Fast Fourier Transform*) mostraram que as duas primeiras componentes principais explicam 75,73% da variância dos dados, através dos gráficos de *scores* foi possível visualizar a separação das duas amostras estudadas. A componente principal 1 foi responsável pela formação de dois agrupamentos, do lado positivo da PC1 foram agrupadas as amostras do mármore Cinza Cristal, e do lado negativo da PC1 estão as amostras do mármore Cinza Gorumbá. Além disto, neste experimento foi utilizado o escâner portátil, que permite a aquisição de imagens in loco e padroniza a iluminação da superfície do material durante o processo de aquisição das imagens.

Quanto aos resultados dos estudos de calibração univariada a partir de imagens digitais, foi possível comprovar a eficiência da metodologia utilizada a partir da construção de curvas de calibração e quantificação de analito a partir de imagens utilizando o aplicativo PhotoMetrix. Os resultados obtidos pelo método de determinação de ferro em amostras de suplemento vitamínico a base de sulfato ferroso, apresentaram-se compatíveis aos resultados apresentados pelo método de referência. Desta forma o aplicativo PhotoMetrix é uma promissora ferramenta para o desenvolvimento de novos métodos

analíticos, portáteis, e acessíveis, que permitam a produção de informação científica de forma rápida e em condições adversas.

No entanto, os resultados na determinação de nitrito em amostras de água revelaram problemas de interferências, sendo que em altas concentrações ocorrem erros em virtude de imagem refletida, e em baixas concentrações a transparência excessiva das soluções em análise parece prejudicar a precisão dos resultados.

Assim, de forma geral, as metodologias estudadas apresentaram resultados promissores permitindo a distinção e classificação de amostras através da análise de componentes principais de imagens, bem como certas limitações a quantificação de analitos em amostras através da utilização de um aplicativo de celular.

## 7. REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21<sup>o</sup> ed. Washington, 2005.

ANTONELLI, A.; COCCHI, M.; FAVA, P.; FOCA, G.; FRANCHINI, G. C.; MANZINI, D.; ULRICI, A. Automated evaluation of food colour by means of multivariate image analysis coupled to a wavelet-based classification algorithm. *Analytica Chimica Acta*, v. 515, p. 3-13, fev. 2004.

ASTM E 394; *Standard test method for iron in trace quantities using the 1,10-phenanthroline method*, 2004.

AZEVEDO, E.; CONCI, A. *Computação Gráfica*. v. 1. Elsevier Editora Ltda, 2003. 353 p.

AZEVEDO, E.; LETA, F. R.; CONCI, A. *Computação Gráfica*. v. 2. Elsevier Editora Ltda, 2008. 407 p.

AZILAWATI, M. I.; HASHIM, D. M.; JAMILAH, B. AMIN, I. RP-HPLC method using 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate incorporated with normalization technique in principal component analysis to differentiate the bovine, porcine and fish gelatins. *Food Chemistry*, v. 172, p. 368-376, abr. 2015.

BABAMORADI, H.; VAN DEN BERG, F.; RINNAN, A. Bootstrap based confidence limits in principal component analysis – A case study. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 120, n. 1, p. 97-105, 2013.

BARROS NETO, B.; PIMENTEL, M. F.; ARAÚJO, M. C. U. Recomendações para calibração em química analítica – Parte I. Fundamentos e calibração com um componente (Calibração univariada). *Química Nova*, v. 25, n. 5, p. 856-865, 2002.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. *Como fazer experimentos*. 2 ed. UNICAMP, 2003. 401 p.

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

BENASSI, V. T.; VARÉA, G. S.; PRUDENCIO, S. H. Tofus de diferentes cultivares de soja: perfil sensorial e correlação com medidas instrumentais e de composição química. *Alimentos e Nutrição*, v. 23, n. 4, p. 555-565, out./dez. 2012.

BENITES, V. M.; MOUTTA, R. O.; COUTINHO, H. L. C.; BALIEIRO, F. C. Análise discriminante de solos sob diferentes usos em área de mata atlântica a partir de atributos da matéria orgânica. *Revista Árvore*, v. 34, n. 4, p. 685-690, mar. 2010.

BÖCK, F. C.; ASSMANN, D.; HELFER, G. A.; COSTA, A. B. Uma Proposta Didática no Ensino de Análise Exploratória de Dados com Imagens de MDF (Medium-Density Fiberboard). *Revista Virtual de Química*, v. 7, n. 6, p. 2475-2486, nov.-dez. 2015.

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

CHANDRASEKARAN, A.; RAVISANKAR, R.; HARIKRISHNAN, N.; SATAPATHY, K. K.; PRASAD, M. V. R.; KANAGASABAPATHY, K. V. Multivariate statistical analysis of heavy metal concentration in soils of Yelagiri Hills, Tamilnadu, India – Spectroscopical approach. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 137, n. 0, p. 589-600, fev. 2015.

CHERNOV, V.; ALANDER, J.; BOCHKO, V. Integer-based accurate conversion between RGB and HSV color spaces. *Computers and Electrical Engineering*, v. 46, p. 328-337, 2015.

CORVUCCI, F.; NOBILI, L.; MELUCCI, D.; GRILLENZONI, F.–V. The discrimination of honey origin using melissopalynology and Raman spectroscopy techniques coupled with multivariate analysis. *Food Chemistry*, v. 169, n. 0, p. 297-304, fev. 2015.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamentos de dados analíticos. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 481-487, jan. 2007.

DAMASCENO, D.; TOLEDO, T. G.; GODINHO, M. S.; SILVA, C. P.; OLIVEIRA, S. B.; OLIVEIRA, A. E. Análise multivariada de imagens na química: um experimento para determinação do pH de águas potáveis. *Química Nova*, v. 38, n. 6, p. 836-841, mai. 2015.

FERREIRA, Márcia Miguel Castro. *Quimiometria - Conceitos, Métodos e Aplicações*. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2015.

FRANCESQUETT, J. Z.; DOPKE, H. B.; COSTA, A. B.; KIPPER, L. M.; FERRÃO, M. F. Determinação do poder calorífico de amostras de gasolina utilizando espectroscopia no infravermelho próximo e regressão multivariada. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, v. 5, n. 2, p. 88-95, jul. 2013.

FRANÇOIS, N.; GOVAERTS, B.; BOULANGER, B. Optimal designs for inverse prediction in univariate nonlinear calibration models. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 74, n. 2, p. 283-292, dez. 2004.

GALO, A. L.; COLOMBO, M. F. Espectrofotometria de longo caminho óptico em espectrofotômetro de duplo-feixe convencional: uma alternativa simples para investigações de amostras com densidade óptica muito baixa. *Química Nova*, v. 32, n. 2, p. 488-492, jan. 2009.

GHASEMZADEH-BARVARZ, M.; RODRIGUE, D.; DUCHESNE, C. Multivariate image analysis for inspection of multilayer films. *Polymer Testing*, v. 40, n. 0, p. 196-206, dez. 2014.

GODINHO, M. S.; PEREIRA, R. O.; RIBEIRO, K. O.; SCHIMIDT, F.; OLIVEIRA, A. E. Classificação de refrigerantes através de análise de imagens e análise de componentes principais (pca). *Química Nova*, v. 31, n. 6, p. 1485-1489, ago. 2008.

- GODINHO, M. S.; OLIVEIRA, A. E.; SENA, M. M. Determination of interfacial tension of insulating oils by using image analysis and multi-way calibration. *Microchemical Journal*, v. 96, p. 42-45, 2010.
- GOMES, J.; VELHO, L. *Computação Gráfica: Imagem*. 3. ed. Rio de Janeiro, IMPA, 2002. 424 p.
- GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. *Digital image processing*. 3. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2008. 954 p.
- GRAZIANI, M. B. *Aplicação de ferramentas estatísticas para avaliação de filmes de emulsões estireno acrílicas*. 2010. 83 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química – Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.
- HELPER, G. A.; BOCK, F.; MARDER, L.; FURTADO, J. C.; COSTA, A. B.; FERRÃO, M. F. ChemoStat, um software gratuito para análise exploratória de dados multivariados. *Química Nova*, v. 38, n. 4, p. 575-579, abr. 2015.
- KIRKUP, L.; MULHOLLAND, M. Comparison of linear and non-linear equations for univariate calibration. *Journal of Chromatography A*, v. 1029, n. 1-2, p. 1-11, mar. 2004.
- KOSCIELNIAK, Pawel. Univariate calibration techniques in flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, v. 438, n. 1-2,3, p. 323-333, jan. 2001.
- LEÃO, A. C.; SOUZA, L. A. C.; ARAÚJO, A. A. Gerenciamento de cores – ferramenta fundamental para a documentação de bens culturais. *Revista Brasileira de Arqueometria, Restauração e Conservação*, v. 1, n. 4, p. 215-220, 2007.
- LUPETTI, K. O.; CARVALHO, L. C.; MOURA, A. F., FATIBELLO-FILHO, O. Análise de imagem em química analítica: empregando metodologias simples e didáticas para entender e prevenir o escurecimento de tecidos vegetais. *Química Nova*, v. 28, n. 3, p. 548-554, jan. 2005.
- LYRA, W. S.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U.; FRAGOSO, W. D.; VERAS, G. Classificação periódica: um exemplo didático para ensinar análise de componentes principais. *Química Nova*, v. 33, n. 7, p. 1594-1597, jul. 2010.
- MATOS, G. D.; PEREIRA-FILHO, E. R.; POPPI, R. J.; ARRUDA, M. A. Z. Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: pca e pca de imagens. *Revista Analytica*, n. 6, p. 38-50, ago./set. 2003.
- NASCIMENTO, J. A.; DIONÍSIO, A. G. G.; NASCIMENTO, E. C. L.; FREITAS, S. K. B.; ARAÚJO, M. C. U. Análise screening de vinhos empregando um analisador fluxo-batelada, espectroscopia uv-vis e quimiometria. *Química Nova*, v. 33, n. 2, p. 351-357, 2010.
- PEDRINI, H.; SCHWARTZ, W. R. *Análise de imagens digitais*. THOMSON, 2008. 507 p.

PEREIRA, P. C. S.; FREITAS, C. F.; CHAVES, C. S.; ESTEVÃO, B. M.; PELLOSI, D. S.; TESSARO, A. L.; BATISTELA, V. R.; SCARMINIO, I. S.; CAETANO, W.; HIOKA, N. A quimiometria nos cursos de graduação em química: proposta do uso da análise multivariada na determinação de  $pK_a$ . *Química Nova*, n. 8, v. 37, p. 1417-1425, jul. 2014.

PIMENTA, C. D.; SILVA, M. B.; RIBEIRO, R. B.; CLARO, F. A. E. Planejamento de experimentos em blocos aplicado às propriedades mecânicas de arames de aço para molas. *Production*, n. 1, v. 24, p. 71-83, jan./mar. 2014.

POJÍČ, M.; RAKIĆ, D.; LAZIĆ, Ž. Chemometric optimization of the robustness of the near infrared spectroscopic method in wheat quality control. *Talanta*, n. 0 v. 131, p. 236-242, jan. 2015.

PRATS-MONTALBÁN, J. M.; DE JUAN, A.; FERRER, A. Multivariate image analysis: A review with applications. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 107, n. 1, p. 1-23, mai. 2011.

PROMEGA CORPORATION. *Technical Bulletin*. Madison: USA, 2009.

SANCHEZ-CUEVAS, M. C.; AGUILAR-PONCE, R. M. TECPANECATL-XIHUITL, J. L. A comparison of color models for color face segmentation. *Procedia Technology*, v. 7, p. 134-141, 2013.

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

SANTOS, L. M. G.; GONÇALVES, J. M.; JACOB, S. C. Determinação simultânea de As, Cd e Pb em amostras de água purificada para hemodiálise por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, após otimização multivariada baseada no uso de planejamento experimental. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 975-979, jul. 2008.

SANZ, I.; MUSEROS, L.; FALOMIR, Z.; GONZALEZ-ABRIL, L. Customising a qualitative colour description for adaptability and usability. *Pattern Recognition Letters*. In Press.

SCRAMIN, S.; CHAIM, A.; PESSOA, M. C. P. Y.; FERRACINI, V. L.; PAVAN, L. A.; ALVARENGA, N. Avaliação de bicos de pulverização de agrotóxicos na cultura de algodão. *Pesticidas: R. Ecotoxicol. E Meio Ambiente*, v. 12, n. 1, p. 43-50, jan./dez. 2001.

SENA, M. M.; POPPI, R. J.; FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solo. *Química Nova*, v. 23, n. 4, p. 547-556, 2000.

SENA, M. M.; TREVISAN, M. G.; POPPI, R. J. PARAFAC: uma ferramenta quimiométrica para tratamento de dados multidimensionais. aplicações na determinação direta de fármacos em plasma humano por espectrofluorimetria. *Química Nova*, v.28, n.5, p. 910-920, jun. 2005.

SHEN, L.; HAGEN, J. A.; PAPAUTSKY, I. Point-of-care colorimetric detection with a smartphone. *Lab on a Chip*, v. 12, n. 21, p. 4240-4243, set. 2012.

SILVA, T. C. O.; GODINHO, M. S.; OLIVEIRA, A. E. Identification of pale lager beers via image analysis. *Latin American Applied Research*, v. 41, p. 141-145, 2011.

SILVA, W. M.; SANTOS, F. R.; BATISTUTI, J. P. Validação de um novo método analítico para quantificação de ácido fólico por espectrofotometria-UV. *Alimentos e Nutrição*, v. 24, n. 3, p. 275-282, jul./set. 2013.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte 1. *Química Nova*, v. 35, n. 1, p. 223-229, 2012.

SOUZA, J. S.; FERRÃO, M. F. Aplicações da espectroscopia no infravermelho no controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco de potássio. Parte I: Dosagem por regressão multivariada. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 3, p. 437-445, jul./set. 2006.

RODRIGUES, D. M.; SELLITTO, M. A. Análise do desempenho de fornecedores de uma empresa de manufatura apoiada em análise de aglomerados. *Produção*, v. 19, n. 1, p. 55-69, jan./abr. 2009.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Estudo da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. *Química Nova*, v. 32, n. 5, p. 1278-1287, mai. 2009.

ZAREI, K.; ATABATI, M.; KAZEMI, L. Simultaneous determination of Fe(II) and Fe(III) in pharmaceutical formulations with chromogenic mixed reagent by using principal component artificial neural network and multivariate calibration. *IL Farmaco*, v. 60, p. 37-42, 2005.

ZUNIN, P.; BOGGIA, R.; TURRINI, F.; LEARDI, R. Total and "free" lipids in commercial infant formulas: Fatty acid composition and their stability to oxidation. *Food Chemistry*, v. 173, n. 0, p. 332-338, abr. 2015.