



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**USO DO APLICATIVO PHOTOMETRIX PARA
DETERMINAÇÃO DE FERRO EM AMOSTRAS DE PÓLEN E
SUPLEMENTO VITAMÍNICO**

ANA PAULA SAQUETTI

Florianópolis

Maio/2021

Ana Paula Saquetti

USO DO APLICATIVO PHOTOMETRIX PARA DETERMINAÇÃO DE FERRO EM AMOSTRAS DE PÓLEN E SUPLEMENTO VITAMÍNICO

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio II (QMC 5512)

Orientador: Prof. Dr. Eduardo S. Chaves

Coorientadora: Fabiana Luvizon

Florianópolis
Maio/2021

Agradecimentos

Primeiramente quero agradecer aos meus pais, Luiz e Ieda, por todo o carinho e apoio desde o início da graduação, por terem me proporcionado as melhores oportunidades e estarem sempre comigo, mesmo de longe. Agradeço também ao meu irmão Júnior e sua noiva Fernanda, por estarem sempre do meu lado e dispostos a me ajudar sempre que precisei.

Aos meus amigos, em especial ao Vinícius Haddad, Maria Eduarda Pierri, Jessica Toigo e Giliandro Farias por terem me ajudado durante todo o processo, foram pessoas maravilhosas que conheci durante a graduação e estiveram comigo até o final. O apoio deles foi essencial para a realização deste trabalho. Agradeço também ao pessoal da Atlética da Química, que foram como minha segunda família em Florianópolis.

Agradeço a todos do Laboratório de Espectrometria Atômica e de Massas e Laboratório de Análise de Resíduos (LEMA-LARES) pela oportunidade de trabalhar com eles, em especial ao meu orientador Eduardo Chaves e minha coorientadora (e amiga) Fabiana Luvizon, sem eles nada disso teria sido possível, fizeram tudo pra me ajudar e eu serei eternamente grata.

A UFSC, pelo ensino gratuito e de qualidade, além de todos os anos incríveis que tive a oportunidade de frequentar os espaços acadêmicos. Agradeço também a todos os professores, muito obrigada!

Sumário

RESUMO	6
1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO DA LITERATURA	9
2.1 Pólen	9
2.2 Determinação de metais em amostras de alimentos	11
2.3 Uso de aplicativos de <i>smartphones</i> para análises quantitativas	13
2.4 Técnicas de preparo de amostras	15
3 OBJETIVOS	16
3.2 Objetivos Específicos	16
4 MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1 Amostras	17
4.2 Instrumentação	17
4.3 Reagentes e Soluções	18
4.4 Preparo da amostra	18
4.5 Análise no PhotoMetrix®	18
4.6 Segurança	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
5.1 Condições de complexação	20
5.2 Otimização dos parâmetros instrumentais	21
5.2.1 <i>Influência do modelo do smartphone utilizado na aquisição das imagens digitais.</i>	22
5.2.2 <i>Influência do sistema de aquisição das imagens digitais</i>	23
5.4 Determinação de ferro nas amostras através do aplicativo PhotoMetrix® PRO	26
5.5 Avaliação da veracidade do método proposto	29
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	31
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

LISTA DE ABREVIATURA E ACRÔNIMOS

F AAS – Espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*

GF AAS – Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

ICP OES – Espectrometria emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*

ICP-MS – Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*

GAC – Química Analítica Verde, do inglês *Green Analytical Chemistry*

RESUMO

Devido ao aumento da poluição e da utilização de agrotóxicos, é cada vez maior a valorização de produtos naturais e alguns deles não possuem limites de contaminantes definidos. O pólen de abelha é um desses alimentos, o qual apresenta em sua composição diversos macro e micronutrientes, como cálcio, ferro, magnésio, entre outros. Sabendo-se da importância do ferro em funções biológicas do corpo humano, o presente estudo propõe a quantificação de ferro em amostras de pólen e suplemento vitamínico por meio do aplicativo PhotoMetrix® PRO. O preparo da amostra de pólen foi realizado através da digestão em frasco aberto e utilizou-se a 1,10-fenantrolina para a complexação com o ferro. Foram realizados testes para definir os melhores parâmetros para aquisição das imagens das amostras: *smartphone* ideal, iluminação e posição dos instrumentos utilizados. Foi eficiente a utilização de um celular Moto G segunda geração, uma caixa branca para controle de iluminação e luz branca proveniente da lanterna de um segundo *smartphone* como fonte de iluminação. A leitura da concentração de ferro no suplemento vitamínico foi de $41,7 \pm 0,1$ mg/comprimido e obteve um erro de 4,17% quando comparado com o valor rotulado. O limite de quantificação do método usando o PhotoMetrix, calculado o primeiro ponto da curva de calibração, foi de $200 \mu\text{g g}^{-1}$. Utilizando o ICP-MS, a concentração de ferro determinada na amostra de pólen foi de $63 \mu\text{g g}^{-1}$. Assim, não foi possível realizar a determinação da concentração de ferro nas amostras de pólen por meio do aplicativo

Palavras-chave: PhotoMetrix® PRO, pólen, ferro, 1,10-fenatrolina.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o aumento da poluição, a utilização de agrotóxicos e a valorização de produtos naturais, contribuíram para conscientização da população sobre a importância do monitoramento de compostos e elementos potencialmente tóxicos presentes em alimentos. Em geral, os alimentos industrializados possuem parâmetros nacionais e/ou internacionais, que estabelecem limites máximos de concentração de compostos e elementos com potencial toxicidade à saúde. No entanto, para alguns produtos naturais os limites máximos permitidos para diversos compostos ainda não foram estabelecidos.

O pólen de abelha é um dos produtos naturais que não possui limites estabelecidos para possíveis contaminantes, este é coletado das flores e utilizado como fonte primária de nutrição das abelhas, vem sendo utilizado também na alimentação humana, por ser uma rica fonte de diversos nutrientes, tais como aminoácidos, vitaminas e minerais. Sendo assim, é de suma importância a determinação de possíveis contaminantes, tais como metais em amostras de pólen de abelha para garantir a qualidade do produto utilizado na dieta humana.

Alguns macros e micronutrientes podem ser encontrados no pólen de abelha, como cálcio, magnésio, ferro, zinco, cobre, entre outros componentes, por apresentar essas características, concluiu-se que o pólen pode ser utilizado como um indicador biológico frente a poluição por metais tóxicos, alguns trabalhos citam que em áreas industriais a concentração de zinco, chumbo e níquel nesse alimento é mais elevada. Alguns metais presentes no pólen, como níquel e mercúrio, podem ser tóxicos dependendo da sua concentração em que se encontram, já outros são metais essenciais para o funcionamento do metabolismo do corpo humano. O ferro é um elemento essencial, pois está presente em muitas enzimas, proteínas e é de grande importância na regulação do crescimento e diferenciação das células. Sabe-se que sua deficiência está relacionada a doenças e outros problemas de saúde, como anemia, fadiga e imunidade baixa, e o seu excesso no corpo humano pode ser a causa de doenças degenerativas e o responsável por danos oxidativos nas células, acelerando o envelhecimento. Tendo o conhecimento sobre a importância do ferro para atividades biológicas básicas do corpo humano, é clara a necessidade da determinação do mesmo em amostras alimentícias.

A determinação de metais em geral pode ser realizada por diversas técnicas espectrométricas já conhecidas, são elas: a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Nestas, geralmente, se faz necessário preparo prévio das amostras que pode ser realizado, por exemplo, através da digestão ácida assistida por micro-ondas, por ultrassom, digestão em frasco aberto, solubilização alcalina através de Hidróxido de Tetrametilamônio (TMAH), entre outros. A técnica de preparo de amostra deve ser escolhida de acordo com as características da amostra, do analito e da técnica de análise que será utilizada.

Além das técnicas analíticas clássicas, nos últimos anos foram desenvolvidos aplicativos de acesso gratuito e fácil manuseio, como o PhotoMetrix® PRO que fazem as análises através de uma câmera. O aplicativo consegue capturar imagens e tratar os dados através de análise univariada ou multivariada, também permite calibrações em diferentes escalas de cores e apresenta os resultados de forma imediata. As imagens podem ser obtidas diretamente do *smartphone* ou, com o auxílio de um cabo USB, podem ser obtidas no computador. Tais aplicativos possuem vantagens como possibilitar a realização de análises de qualquer lugar, com equipamentos de fácil acesso e baixo custo. Nessa perspectiva, o presente trabalho visa avaliar a possibilidade da determinação da concentração de ferro em amostra de pólen de abelha, utilizando reação de complexação do Fe^{2+} com 1,10-fenantrolina e o aplicativo PhotoMetrix® PRO.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Pólen

O pólen é o órgão reprodutivo masculino das plantas, o qual é espalhado de uma flor para outra através de insetos ou também pelo vento, com o propósito da polinização, processo que consiste no transporte dos grãos de pólen de uma flor para a outra, é de grande importância para a reprodução das plantas (ALTUNATMAZ et al., 2017). As abelhas utilizam o pólen como fonte primária de nutrientes em seu processo de nutrição, elas coletam o pólen das flores. É possível diferenciar o pólen antes e após a polinização feita pelas abelhas, isso pois o pólen no processo de polinização mistura com a saliva da abelha. Na polinização ocorre a diluição do pólen de abelha com néctar, saliva e mel, sendo essa a maior diferença entre o pólen de abelha e o pólen de flor, além do nível de minerais no pólen das flores é maior que no pólen das abelhas (ALTUNATMAZ et al., 2017). A Figura 1 ilustra os grãos de pólen de abelha.



Figura 1. Grãos de pólen de abelha.

Fonte: Autoria própria (2021).

O pólen de abelha pode ser utilizado como fonte de diferentes nutrientes e suplemento alimentar, sua qualidade está relacionada a concentração de macro e micronutrientes essenciais, pois contém uma quantidade razoavelmente alta de proteínas, açúcares e lipídios (POHL et al., 2020). De acordo com sua composição nutricional e físico-química o pólen é considerado uma boa fonte de aminoácidos vitais. Há também compostos inorgânicos que são ingeridos em maior quantidade através da alimentação e desempenham funções muito importantes dentro do nosso organismo, porém a composição do pólen depende da sua origem botânica e

geográfica, essa variação ainda é um desafio na hora de promover o mercado do pólen de abelha (THAKUR; NANDA, 2020).

Com grande extensão de território, flora diversificada e clima favorável durante todo o ano, o Brasil tem um grande potencial para a apicultura, mas é necessário que mais estudos sobre os nutrientes e a composição do composto bioativo deste produto sejam realizados. Com isso, é possível promover sua maior produção e comercialização no mercado nacional e internacional, é importante realizar a verificação da presença de contaminantes que são prejudiciais à saúde para que isso seja possível (MORGANO et al., 2010).

Com o aumento do consumo de produtos naturais, o pólen de abelha tem sido cada vez mais procurado no mercado brasileiro por possuir propriedades nutritivas e terapêuticas que o tornam bom para a saúde humana, tornando-o um agente terapêutico natural. O pólen tem sido amplamente utilizado como complemento alimentar natural e como suplemento de bebidas fermentadas, pois, neste último, favorece a viabilidade probiótica e a viscosidade da bebida sem afetar os atributos sensoriais (THAKUR; NANDA, 2020).

Segundo o estudo realizado por KALBANDE et al. (2008), durante o processo de polinização o pólen fica exposto a poluentes, entre esses os metais tóxicos. A presença de poluentes no pólen pode estar relacionada ao aumento das alergias, tem-se também que os pólenes expostos à poluição tendem a apresentar uma maior concentração de cálcio, alumínio e ferro em comparação com pólenes que não foram expostos à poluição. Estes fatores, podem afetar a qualidade do pólen e interferir na fertilização de espécies mais sensíveis. Pensando-se no pólen de abelha como possível indicador biológico, avalia-se que a qualidade do ar está cada vez mais deteriorada devido à poluição industrial, sendo assim, plantas que se encontram em ambientes urbanos estão expostas a tal poluição, impactando a composição bioquímica do pólen e acarretando a redução do potencial de reprodução das mesmas, tem-se então a consequência de perda de biodiversidade (KALBANDE et al., 2008).

Para ALTUNATMAZ et al. (2017), a falta de parâmetros e limites internacionais e nacionais sobre a qualidade do pólen de abelha e os diferentes padrões nacionais que podem ser encontrados, é uma das dificuldades presentes para poder fazer uma avaliação completa deste produto. Segundo CAMPOS et al. (2008), o pólen contém macro nutrientes como cálcio, fósforo, sódio, magnésio e potássio, micronutrientes

como ferro, zinco, cobre, manganês e selênio, além de outros componentes, concluiu também que o pólen de abelha pode ser utilizado como um indicador biológico de poluição por metais potencialmente tóxicos, já que foi possível observar uma maior concentração de zinco, chumbo e níquel em áreas de agricultura e de indústrias.

Sendo assim, podem haver variações na composição mineral do pólen da abelha dependendo da sua localização geográfica, origem botânica e variações sazonais, ou seja, a origem do pólen é um fator crítico que pode afetar a sua composição de maneira significativa (CAMPOS, 2008).

Por ser reconhecido como fonte de diferentes nutrientes, é necessário que o pólen seja testado de maneira a identificar a concentração de macro e micronutrientes. Sendo assim, a determinação de diferentes minerais em amostras de pólen de abelha de diferentes origens botânicas e geográficas é uma parte significativa do controle de qualidade quando está relacionando o seu uso como suplementação alimentar (POHL et al., 2020).

2.2 Determinação de metais em amostras de alimentos

Alguns metais, como cádmio, níquel, mercúrio e chumbo são tóxicos mesmo em baixas concentrações, outros elementos, como ferro, zinco, cobre, cobalto, cromo e manganês, são metais essenciais para o funcionamento do metabolismo do corpo humano, eles possuem uma função importante no sistema biológico (ONIANWA, et al., 1999). Sendo assim, a determinação desses elementos no meio ambiente e nos alimentos é de suma importância, pois, como no caso dos alimentos, se faz necessário o monitoramento dos aspectos nutricionais e avaliação de possíveis contaminantes prejudiciais à saúde (DAŞBAŞĎ; SAÇMACĎ; ÜLGEN; KARTAL, 2016).

Um dos metais que apresenta grande importância no funcionamento do organismo é o ferro. Este é um elemento essencial para a vida humana, visto que está presente na estrutura da hemoglobina, fazendo ligação com o oxigênio e auxiliando no seu transporte no sangue, também está presente em muitas enzimas e outras proteínas, apresentando grande importância na regulação do crescimento e diferenciação das células (ARRUDA, 2013).

A deficiência de ferro está relacionada a doenças como a anemia, que pode levar a fadiga e imunidade baixa. Por outro lado, o excesso desse elemento no organismo pode acarretar doenças degenerativas e ser responsável pelo processo de envelhecimento, já que o acúmulo de ferro nos tecidos pode ser uma das causas

para a ocorrência de danos oxidativos acumulados em células no processo de envelhecimento. Apesar de o ferro ser um nutriente essencial para a saúde e estar presente em diversos processos biológicos, o ferro livre pode tornar-se potencialmente tóxico. A sobrecarga de ferro no organismo pode favorecer o aumento da produção de radicais livres, em consequência, aumentando os danos oxidativos a lipídios, proteínas e ao DNA. Isso faz com que sejam realizadas análises para que a quantidade de ferro seja apresentada de forma correta nas tabelas nutricionais dos alimentos (RODRIGUES, 2018; LEMOS, et al., 2008; ARRUDA, 2013).

Sabendo-se a importância do ferro para o funcionamento do corpo humano a quantificação desse elemento é realizada por diferentes técnicas analíticas, entre essas a F AAS, GF-AAS, ICP OES e ICP-MS. Estas técnicas estão entre as mais amplamente utilizadas nas análises laboratoriais para a determinação de elementos traço (KORN et al., 2008).

A utilização do ICP-MS e ICP OES na determinação de metais está amplamente difundida, ambas as técnicas possuem a vantagem de serem técnicas multielementares. Entretanto, uma das principais limitações associadas a estas está relacionada ao alto custo da instrumentação e, em alguns casos, a baixa tolerância a matrizes orgânicas (ACETO, 2016). A técnica de ICP-MS está presente em diversos artigos quando se fala na determinação de metais, como por exemplo na pesquisa de Ari, Can & Bakirdere (2020), no qual o objetivo era a determinação de ferro em amostras de água do mar.

Embora instrumentos analíticos de alta sensibilidade e resolução já estejam disponíveis no mercado, a busca por alternativas para análise elementar, de caráter mais econômico e que apresentem menores riscos à saúde do operador, bem como para o meio ambiente, têm sido explorada. Assim, nos últimos anos, a utilização de aplicativos baseados na detecção de cor por aparelhos fotográficos, com a finalidade de análises quantitativas, tem aumentado. O desenvolvimento de um método robusto, seletivo, de alto rendimento, com pouco ou sem necessidade de preparo de amostras, além de uma instrumentação acessível são ideais na química analítica. O aplicativo PhotoMetrix® é uma dessas alternativas, estando este disponível tanto para *smartphones* com sistema iOS e Android (LIMA, et al.).

2.3 Uso de aplicativos de *smartphones* para análises quantitativas

Aplicativos para a detecção fotométrica por *smartphone* podem ser facilmente adquiridos (muitos são disponibilizados gratuitamente), nem sempre o procedimento para o uso destes requer pré-tratamento das amostras, não apresenta alto consumo energético e é de fácil utilização e transporte. Além da utilização na pesquisa, o uso desses aplicativos tem se tornado uma boa ferramenta pedagógica, podendo ser utilizado com recurso de apoio no ensino em inúmeras áreas (LOURENÇO, et al., 2021).

Cada vez mais a tecnologia aplicada nos *smartphones* tem avançado, desenvolvendo sistemas operacionais fazendo com que eles sejam comparados com computadores em miniatura, além das câmeras com lentes que capturam imagens de alta qualidade. Assim, esses aparelhos podem ser utilizados com *softwares* de imagens para a realização de análises sem a necessidade de se utilizar um espectrofotômetro de bancada em um laboratório. Os resultados quantitativos são obtidos através da mudança de coloração das amostras, desse modo, concentração de compostos orgânicos e inorgânicos podem ser determinados considerando a variação na intensidade de cor em função da concentração do analito (JOÃO, et al., 2019).

O princípio desses aplicativos, é a obtenção da curva de calibração através da captura da imagem digital de soluções com intensidades de cor variável em função da concentração de um determinado analito. Uma imagem digital é composta por pixels e pode ser definida por uma função bidimensional da intensidade da luz, refletida ou emitida, por um objeto, definida como a distribuição luminosa da energia, na qual uma parte dessa energia é absorvida, transmitida e absorvida, na qual essas duas últimas podem ser capturadas por um aparelho (HELPER, et al., 2017).

Um aplicativo gratuito permite análises de imagens digitais é o PhotoMetrix®, desenvolvido em 2015 com a finalidade de ser uma ferramenta analítica para aplicação na análise de diferentes amostras. Ele possibilita capturar imagens e tratar os dados, por análise univariada ou multivariada, utilizando o mesmo aparelho, esse aplicativo possui duas versões, ambas gratuitas para *download* (versão UVC e PRO). Na versão UVC é possível acoplar uma câmera externa para obter as imagens, já a versão PRO as imagens podem ser obtidas diretamente do *smartphone*, ambas versões possuem uma interface de fácil operação, permitem calibrações em

diferentes escalas de cores e apresentam os resultados de forma imediata (HELPER, et al., 2017).

Quando é realizada a análise univariada, as imagens podem ser decompostas em duas formas: modelo RGB, que é baseado no modelo de adição de cores primárias, vermelho (R), verde (G) e azul (B), gerando apenas uma curva. Na opção dos canais múltiplos, abrange modelos gerados a partir do RGB que são o de matiz, saturação e leveza (HSL); matiz, saturação e valor (HSV) ou até mesmo matiz, saturação e intensidade (HSI). Sabendo que as análises dependem exclusivamente da coloração das amostras, da iluminação e do aparelho com câmera, é importante destacar que existem três fatores que podem interferir diretamente nos resultados: iluminação e a distância do objeto e da lente (HELPER, et al., 2017). A colorimetria de imagens digitais em *smartphones* pode ser utilizada para análises de metais, herbicidas, pesticidas, antibióticos, indicadores biológicos, entre outros. As características para a utilização do aplicativo atraem por serem simples e de baixo custo (LIMA, et al., 2020).

No trabalho de Lourenço et al. (2021), foi desenvolvida uma metodologia para a determinação de ferro em água, lâmina de barbear e suplemento alimentar através do aplicativo PhotoMetrix® PRO, os autores desenvolveram um dispositivo para que a captura das imagens tivesse as menores interferências possíveis, depois os resultados foram comparados com os obtidos utilizando um espectrofotômetro de bancada, comprovando que o aplicativo pode substituir grandes equipamentos nas práticas de laboratório.

Tendo em vista as vantagens apresentadas, o PhotoMetrix® PRO tem sido utilizado em diversas pesquisas como, por exemplo, no trabalho de Lima, et al. (2020) que visou a determinação de peróxido de hidrogênio como adulterante de leite, por meio de um teste colorimétrico pela detecção fotométrica utilizando um *smartphone*. O procedimento foi baseado na oxidação do analito de ferro (II) a ferro (III) seguida pela formação de um complexo vermelho com os íons tiocianato.

Ainda que essa tecnologia apresente boas vantagens, a precisão e exatidão das análises utilizando *smartphones* podem ser prejudicadas, principalmente para amostras que requerem pré-tratamento. Nesse sentido, assim como em qualquer análise química, o preparo adequado das amostras é fundamental para garantir a qualidade dos resultados.

2.4 Técnicas de preparo de amostras

O avanço no preparo de amostras para análise elementar auxiliou o desenvolvimento dos procedimentos utilizados na preparação de amostras, como por exemplo: a digestão ácida assistida por micro-ondas ou por ultrassom (SUBRAMANIAN, 1996). Um procedimento ideal para a digestão de uma amostra, é aquele que apresenta simplicidade, rapidez, utilização de pequenos volumes de reagentes, permitindo então, a decomposição de muitas amostras (DA SILVA; FRAGA; DE OLIVEIRA, 2000).

O emprego de micro-ondas como fonte de energia para a decomposição de amostras tem sido muito aplicado como uma alternativa aos procedimentos convencionais de aquecimento, a vantagem é que apresenta menor risco de perdas do elemento e contaminações. Digestão assistida por micro-ondas com ácido nítrico e com adição de peróxido de hidrogênio é uma técnica muito utilizada para a dissolução de amostras alimentícias. O aquecimento por micro-ondas tem várias vantagens quando comparado ao aquecimento convencional, já que a energia é gerada na digestão da mistura e não transferida por condução. Vantagens: menor tempo de digestão, necessidade reduzida de reagentes mais agressivos para obter uma digestão completa (SUBRAMANIAN, 1996).

É muito comum também as digestões serem realizadas em frasco aberto, pois pode ser aplicada a todos os tipos de amostras, com exceção das que apresentam compostos refratários, e permite flexibilidade na quantidade de amostra utilizada. Nesse preparo, é importante estar atento para que o líquido com a amostra não seque e a amostra queime. Algumas das desvantagens é que precisa de supervisão do analista durante todo o processo, tempo de decomposição elevado e risco de perdas de analitos voláteis. Esse tipo de digestão é viável para pequenos volumes, quando as amostras não são muito complexas e para determinação de analitos termicamente estáveis. (SOUSA; CAMPOS; ORLANDO, 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a viabilidade do uso do *smartphone* com o aplicativo PhotoMetrix® PRO para determinação da concentração de ferro em amostras de pólen de abelha e suplemento vitamínico.

3.2 Objetivos Específicos

- Decompor a amostra por meio da digestão em frasco aberto;
- Otimizar os parâmetros para aquisição das imagens usando aplicativo PhotoMetrix® PRO;
- Definir os parâmetros de mérito para determinação de ferro usando o *smartphone* com o aplicativo PhotoMetrix® PRO: coeficiente de determinação; faixa linear; limite de detecção, quantificação e desvio padrão relativo;
- Verificar a exatidão do método proposto através da comparação dos resultados de amostras de referências e/ou com os obtidos por ICP-MS;
- Aplicar o método proposto para determinar ferro em amostras de pólen de abelha e suplemento vitamínico.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras

Duas amostras foram analisadas: um comprimido de suplemento vitamínico com quantidade de ferro informada de 40 mg por comprimido e uma amostra de pólen de abelha, ambos em triplicata. A amostra de pólen foi coletada em outubro de 2018 no Parque Cidade das Abelhas, localizada em Florianópolis, no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de Santa Catarina. O Parque Cidade das Abelhas é um local sem aplicação de agrotóxicos em pelo menos um raio de 10km, é circundado por uma área de preservação e pertence à universidade. A coleta do pólen ocorre através da instalação de coletores de pólen na entrada das colmeias conforme ilustrado na Figura 2A. Quando as abelhas vão entrar na colmeia após o forrageamento das flores das plantas, chegam carregando o pólen em suas corbículas, elas passam por pequenos orifícios que fazem com que o pólen se desprenda das corbículas e caia em uma gaveta. O pólen presente na gaveta é coletado e armazenado em tubos (Figura 2B), posteriormente as amostras são mantidas sob refrigeração (-20° C) até o momento das análises.

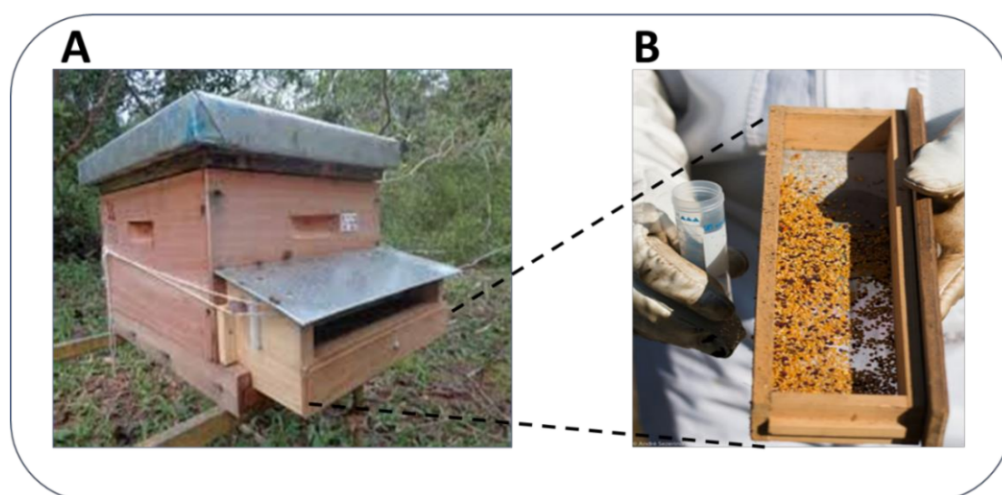


Figura 2. Coletores de pólen na entrada das colmeias (A) e coleta e armazenamento do pólen em tubos plásticos (B). Fotos: Adriana Chaves.

4.2 Instrumentação

A amostra de pólen e a amostra de suplemento vitamínico foram pesadas em balança analítica modelo Mark Série M (BEL Engineering), ICP-MS modelo Elan 6000 (Perkin Elmer-Sciex, Canadá), chapa de aquecimento modelo TE-0854

(TECNAL). Para a análise das amostras utilizando o aplicativo PhotoMetrix® PRO, utilizou-se um *smartphone* Moto G segunda geração e a fonte de luz foi proveniente da lanterna de um iPhone 11.

4.3 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados são de grau analítico. As soluções foram preparadas utilizando água ultrapura com resistividade de 18 mΩ cm obtida no purificador MILIQ Plus da marca Milipore. Para a digestão das amostras foram utilizados: ácido nítrico destilado, peróxido de hidrogênio 30% (m/v) (Neon). Solução estoque de ferro 25,0 mg L⁻¹ (Specsol), solução tampão ácido acético/acetato de sódio 1,0 mol L⁻¹, cloridrato de hidroxilamina 10% (m/v) e 1,10-fenantrolina 0,1% (m/v) foram utilizadas.

4.4 Preparo da amostra

O preparo da amostra de pólen foi realizado no laboratório utilizando digestão ácida em frasco aberto. Pesou-se aproximadamente 0,5 g da amostra do pólen em béqueres de 50,0 mL, nestes foram adicionados 2,0 mL de HNO₃ destilado e 2,0 mL de H₂O₂ (30%, m/v) e, após um tempo em repouso, os béqueres foram cobertos com vidro relógio e submetidos ao aquecimento em chapa de aquecimento, por aproximadamente 40 minutos, em uma temperatura de aproximadamente 100 °C. O procedimento foi realizado em triplicata, tomando-se o cuidado para que a amostra não secasse e, após o decorrer desse tempo, as soluções foram quantitativamente transferidas para tubos de polipropileno e avolumadas para 20,0 mL. A comprimido de suplemento vitamínico foi adequadamente diluído em água, a determinação de Fe obtida por meio do aplicativo foi comparada com o valor de referência informado na bula. As concentrações de Fe nas amostras de pólen de abelha foram determinadas por ICP-MS e no aplicativo PhotoMetrix® PRO.

4.5 Análise no PhotoMetrix®

Para a determinação da concentração de ferro nas amostras utilizando o PhotoMetrix® PRO, as soluções das amostras e padrões utilizados para calibração foram preparadas em tubos tipo eppendorf de 2,0 mL, para minimizar o consumo de reagentes e a geração de resíduos. Com o auxílio de micropipetadores foram adicionados 200,0 µL das amostras em cada tubo, posteriormente, adicionou-se

250,0 µL de solução tampão acetato e 250 µL de hidroxilamina. A solução foi mantida em repouso por 5 minutos, em seguida, foram adicionados 250 µL de solução de 1,10-fenantrolina e, então, as soluções foram avolumadas com água ultrapura para 2,0 mL. As soluções foram mantidas em repouso por 10 minutos, estas foram transferidas para uma cubeta de quartzo para aquisição das imagens digitais. Todas as soluções foram preparadas em triplicata. A curva de calibração foi preparada utilizando esse mesmo procedimento, usando soluções padrão de Fe nas concentrações de 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 mg L⁻¹.

4.6 Segurança

Devido a atual situação da pandemia e a impossibilidade de realizar a pesquisa em laboratório, apenas a digestão da amostra e a determinação de Fe por ICP-MS foram realizadas no laboratório, por um aluno de pós-graduação. Nesse caso, todos os protocolos sanitários e de distanciamento físico exigidos pela UFSC foram atendidos. As reações de complexação do Fe com a 1,10-fenantrolina e aquisição das imagens foram realizadas em ambiente doméstico. Os reagentes, de baixa toxicidade, foram fornecidos em pequenas quantidades pelo laboratório. Além disso, todo o material necessário para os experimentos, EPI e para separação dos resíduos foram disponibilizados. Durante todo o procedimento foram utilizados equipamentos de proteção individual – EPI, como guarda-pó de algodão com mangas longas, luvas, sapatos fechados e calça. Além disso, outro cuidado foi a realização dos experimentos em ambiente bem ventilado, as portas e janelas mantiveram-se abertas durante o manuseio dos reagentes. Todos os resíduos de soluções e reagentes foram devidamente separados em recipientes disponibilizados pelo laboratório de pesquisa e posteriormente descartados pelos responsáveis em bombonas apropriadas na UFSC. Os materiais e soluções contaminados como papéis, luvas, ponteiros e tubos plásticos foram armazenados descartados de maneira adequada. Todos os descartes serão posteriormente tratados pelo sistema de gerenciamento de resíduos da UFSC (DEBACHER; SPINELLI; NASCIMENTO, 2008).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Condições de complexação

Para que seja possível realizar determinações através da aquisição de imagens digitais, as amostras precisam apresentar alteração na intensidade de cor em função da concentração do analito. Os metais, geralmente apresentam baixo coeficiente de absorção molar, assim, a determinação de íons metálicos por espectrometria de absorção molecular é, geralmente, realizada após reação com um agente complexante. A determinação de ferro em amostras diversas é amplamente realizada após complexação dos íons Fe^{2+} com a 1,10-fenantrolina. Na pesquisa de Freitas *et al.* (2015), essa complexação foi utilizada no desenvolvimento de um método rápido e mais simples para a extração de ferro em amostras de solo. Rodrigues (2018) utilizou a complexação do ferro com a 1,10-fenantrolina com a finalidade de realizar a especiação de ferro em amostras de tomate através da obtenção de imagens digitais com auxílio de uma *webcam*.

É necessário realizar uma modificação química para que seja possível realizar a medição do ferro por colorimetria, sendo assim, um dos melhores ligantes para a complexação com esse metal é a 1,10-fenantrolina, um agente quelante bidentado que possui dois átomos de nitrogênio nas posições orto na estrutura do anel, o par de elétrons livres do nitrogênio coordena com os íons Fe^{2+} . A utilização da 1,10-fenantrolina apresenta vantagens frente ao baixo custo e a disponibilidade comercial quando comparada com diferentes ligantes que poderiam ser utilizados na coordenação com o metal. O ferro complexado sofre uma reação reversível de oxidação-redução, a utilização da hidroxilamina e o tampão de acetato, respectivamente, possibilitam a redução e a estabilização dessa reação. A complexação com a 1,10-fenantrolina é específica para o Fe^{2+} , formando um complexo estável com esses íons (Figura 3). Esse complexo formado pelo Fe^{2+} e a 1,10-fenantrolina apresenta uma coloração vermelho-alaranjado, que absorve com máxima intensidade em 510 nm. (AGUSTINA *et al.*, 2015).

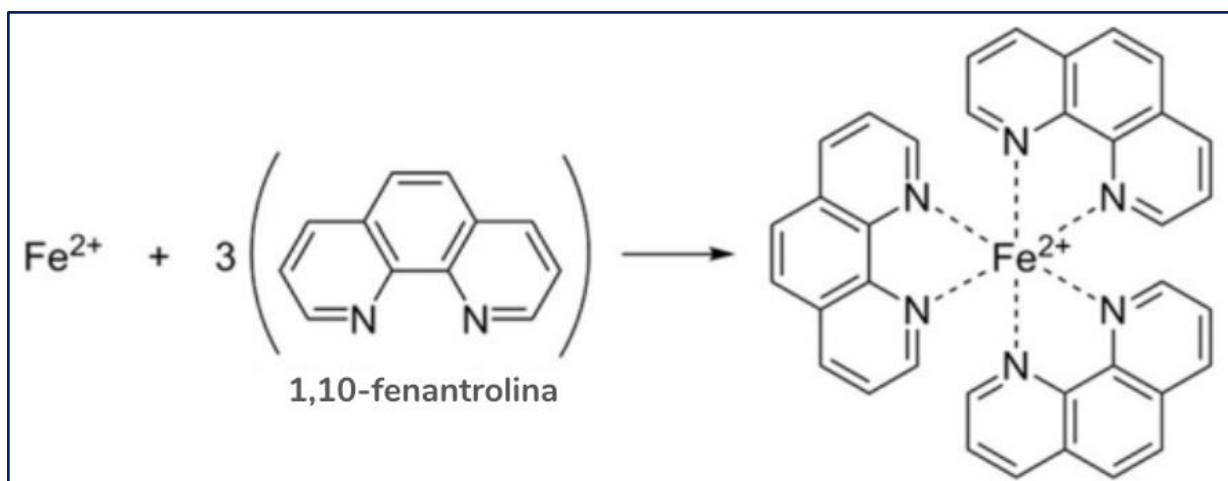


Figura 3. Reação da formação do complexo de Ferro II com a 1,10-fenantrolina.

Fonte: AGUSTINA et al. (2015).

Nessa reação, o controle do pH da solução também é muito importante para que ocorra a formação desse complexo, sabe-se que em pH menor que 3,0 a solução não apresentará a coloração vermelho-alaranjado, indicando que a complexação não foi efetiva, assim como em meios com pH superior a 7,0, os íons ferro vão precipitar na forma de hidróxido. A condição ótima para reação, ocorre na faixa de pH entre 4,0 e 7,0, para isso, a reação deve ocorrer em meio tamponado, com o tampão acetato (pH 4,76). Nas condições adequadas de complexação, a hidroxilamina, agente redutor, converte o estado de oxidação do ferro de Fe^{3+} para Fe^{2+} (RODRIGUES, 2018).

5.2 Otimização dos parâmetros instrumentais

Sabendo-se que o aplicativo PhotoMetrix® PRO faz a análise das imagens digitais obtidas através de parâmetros como a coloração, matiz, intensidade e também saturação, é necessário obter-se uma instrumentação na qual a aquisição das imagens tenha a menor quantidade de interferências devido a iluminação, sombras e até mesmo da qualidade da câmera utilizada. Em função disso, foram realizados testes para garantir a aquisição adequada das imagens. Desta forma, baseado no trabalho de Lourenço et. al (2021), foram separados materiais de modo a criar um “estúdio” que consiste em um ambiente fechado e escuro, feito por uma tampa de caixa de celular (com fundo branco) com um único orifício. A cubeta foi então posicionada em seu interior e uma fonte de luz incidida nesta para a captura das imagens. Além de testes envolvendo variações do sistema descrito

anteriormente, também se avaliou a influência do modelo do *smartphone* na aquisição das imagens.

5.2.1 Influência do modelo do *smartphone* utilizado na aquisição das imagens digitais.

Primeiramente, a influência do *smartphone* utilizado para aquisição das imagens foi avaliada. Nesse caso, utilizou-se como parâmetros de comparação, os coeficientes de correlação obtidos das curvas de calibração obtidas com uso do *smartphone* iPhone 11 e um Moto G segunda geração. As curvas obtidas por meio da aquisição das imagens digitais de soluções padrão entre 0,5 e 5,0 mg/L utilizando os diferentes celulares estão apresentadas na Figura 4.

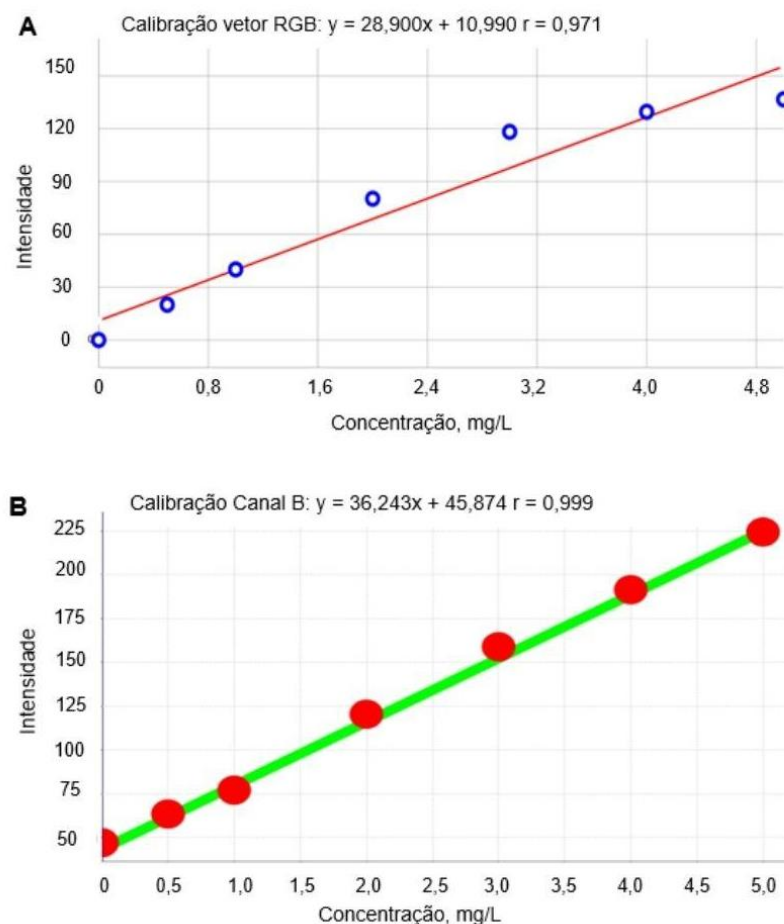


Figura 4. Efeito do tipo do *smartphone* utilizado para aquisição das imagens digitais sobre o coeficiente de correção das curvas de calibração. (A) iPhone 11; (B) Moto G segunda geração.

Podemos observar que utilizando o *smartphone* iPhone 11 o coeficiente de correlação (r) obtido foi de 0,971, sendo este não adequado para utilização em métodos analíticos (Figura 4A). Tendo em vista que esse coeficiente é uma medida do ajuste do modelo estatístico linear generalizado, sabe-se que quanto maior o seu valor, mais ajustado está o modelo linear é melhor representa os valores obtidos da amostra. Observa-se que na curva obtida através do celular Moto G existe uma boa adequação linear dos pontos. O fato de o uso desse celular não ter proporcionado a obtenção de curvas com bons coeficientes de correlação, pode estar associada a tecnologia de aquisição de imagens do aparelho.

O iPhone 11 possui uma câmera de alta resolução, com a funcionalidade de correção de coloração e iluminação das imagens, sendo assim, tal funcionalidade pode ter interferido no processamento das imagens pelo aplicativo. Soares et al. (2020) testou a utilização do aplicativo para determinação de biodiesel em misturas de diesel, o *smartphone* utilizado para as análises foi um iPhone SE, o qual possui um sistema e câmera muito parecido com o do iPhone 11 e mesmo fazendo um ambiente para a aquisição das imagens, visando diminuir o máximo possível as interferências, chegou numa curva de calibração com coeficiente de determinação igual a 0,991. A utilização do *smartphone* Moto G, com tecnologia mais simples e com menor resolução da câmera, proporcionou a obtenção de curvas de calibração com coeficiente de correlação adequado. Como pode ser observado na Figura 5B, nas mesmas condições das imagens obtidas com o iPhone, o celular Moto G possibilitou a obtenção de um coeficiente de correlação igual a 0,999, adequado para análises quantitativas. Assim, o *smartphone* Moto G foi selecionado para a determinação de Fe com uso do aplicativo PhotoMetrix® PRO.

5.2.2 Influência do sistema de aquisição das imagens digitais

A partir da definição do *smartphone* adequado para aquisição das imagens, foram realizados testes de modo a otimizar o sistema de captura das imagens. Nesse caso, também se utilizou como parâmetro de avaliação o coeficiente de correlação obtido para as curvas de calibração obtidas sob diferentes condições de iluminação e posição do celular para a captura das imagens. Realizou-se diferentes testes conforme representado esquematicamente na Figura 5A. Avaliou-se a captura das imagens utilizando iluminação com luz branca, com uma lanterna de celular auxiliar,

e com luz amarela, proveniente de uma luminária externa. Ambos os sistemas de iluminação foram testados usando aquisição com posicionamento da caixa para captura vertical e horizontal das imagens (Figura 5B).

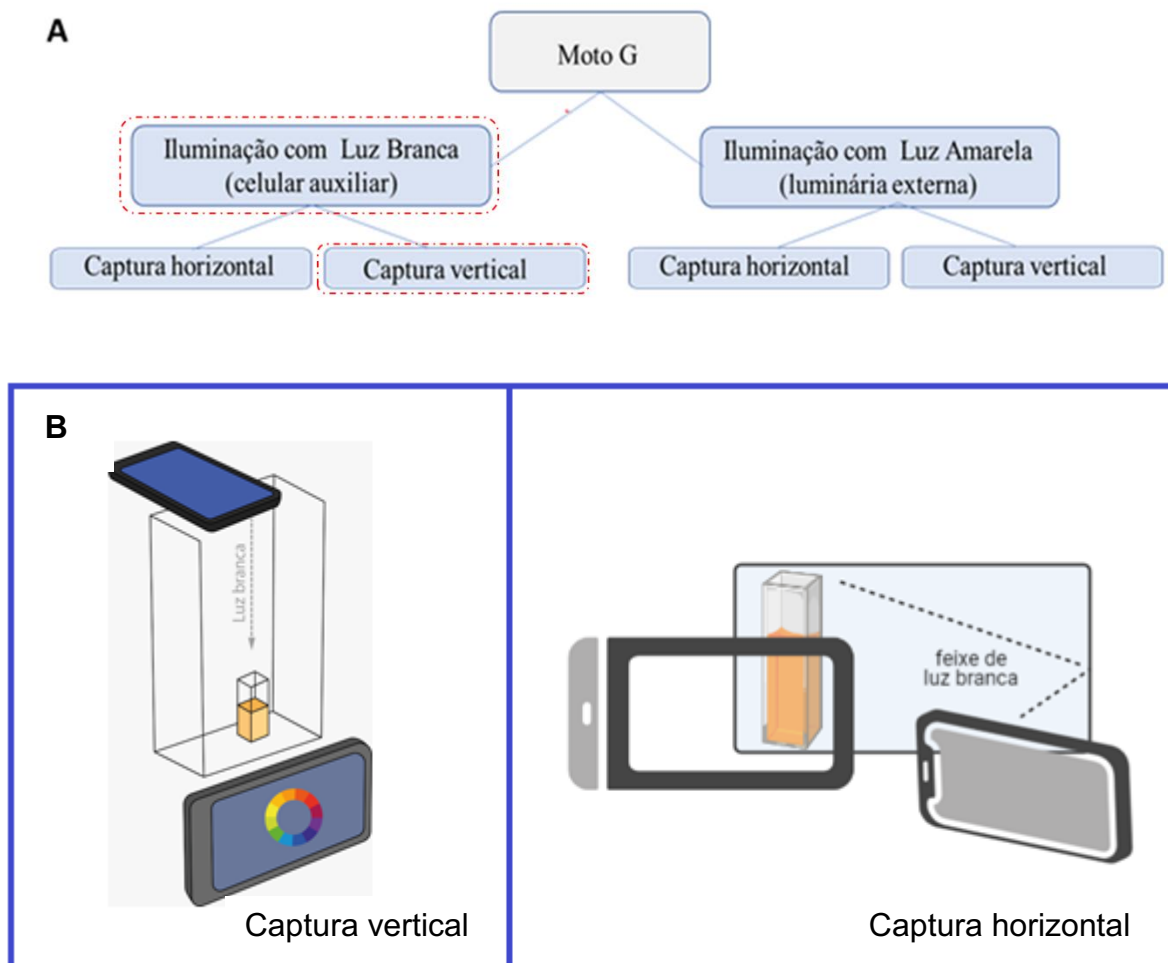


Figura 5. (A) Representação esquemática dos testes realizados para otimização da captura de imagens digitais com aplicativo PhotoMetrix® PRO. (B) configuração do sistema de captura de imagens vertical e horizontal. Linhas pontilhadas em (A) representam as condições selecionadas.

Fonte: Autoria própria (2021).

Realizou-se quatro testes diferentes: a caixa posicionada na vertical com iluminação de uma luminária de luz amarela, com iluminação de luz branca da lanterna de outro *smartphone*, e, em sequência, a mesma variação de iluminação foi testada com a caixa na horizontal. Foi possível observar ao utilizar a luz amarela que as interferências na imagem eram maiores, pontos da amostra ficaram mais escuros.

Na literatura encontram-se diversos trabalhos que construíram caixas para ter o controle de luz e nelas foram instaladas fita LED (luz branca) como iluminação para realização das medições. Oliveira (2017) fez uma pesquisa para a medida colorimétrica na identificação de amostras de cocaína, construiu uma caixa com as paredes internas pretas e apenas o fundo para aquisição das imagens em branco, as medições foram realizadas com um *smartphone* LG G4 H815P e conseguiu obter uma curva de calibração com coeficiente de determinação igual a 0,998.

Considerando as condições avaliadas, os melhores coeficientes de correlação foram obtidos com iluminação de luz branca, proveniente da lanterna de um celular auxiliar. A comparação das curvas de calibração obtidas sob essa condição de iluminação, com diferentes formas de capturas (vertical e horizontal) estão apresentadas na Figura 6.

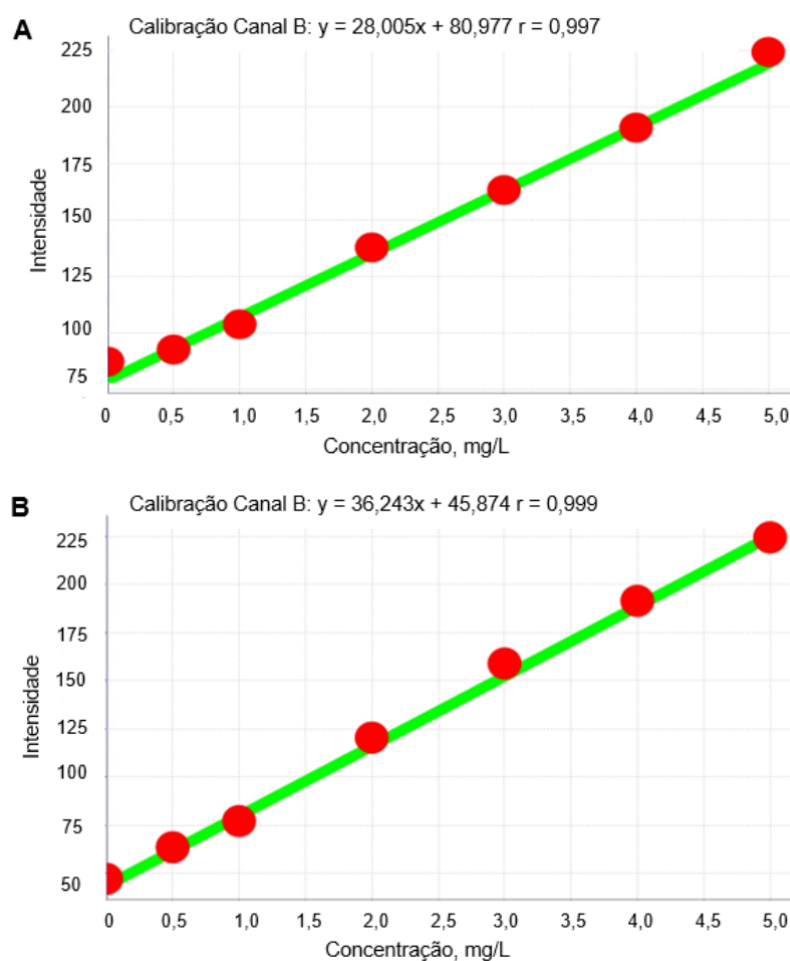


Figura 6. Curvas de calibração obtidas através do celular Moto G segunda geração e iluminação de luz branca: (A) captura vertical e (B) captura na horizontal das imagens.

Analisando os coeficientes de determinação obtidos, observa-se que ambas as curvas apresentam uma boa linearidade e atenderem os requisitos para que pudessem ser utilizadas para quantificação de Fe. Entretanto, considerando a facilidade para trocar as soluções da cubeta sem interferir no posicionamento do estúdio com a configuração vertical, esta foi selecionada para a aquisição das imagens e realização das análises.

Os parâmetros otimizados para a aquisição das imagens para determinação de Fe com uso de aplicativo PhotoMetrix® PRO foram: Captura da imagem com caixa na vertical, iluminação com luz branca, usando lanterna de um *smartphone* auxiliar, e a captura das imagens câmera do *smartphone* Moto G segunda geração.

Como o aplicativo calcula os dados a partir das imagens obtidas, é necessário pensar no modo como essas serão adquiridas. É importante que não tenha a incidência de sombra sobre cubeta, pois elas podem fazer com que a coloração das amostras, quando as capturas são feitas, não sejam homogêneas, interferindo no resultado. Para evitar tais interferências, o celular deve ser mantido na mesma posição para realização das medições, na mesma distância, em relação a cubeta, e as imagens devem ser adquiridas do mesmo ponto da cubeta. Esses cuidados garantem que as imagens sejam capturadas de forma padronizada, tendo assim uma melhor qualidade nos resultados. O *smartphone* com a lanterna precisou ficar em uma pequena angulação para que a luz incidisse primeiro na parede da caixa, assim iluminou toda a caixa e a cubeta, sem fazer sombra no momento de capturar a imagem. Outro fator muito importante a ser observado é a coloração do fundo, para que esta não interfira na coloração obtida nas soluções. No presente estudo, a tampa da caixa utilizada como estúdio já era branca, o que facilitou o processo, assim apenas foi posicionada uma folha A4 branca dobrada para apoiar a cubeta.

5.4 Determinação de ferro nas amostras através do aplicativo PhotoMetrix® PRO

Com a obtenção da curva de calibração, foi possível realizar a quantificação de ferro nas amostras de suplemento vitamínico e pólen, após reação de complexação dos íons Fe^{2+} com 1,10-fenantrolina, com uso aplicativo PhotoMetrix® PRO. A interface do aplicativo apresenta as opções de análise que podem ser realizadas, no presente trabalho foi escolhida a utilização da análise univariada (Figura 7A), na qual existe a opção de canais múltiplos (Figura 7B), assim a melhor

curva é gerada a partir da decomposição das cores primárias ou através dos modelos: HSV, HSL e HSI. É possível então fazer a calibração, medições e salvar os resultados, como mostra a Figura 7C. Para fazer a medição das soluções padrões, basta preencher as informações de número de amostras, local e em cada captura de imagem é adicionada a concentração correspondente (Figura 7D).

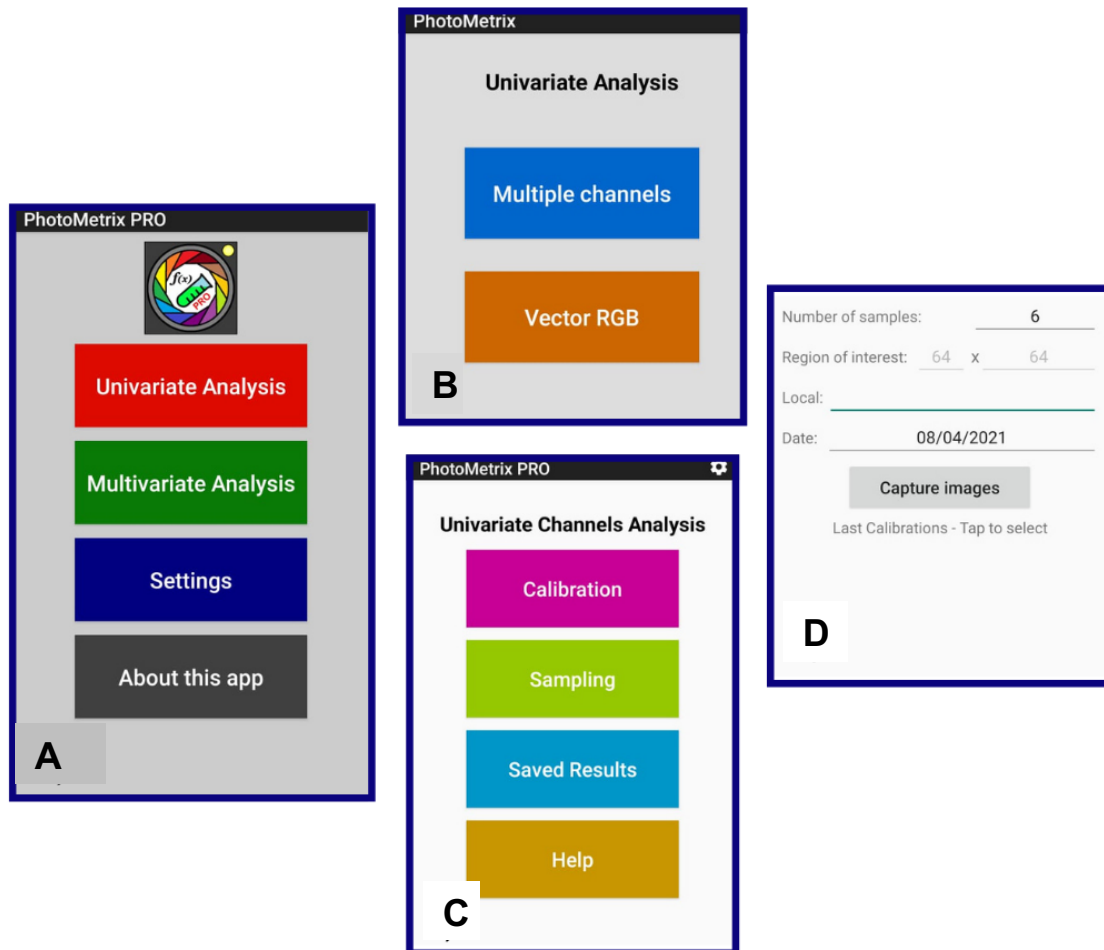


Figura 7. Interface do aplicativo Photometrix® PRO. (A) Primeira página onde foi selecionada a análise univariada. (B) Escolha da análise em múltiplos canais. (C) Interface para a escolha da leitura da curva de calibração (rosa), amostras (verde) ou para abrir os resultados já obtidos (azul). (D) Interface para incluir os dados antes da aquisição das imagens.

Fonte: Autoria própria (2021).

A amostra de suplemento vitamínico foi analisada para que tivéssemos um parâmetro para avaliar a exatidão do método, pois a amostra contém um valor de referência para concentração de ferro em cada comprimido. Nesse caso a amostra,

previamente dissolvida em volume adequado de água, foi submetida a reação de complexação com a 1,10-fenantrolina, conforme procedimento descrito no item 4.5 do Materiais e Métodos. Realizou-se os procedimentos de complexação em triplicata e, posteriormente, realizou-se a medição das intensidades de cor com base nas imagens digitais destas soluções. Então, a partir da curva de calibração foi possível calcular a concentração de ferro na amostra de suplemento vitamínico. Na Figura 8 está apresentada a curva de calibração obtida com captura das imagens na vertical e iluminação com luz branca.

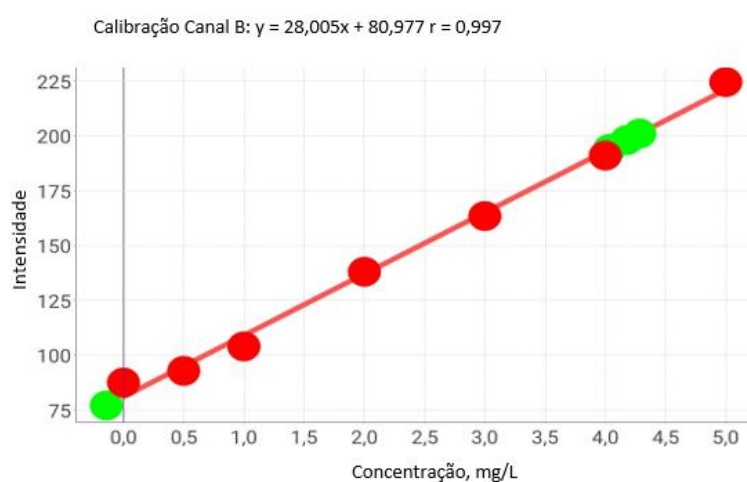


Figura 8. Quantificação de ferro no comprimido através da curva de calibração obtida com aplicativo Photometrix® PRO com captura de imagens na vertical e iluminação com luz branca.

A média da concentração de ferro obtida para amostra de suplemento foi $41,7 \pm 0,1$ mg/comprimido, considerando o valor de referência de 40 mg/comprimido, o erro experimental foi de 4,17%, sendo o valor obtido muito mais próximo ao valor informado na bula da amostra. Para entender melhor os resultados obtidos e a fim de conferir se esses dados apresentam diferença significativa, foi realizado o teste t de *student* para um nível de confiança de 95%. O valor de t calculado foi 2,31 sendo este menor que o valor de t tabelado (4,30) para dois graus de liberdade. Nesse caso, pode-se dizer que não há diferença significativa entre a concentração de Fe por comprimido do suplemento vitamínico obtida pelo aplicativo PhotoMetrix® PRO e o valor de referência teórico rotulado no suplemento. A precisão das medições, avaliada por meio do desvio padrão relativo (RSD) foi de 0,2%. O limite de

quantificação obtido para o método usando o PhotoMetrix® PRO, considerando o primeiro ponto da curva de calibração, foi de 200 µg g⁻¹.

Para as amostras de pólen de abelha, a concentração de Fe, determinada por ICP-MS, foi de 63 µg g⁻¹. Considerando o procedimento de preparo de amostra proposto, a concentração de Fe na amostra utilizada está abaixo do limite de quantificação através do método proposto utilizando o aplicativo PhotoMetrix® PRO, não sendo possível determinar a concentração de Fe nas amostras de pólen de abelha. Testes preliminares realizados com a amostra de pólen digerida, indicaram que o meio altamente ácido das amostras digeridas em ácido nítrico, ácido oxidante, é um fator limitante para determinação de Fe após complexação com 1,10-fenantrolina. Em alta concentração do ácido nítrico, o ferro está no estado de oxidação Fe³⁺, nessa condição, mesmo a adição da hidroxilamina foi suficiente para reduzir todo o Fe³⁺ a Fe²⁺, estado de oxidação requerido para a complexação com a 1, 10-fenantrolina. Nessas condições de alta acidez, a quantidade de hidroxilamina e de solução tampão não foi suficiente para manter a condição ideal para reação de complexação. O pH do meio provavelmente ficou abaixo da faixa de 4 a 7, não havendo redução de todo ferro e conseqüentemente não ocorrendo a complexação.

A limitação de acesso ao laboratório e aos reagentes necessários, provocados pela pandemia da COVID-19, limitaram a adequada continuidade dos experimentos. Entretanto, sabe-se que para que a determinação de Fe em amostras de pólen de abelha seja possível, o procedimento de preparo de amostra deverá ser otimizado, de forma a evitar meios altamente oxidantes. Ainda, procedimentos que possibilitem uma maior flexibilidade quanto a massa de amostra utilizada, como a calcinação, deve ser também avaliada, possibilitando alcançar menores limites de detecção e quantificação. Por fim, as condições reacionais para complexação de Fe com a 1,10-fenantrolina devem ser adequadamente avaliadas para garantir a confiabilidade dos resultados.

5.5 Avaliação da veracidade do método proposto

O desenvolvimento de métodos ambientalmente amigáveis é fundamental em química analítica. Assim, para a avaliação da veracidade do método utilizado nas análises através do aplicativo PhotoMetrix® PRO, foi realizada a Eco-Escala de acordo com os parâmetros para a química analítica verde (GAC). Para montar a Eco-

Escala é necessário listar todas as substâncias e equipamentos envolvidos, a partir disso, a Ficha de Informação de Segurança para Produtos Químicos (FISPQ) de cada substância deve ser consultada, a fim de observar a quantidade de pictogramas, biodegradabilidade e gestão de resíduos. Os pontos de penalidade são atribuídos a parâmetros que não são ideias e então subtraídos da pontuação total de 100, quanto maior essa pontuação, mais verde é o procedimento. Os resultados podem classificar os procedimentos analíticos em: excelente verdura (>75 pontos), verdura aceitável (<75 e > 50 pontos) e verdura inadequada (< 50 pontos). Nesse caso, os pontos de penalidade foram atribuídos conforme proposto por Galuska et al. (2012), estão presentes na Tabela 1.

Tabela 1. Listagem e atribuição de pontos às substâncias envolvidas no trabalho.

	Reagentes	Sub-total	Total
Quantidade	Ácido nítrico 65%	1	Quantidade x perigo
	Peróxido de Hidrogênio 30%	1	
	Fenantrolina 0,1% m/v	1	
	Cloridrato de hidroxilamina 10% m/v	1	
	Solução tampão acetato de sódio	1	
Perigo	Ácido nítrico 65%	6	
	Peróxido de Hidrogênio 30%	4	4
	Fenantrolina 0,1% m/v	2	2
	Cloridrato de hidroxilamina 10% m/v	4	4
	Solução tampão acetato de sódio	4	4
Energia	Aplicativo de Celular	0	0
Risco Ocupacional	Emissão de vapores e gases para o ar	3	3
Resíduo			Quantidade x Característica
Quantidade		3	
Característica		2	6
Somatório			25

Subtraindo a pontuação obtida pelos 100 pontos da Eco-Escala, obteve-se 75 pontos, ou seja, essa análise é considerada com uma verdura aceitável. Isso se deve a característica dos reagentes utilizados, principalmente na etapa do preparo da amostra de pólen, porém cabe ressaltar que os volumes utilizados das soluções na etapa de medição foram da ordem de microlitros, que vai ao encontro dos princípios da GAC. Ainda é válido destacar a utilização de técnicas alternativas, como neste caso, o aplicativo PhotoMetrix® PRO, para determinação de metais, por apresentar pontuação igual a zero no diz respeito ao consumo energético.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Após todos os testes realizados, a fim de obter a melhor curva de calibração possível e realizar a análise das amostras, os parâmetros ótimos para a realização das análises com o celular Moto G segunda geração foram alcançados. Quando as medições são realizadas através do aplicativo PhotoMetrix® PRO, é preciso construir um cenário ideal para a aquisição das imagens, visto que os resultados dependem da qualidade da captura das imagens das soluções. Para possibilitar as análises da amostra de pólen, após a digestão ácida, todo procedimento de preparo de amostra e condições reacionais deverão ser criteriosamente otimizados. É possível considerar calcinar a amostra para utilizar uma maior massa, também é necessário avaliar o efeito da concentração do ácido nítrico que é utilizado nas soluções dessas amostras, tendo em vista que ele é um ácido oxidante e limita a redução do ferro.

O aplicativo é uma boa opção quando necessário realizar as medições em qualquer lugar, mesmo em ambientes externos ao laboratório. Entretanto, deve-se ressaltar que diversos cuidados com a segurança e descarte de resíduos e com a aquisição das imagens devem ser considerados para garantir a qualidade dos resultados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACETO, M. The Use of ICP-MS in Food Traceability. In: ESPIÑEIRA, Montserrat; SANTACLARA, Francisco J.. **Advances in Food Traceability Techniques and Technologies**. Si: Elsevier Ltd., 2016. p. 137-164.

AGUSTINA, Elsy *et al.* Simple and Precise Quantification of Iron Catalyst Content in Carbon Nanotubes Using UV/Visible Spectroscopy. **Chemistryopen**, v. 4, n. 5, p. 613-619, 29 jun. 2015. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1002/open.201500096>>.

ALTUNATMAZ, S. S. *et al.* Mineral element and heavy metal (Cadmium, lead and arsenic) levels of bee pollen in Turkey. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 136–141, 2017.

AMORIM, F. A. C. *et al.* Espectrometria de absorção atômica: O caminho para determinações multi-elementares. **Quimica Nova**, v. 31, n. 7, p. 1784–1790, 2008.

ARđ, Betül; CAN, Süleyman Z.; BAKđRDERE, Sezgin. Traceable and accurate quantification of iron in seawater using isotope dilution calibration strategies by triple quadrupole ICP-MS/MS: characterization measurements of iron in a candidate seawater crm. **Talanta**, [S.L.], v. 209, p. 120503, mar. 2020. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120503>>

ARRUDA, Lorena Fernandes. **Influência do Teor de Ferro Dietético na Expressão de Genes Reguladores do Metabolismo de Ferro, Estresse Oxidativo e Marcadores do Envelhecimento em Ratos Adultos**. 2013. 97 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós – Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

BORGES, D. L. G. *et al.* Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. **Revista Analytica**, v. 1, n. 18, p. 58–67, 2005.

CAMPOS, M. G. R. *et al.* Pollen composition and standardisation of analytical methods. **Journal of Apicultural Research**, v. 47, n. 2, p. 154–161, 2008.

DA SILVA, F. R.; FRAGA, I. C. S.; DE OLIVEIRA, N. M. M. Comparação de métodos para digestão de amostras de minérios utilizando fornos de microondas. **VIII Jornada de Iniciação Científica CETEM**, p. 120–130, 2000.

DAŞBAŞđ, Teslima; SAÇMACđ, Şerife; ÜLGEN, Ahmet; KARTAL, Şenol. Determination of some metal ions in various meat and baby food samples by atomic spectrometry. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 197, p. 107-113, abr. 2016. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.093>>.

DEBACHER, Nito A.; SPINELLI, Almin; NASCIMENTO, Maria da Graça. **Manual de Segurança do Departamento de Química da UFSC**. Florianópolis, 2008.

FERREIRA, Bruno L. et al. Extração assistida por ultrassom para determinação de lipídeos em alimentos: um experimento de laboratório. **Química Nova**, v. 43, n. 9, p. 1320-1325, 2020.

FILHO, K. Artigo Comparação entre Métodos de Solubilização Alcalina e Digestão Ácida de Tecido Animal para Determinação de Metais Usando Espectrometria de Absorção Atômica em Chama. **Comparison between Alkaline Solubilization Methods and Acid Digestion of Animal Tiss**. v. 10, n. 4, 2018.

GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **2 TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013z.

GREMBECKA, M.; SZEFER, P. Evaluation of honeys and bee products quality based on their mineral composition using multivariate techniques. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 5, p. 4033–4047, 2013.

HASSANIEN, M. M. FAAS determination of palladium after its selective recovery by silica modified with hydrazone derivative. **Microchimica Acta**, v. 167, n. 1, p. 81–89, 2009.

HELFER, Gilson A. *et al.* PhotoMetrix: an application for univariate calibration and principal components analysis using colorimetry on mobile devices. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 2, p. 328-335, 2017. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20160182>.

JOÃO, A. F., et al. Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-based device. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 1134-1139, 2019.

KALBANDE, D. M. et al. Biomonitoring of heavy metals by pollen in urban environment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 138, n. 1–3, p. 233–238, 2008.

KHAN, N. et al. Method validation for simultaneous determination of chromium, molybdenum and selenium in infant formulas by ICP-OES and ICP-MS. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3566–3570, 2013.

KORN, M. DAS G. A. et al. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods - A review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, n. 2, p. 67–92, 2008.

LOURENÇO, Emilene de C. *et al.* Determinação do Teor de Ferro Utilizando o Aplicativo PhotoMetrix PRO®: a Tecnologia a favor do Ensino de Química. **Revista Virtual de Química**, [s. l.], v. 13, n. 1, fev. 2021. Disponível em: <http://rvq.s bq.org.br>. Acesso em: 20 abr. 2021.

MANJUSHA, R.; SHEKHAR, R.; KUMAR, S. J. Ultrasound-assisted extraction of Pb, Cd, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn from edible oils with tetramethylammonium hydroxide and EDTA followed by determination using graphite furnace atomic absorption spectrometer. **Food Chemistry**, v. 294, n. December 2018, p. 384–389, 2019.

M.D.L. de Castro, J.L.L. Garcia, Analytical uses of ultrasounds, in: M.D.L. de Castro, J.L.L. Garcia (Eds.), Analytical uses of ultrasounds in acceleration and automation of solid sample treatment, **Elsevier Science B. V**, Amsterdam, 2002, pp. 43–82.

M.J.A Lima, et al. Spot test for fast determination of hydrogen peroxide as a milk adulterant by smartphone-based digital image colorimetry. **Microchemical Journal**, v. 157, n. May, p. 105042, 2020.

MORGANO, M. A. et al. Inorganic contaminants in bee pollen from southeastern Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 11, p. 6876–6883, 2010.

OLIVEIRA, Pâmela Anália Costa de. **MEDIDAS COLORIMÉTRICAS COM SMARTPHONES PARA IDENTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS DE COCAÍNA E QUANTIFICAÇÃO DE ALGUNS ADULTERANTES**. 2017. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós - Graduação em Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

ONIANWA, P. C. et al. Trace heavy metals composition of some Nigerian beverages and food drinks. **Food Chemistry**, v. 66, n. 3, p. 275-279, 1999.

POHL, P. et al. Multivariable optimization of ultrasound-assisted solvent extraction of bee pollen prior to its element analysis by FAAS. **Microchemical Journal**, v. 157, n. May, p. 105009, 2020.

POHL, P. et al. Room temperature solvent extraction for simple and fast determination of total concentration of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, and Zn in bee pollen by FAAS along with assessment of the bioaccessible fraction of these elements using in vitro gastrointestinal digestio. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 60, n. January, p. 126479, 2020.

PRIEGO-CAPOTE, F.; DE CASTRO, L. Ultrasound-assisted digestion: A useful alternative in sample preparation. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, n. 2, p. 299–310, 2007.

RODRIGUES, Andreia Rufino. **Especiação Química de ferro em tomates utilizando um analisador automático FBA e imagens digitais**. 2018. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós - Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

SOARES, Samara *et al.* Spot test exploiting smartphone-based digital images for determination of biodiesel in diesel blends. **Microchemical Journal**, [S.L.], v. 152, p. 104273, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2019.104273>.

SOUSA, Rafael Arromba de; CAMPOS, Náira da Silva; ORLANDO, Ricardo. **PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE ELEMENTAR**. Juiz de Fora: Departamento de Química UFJF, 2015.

SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 6ª ed., Porto Alegre: Bookman, 2009

SUBRAMANIAN, K. S. Determination of metals in biofluids and tissues: Sample preparation methods for atomic spectroscopic techniques. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 51, n. 3 PART B, p. 291–319, 1996.

THAKUR, M.; NANDA, V. Composition and functionality of bee pollen: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 98, n. January, p. 82–106, 2020.

UFSC. **Gestão de resíduos**. Disponível em: <<http://gestaoderesiduos.ufsc.br/destinacao-final-dos-residuos-quimicos/>>. Acesso em: 20 outubro 2020.

VAN BEIK, J. et al. Alkaline solubilization and ultrasound assisted extraction for Cr and Pb determination in leather by atomic absorption spectrometry. **Analytical Methods**, v. 9, n. 22, p. 3284–3289, 2017.

VILKHU, K. et al. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 161–169, 2008.

WELZ, B., BECKER-ROSS, H., FLOREK, S., HEITMANN, U. **High-Resolution Continuum Source AAS – The Better Way to Do Atomic Absorption Spectrometry**. Weinheim, Alemanha: Wiley-VCH, 2005.

ZHAO, Y. et al. Determination of heavy metals in leather and fur by microwave plasma-atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 112, p. 6–9, 2015.