

## Notas Científicas

### Análise de imagem para determinação do teor de saponina em quinoa

Luiz Augusto Copati Souza<sup>(1)</sup>, Carlos Roberto Spehar<sup>(2)</sup> e Roberto Lorena Bastos Santos<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>QE 19, conjunto L, casa 11, Guará II CEP 71050-123 Brasília, DF. E-mail: gutocopati@yahoo.com <sup>(2)</sup>Embrapa Cerrados, Caixa Postal 08223, CEP 73301-970 Planaltina, DF. E-mail: spehar@cpac.embrapa.br, robertolbs@agricultura.gov.br

**Resumo** – Um grupo de sementes lavadas e 35 acessos de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) foram avaliados pelo método de coluna de espuma e sua coloração foi decomposta pelo modelo RGB (R, vermelho; G, verde; B, azul) com o objetivo de avaliar a influência do teor de saponina na cor do grão. Sementes amarelas apresentaram alto teor de saponina. Houve correlação negativa ( $p \leq 0,05$ ) entre o teste de coluna de espuma e as bandas R ( $r = -0,751$ ), G ( $r = -0,660$ ) e B ( $r = -0,594$ ). Estabeleceram-se quatro grupos de similaridade. Foram considerados amargos os acessos do grupo 4 (sementes amarelas) e doces os acessos do grupo 1 (sementes brancas). A dispersão observada representa provável diferença na frequência gênica, refletida pela cor e teor de saponina.

Termos para indexação: RGB, genótipo, glicosídeo, correlação, análise multivariada.

### Image analysis to determinate the saponin content in quinoa

**Abstract** – A group of washed seeds and thirty five genotypes of quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) were screened by soap column method and were classified by RGB Color Model (R, red; G, green; B, blue) with the objective to determine the influence of the saponin content in the grain color. Yellow seeds presented high levels of saponin. There was negative correlation ( $p \leq 0.05$ ) among soap column method and bands R ( $r = -0.751$ ), G ( $r = -0.660$ ) and B ( $r = -0.594$ ). Four groups were fixed. Tests confirmed the access of group 4 as bitter (yellow seeds) and the access of group 1 as sweet (white seeds). The dispersion represents probable difference in gene frequency, reflected by the color and rate of saponin.

Index terms: RGB, genotype, glycoside, correlation, multivariate analysis.

Um dos aspectos que dificultam o estabelecimento de sistemas de produção sustentáveis na região do Planalto Central do Brasil é o pequeno número de espécies graníferas que os compõem. Encontra-se em estudo de adaptação uma Chenopodiaceae, *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa). Planta oriunda da Cordilheira dos Andes, é considerada componente potencial na ração animal e na alimentação humana e tem muito a contribuir pela qualidade de sua proteína, que é comparável à caseína do leite (Spehar, 2002). Spehar & Souza (1993) obtiveram 3.600 kg/ha de grãos, produtividade que pode tornar esta espécie fonte alternativa no período de entressafra.

O fruto tem diâmetro entre 1,8 e 2,6 mm e sua cor é resultante da combinação da coloração do pericarpo e do episperma, ou seja, a camada de células situada logo abaixo do pericarpo. O pericarpo pode ser translúcido, branco, amarelo, rosa, vermelho, laranja, marrom, cinza ou preto. Frutos com cores claras no pericarpo têm

episperma branco e os frutos escuros têm episperma marrom ou preto. Alguns acessos apresentaram sementes escuras, provavelmente por causa de uma camada adicional de células no episperma impregnada com pigmentação preta, a testa, que serve como proteção contra rápida germinação (Risi, 1986).

Um dos fatores que dificultam a inserção dessa granífera ao sistema de produção é o acúmulo de glicosídeos (ácido oleanólico, hederagenina, ácido fitolacagênico e ácido desoxi-fitolacagênico), genericamente chamados de saponina. A saponina confere gosto amargo ao grão (Tellería Ríos et al., 1978). Os processos empregados na retirada desses compostos – escarificação, aquecimento e lavagem – são caros e trabalhosos, o que os tornam pouco viáveis, dificultando o consumo do grão in natura ou sua industrialização (Galwey et al., 1990; Ruales & Nair, 1992, 1993).

Existem genótipos com níveis variáveis de saponina. Esses níveis variam em razão de um par de alelos domi-

nantes, decorrente da polinização cruzada natural e do efeito de seleção por pássaros, podendo variar a frequência dos alelos (Paz Cuentas, 1971; Rivero, 1994). Frequência maior resulta em quinoa amarga.

O método de avaliação do teor de saponina por meio de produção de coluna de espuma em tubo de ensaio contendo sementes e água é o mais prático na recuperação do material genético, proporcionando uma possível utilização em programas de melhoramento genético (Risi, 1986). No entanto, esse método, por avaliar grande quantidade de sementes de uma única vez e por molhá-las, torna obrigatório que se faça a semeadura logo em seguida e, conseqüentemente, há aumento do volume de trabalho.

A digitalização e a análise de imagens de sementes de quinoa pode ajudar a localizar, dentro dos acessos já adaptados, linhagens promissoras com menor quantidade de saponina, proporcionando variedades com grãos para o pronto consumo, desde que semeadas na época adequada.

Trabalhos como os de Cook (1995), em que a determinação de características morfológicas tem sido feita mediante análise de imagens, tendem a ser cada vez mais comuns. Protocolos que se utilizam da quantificação dos coeficientes médios do modelo de cores RGB em uma imagem digitalizada e sua correlação com fenômenos ou características biológicas simplificam o trabalho de pesquisadores, pois produzem informações confiáveis em menor tempo. Em trabalhos com soja, as imagens foram digitalizadas e as sementes classificadas como atacadas ou não por microrganismos de acordo com a sua cor (Ahmed et al., 1994).

O modelo de cores RGB (R, vermelho; G, verde; B, azul) para formação de uma cor usa um sistema de coordenadas cartesianas cujo subespaço de interesse é um cubo. Na origem (0, 0, 0) localiza-se a cor preta e quando todas as bandas alcançam o seu valor máximo (255, 255, 255) tem-se a cor branca. Na diagonal que liga a origem com o ponto máximo situam-se os níveis de cinza (Foley & Dan, 1984). As cores (bandas) primárias vermelha, verde e azul são aditivas, isto é, sua contribuição individual é somada para formar a cor resultante. Um grupo de três coeficientes define o quanto de cada banda será necessário para produzir uma tonalidade. A cor é codificada pela equação  $COR = X(R) + Y(G) + Z(B)$ .

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do teor de saponina na cor do grão de quinoa.

Form utilizados, aproximadamente, 10 g de semen-

tes de 26 genótipos de quinoa pertencentes à coleção da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, consideradas amargas (letra Q no nome), de nove acessos peruanos, considerados doces devido a seu menor conteúdo de saponina (letra S no nome), e um lote de sementes consideradas amargas. Essas sementes foram lavadas em água corrente por três vezes, secadas ao ar livre e colocadas em placas de Petri de acrílico, com 10 cm de diâmetro e 1 cm de altura. Todos os acessos estudados foram de sementes variando entre o amarelo e o branco. As amostras foram colocadas em uma lupa com aumento de 1,2 vezes, sob luz branca. Cinco imagens de 400x400 pixels foram captadas ao acaso, por câmera de vídeo colorida e digitalizadas no formato JPEG. A cor de cada um dos pixels que compunham uma imagem foi decomposta nas bandas do sistema RGB e procedeu-se o cálculo do valor médio dos coeficientes de cada banda.

A segunda etapa consistiu em retirar cinco amostras (1 g cada) das sementes, cujas imagens foram digitalizadas, e colocá-las em proveta graduada, de 10 mm de diâmetro, com o volume completado para 4 mL com água destilada a 22°C. Procedeu-se uma vigorosa agitação manual por cinco segundos. Dez segundos após o término da agitação, furaram-se as grandes bolhas de espuma no topo da coluna e mediu-se a altura da coluna de espuma formada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo método de Duncan a 5% de probabilidade.

Os genótipos de origem andina, classificados como doces (coluna de espuma inferior a 30 mm), apresentaram menor teor relativo de saponina que os demais (Tabela 1). O processo de lavagem com água foi parcialmente efetivo na retirada da saponina, já que o lote de sementes lavadas apresentou menores valores da coluna de espuma.

A correlação positiva significativa entre a banda G e as demais bandas indica que quando uma banda é afetada pelo teor de saponina, as demais também são (Tabela 2). Todas as bandas apresentaram correlação negativa com a coluna de espuma ( $p = 0,05$ ), ou seja, índices crescentes para as bandas R, G e B – que codificam em conjunto cores cada vez mais claras – correspondem à imagens de quinoa com menores quantidades de saponina.

O coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,965$ ) demonstra que o modelo explica grande parte da variação entre as diversas bandas e a coluna de espuma (Tabela 3). Entre as bandas, a que mais contribuiu foi a R, com

95,3% da resposta. A equação de regressão foi definida por  $CL = 0,67916R - 0,89530G + 0,41181B$ , em que: R é a Banda R; G é a Banda G e B é a Banda B.

A análise dos componentes principais mostrou que os dois primeiros componentes correspondem a 85,4% da

**Tabela 1.** Teor de saponina em quinoa medido pelo método de coluna de espuma<sup>(1)</sup>.

Acesso	Coluna de espuma (mm)
Q16	71,2a
Q01	71,0a
Q11	70,8a
Q13	69,2ab
Q02	65,0abc
Q03	64,6abcd
Q20	64,4abcd
Q06	64,2abcde
Q19	63,4abcde
Q24	63,0abcdef
Q07	60,2bcdefg
Q05	60,2bcdefg
Q25	59,0bcdefgh
Q26	59,0bcdefgh
Q10	57,8cdefgh
Q15	57,0cdefgh
Q09	56,4cdefghi
Q17	56,4cdefghi
Q12	55,6cdefghi
Q22	54,4defghi
Q04	53,8efghi
Q18	52,8fghi
Q08	52,0ghi
Q21	51,6ghi
Q23	49,6hi
Q14	58,2ij
S43	39,0j
S60	28,0k
S58	27,0k
S03	26,0k
S18	8,6l
S40	5,4l
S79	4,4l
Lavada	3,2l
S30	2,6l
S16	2,5l
CV (%)	10,74

<sup>(1)</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

**Tabela 2.** Correlação simples de Pearson (r) entre coluna de espuma e os coeficientes das três bandas do modelo colorido RGB em quinoa.

Variável	Banda R	Banda G	Banda B
Coluna de espuma	-0,751**	-0,650*	-0,594*
Banda R	-	0,579*	0,316
Banda G	-	-	0,515*

\* e \*\*Significativo a 5% e a 1% de probabilidade, respectivamente.

variação nos dados. Os quatro grupos de similaridade determinados pelo método dos vizinhos mais próximos, explicaram 82,1% da variação total (Tabela 4). Houve variabilidade em todos os caracteres avaliados, o que pode ser explicado pela diferente frequência dos alelos dominantes na produção de saponina (Wahli, 1990).

Os genótipos S16, S30, S79, S40 e S18 (grupo 1), considerados doces, destacaram-se pelo baixo teor de saponina e pelos índices do modelo RGB tenderem a ser maiores, o que leva a considerá-los mais claros que os acessos amargos (Figura 1). O grupo de sementes lavadas foi classificado no grupo 1 e ficou afastado dos acessos amargos, indicando que a retirada da saponina por meio da lavagem em água à temperatura ambiente e secagem ao ar livre, além de retirar a saponina, altera significativamente a cor do grão (Galwey et al., 1990; Ruales & Nair, 1992). Os acessos considerados amargos foram divididos em três grupos. Como a banda R foi responsável pela grande maioria da resposta encontrada na análise de regressão, era previsível que o grupo 4, com o menor índice em relação à banda R, propiciaria a maior coluna de espuma.

Os métodos de avaliação do teor de saponina pela coluna de espuma e pela intensidade colorimétrica das

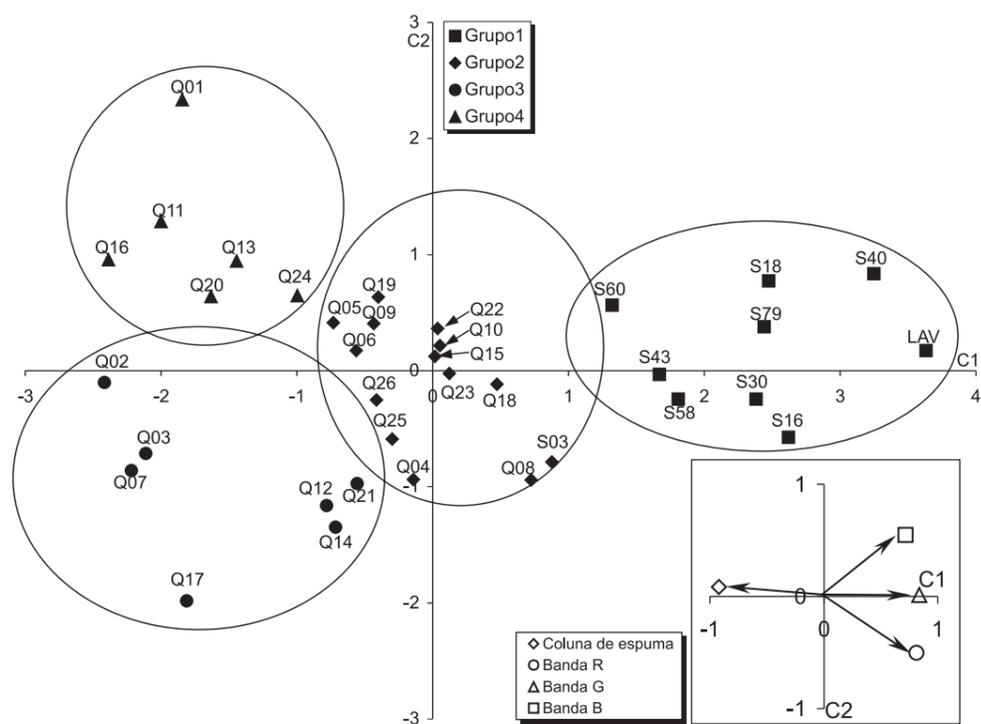
**Tabela 3.** Análise de regressão linear múltipla entre coluna de espuma (variável dependente) e as bandas do modelo colorido RGB (variável independente) e contribuição percentual na explicação do modelo em sementes de quinoa<sup>(1)</sup>.

Varição	GL	QM	P	Contribuição (%)
Modelo	3	333,96	0,0001	100,0
Banda R	1	955,02	0,0001	95,3
Banda G	1	28,04	0,0134	2,8
Banda B	1	18,83	0,0345	1,8
Erro	11	3,23		

<sup>(1)</sup>O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi de 0,965 e o coeficiente de variação (CV) foi de 21,74%.

**Tabela 4.** Médias de coluna de espuma (mm) e das bandas do modelo RGB para os quatro grupos de similaridade determinados em quinoa.

Variável	Grupo de similaridade			
	1	2	3	4
Coluna de espuma	11,6	56,1	57,4	60,8
Banda R	186,7	184,9	193,7	180,4
Banda G	167,6	165,9	163,4	163,3
Banda B	87,3	84,5	80,2	84,8



**Figura 1.** Dispersão dos 35 genótipos e do grupo de sementes lavadas de quinoa e direção e intensidade dos vetores de Coluna de Espuma, Banda R, Banda G e Banda B, em relação aos dois primeiros componentes principais (C1 e C2).

sementes são equivalentes. Os genótipos de quinoa estudados apresentam diferenças na frequência alélica em relação à produção de saponina. A maior frequência de sementes amarelas corresponde ao maior teor de saponina, enquanto as sementes brancas têm menos saponina.

### Referências

- AHMED, I.S.; REID, J.F.; PAULSEN, M.R. Morphological feature extraction by machine vision of damaged soybean seeds. *Transactions of the ASAE*, v.37, p.10-15, 1994.
- COOK, R.J. Varietal identification of crop plants. In: SKERRITT, J.H.; APPELS, R. (Ed.). *New diagnostic in crop science: biotechnology in agriculture*. Wallingford: CAB International, 1995. v.13, p.33-63.
- FOLEY, J.D.; DAN, A. van. *Fundamentals of interactive computer graphics*. London: Addison-Wesley, 1984. 611p.
- GALWEY, N.W.; LEAKEY, C.L.A.; PRICE, K.R.; FENWICK, G.R. Chemical composition and nutritional characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Sciences and Nutrition*, v.42F, p.245-261, 1990.
- PAZ CUENTAS, M.A. *Herancia del contenido de saponina en quinua*. 1971. 94p. Tesis (Graduação) - Universidad Nacional Técnica del Altiplano, Puno.
- RISI, C.J. *Adaptation of the andean grain crop quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) for cultivation in Britain*. 1986. 338p. Thesis (Ph.D.) - University of Cambridge, Cambridge.
- RIVERO, J.L.L. *Genética y mejoramiento de cultivos altoandinos, quinua, kañhua, tarwi, kiwicha, papa amarga, alluco, mashua y oca: programa interinstitucional de waru waru*. Puno: INADE; PELT-COTESU, 1994. 459p.
- RUALES, J.; NAIR, B.M. Nutritional quality of protein in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, v.42, p.1-11, 1992.

RUALES, J.; NAIR, B.M. Saponins, phytic acid, tannins and protease inhibitors in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds. **Food Chemistry**, v.48, p.137-143, 1993.

SPEHAR, C.R. Utilização da quinoa como alternativa para diversificar alimentos. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Uberlândia. **Anais**. Uberlândia: Colégio Brasileiro de Nutrição, 2002. p.49-58.

SPEHAR, C.R.; SOUZA, P.I.M. Adaptação da quinoa (*Chenopodium*

*quinoa* Willd.) ao cultivo nos cerrados do Planalto Central: resultados preliminares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, p.635-639, 1993.

TELLERÍA RÍOS, M.L.; SGARBIERI, C.; AMAYA, F.J. Evaluación química y biológica de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd): influencia de la extracción de la saponinas por tratamiento térmico. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.28, p.254-263, 1978.

WAHLI, C. **Quinoa hacia su cultivo comercial**. Quito: Latinreco, 1990. 206p.

---

Recebido em 26 de março de 2003 e aprovado em 27 de janeiro de 2004