



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SUENNIA CARINNE DA SILVA SENA

ANÁLISE MULTIELEMENTAR DE VINAGRES COMERCIALIZADOS NA REGIÃO
METROPOLITANA DE RECIFE

RECIFE
2024

SUENNIA CARINNE DA SILVA SENA

ANÁLISE MULTIELEMENTAR DE VINAGRES COMERCIALIZADOS NA REGIÃO
METROPOLITANA DE RECIFE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Paula Silveira Paim

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Laís Araújo Souza

RECIFE

2024

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Sena, Suennia Carinne da Silva.

Análise multielementar de vinagres comercializados na Região Metropolitana de Recife / Suennia Carinne da Silva Sena. - Recife, 2024.

126f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.

Orientação: Ana Paula Silveira Paim.

Coorientação: Laís Araújo Souza.

Inclui referências e apêndice.

1. Condimento; 2. Preparo de amostra; 3. Fotometria de chama.
I. Paim, Ana Paula Silveira. II. Souza, Laís Araújo. III.
Título.

UFPE-Biblioteca Central

SUENNIA CARINNE DA SILVA SENA

“Análise multielementar de vinagres comercializados na região metropolitana de Recife”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: 31/05/2024

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 ANA PAULA SILVEIRA PAIM
Data: 31/05/2024 10:28:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Ana Paula Silveira Paim (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 DANIELA SANTOS ANUNCIACAO
Data: 03/06/2024 08:16:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Daniela Santos Anunciação

Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
 IAGO JOSE SANTOS DA SILVA
Data: 31/05/2024 12:34:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Iago José Santos da Silva

Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela saúde, pelo dom da vida, e por seu amor incondicional e fidelidade em longo de toda a vida.

Aos meus amados pais, Gerson e Rosilda Sena, pelo apoio e incentivo incondicionais. A minha irmã, Samille Sena e ao meu cunhado José Neto, por sua presença constante e apoio inestimável.

Com um carinho especial, a minha avó Raimunda Maria e as minhas tias Izabel, Maria José e Janete, bem como também as minhas amadas primas, Karina e Izabelly.

Agradeço aos meus tios e tias da minha família paterna e especialmente ao meu tio Josué e a tia Rosa.

Ao meu namorado Keliton Cruz, pelos conselhos e força nos momentos mais complexos ao longo de toda a jornada. Também por sua paciência e cuidado e por me acompanhar na busca por amostras de vinagres.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Ana Paula Silveira Paim, por apontar o caminho a ser seguido, pela orientação, disponibilidade, confiança, carinho e amizade.

A co-orientadora Prof.^a Dr^a Laís Araújo Souza por sua disponibilidade, paciência, incentivo e carinho.

A Iago José Santos da Silva pela recepção no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) e por sua boa vontade em contribuir com o trabalho.

A Yasmin, técnica do ICP OES, pela sua boa vontade e sugestões.

Ao professor Elton Borges pela gentileza expressa em momentos difíceis.

As amigas, Brenda Maria, Wellen Karen e Jael Fernandes, pelo companheirismo, apoio e troca de experiências durante a graduação e vivência do mestrado.

Aos amigos do Laboratório de Espectroanálítica Aplicada (LEA) e em especial a: Nattany de Paula, Vitor Dantas, Felipe Cunha, Abinoan Rodrigues, Karla Beatriz, Briyitte Sofia, João Pedro Cardoso, Jéssica e a Silvio Joseph.

Ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco, Central Analítica da UFPE (DQF) e ao Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE (CENAPESQ) pelo suporte instrumental fornecido. Agradeço a FACEPE, pela concessão da bolsa de mestrado (Proc. IBPG-0728-1.06/22), ao INCTAA/CNPq/FAPESP e CNPq por todos os auxílios concedidos.

“Acho que, se a gente pudesse correr sem nunca se cansar, nunca mais iria querer parar. Mas às vezes existem razões muito especiais para se parar.”

(C. S. Lewis)

RESUMO

O vinagre é um alimento da classe dos condimentos que é composto principalmente por ácido acético e água e cujas propriedades terapêuticas têm sido demonstradas em diversos estudos científicos. Com o objetivo de conhecer a composição elementar desse alimento o presente trabalho desenvolveu um método de decomposição de amostras de vinagres assistida por radiação micro-ondas usando ácido nítrico diluído e peróxido de hidrogênio para a determinação de Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES) e de K e Na por fotometria de chama. Foram analisadas 16 amostras de vinagres dos tipos vinagre de álcool, balsâmico, maçã e vinho tinto. Um planejamento fatorial 2^3 , com três repetições no ponto central, foi empregado para avaliar o procedimento de decomposição das amostras, e as respostas do planejamento fatorial foram o teor de carbono residual (RCC) e acidez residual (RA). A melhor condição de decomposição foi obtida considerando 1,0 g de amostra e uma mistura digestora composta de 7 mL de ácido nítrico $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ e 1 mL de H_2O_2 , durante 45 minutos em uma temperatura de $200 \text{ }^\circ\text{C}$. Esta condição permitiu a obtenção de digeridos finais com teor médio de carbono residual e acidez residual de 13,6% e 0,73%, respectivamente. Considerando as medidas no ICP OES, os limites de detecção (LD) foram de $0,015 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ para Cd, Co, Cu e Mn, para Ca foi de $1,14 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ e para K e Na medidos no fotômetro de chama foram de $9,49 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ e $10,5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Os elementos minerais presentes nas amostras de vinagres apresentaram as seguintes faixas de concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$: Ca (7,4 - 149), Cu ($<0,045$ - 0,129), Fe ($<0,390$ - 7,03), K ($<28,5$ - 2097), Mg (6,4 - 97), Mn ($<0,030$ - 3,23), Na ($<31,5$ - 514), Zn ($<0,405$ - 0,75). Não há legislação brasileira que estabeleça os teores máximos de elementos em vinagres. Contudo, segundo a legislação espanhola, os limites para Cu, Pb e Zn são 10 mg L^{-1} , $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e 10 mg L^{-1} , respectivamente, valores significativamente mais altos do que os encontrados neste trabalho, em mg L^{-1} : Cu (0,003 - 0,0086), Pb ($<0,025$) e Zn (0,027 - 0,050). A Análise de Componentes Principais (PCA) foi utilizada para interpretar a composição mineral dos vinagres, revelando uma tendência de separação dos vinagres balsâmicos em relação aos demais. Esse resultado pode estar associado aos altos teores de Mg e Zn presentes nos vinagres balsâmicos.

Palavras-chave: Condimento; Preparo de amostra; Fotometria de chama

ABSTRACT

Vinegar is a condiment food composed mainly of acetic acid and water, whose therapeutic properties have been demonstrated in various scientific studies. With the aim of understanding the elemental composition of this food, the present work developed a method for decomposing vinegar samples assisted by microwave radiation using diluted nitric acid and hydrogen peroxide for the determination of Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, and Zn by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES) and K and Na by flame photometry. Sixteen samples of vinegar, including alcohol vinegar, balsamic vinegar, apple vinegar, and red wine vinegar, were analyzed. A 2³ factorial design, with three repetitions at the central point, was employed to evaluate the sample decomposition procedure, and the responses of the factorial design were the residual carbon content (RCC) and residual acidity (RA). The best decomposition condition was achieved considering 1.0 g of sample and a digestion mixture composed of 7 mL of 0.3 mol L⁻¹ nitric acid and 1 mL of H₂O₂, for 45 minutes at a temperature of 200 °C. This condition allowed obtaining final digests with an average residual carbon content and residual acidity of 13.6% and 0.73%, respectively. Considering the measurements in ICP OES, the detection limits (LOD) ranged from 0.015 µg g⁻¹ for Cd, Co, Cu, and Mn, up to 1.14 µg g⁻¹ for Ca. For K and Na measured in the flame photometer, the detection limits were 9.49 µg g⁻¹ and 10.5 µg g⁻¹, respectively. The mineral elements present in the vinegar samples showed the following concentration ranges, in µg g⁻¹: Ca (7.4 - 149), Cu (<0.045 - 0.129), Fe (<0.390 - 7.03), K (<28.5 - 2097), Mg (6.4 - 97), Mn (<0.030 - 3.23), Na (<31.5 - 514), Zn (<0.405 - 0.75). There is no Brazilian legislation establishing the maximum levels of elements in vinegars. However, according to Spanish legislation, the limits for Cu, Pb and Zn are 10 mg L⁻¹, 0.5 mg L⁻¹ and 10 mg L⁻¹, respectively, values significantly higher than those found in this research in mg L⁻¹: Cu (0.003 -0.0086), Pb (<0.025) and Zn (0.027- 0.050). Principal Component Analysis (PCA) was used to interpret the mineral composition of the vinegars, revealing a trend where balsamic vinegars separate from the others. This distinction may be associated with the high levels of Mg and Zn present in the balsamic vinegars.

Keywords: Condiment; Sample preparation; Flame photometry

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Recipiente usado no processo Orleans de produção de vinagre	21
Figura 2 – Método Gerador Trickling	23
Figura 3 – Moderno acetador de fermentação submersa	24
Figura 4 – As seis classes de nutrientes presentes em alimentos	29
Figura 5 – Etapas do processo analítico	33
Figura 6 – Interação de diferentes substâncias com radiação micro-ondas: materiais absorventes (por exemplo, solventes polares), materiais isolantes (por exemplo, PTFE, quartzo, vidro) e condutores elétricos (por exemplo, metais).....	35
Figura 7 – Representação esquemática de aquecimento convencional e por radiação micro-ondas.....	36
Figura 8 – Representação esquemática de um forno multimodo, mostrando frascos de decomposição em um rotor, sob ação de radiação micro-ondas espalhada por um refletor rotatório.	38
Figura 9 – Representação das reações de regeneração do ácido nítrico promovidas pelo oxigênio em fase gasosa dentro do recipiente de decomposição	40
Figura 10 – Forno de micro-ondas Milestone (Modelo Start D): (a) Forno de micro-ondas; (b) Cavidade do forno de micro-ondas e frascos de decomposição em um rotor; (c) Segmentos do rotor contendo frascos de decomposição; (d) Componentes de um frasco de decomposição por micro-ondas (mola especial, placa adaptadora, tampa de TFM, anel de proteção, recipiente de TFM, camisa de proteção)	55
Figura 11 – Equipamento de ICP OES marca Perkin Elmer, modelo Optima 7000 DV, usado na quantificação multielementar.	56
Figura 12 – Comparação entre os digeridos de diferentes vinagres obtidos pelo método proposto pela HPR-FO-69, que utilizou 0,5 g de amostra, 7 mL de HNO ₃ 15 mol L ⁻¹ e 1 mL de H ₂ O ₂ : (a) vinagre de álcool; (b) vinagre balsâmico; (c) vinagre de maçã; (d) vinagre de vinho tinto.	68
Figura 13 – Comparação entre os digeridos de diferentes vinagres obtidos com HNO ₃ 1,28 mol L ⁻¹ a 100 °C: (a) vinagre de álcool; (b) vinagre balsâmico, em destaque, cujo digerido apresentou um aspecto amarelado; (c) vinagre de maçã; (d) vinagre de vinho tinto.	69
Figura 14 – Comparação entre os digeridos de vinagre balsâmico obtidos com o emprego de uma temperatura de decomposição de 200 °C, 1 mL de H ₂ O ₂ e 7 mL de	

HNO ₃ em diferentes concentrações: (a) 1,28 mol L ⁻¹ ; (b) 0,64 mol L ⁻¹ ; (c) 0,2 mol L ⁻¹ ; (d) 0,1 mol L ⁻¹	70
Figura 15 – Comparação entre o aspecto visual dos digeridos resultantes do planejamento fatorial: (1) Ensaio 1; (2) Ensaio 2; (3) Ensaio 3, com obtenção de uma solução de digerido límpida, destacado em azul; (4) Ensaio 4, com alta concentração de sólidos dissolvidos, destacado em vermelho; (5) Ensaio 5; (6) Ensaio 6; (7) Ensaio 7, com obtenção de uma solução de digerido límpida, destacado em azul; (8) Ensaio 8, com alta concentração de sólidos dissolvidos, destacado em vermelho; (9) Ensaio 9; (10) Ensaio 10; (11) Ensaio 11	73
Figura 16 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados pelo erro puro para a variável de resposta teor de carbono residual (RCC)	77
Figura 17 – Gráfico de resíduos para o ajuste do modelo para a resposta teor de carbono residual	78
Figura 18 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados pelo erro puro para a variável de resposta acidez residual (RA)	79
Figura 19 – Gráfico de resíduos para o ajuste do modelo para a resposta teor de acidez residual	81
Figura 20 – Gráfico de avaliação das respostas: RCC e RA	82
Figura 21 – Escores e pesos da PCA para dados de elementos minerais presentes nas amostras de acordo com tipos de vinagre. (a) Escores de PC1xPC2; (b) Pesos de PC1xPC2; (c) Escores de PC1xPC3; (d) Pesos de PC1xPC3; (e) Escores PC1XPC4; (f) Pesos PC1xPC4	96

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Composição dos vinagres mais consumidos no Brasil	19
Quadro 2 – Funções metabólicas de macrominerais e microminerais	30
Quadro 3 – Métodos analíticos para determinação de macro, micro e elementos potencialmente tóxicos em alimentos (PTEs).....	32
Quadro 4 – Planejamento fatorial na otimização de procedimentos de decomposição assistida por micro-ondas para decomposição de amostras de alimentos	46
Quadro 5 – Condições experimentais estabelecidas através do planejamento fatorial para a decomposição de amostra de vinagres.....	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros operacionais do ICP OES.....	56
Tabela 2 – Programa de aquecimento de amostras de vinagre obtido após aquecimento por micro-ondas em temperatura de 200°C.....	58
Tabela 3 – Testes de decomposição preliminares realizados com as amostras de vinagre, com 7 mL de HNO ₃ e 1 mL H ₂ O ₂ 30% (v/v).....	59
Tabela 4 – Matriz do planejamento fatorial 2 ³ para a decomposição das amostras de vinagre, com triplicatas do ponto central.....	61
Tabela 5 – Dados físico-químicos de HNO ₃	65
Tabela 6 – Teores médios de carbono residual (RCC) e acidez residual (RA) para os testes preliminares (1, 5, 6, 7, 8).....	70
Tabela 7 – Curva analítica e seus parâmetros: limite de detecção, limite de quantificação e faixa linear (mg L ⁻¹).....	74
Tabela 8 – Matriz do planejamento fatorial 2 ³ para a decomposição das amostras de vinagre, com triplicatas do ponto central e teores de RCC e AR.....	75
Tabela 9 – Estimativa dos efeitos para a variável de resposta teor de carbono residual (RCC).....	76
Tabela 10 – ANOVA para a resposta de RCC, considerando apenas os parâmetros e interações significativos.....	78
Tabela 11 – Estimativa dos efeitos para a variável de resposta acidez residual (RA).....	79
Tabela 12 – ANOVA para a resposta de RA, considerando apenas os parâmetros e interações significativos.....	80
Tabela 13 – Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) para as determinações por ICP OES e Fotometria de chama do procedimento proposto para a decomposição de vinagres em forno de micro-ondas.....	84
Tabela 14 – Equações de regressão linear para 13 elementos.....	85
Tabela 15 – Valores de recuperação (%) determinados via ICP OES e por fotometria de chama para amostras de vinagres.....	86
Tabela 16 – Concentração, em µg g ⁻¹ , para amostras de vinagres digeridas usando decomposição assistida por radiação micro-ondas (média ± desvio padrão, n=4) ...	88
Tabela 17 – Desvio Padrão Relativo (DPR %) para 16 amostras de vinagres (n=4)	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANAV	Associação Nacional das Indústrias de Vinagre
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
RA	Acidez Residual (do inglês, <i>Residual Acidity</i>)
CCD	Dispositivo de Carga Acoplada (do inglês, <i>Charge Coupled Device</i>)
CRM	Material Certificado de Referência (do inglês, <i>Certified Reference Material</i>)
DOE	Planejamento de Experimentos (do inglês, <i>Design of Experiments</i>)
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês, <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (do inglês, <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
HNO ₃	Ácido nítrico
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
K ₂ Cr ₂ O ₇	Dicromato de Potássio
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MIP OES	Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Induzido por Micro-ondas (do Inglês, <i>Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
PTE _s	Elementos Potencialmente Tóxicos (do inglês, <i>Potentially Toxic Elements</i>)
RCC	Teor de Carbono Residual (do inglês, <i>Residual Carbon Content</i>)
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TBCA	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	O VINAGRE, HISTÓRIA, TIPOS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	17
2.2	MÉTODOS DE PRODUÇÃO DE VINAGRE.....	20
2.2.1	O Método de Orléans ou processo lento.....	21
2.2.2	Método gerador ou rápido ou trickling.....	22
2.2.3	Fermentação submersa	23
2.3	PROPRIEDADES DO VINAGRE AVALIADAS EM ESTUDOS CIENTÍFICOS	25
2.4	ANÁLISE DE ALIMENTOS.....	28
2.5	DECOMPOSIÇÃO ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS EM ALIMENTOS.....	34
2.6	AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS	41
2.7	PLANEJAMENTO E OTIMIZAÇÃO DA DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS.....	44
2.8	ANÁLISE ELEMENTAR DE AMOSTRAS DE VINAGRES	47
3	OBJETIVOS	52
3.1	OBJETIVOS GERAL	52
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	52
4	METODOLOGIA.....	53
4.1	AMOSTRAS	53
4.2	MATERIAIS, REAGENTES E SOLUÇÕES.....	53
4.3	INSTRUMENTAÇÃO.....	55
4.4	TESTES PRELIMINARES.....	57
4.5	PLANEJAMENTO E OTIMIZAÇÃO DAS DIGESTÕES ÁCIDAS.....	60
4.6	DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO RESIDUAL E ACIDEZ RESIDUAL.....	62
4.7	VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO	65
4.8	ANÁLISE ELEMENTAR POR ICP OES E FOTOMETRIA DE CHAMA.....	66
4.9	ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS DADOS EMPREGANDO PCA	67
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
5.1	TESTES PRELIMINARES.....	68

5.2	PLANEJAMENTO E OTIMIZAÇÃO DAS DECOMPOSIÇÕES ÁCIDAS.....	72
5.3	VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO	83
5.4	APLICAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO NA ANÁLISE DE AMOSTRAS....	87
5.5	ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS DADOS EMPREGANDO PCA	95
6	CONCLUSÃO.....	98
7	PERSPECTIVAS	100
	REFERÊNCIAS.....	101
	APÊNDICE A – RESUMO SIMPLIFICADO	126

1 INTRODUÇÃO

Conhecidos há quase 10.000 anos, os vinagres não eram apenas utilizados na preservação de alimentos, mas também na elaboração de medicamentos e rituais (Plessi, 2003). O vinagre, um alimento da classe dos condimentos, utilizado com o propósito de melhorar o sabor dos alimentos, pode ser definido como um líquido próprio para consumo humano que contém uma quantidade determinada de ácido acético e água. O vinagre é um produto natural, cujo principal constituinte é o ácido acético (CH_3COOH) (Cheryan, 2009; Garcia-Parrila *et al.*, 2017; Lindsay, 2010; Samad; Azlan; Ismail, 2016).

Os vinagres podem ser compostos de nutrientes e bioativos. Os nutrientes incluem aminoácidos, açúcares, vitaminas e microelementos, enquanto os bioativos correspondem a ácidos orgânicos, polifenóis, melanoidinas e à tetrametilpirazina (Koyama *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017; Xia *et al.*, 2020). Estes componentes apresentam propriedades antimicrobianas, antioxidantes, antitumorais, reduzem os efeitos da diabetes e podem prevenir obesidade e doenças cardiovasculares (Budak *et al.*, 2014).

Tendo em vista que estão disponíveis no mercado uma variedade de marcas e tipos de vinagres, bem como pela importância dos metais no metabolismo, a potencial toxicidade de certos elementos e a detecção de adulteração do produto, assim como a caracterização do vinagre, é importante a quantificação da composição elementar no vinagre (Gonzálvez; Armenta; La Guardia, 2015).

Neste trabalho, foi estudado um método de decomposição de amostras de vinagres usando a radiação micro-ondas. Com o auxílio de um planejamento fatorial, foram estabelecidos a massa de amostra, a temperatura de decomposição e a concentração de ácido nítrico. Foram determinados por ICP OES os teores de Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn, e de K e Na em fotômetro de chama, nas amostras de vinagres de álcool, balsâmico, maçã e de vinho tinto.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 O VINAGRE, HISTÓRIA, TIPOS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA

É provável que o primeiro vinagre tenha surgido de maneira desprezível, sendo, na verdade, um vinho que foi deixado de lado e acabou fermentando. De fato, a origem da palavra inglesa "vinegar" deriva das palavras francesas "vin" e "aigre", que significam vinho azedo (Huang, 2000). Este produto pode ser feito a partir de diferentes tipos de carboidratos fermentáveis, como vinhos, melaços, tâmaras, peras, frutas vermelhas, cerveja e mel (Ho *et al.*, 2017; Samad; Azlan; Ismail, 2016). Os babilônios costumavam preparar o vinagre a partir do suco ou da seiva da tamareira, do vinho de tâmara e do vinho de uva passa e da cerveja (Conner; Allgeier, 1976), enquanto os persas obtinham o vinho e o vinagre das palmeiras (Mazza; Murooka, 2009).

Diversos tipos de vinagres são fabricados em todo o mundo, variando de acordo com os materiais usados e o processo de fabricação (Lazim *et al.*, 2019). Existem três métodos comumente empregados para a produção de vinagre: método Orleans, método gerador ou "trickling" e fermentação submersa (Singh; Bisht; Garg, 2023).

Tradicionalmente, o vinagre pode ser produzido por um processo em duas etapas: fermentação alcoólica e fermentação acética (Lim *et al.*, 2019; Kandyliis, 2019). A fermentação alcoólica transforma açúcares processados ou amidos em etanol usando leveduras, especialmente *Saccharomyces cerevisiae*, embora algumas outras espécies também possam realizar a fermentação alcoólica parcial ou total. A segunda etapa da produção de vinagre é a acetificação, que envolve a oxidação do etanol em ácido acético por bactérias do gênero "*Acetobacter*" (Adams, 2014; Mas *et al.*, 2016).

O decreto nº 6871, de 4 de junho de 2009, regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, definindo fermentado acético como o produto com acidez volátil mínima de 4g/100 mL, expressa em ácido acético, obtido da fermentação acética do fermentado alcoólico de mosto: a) de fruta; b) de cereal; c) de outros vegetais; d) de mel; e) da mistura de vegetais; f) da mistura hidroalcoólica.

Podendo este fermentado acético ser denominado “vinagre de ...”, acrescido do nome da matéria-prima utilizada (BRASIL, 2009).

No passado, o vinagre costumava ser visto como um resultado secundário do processo de fabricação de vinho, uma vez que a oxidação do vinho o tornava sem valor. No entanto, com o passar dos séculos, a importância do vinagre se tornou cada vez mais clara graças às observações e às inovações realizadas pela humanidade (Lim *et al.*, 2019).

O uso do vinagre no tratamento de infecções e outras condições agudas tem suas origens em Hipócrates (460-377 a.C.), considerado o pai da medicina, que costumava prescrever uma solução de vinagre para desinfetar úlceras e cuidar de feridas (Johnston, 2009). Tanto o Antigo quanto o Novo Testamento contêm referências ao vinagre. O mais conhecido deles fala do vinagre oferecido como bebida a Jesus na cruz (Nickol, 1979).

Os babilônios empregavam o vinagre de forma intencional para decapar e preservar diversos tipos de alimentos (Mazza; Murooka, 2009). Durante o período de 1629 a 1631, o vinagre desempenhou um papel relevante no enfrentamento da peste italiana, causada por bactérias do gênero *Yersinia pestis*. No Palácio Municipal de Ferrara, era mantido um suprimento de barris de vinagre puros e de alta qualidade, preparados para serem utilizados em situações de peste, sob a supervisão do Juiz dos Savi e dos Guardiões da Saúde. Em Ferrara, o vinagre puro era aplicado para impregnar esponjas, que eram mantidas diante da boca, além de ser utilizado para lavar as mãos, realizar abluções (lavagem do corpo ou parte dele), desinfetar objetos não limpos, como dinheiro, e compor misturas anti-pestes (Vicentini *et al.*, 2020).

Diversos tipos de vinagres, produzidos globalmente, apresentam distinções quanto à matéria-prima, ao sistema de produção e à aplicação (Giudici; De Vero; Gullo, 2017). De acordo com a matéria-prima utilizada em sua fabricação, os vinagres podem ser classificados em vinagre de arroz, vinagre balsâmico, vinagre de cerveja, vinagre de frutas, vinagre de malte e vinagre de vinho, além do vinagre preto (Nardi; Bordiga, 2018; Ho *et al.*, 2017). No Brasil, o vinagre de álcool é o mais consumido, seguido pelos vinagres de vinhos, balsâmico e pelos vinagres de frutas, principalmente vinagre de maçã (ANAV, 1999).

O vinagre branco destilado, ou vinagre de álcool, é produzido a partir de álcool destilado e diluído em água. É incolor, sendo o vinagre mais barato e comumente utilizado (Katz, 2016). O vinagre balsâmico é uma variedade envelhecida e aromática

de vinagre que tem origem tradicionalmente nas regiões de Módena e Reggio Emilia, na Itália. Sua produção envolve o uso de mosto ou suco concentrado de uvas brancas, geralmente da variedade Trebbiano (Nardi; Bordiga, 2018). O vinagre de maçã, por sua vez, tem sido associado a diversos benefícios, dentre eles: perda de peso; capacidade de reduzir os níveis de glicose no sangue e reduzir o risco de doenças cardíacas (Launholt *et al.*, 2020). O vinagre de vinho é produzido na maioria dos países do Mediterrâneo, e sua produção requer a maturação em barris de madeira por longos anos, o que torna o produto resultante relativamente caro (Tesfaye *et al.*, 2002). A composição química do vinagre costuma variar de acordo com a matéria prima utilizada em seu processo de fabricação, como demonstrado no **Quadro 1**.

Quadro 1 – Composição dos vinagres mais consumidos no Brasil

Tipos de vinagres	Composição
Vinagre de Álcool	Carbonilas, ésteres e álcoois (Conner; Allgeier, 1976)
Vinagre Balsâmico	Açúcares, ácidos orgânicos, componentes voláteis, compostos fenólicos, compostos furânicos, melanoidinas e outros biopolímeros (Giudici; Lemmetti; Mazza, 2015).
Vinagre de maçã	Ácidos orgânicos, ácidos fenólicos, taninos, flavonoides e carotenoides, conferindo-lhes um alto nível de propriedades antioxidantes e antibacterianas (Kara <i>et al.</i> , 2022), alanina (Sobolev; Circi; Mannina, 2016), maior proporção de ácido florético e menor proporção de ácido gálico em comparação com vinagres de uva (Barnaba <i>et al.</i> , 2015).
Vinagre de vinho	Ácido acético, etanol, acetato de etila, glicerol, metanol, 3-Metil-1-butanol, Acetato de metila, Acetaldeído dietil

	acetal, Acetaldeído, Acetoína, Prolina, Ácido tartárico e água (Tesfaye <i>et al.</i> , 2004).
--	--

Fonte: A autora (2024).

Além de conter aminoácidos, açúcares e vitaminas, os vinagres também são constituídos por minerais (Xia *et al.*, 2020). Silva Junior *et al.* (2015) apontam que elementos tóxicos, como Cd, Pb e Hg, podem ocorrer em vinagres por contaminação durante a produção ou processo de fabricação e, em consequência desse fato, determinaram os níveis de mercúrio em 18 amostras de vinagre de álcool comercializadas em Salvador, Bahia, Brasil. Os teores de mercúrio encontrados nessas amostras variaram de 51,9 a 759,4 ng L⁻¹.

Diversos trabalhos propostos na literatura têm revelado teores majoritários de K e Na em amostras de vinagres (Akpınar-bayızit *et al.* 2010, Antoniewicz *et al.*, 2022; Ousaid *et al.*, 2022). Essas altas concentrações podem estar relacionadas a matéria-prima, tais como uvas, maçãs e outras frutas, utilizadas na produção (Akpınar-bayızit *et al.* 2010). De maneira semelhante González e Chozas (1998), indicam que a presença de elementos minerais nos vinagres pode ser atribuído à fonte natural desses elementos na uva e no vinho, ao contato com materiais durante os processos e à contaminação do ambiente.

2.2 MÉTODOS DE PRODUÇÃO DE VINAGRE

Como já foi mencionado, o mecanismo de produção de vinagre consiste em duas etapas: fermentação alcoólica e fermentação acética. A fermentação alcoólica é a transformação anaeróbica de açúcares, especialmente glicose e frutose, em etanol e dióxido de carbono. Esse processo é conduzido por leveduras, especialmente a "*Saccharomyces cerevisiae*", e também por algumas bactérias, como a *Zymomonas mobilis* (Ho *et al.*, 2017; Zamora, 2009). Na última fase, a fermentação acética, o álcool resultante é oxidado em ácido acético por bactérias do gênero "*Acetobacter*" (Budak *et al.*, 2014; Johnston & Gaas, 2006).

O vinagre comercial é produzido por processos de fermentação lentos e rápidos. O método lento é geralmente empregado na produção de vinagres de vinho tradicionais, onde a cultura de bactérias do ácido acético se desenvolve na superfície

do líquido, e a fermentação ocorre de forma gradual ao longo de semanas ou meses. Já no método rápido, o líquido é oxigenado por agitação, e a cultura bacteriana é submersa, permitindo uma fermentação mais rápida (Johnston; Gaas, 2006). O método lento é frequentemente referido como método convencional ou método de Orléans, enquanto os métodos rápidos são classificados como métodos geradores ou submersos (Ho *et al.*, 2017).

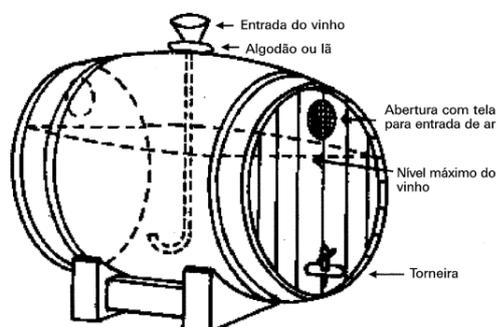
2.2.1 O Método de Orléans ou processo lento

O método "Orléans", também conhecido como "método contínuo," representa uma das técnicas mais antigas para a fabricação de vinagre, com origem na França, e ainda é empregado nos dias atuais para produzir vinagres de excelência (Bekatorou, 2019). No método de Orléans, a produção de vinagre ocorre a partir de uma fermentação lenta do vinho que ocorre em barris de madeira (Mazza; Murooka, 2009).

Este método é caracterizado por ser uma fermentação de cultura de superfície, onde as bactérias produtoras de ácido acético formam uma película na interface entre o meio acetificante e o ar, estando em contato direto com o oxigênio atmosférico (Adams; Moss, 2007; López, 2013).

Os barris usados no método de Orléans são fabricados com um dispositivo de enchimento (um tubo) que percorre desde a parte externa do topo do barril até o seu interior, como ilustrado na **Figura 1** (Hutkins, 2006).

Figura 1 – Recipiente usado no processo Orleans de produção de vinagre



Fonte: Aquarone *et al.* (1983)

Nesse processo, um grande barril de madeira é disposto horizontalmente e parcialmente preenchido com a solução-base para a produção de vinagre. Aberturas

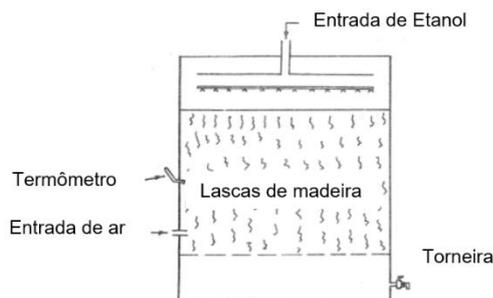
de ar estão situadas imediatamente acima do nível da solução-base, o que resulta em um aumento do teor de oxigênio disponível (conforme ilustrado na **Figura 1**). As aberturas dos barris são cobertas com musselina ou material semelhante para evitar a entrada de insetos, mas permitindo a livre circulação do ar (Guizani; Mothershaw, 2006).

No decorrer de semanas, o barril permanece sem interferências até que o nível de acidez desejado seja atingido. Nesse momento, aproximadamente dois terços do volume de vinagre são retirados por meio de uma abertura próxima à parte inferior do barril e o processo é reiniciado. Esse ciclo é repetido várias vezes, resultando em uma produção contínua, embora lenta (Panesar *et al.*, 2012; Guizani; Mothershaw, 2006).

Este método apresenta algumas desvantagens, leva até cinco semanas para produzir o vinagre, em comparação com os métodos mais modernos que levam apenas alguns dias, o que lhe rendeu a alcunha de "método lento". Além disso, é considerado ineficiente, produzindo de 75 a 85% da quantidade teórica, e o processo pode ser interrompido gradualmente à medida que a "mãe do vinagre" preencher o barril. A mãe do vinagre é uma substância viscosa e gelatinosa na superfície do líquido que está amadurecendo em toneis e que, conforme aumenta de peso tende a se precipitar (Okafor; Okeke, 2017).

2.2.2 Método gerador ou rápido ou trickling

Como o sistema de Orléans é de baixa produção, diferentes técnicas surgem para acelerar o processo. Os métodos geradores também são conhecidos como métodos "Trickling" e alemão, por se originarem na Alemanha e terem sido usados como padrão por mais de 200 anos (Tripathi *et al.*, 2022). Este processo é realizado em tanque construído de cipreste ou sequoia e é preenchido com cerca de 2000 pés cúbicos (~57 m³) de lascas de madeira de faia enroladas (Nickol, 1979). O processo de "gotejamento" ou alemão é uma fermentação superficial na qual a população microbiana é fixada em um suporte apropriado (geralmente as aparas de madeira de faia) e o vinho é engrossado enquanto um grande volume de ar é expelido pelo fundo do tanque. Na **Figura 2**, exemplifica-se um gerador de Trickling.

Figura 2 – Método Gerador Tricking

Fonte: Okafor e Okeke (2017)

A lógica dos processos geradores de gotejamento é aumentar a área de superfície para o contato do oxigênio com o vinagre em fermentação. Assim, os substratos alcoólicos circulam e escorrem através de recipientes ou cubas contendo um material inerte e não compactado, como aparas de madeira ou carvão, onde está presente uma película de bactérias (Shaikh; Jagtap, 2023).

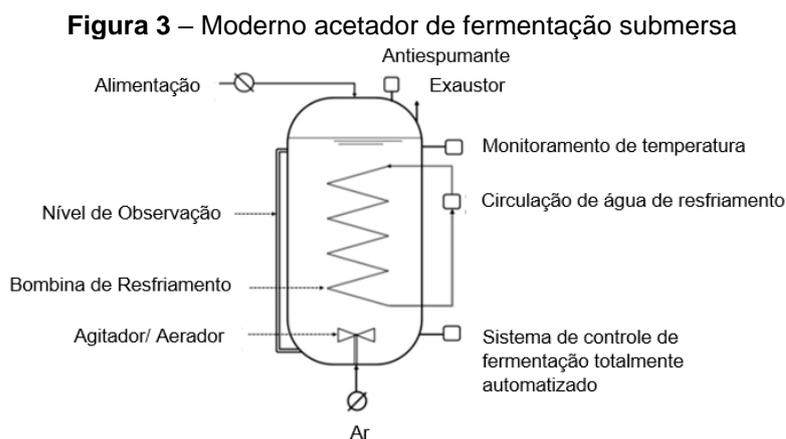
O interior deste é dividido em três partes: seção superior, onde é introduzido o líquido alcoólico; seção intermediária, onde o líquido pode escorrer sobre as aparas de madeira de faia; seção inferior, onde o vinagre é coletado (Rosma *et al.*, 2016).

As vantagens desse método abrangem a economia de recursos, a simplicidade no gerenciamento, a obtenção de níveis elevados de ácido acético e a necessidade de menos espaço. Por outro lado, os contrapontos incluem os custos associados às lascas de madeira, o período prolongado de configuração inicial, a evaporação de etanol e a criação de uma substância gelatinosa pelas *Acetobacter* (como a *A. xylinum*) (Cheryan, 2009).

2.2.3 Fermentação submersa

Os métodos submersos são atualmente a forma predominante de fermentação utilizada na fabricação industrial de vinagres em escala global (Emde, 2017). A fermentação submersa (SmF) pode ser definida como o processo no qual o crescimento e a decomposição anaeróbica e/ou parcialmente anaeróbicos de substratos, ou seja, de carboidratos, são realizados por microorganismos na presença de água (Behera; Ray, 2019).

De acordo com Gullo, Verzelloni e Canonico (2014), é por meio da fermentação submersa que o etanol presente em líquidos como destilados, vinho ou cidra é oxidado por bactérias de ácido acético (AAB), em condições de agitação controlada. O tanque de fermentação é feito de aço inoxidável, também chamado de acetador, **Figura 3**, sendo composto por controle de espuma, sistema de resfriamento, sistema de fornecimento de ar, válvula de carga (entrada) e descarga (saída) (Gohil *et al.*, 2022). A válvula de saída, localizada no fundo do tanque permite a remoção do produto formado (Guizani; Mothershaw, 2006). A capacidade de fornecer aeração rápida e eficiente é relevante na fermentação submersa de vinagre, visto que a escassez de oxigênio em consequência da acidez alta poderia levar a morte as bactérias envolvidas no processo em um curto período. Além disso, em consequência da extensa liberação de calor deve-se fazer uso de um sistema de resfriamento eficiente (Hutkins, 2019; Okafor; Okeke, 2017).



Fonte: Bekatorou (2019)

As vantagens do fermentador submerso incluem: a conversão mais rápida da matéria-prima do que os tipos mais antigos, sendo seu rendimento aproximadamente o dobro para um determinado tamanho de tanque; podem ser operados de forma contínua ou semicontínua; estão quase completamente livres da produção de cepas viscosas de *Acetobacter xylinum*, que atormentam os tipos mais antigos de geradores. A *Acetibacter xylinum*, é uma bactéria Gram negativa do solo que sintetiza e secreta celulose como parte do metabolismo da glicose e normalmente se desenvolve se o teor de ácido acético estiver abaixo de 9% (em peso) no vinagre acabado. Os acetificadores de cultura submersa são bem adaptados à produção de vinagre em uma ampla variedade de matérias-primas (2 a 10% de etanol) (Joshi; Thakur, 2000).

2.3 PROPRIEDADES DO VINAGRE AVALIADAS EM ESTUDOS CIENTÍFICOS

Além de ser utilizado como ingrediente para a fabricação de maionese, molhos, marinados e temperos na indústria alimentícia, assim como para acidular e preservar vegetais, em molhos para saladas e como condimento para o preparo de alimentos, o vinagre tem sido utilizado como remédio natural para doenças na medicina popular (Emde, 2017; Guan *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2019a).

A eficácia funcional e terapêutica do vinagre resulta de seus componentes bioativos, tais como o ácido acético, ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico. Diversos trabalhos publicados recentemente têm investigado as propriedades dos vinagres no combate a doenças: efeitos antifúngicos e larvicidas (Akkuş; Akçay; Yalçın, 2022); efeitos terapêuticos e contra danos renais (Asejeje *et al.*, 2020); efeitos antiglicêmicos (Gheflati *et al.*, 2019); atividade antimicrobiana (Yagnik; Darshna; Serafin, 2018). Os elementos bioativos também possuem a capacidade de desencadear respostas antioxidantes, antidiabéticas, antimicrobianas, antitumorais, antiobesidade, anti-hipertensivas e reguladoras do colesterol (Budak *et al.*, 2014; Ling *et al.*, 2019).

Tagliazucchi, Verzelloni e Conte (2008) conduziram a análise das propriedades antioxidantes do Vinagre Balsâmico Tradicional (VBT), com foco no teor de polifenóis e taninos poliméricos, com o intuito de ampliar o conhecimento sobre a formação de compostos antioxidantes durante o processo de cozimento e concentração do mosto de uva. A atividade antioxidante dos vinagres foi mensurada por meio do método de redução do ferro (FRAP) e da captura do radical livre ABTS⁺, revelando que as três distintas amostras de VBT exibiram notável atividade antioxidante, tanto no ensaio FRAP quanto no ABTS⁺, superando, inclusive, a encontrada no vinho tinto. O fenômeno foi atribuído à presença de compostos fenólicos e taninos no VBT, confirmando que o VBT tem elevadas propriedades antioxidantes.

O estudo conduzido por Setorki *et al.* (2010) investigou os efeitos agudos do consumo de vinagre em alguns dos principais fatores de riscos bioquímicos da aterosclerose em coelhos submetidos a uma dieta rica em colesterol. Os coelhos foram divididos em grupos que receberam uma das quatro dietas experimentais: dieta normal, dieta com alta concentração de colesterol (1% de colesterol), dieta com 1% de colesterol e 5 mL de vinagre (dose baixa) e dieta com 1% de colesterol e 10 mL de

vinagre (dose alta). Após a realização dos experimentos, os pesquisadores observaram que o consumo de vinagre em dose alta, juntamente com a dieta hipercolesterolêmica, resultou em uma significativa redução nos níveis de LDL-colesterol (LDL-C), LDL oxidada (ox-LDL), malondialdeído (MDA), colesterol total (TC) e apolipoproteína B (ApoB) em comparação com a dieta hipercolesterolêmica. Além disso, o consumo de vinagre em dose baixa, junto com a dieta hipercolesterolêmica, promoveu uma significativa diminuição nos níveis de fibrinogênio e glicose em comparação com a dieta hipercolesterolêmica. Esses resultados indicam que o consumo de vinagre pode exercer efeitos agudos benéficos sobre alguns dos principais fatores de risco bioquímicos associados à aterosclerose em coelhos hipercolesterolêmicos. Portanto, o vinagre pode ser considerado como uma potencial estratégia de intervenção para a prevenção e tratamento da aterosclerose.

Baba, Higashi e Kanekura (2013) investigaram a atividade anticancerígena do vinagre japonês Izumi, um tipo de vinagre feito de arroz não polido. A pesquisa avaliou o carcinoma de células escamosas humanas (HSC-5) e explorou os mecanismos subjacentes envolvidos. Com o intuito de alcançar esses objetivos, os autores realizaram a cultura das células, as quais foram estimuladas com Izumi ou vinagre comum de grãos, em uma concentração final de 10 µL/mL. O estudo demonstrou que o Izumi inibiu a proliferação das células do carcinoma de células escamosas (HSC-5) de forma mais eficaz do que o vinagre comum de grãos. Isso sugere que o Izumi possui propriedades anticancerígenas por meio do mecanismo de necroptose, tornando-o um potencial terapêutico contra o câncer.

Yagnik, Serafin e Shah (2018), a fim de avaliar a atividade antimicrobiana do vinagre de maçã (ACV) contra micróbios, cultivaram diretamente com diferentes concentrações de vinagre de maçã culturas de: *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. A presente pesquisa apontou que a diluição mínima de vinagre de maçã necessária para inibição do crescimento das culturas de micro-organismos variou de acordo com a espécie microbiana estudada, desse modo o crescimento de *C. albicans* foi restrito apenas com vinagre de maçã puro e não diluído (5% de acidez), enquanto que culturas de *E-coli* e *S. aureus*, apresentaram restrição de crescimento em diluições de: 1/50 (similar a 0,1 % de acidez) e 1/2 (2,5% de acidez), respectivamente. Esses autores apontam que os

microorganismos sofrem comprometimento significativo após a adição de ACV, o que justifica a restrição do crescimento por danificar a integridade celular, as proteínas estruturais e metabólicas e o material celular desses e indicam que o ACV pode ter múltiplos efeitos antimicrobianos sobre *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

Gheflati *et al.* (2019) avaliou os efeitos do consumo do vinagre de maçã na saúde de 70 pacientes com *diabetes mellitus tipo 2* (DM2) em ensaio clínico controlado randomizado. Visando alcançar tal objetivo, os pesquisadores alocaram aleatoriamente 35 pacientes no grupo de intervenção e os outros 35 pacientes no grupo controle. Os pacientes pertencentes ao grupo de intervenção foram orientados a consumir um copo de água contendo duas colheres de vinagre de maçã (cerca de 10 mL de vinagre), antes do almoço e do jantar, totalizando 20 mL/ dia, durante 8 semanas. A fim de avaliar os efeitos do consumo de vinagre de maçã, os pesquisadores colheram cerca de 10 mL de sangue dos pacientes antes do estudo e após 8 semanas, o que permitiu determinar a glicemia em jejum e insulina sérica. Os pesquisadores demonstraram que pacientes que consumiram vinagre de maçã apresentaram redução significativa de glicemia em jejum, que variou de $138,62 \pm 31,82$ (no início do estudo) a $128,46 \pm 29,74$ (após oito semanas). Verificando-se ainda que os níveis de glicemia em jejum são menores para pacientes submetidos a consumo de vinagre de maçã, após 8 semanas, em comparação a pacientes alocados no grupo controle ($153,70 \pm 52,79$).

Asejeje *et al.* (2020), avaliou o papel protetor do vinagre de maçã no dano oxidativo renal induzido por CCl_4 em ratos da linhagem Wistar. Esses pesquisadores classificaram cerca de 24 animais em quatro grupos, são eles: grupo controle (I) e três grupos experimentais (II, III, IV), com cada grupo apresentando 6 animais. Os animais pertencentes ao grupo controle foram tratados apenas com água destilada durante todo o estudo, enquanto que os animais pertencentes aos grupos II e III foram submetidos a dano oxidativo renal através de uma única injeção intraperitoneal de CCl_4 . O grupo III e IV foram tratados com vinagre de maçã (APCV), enquanto que o grupo II foi deixado sem tratamento. Por meio da presente pesquisa os autores apontam que o uso de CCl_4 ocasionou danos renais, no entanto o tratamento com APCV reverteu significativamente as alterações para níveis próximos do normal, o que pode

indicar que o vinagre de maçã possui potencial terapêutico na proteção contra danos renais e suas disfunções associadas.

O estudo conduzido por Akkuş, Akçay e Yalçın (2022) teve como objetivo investigar os efeitos antifúngicos e larvicidas do vinagre de madeira derivado de carvalho como agente de proteção da madeira contra fungos e insetos. Para alcançar esse objetivo, as amostras de madeira foram impregnadas com concentrações distintas de vinagre de madeira (1,5%, 3% e 6%). Posteriormente, foram realizados testes de resistência à deterioração por fungos brancos (*T. versicolor*) e marrons (*S. lacrymans*) nas amostras impregnadas, bem como testes com larvas de *Hylotrupes bajulus* para avaliar os efeitos larvicidas do vinagre de madeira. Adicionalmente, foram conduzidos testes de crescimento de fungos nas amostras impregnadas, a fim de avaliar a capacidade do vinagre de madeira em inibir o crescimento de fungos como *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* e *Penicillium brevicompactum*. A análise dos resultados evidenciou que o vinagre de madeira reduziu substancialmente a perda de peso das amostras ocasionada pelos fungos brancos e marrons, demonstrando notáveis propriedades antifúngicas. Além disso, o vinagre de madeira revelou um notável potencial larvicida contra *Hylotrupes bajulus*, resultando em elevada mortalidade das larvas. Adicionalmente, exibiu marcante atividade inibitória contra o crescimento de fungos como *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* e *Penicillium brevicompactum*.

2.4 ANÁLISE DE ALIMENTOS

Os alimentos são essencialmente misturas complexas de substâncias químicas (Taylor; Baumert, 2011). De acordo com Hanekamp e Schwitters (2010), a mistura de substâncias químicas que a comida representa pode ser dividida em quatro categorias básicas: nutrientes; componentes naturais não nutritivos (incluindo antinutritivos e toxinas naturais); contaminantes produzidos pelo homem; e aditivos. Os nutrientes são substâncias obtidas dos alimentos e utilizadas pelo organismo para fornecer energia e materiais estruturais, além de atuarem como agentes reguladores para promover o crescimento, a manutenção e a reparação; além disso, podem reduzir os riscos de algumas doenças (Debruyne; Pinna, 2022). A literatura cita seis classes de nutrientes presentes nos alimentos, que são: água, carboidratos, lipídeos, minerais,

proteínas e vitaminas (Boyle, 2022; Driskell, 2000; Smolin; Grosvenor, 2019), conforme apresentado na **Figura 4**.

Figura 4 – As seis classes de nutrientes presentes em alimentos¹



Fonte: Insel *et al.* (2022)

Os nutrientes podem ser categorizados de acordo com a quantidade necessária em nossa alimentação. Os macronutrientes, como água, carboidratos, proteínas e lipídios, são denominados assim devido à necessidade deles em quantidades consideráveis, geralmente mais de um grama por dia. Por outro lado, as vitaminas e os minerais, conhecidos como micronutrientes, requerem apenas quantidades muito pequenas, frequentemente na ordem de microgramas ou miligramas diários (McGuire; Beerman, 2022). Os minerais são divididos em duas categorias gerais, que são: macrominerais e microminerais (Stanfield; Hui, 2009). Os macrominerais incluem: Ca, Mg, Na, K, P; enquanto que os microminerais são compostos por Cu, Fe, Mn, Zn (Mandha; Raes, 2023).

Esses podem ser classificados ainda em minerais essenciais e não essenciais. Os minerais essenciais desempenham diversas funções no corpo, conforme demonstrado no **Quadro 2**, e se não forem fornecidos em quantidades suficientes, as deficiências se manifestam por meio de sintomas específicos e inespecíficos; enquanto que minerais não essenciais são aqueles cujas funções biológicas não são conhecidas ou são elementos tóxicos que podem ser ingeridos por meio de alimentos, água ou absorvidos pelo ar (Belitz; Grosch, 1999; Drago, 2017).

¹ Figura 4 imagem meramente ilustrativa

Quadro 2 – Funções metabólicas de macrominerais e microminerais

Minerais	Função metabólica
Ca	Componente de ossos e dentes. Envolvido na coagulação sanguínea e na comunicação intracelular.
Co	Parte da vitamina cianocobalamina
Cr	Metabolismo de carboidratos, auxilia a manter níveis normais de glicose no sangue.
Cu	Síntese de colágeno e elastina. Age como antioxidante e na formação de hemoglobina, células vermelhas e enzimas.
Fe	Transporte de oxigênio, transporte de elétrons. Atua no metabolismo celular (como parte de enzimas citocromo). Previne anemia microcítica hipocrômica.
K	Mantém o volume de fluidos dentro/fora das células e, assim, a função celular normal. Atua para atenuar o aumento da pressão sanguínea em resposta ao excesso de ingestão de sódio. Diminui os marcadores de renovação óssea e a recorrência de cálculos renais.
Mg	Componente de ossos e dentes. Atua no relaxamento muscular e no controle do equilíbrio ácido-base, da água e do balanço de sais
Mn	Não está claro, algum efeito antioxidante. Está envolvido na formação do osso.
Na	Mantém o volume de fluidos fora das células e, portanto, a função celular normal. Atua na contração muscular
Ni	Não há uma função biológica clara em seres humanos. Pode atuar como cofator de metaloenzimas e facilitar a absorção ou o metabolismo do ferro em microrganismos.
Zn	Síntese de proteínas, controle da diferenciação, função do sistema imunológico, atua em muitas enzimas envolvidas no metabolismo de macronutrientes. Envolvido na maturação sexual. Necessário para a sensação de sabor normal

Fonte: Adaptado de Quintaes e Diez-Garcia (2015)

Conforme mencionado anteriormente, vários autores têm destacado que a exposição aos elementos potencialmente tóxicos (PTEs) decorre da contaminação da água e dos alimentos por essas substâncias (Pirhadi *et al.*, 2022; Khaneghah *et al.*, 2020). Os PTEs são poluentes perigosos, uma vez que são resistentes e não degradáveis (Altıkulaç; Turhan, 2023). Eles são definidos como elementos químicos, incluindo metais e não metais (Xiong *et al.*, 2019), que podem interferir de diversas maneiras nos sistemas biológicos, induzindo diversos efeitos tóxicos, que podem ser locais, sistêmicos, agudos ou crônicos (Capasso; Loizzo; Caroli, 2012).

O arsênio pode afetar diversos sistemas do corpo, incluindo o tegumentar (pele e seus anexos), nervoso, respiratório, cardiovascular, imunológico, endócrino, hematopoiético, renal, sistema reprodutivo e o desenvolvimento humano (Abdul *et al.*, 2015). Por sua vez, o cádmio pode levar a uma série de problemas, como carcinogenicidade, problemas gastrointestinais agudos (tais como vômitos e diarreia), danos intestinais, como necrose tubular e insuficiência renal, danos pulmonares devido à inalação e problemas ósseos, como a osteoporose (Godt *et al.*, 2006). Já o mercúrio, mesmo em níveis baixos pode afetar o sistema nervoso do feto e da criança, bem como de indivíduos adultos, além de impactar o sistema renal, reprodutivo, imunológico, cardiovascular, atividade motora e o genoma (Zahir *et al.*, 2005). A exposição ao chumbo pode desencadear uma série de distúrbios em diferentes sistemas do corpo, incluindo distúrbios neurológicos, e pode afetar o desenvolvimento, aumentando o risco de parto prematuro e impactando o crescimento e o desenvolvimento cognitivo em crianças. Também interfere na síntese de hemoglobina, levando à anemia, enfraquece o sistema imunológico e pode causar disfunção renal em níveis elevados de exposição (Gidlow, 2015).

De acordo com Quintaes e Diez-Garcia (2015), ainda que um mineral seja considerado como essencial para o funcionamento do organismo, macrominerais e minerais podem apresentar toxicidade em concentrações superiores as exigidas para suas funções biológicas. Similarmente Hartwig e Jahnke (2017), apontam que os efeitos tóxicos de metais e metaloides nos alimentos estão frequentemente associados a elementos não essenciais, a exemplo de arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio, mas também destacam que pode surgir de elementos essenciais como cobre, ferro e zinco.

Considerando os efeitos causados pela intoxicação por metais, é importante conhecer a composição mineral dos alimentos. Dessa forma, diversos trabalhos publicados recentemente relatam o desenvolvimento de métodos para a análise de alimentos quanto aos níveis de macro, micro e elementos potencialmente tóxicos (PTEs), conforme demonstrado no **Quadro 3**.

Quadro 3 – Métodos analíticos para determinação de macro, micro e elementos potencialmente tóxicos em alimentos (PTEs)

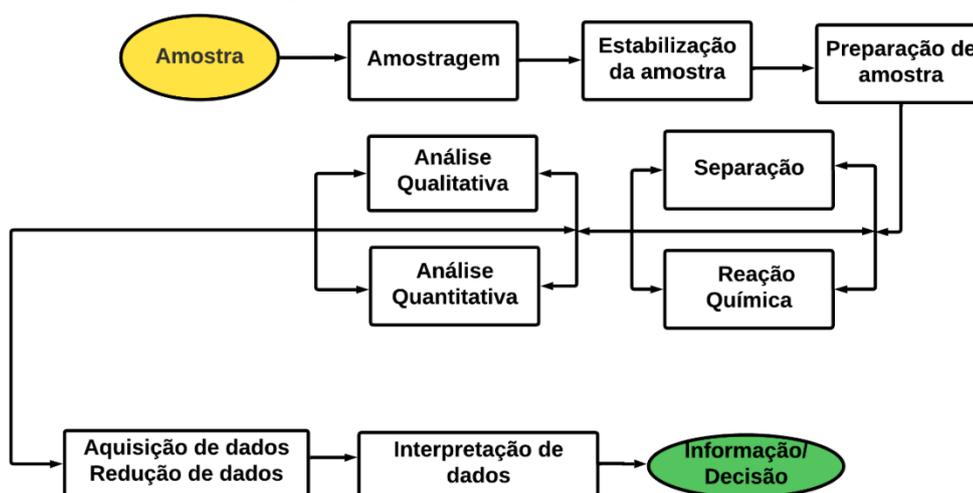
Elementos	Matriz	Preparo da amostra	Técnicas de determinação	Referência
Al, Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Zn	Leite e derivados	Decomposição a seco, decomposição úmida, decomposição por micro-ondas	ICP OES	Bakircioglu <i>et al.</i> (2018)
Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Sb, Se, Si, Sn, Sr, V e Zn	Chocolate amargo	Decomposição assistida por micro-ondas	ICP OES	Mrmošanin <i>et al.</i> (2018)
Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, Se, Ti, V, Zn,	Frutas Cítricas	Decomposição assistida por micro-ondas	ICP OES/ ICP- MS	Hong <i>et al.</i> (2018)
Al, As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, Sr, V, Zn	Amendoim	Decomposição assistida por micro-ondas	ICP-MS	Chen <i>et al.</i> (2022)
As, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Zn	Alga, frango, mexilhões peixe, arroz	Decomposição assistida por micro-ondas	ICP-MS	Ferreira <i>et al.</i> (2023)
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P e Zn	Sucos de Cajuína	Extração assistida por ultrassom (UAE)	ICP OES	Coelho <i>et al.</i> (2023)

Fonte: A autora (2024)

A composição elementar dos alimentos desempenha um papel significativo tanto para os consumidores quanto para os profissionais de saúde, e as regulamentações em relação à rotulagem de produtos alimentares enfatizaram a importância desse critério (Korn *et al.*, 2008). Assim como em outros processos

analíticos, a análise química de alimentos envolve uma série de etapas, conforme demonstrado na **Figura 5**, as quais são igualmente relevantes e com um impacto profundo na validade dos dados gerados. Inicialmente, tudo pode ser visto como uma "amostra" - seja o sangue de um atleta, alguns mililitros de uma solução aquosa que pode (ou não) conter íons cianeto tóxicos, ou um pedaço de rocha supostamente contendo terras raras preciosas (Ritgen, 2023).

Figura 5 – Etapas do processo analítico



Fonte: Ramos (2020)

A amostragem é uma parte relevante de cada análise química e a confiabilidade dessa análise não pode ser assegurada a menos que seja exercida apropriação na amostragem (Malhotra, 2023). Além disso, corresponde ao processo de coleta de uma pequena porção de um material cuja composição é representativa do todo do qual ela foi retirada (Skoog *et al.*, 2006). Uma amostra representativa é geralmente considerada como uma amostra resultante de um plano de amostragem que se espera que reflita adequadamente as propriedades de interesse da população-mãe (Evans; Foulkes, 2019). A estabilidade dos analitos em uma amostra é uma questão importante, dado que as amostras ambientais naturais geralmente não são analisadas imediatamente após a coleta, e o armazenamento a longo prazo pode resultar em alterações significativas nas espécies químicas (Eljarrat, 2012).

O objetivo da etapa de preparação de amostra, conforme Pawliszyn (2010), é isolar os componentes de interesse de uma matriz de amostra, uma vez que a maioria dos instrumentos analíticos não consegue analisar diretamente a amostra. Desse modo, métodos analíticos, como por exemplo espectrometria de absorção atômica

(AAS), Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES), Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS), entre outros, produziram resultados equivocados na determinação de elementos em amostras complexas. Por isso é imprescindível recorrer a métodos de decomposição confiáveis, uma vez que a solubilização dos analitos e a remoção de moléculas interferentes são essenciais para análises precisas (Begerow; Dunemann, 1997).

As principais preocupações na seleção dos métodos de preparação de amostras para análise elementar são: o método analítico a ser utilizado, a faixa de concentração do analito e o tipo de matriz na qual o analito está presente (Kebbekus, 2003). Similarmente Arruda e Santelli (1997), propõe que a maneira de ser decompor uma amostra para a análise depende do método de análise, bem como da sua concentração e da natureza da amostra, mas acrescentam que se deve considerar o analito que se quer determinar e a precisão e exatidão desejadas.

Dentre as abordagens de preparação de amostras amplamente utilizadas na análise de alimentos para a determinação de metais usando métodos espectroanalíticos, incluem-se a queima a seco, frequentemente com o uso de um agente auxiliar para incineração, e a decomposição ácida, preferencialmente com o auxílio da radiação micro-ondas (Nunes *et al.*, 2011; Korn *et al.*, 2008).

2.5 DECOMPOSIÇÃO ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS EM ALIMENTOS

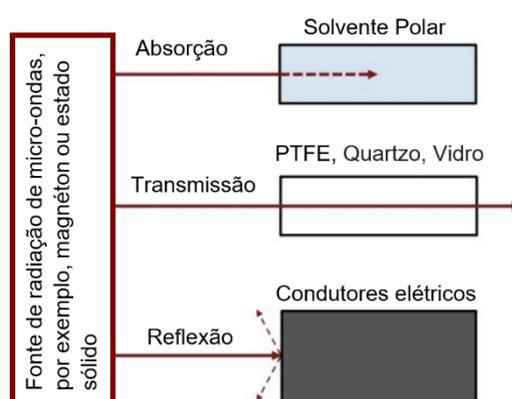
A energia de micro-ondas é uma radiação eletromagnética não ionizante com frequência na faixa de 300 MHz a 300 GHz (Haque, 1999), estando localizada no espectro eletromagnético entre a radiação infravermelha e as ondas de rádio (Jimenez *et al.*, 2018). O aquecimento por micro-ondas é conhecido desde o início da década de 1940 e tem sido utilizado com sucesso na indústria de alimentos. O aquecimento ocorre devido a capacidade dos materiais de absorver energia de micro-ondas e convertê-la em calor (Chandrasekaran; Ramanathan; Basak, 2013; Jampaiah *et al.*, 2020).

A absorção de radiação micro-ondas por uma substância é determinada pelas suas características dielétricas (Swamy; Muthukumarappan, 2021). Existem dois mecanismos principais pelos quais o calor é gerado em materiais dielétricos:

polarização iônica e rotação de dipolos (James; James, 2024). A polarização iônica refere-se ao processo no qual íons em uma solução são influenciados por um campo elétrico aplicado (Smith, 2011); enquanto a rotação de dipolos envolve o alinhamento das moléculas na amostra, seja devido a momentos de dipolo permanentes ou momentos de dipolo induzidos, sob a influência do campo elétrico. À medida que a intensidade do campo elétrico das micro-ondas aumenta, as moléculas se tornam polarizadas, e à medida que a intensidade do campo diminui, a desordem térmica é novamente estabelecida (Castro; Priego-Capote, 2012).

Com base na sua interação com o campo de micro-ondas, os materiais podem ser categorizados em três grupos. Os absorventes, que são materiais de alta perda dielétrica, absorvem energia de micro-ondas em certo grau, dependendo do valor do fator de perda dielétrica, e a convertem em calor. Os materiais transparentes, por sua vez, apresentam baixa perda dielétrica, o que significa que as micro-ondas não são refletidas nem absorvidas, mas sim transmitidas pelo material com pouca atenuação. Por fim, os materiais opacos que são condutores elétricos, nos quais as micro-ondas são refletidas e não conseguem penetrar no material (Clark; Folz; West, 2000). A **Figura 6** ilustra as interações de diferentes substâncias com a radiação micro-ondas.

Figura 6 – Interação de diferentes substâncias com radiação micro-ondas: materiais absorventes (por exemplo, solventes polares), materiais isolantes (por exemplo, PTFE, quartzo, vidro) e condutores elétricos (por exemplo, metais)

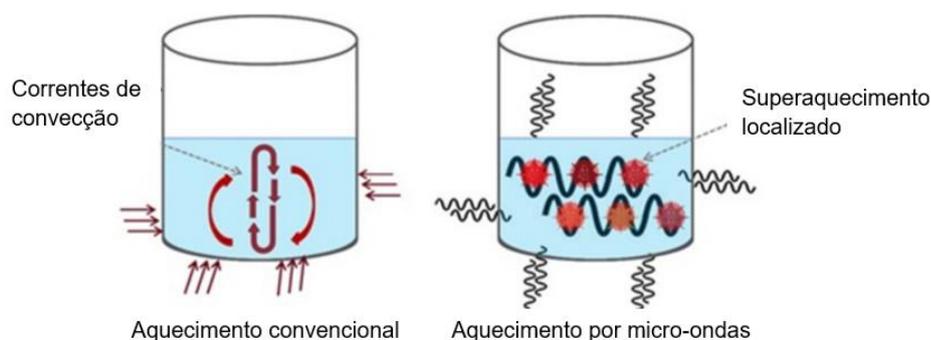


Fonte: Wojnarowicz, Chudoba, Lojkowski (2020)

Em contraste com o aquecimento convencional, no qual o fluxo de calor ocorre da superfície para o interior, o aquecimento por micro-ondas ocorre por meio da transferência direta de energia de micro-ondas para o interior do material em

aquecimento (Sun, 2016). O aquecimento convencional é um método comparativamente lento e ineficiente para transferir energia para o sistema, uma vez que depende das correntes de convecção e da condutividade térmica dos materiais, geralmente permitindo que a temperatura do recipiente de reação seja mais elevada do que a temperatura da mistura de reação (Kappe; Dallinger; Murphee, 2008). Algumas fontes de aquecimento convencional em decomposição úmida incluem o bico de Bunsen, chapa de aquecimento, banho de areia e bloco de aquecimento (Matusiewicz, 2016). Na **Figura 7**, apresenta-se a representação esquemática de ambos os mecanismos de aquecimento.

Figura 7 – Representação esquemática de aquecimento convencional e por radiação micro-ondas



Fonte: Gude *et al.* (2013)

As vantagens distintas do aquecimento por radiação micro-ondas são as seguintes: aquecimento interno, sendo um meio de aquecimento mais eficaz e eficiente em comparação com o aquecimento convencional, que aquece as paredes do reator por meio da condução ou convecção; aquecimento seletivo; e economia de energia. Dessa forma, a absorção de micro-ondas pode aquecer compostos-alvo sem aquecer o ambiente circundante, resultando em baixo impacto ambiental. No entanto, o aquecimento não é uniforme, uma vez que é impossível aquecer uma amostra de forma uniforme por meio do aquecimento interno e seletivo (Horikoshi *et al.*, 2017).

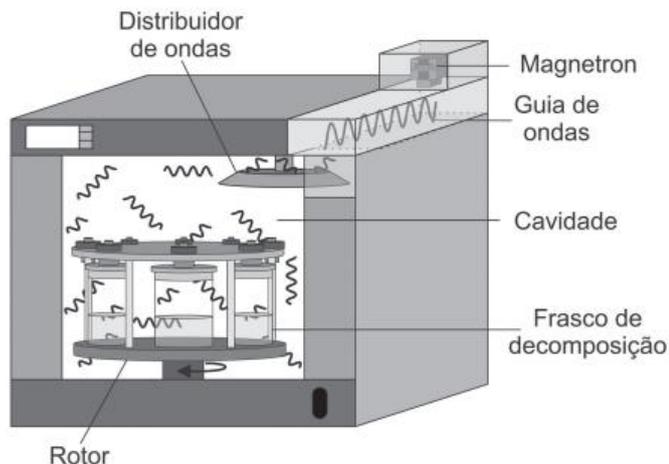
Acar, Tunçeli e Türker (2016) utilizaram a decomposição úmida com uma placa de aquecimento e a decomposição por micro-ondas para avaliar os níveis de Cu, Fe e Zn em amostras de trigo, farinha de arroz, farinha de milho, amidos de milho e batata, bem como pekmez (espécie de melaço ou geleia de coloração castanha muito escura), utilizando FAAS. A presente pesquisa constatou que a decomposição por radiação micro-ondas foi mais eficiente e rápida em comparação com a decomposição via aquecimento condutivo. Além disso, verificou-se que a recuperação dos analitos

foi melhor e houve menos contaminação ao usar radiação micro-ondas, o que permitiu considerar a técnica eficaz para a determinação de Cu, Fe e Zn em amostras de alimentos. Da mesma forma, Korn *et al.* (2013) compararam dois procedimentos de decomposição para decompor amostras de própolis, sendo eles: aquecimento convencional usando um bloco digestor e decomposição assistida por radiação micro-ondas para a determinação de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni e Zn por ICP OES. Ambas as técnicas apresentaram eficiência de decomposição semelhante, com vantagem para a decomposição por radiação de micro-ondas, que apresentou teores de carbono residual menores do que aqueles apresentados pelo aquecimento convencional. Além disso, a acidez residual foi menor no aquecimento convencional, o que foi atribuído à evaporação dos vapores ácidos em recipientes abertos no procedimento convencional.

A decomposição assistida por radiação micro-ondas apresenta as seguintes vantagens: redução do tempo necessário para a preparação da amostra, redução da quantidade de ácidos utilizados na decomposição, possibilidade de controlar pressão e temperatura, automação e flexibilidade no preparo das amostras, bem como o aquecimento direcionado, permitindo taxas de aquecimento mais rápidas e tempos de processamento mais curtos, e a capacidade de aquecimento seletivo com perdas mínimas de calor (Alegria *et al.*, 2015; Bakircioglu *et al.* 2011; Mello; Barin; Guarnieri, 2014). No entanto, é importante notar que uma desvantagem desse método é o número limitado de amostras que podem ser processadas de uma só vez, acarretando em maior intervalo de tempo para realizar as digestões das amostras.

Os sistemas usados para o aquecimento por radiação de micro-ondas podem ser classificados em monomodo, multimodo e multimodo direcionado. Os fornos de micro-ondas multimodo (com cavidade) para fins analíticos possuem fundamentalmente seis componentes: magnetron, guia de ondas, distribuidor de ondas, cavidade, frasco (s) de decomposição e rotor (Moraes *et al.*, 2019). Na **Figura 8**, apresenta-se uma representação esquemática de um forno multimodo.

Figura 8 – Representação esquemática de um forno multimodo, mostrando frascos de decomposição em um rotor, sob ação de radiação micro-ondas espalhada por um refletor rotatório.



Fonte: Moraes *et al.* (2019)

A geração de radiação eletromagnética resulta da aceleração de cargas. Portanto, para atingir a potência e a frequência necessárias para o aquecimento por micro-ondas, a maioria das fontes de micro-ondas são tubos de vácuo. Alguns tubos de vácuo conhecidos usados para o aquecimento por micro-ondas incluem: magnétrons, tubos de ondas viajantes (TWTs) e cíclotrons. Os magnétrons usam estruturas ressonantes para gerar o campo eletromagnético e, portanto, são capazes apenas de gerar um campo eletromagnético de frequência fixa (Thostenson; Chou, 1999).

O guia de ondas é definido como um invólucro retangular metálico que coleta a energia de micro-ondas gerada pelo magnétron e a transfere através da interferência construtiva de ondas para a cavidade de micro-ondas com perda mínima (King; Barclay, 2003).

O distribuidor de ondas, também chamado de agitador, pode ser definido como um distribuidor em forma de leque que gira e espalha a energia transmitida por toda a cavidade do forno. O agitador perturba os padrões de ondas estacionárias, permitindo, assim, uma melhor distribuição de energia na cavidade do forno. Isso é particularmente importante ao aquecer materiais não homogêneos, como alimentos (Singh; Heldman, 2013).

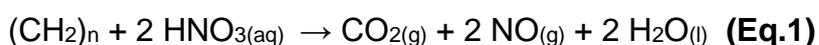
A cavidade de micro-ondas é onde os recipientes e as amostras são introduzidos e onde ocorrem os processos de aquecimento e a decomposição da amostra. A distribuição da radiação na cavidade é geralmente uniforme, mas isso

resulta em áreas de maior concentração de irradiação. Em alguns fornos, foi observado que as regiões próximas ao fundo recebem uma quantidade maior de irradiação em comparação com as áreas mais próximas do centro e da porta (Ojeda e Rojas, 2019). O rotor, cuja função é segurar as amostras, está equipado com dispositivos para o controle da medição de temperatura e/ou pressão em vasos individuais ou de referência (Fecher; Schlemmer; Schoeberl, 2014).

Em fornos comerciais, a decomposição assistida por micro-ondas de amostras de alimentos tem sido realizada usando ácido nítrico e peróxido de hidrogênio como principais reagentes digestores para amostras de tomate (Bressy *et al.*, 2013); vinagre (Fu *et al.*, 2013; Lin *et al.*, 2014); leite (Lee *et al.*, 2022); arroz (Da Silva *et al.*, 2020; Tarantino *et al.*, 2017) e muitas outras.

O ácido nítrico concentrado é frequentemente utilizado para a decomposição de uma variabilidade de amostras, quando quente é um agente oxidante forte usado para digerir amostras orgânicas, sendo a maioria dos analitos solúveis na decomposição final (Müller *et al.*, 2014). A principal vantagem do ácido nítrico frente a outros reagentes oxidantes, é por que não há chance de formar sal insolúvel, como pode acontecer com HCl e H₂SO₄. O peróxido de hidrogênio é utilizado para potencializar o poder oxidante do ácido nítrico (Kebbekus, 2003).

Quando um agente oxidante entra em contato com a matéria orgânica, uma reação que ocorre naturalmente, liberando calor, é desencadeada. Nas condições ideais, a matéria orgânica é completamente transformada em dióxido de carbono e água, como ilustrado na **Equação (1)**. Embora a oxidação da matéria orgânica seja uma reação que acontece por si só do ponto de vista termodinâmico, a velocidade desse processo geralmente é bastante lenta, dependendo da natureza da matéria orgânica e das condições em que ocorre. No entanto, é viável acelerar essa reação aumentando a superfície da amostra (por exemplo, triturando a amostra), aplicando temperaturas elevadas ou aumentando a concentração do agente oxidante (Bizzi; Flores; Mesko, 2017).

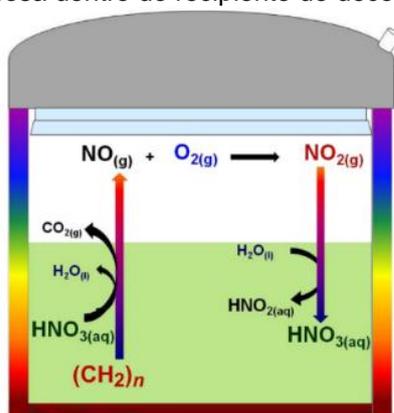


O uso de soluções concentradas de ácido nítrico leva a uma decomposição eficiente e a baixos teores de carbono residual em amostras orgânicas (Bizzi *et al.*, 2011a); no entanto, a alta acidez residual (AR) pode afetar os dispositivos de

nebulização e causar interferências físicas nas medições baseadas em ICP (Lee *et al.*, 2022). Nesse sentido, soluções diluídas de ácido nítrico surgem como alternativas no preparo de amostras usando decomposição assistida por radiação de micro-ondas (Gonzalez *et al.*, 2009). As principais vantagens do uso de ácidos diluídos são: métodos mais amigáveis ambientalmente, redução de custos, produção de menores quantidades de resíduos e redução dos valores de branco (Barbosa *et al.*, 2015).

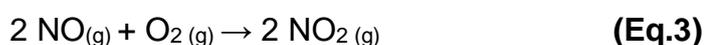
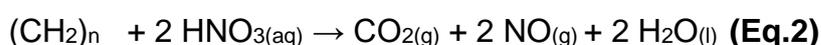
A ocorrência da decomposição sem perda de sua eficiência é explicada devido a uma série de reações que ocorrem durante a oxidação da matéria orgânica, as quais resultam na regeneração *in situ* do HNO₃ (Moraes *et al.*, 2019), conforme representado na **Figura 9**.

Figura 9 – Representação das reações de regeneração do ácido nítrico promovidas pelo oxigênio em fase gasosa dentro do recipiente de decomposição



Fonte: Bizzi, Nóbrega e Barin (2014)

As reações de regeneração de HNO₃ dependem da presença de matéria orgânica e sua oxidação pelo ácido nítrico, resultando na formação de NO_(g), de acordo com a **Equação (2)**; e da presença de oxigênio na fase gasosa para promover a oxidação de NO_(g) para NO_{2(g)}, em concordância com a **Equação (3)**. O NO₂ formado é reabsorvido na fase líquida, isso é seguido por uma reação de desproporcionamento e o NO_{2(l)} é convertido em NO₃⁻ e NO₂⁻ como representado na **Equação (4)** e esse ciclo se repete até que não haja mais O₂ na fase gasosa dos recipientes fechados, de modo que o HNO₃ reiniciará o ciclo de oxidação da matéria orgânica **Equação (2)** (Bizzi, Nóbrega e Barin, 2014; Castro *et al.*, 2009; Trevizan *et al.*, 2007).





Nesse sentido, como apresentado por Yáñez *et al.* (2016), o peróxido de hidrogênio potencializa a ação do ácido nítrico, não apenas como oxidante direto da matéria orgânica, mas também como fonte de O₂ para regenerar o NO₂. Outro fator considerado importante para a regeneração do HNO₃ é o gradiente de temperatura, pois, de acordo com Castro *et al.* (2009), os processos de decomposição são mais eficazes em recipientes fechados aquecidos por radiação micro-ondas, em consequência do maior volume desses frascos e do gradiente de temperatura que ocorre durante a primeira etapa do processo de decomposição.

Diversos trabalhos recentes publicados na literatura fizeram uso de soluções diluídas de ácido nítrico em combinação com peróxido de hidrogênio na decomposição assistida por radiação micro-ondas de amostras de alimentos. Barbosa *et al.* (2015) fizeram uso de 2,1 mol L⁻¹ em combinação com 1 mL de H₂O₂ a 30% na decomposição de amostras de produtos comestíveis à base de soja. Da Silva *et al.* (2020) utilizaram soluções 1 mol L⁻¹ em combinação com 2,5 mL de H₂O₂ a 30% na decomposição de amostras de arroz. Recentemente, Lee *et al.* (2022) utilizaram HNO₃ a 0,1 mol L⁻¹ em combinação com 2 mL de H₂O₂ a 30% na decomposição de amostras de leite.

2.6 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS

Sabe-se que, idealmente, a melhor condição de decomposição deve resultar na completa decomposição do material orgânico, fazendo uso da menor quantidade possível de ácido nítrico, este sendo o mais diluído possível. Um dos objetivos é evitar efeitos prejudiciais em peças do instrumento ICP OES, como, por exemplo, o nebulizador, a câmara de nebulização e a tocha (Castro *et al.*, 2009). Além disso, espera-se uma baixa acidez residual e baixo teor de carbono residual (RCC). Um procedimento ideal de decomposição para amostras orgânicas deve ser estável e apresentar baixa concentração de sólidos dissolvidos (Nóbrega *et al.*, 2012).

A AR pode ser determinada por titulação ácido-base. Geralmente, ela é expressa como a porcentagem de ácido nítrico que permaneceu na decomposição final em comparação com a concentração inicial de ácido usado para a decomposição da amostra (% v/v). No entanto, também pode ser expressa em concentração em mol

L⁻¹ (Barela *et al.*, 2017; Bizzi; Nóbrega; Barin, 2014; Lee *et al.*, 2022). Nessas titulações, são utilizadas soluções padronizadas de NaOH 0,1 mol L⁻¹ ou KOH para determinar a acidez residual das soluções finais (Barbosa *et al.*, 2015; Bizzi *et al.*, 2014).

O RCC pode ser definido como a fração do carbono original que permanece no resíduo após a decomposição da amostra (Würfels; Jackwerth; Stoepler, 1989). O RCC pode ser calculado por meio dos teores de carbono original da amostra (C_o) e o remanescente após a decomposição (C_R), conforme demonstrado na **Equação (6)** (Rocha; Nóbrega; Kamogawa, 2019).

$$\text{RCC} = (C_R / C_o) \times 100 \quad \text{(Eq. 6)}$$

Diversas alternativas estão disponíveis para a determinação do RCC, mas pode-se destacar duas: ICP OES e métodos espectrofotométricos (Krushevskaja *et al.*, 1992; Gouveia *et al.*, 2001; Da Silva *et al.*, 2020). Krushevskaja *et al.* (1992) examinaram procedimentos para a determinação de RCC em amostras de leite previamente digeridas por radiação micro-ondas. O método espectrofotométrico para determinação de RCC baseia-se na mudança de cor da solução como consequência da oxidação do carbono com Cr^{VI} em H₂SO₄. Experimentalmente, os pesquisadores observaram que quando uma fase orgânica dispersa homogênea está presente, o método espectrofotométrico e o ICP OES produzem os mesmos resultados; no entanto, quando há glóbulos de gordura, o método espectrofotométrico produz resultados mais elevados do que aqueles determinados por ICP OES.

Gouveia *et al.* (2001) investigaram a determinação do RCC em amostras biológicas digeridas em ácido, utilizando a decomposição assistida por radiação micro-ondas para posterior análise por ICP OES operado com configuração de visualização axial e radial. Os resultados foram comparados com aqueles produzidos por um analisador de carbono orgânico total (TOC). Ambas as configurações adotadas apresentaram resultados concordantes com o analisador TOC, em um comprimento de onda de 193,025 nm, o que foi demonstrado por meio da realização do teste t, com um nível de confiança de 95% a 99%. No entanto, a determinação realizada com a visão axial mostrou maior sensibilidade e desvios semelhantes em comparação com a visão radial. O uso do ICP OES para a determinação do RCC em vez do analisador TOC reduziu o tempo de análise e a manipulação da amostra.

Da Silva *et al.* (2020) desenvolveram um método simples e econômico para a quantificação de carbono em soluções, suspensões e amostras sólidas, realizando adaptações no método espectrofotométrico proposto por Krushevskaja *et al.* (1992). Em vez de utilizar 5 mL de H₂SO₄ e 170 mg de K₂Cr₂O₇, os pesquisadores demonstraram que é possível realizar determinações de RCC utilizando 2,5 mL de H₂SO₄ e 75 mg de K₂Cr₂O₇ em cada teste. Isso torna o método econômico e ecologicamente amigável. O método baseia-se na oxidação da matéria orgânica pelo dicromato em meio ácido e aquecimento, monitorando a formação de Cr³⁺, uma vez que teores mais elevados de Cr³⁺ indicam concentrações mais altas de carbono orgânico na amostra. Este método tem sido usado para determinar o RCC em amostras de batata doce (Andrade, 2019), bem como em amostras de denim (Barbosa, 2022).

Em análises rotineiras, a eficiência da decomposição também pode ser avaliada apenas pela inspeção visual das digestões finais, o que pode fornecer informações imprecisas. É evidente que a obtenção de soluções claras sem partículas em suspensão indica uma oxidação bem-sucedida da matéria orgânica; no entanto, alguns compostos orgânicos podem ser parcialmente oxidados, permanecendo dissolvidos sem necessariamente serem completamente digeridos. Portanto, essa abordagem apresenta como vantagem a obtenção de informações rápidas, porém incompletas, sobre a decomposição da matéria orgânica (Bizzi; Flores; Mesko, 2017).

Bizzi *et al.* (2011b) desenvolveram um procedimento usando soluções de ácido nítrico diluído para decomposição de amostras de leite baseado em recipientes pressurizados com oxigênio. A eficiência de decomposição foi avaliada através do conteúdo de carbono e os analitos (Ca, Cd, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Pb e Zn) foram determinados por ICP OES e Espectrometria de Massa com Plasma Induzido Acoplada à Geração de Vapor Químico (CVG-ICP-MS). Foi possível digerir 500 mg de leite em pó com 2,0 mol L⁻¹ HNO₃ com pressão de oxigênio variando de 7,5 a 20 bar, com conteúdo de carbono menor que 1700 mg L⁻¹, valor considerável favorável para posteriores análises.

Barbosa *et al.* (2015) otimizaram e validaram um procedimento de decomposição assistida por radiação micro-ondas usando soluções de ácido nítrico diluídas (2,1; 4,2; 7,3 e 14,3 mol L⁻¹) e peróxido de hidrogênio (1 mL) em amostras de soja e seus produtos, onde a eficiência da decomposição foi determinada

principalmente pelo RCC, usando ICP OES na linha de 193,025 nm. Esses autores também avaliaram a RA, determinada por meio de titulação ácido-base usando solução padronizada de hidróxido de sódio ($0,09970 \text{ mol L}^{-1}$). Os RCC variaram de 10 a 18%, enquanto a RA foi de 2,38 a $14,1 \text{ mol L}^{-1}$, de modo que $2,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ e 1 mL de H_2O_2 foram considerados adequados para uma decomposição eficiente.

Lee *et al.* (2022) desenvolveram um novo método de decomposição assistida por radiação micro-ondas em forno de câmara de reação única (SRC) para a decomposição de amostras de leite usando ácido nítrico diluído e peróxido de hidrogênio, visando a determinação elementar de Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sb, Se e Zn por ICP OES e ICP-MS. A eficiência da decomposição foi avaliada e os valores de RCC e de acidez residual foram, respectivamente, 260 mg L^{-1} e $0,06 \text{ mol L}^{-1}$.

Lee, Ye-seul e Lee (2023) desenvolveram um método de preparo de amostras de arroz assistido por radiação micro-ondas usando soluções diluídas de HNO_3 (0,1; 0,5; 1; 2; $4,5 \text{ mol L}^{-1}$) e diferentes volumes de H_2O_2 (1; 2; 3; 4; 5 mL). Os autores investigaram os efeitos da massa de amostra, da temperatura de decomposição, e a concentração e do volume de solvente nos valores de RCC e RA. O procedimento otimizado foi obtido usando 3 mL de HNO_3 (1 mol L^{-1}) e 5 mL de H_2O_2 (30% v/v), de modo que o RCC foi de 355 mg L^{-1} e a RA foi de $0,017 \text{ mol L}^{-1}$.

Como pode ser observado, existem vários trabalhos na literatura que empregam ácido diluído para realizar a decomposição de amostras de diferentes tipos. São procedimentos amigáveis ambientalmente e que trazem diversas vantagens como já mencionado. No entanto, para se obter a melhor condição de decomposição, é necessário avaliar as diferentes condições variando alguns parâmetros como massa de amostra, concentração de ácido, temperatura e tempo de decomposição e outros que forem pertinentes. Para realizar essa avaliação de modo multivariado, algumas ferramentas quimiométricas podem ser empregadas.

2.7 PLANEJAMENTO E OTIMIZAÇÃO DA DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS

A palavra "quimiometria" denota o uso de métodos matemáticos e estatísticos para resolver problemas químicos (Carlson; Carlson, 2020). As especialidades da quimiometria incluem: planejamento experimental, reconhecimento de padrões, análise de componentes principais, análise de sinais multivariados, calibração multivariada, métodos estatísticos, processamento digital de sinais e séries temporais, métodos multiway (Brereton, 2018).

O planejamento de experimentos (DOE) refere-se ao processo de planejar, projetar e analisar o experimento para que conclusões válidas e objetivas possam ser tiradas de forma eficaz e eficiente (Antony, 2023). As principais vantagens do planejamento de experimentos são: redução do número de experimentos ou repetições e melhoria da qualidade das informações obtidas a partir dos resultados, o que implica em menos tempo e custo final; análise simultânea dos fatores; o erro experimental pode ser calculado e analisado; o processo depende mais da competência do profissional em sua área de especialização do que de seu conhecimento em estatística (Rodrigues; Lemma, 2014).

A essência de um bom planejamento consiste em projetar um experimento de forma que ele seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação que procuramos (Barros Neto; Scarminio; Bruns, 2010). Similarmente Torrijos e Phan-Tan-Luuy (2020), apontam que a seleção do planejamento de experimentos deve adotar uma abordagem sistemática que deve considerar em primeiro plano as informações desejadas, bem como também os recursos disponíveis, tempo e outras restrições para a seleção do planejamento mais adequado para cada problema da vida real.

Um planejamento fatorial completo é definido por todas as combinações possíveis dos fatores e suas configurações, além disso o efeito de todos os fatores e suas interações nos resultados é investigado (Carlson; Carlson, 2020; Das; Dewanjee, 2018). O planejamento fatorial completo tem sido utilizado para otimizar o procedimento de decomposição assistida por radiação micro-ondas usando ácidos diluídos para determinação elementar em diversas amostras de alimentos conforme pode ser observado no **Quadro 4**, que apresenta alguns trabalhos publicados na literatura.

Quadro 4 – Planejamento fatorial na otimização de procedimentos de decomposição assistida por micro-ondas para decomposição de amostras de alimentos

Amostra	Analitos	Técnicas	Fatores	Referência
Feijão	Al, As, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, K, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Se, Sr, Zn	ICP OES	<ul style="list-style-type: none"> •Concentração HNO₃ (2- 6 mol L⁻¹) •Temperatura (170-210°C) •Tempo (12-24 min) 	Santos <i>et al.</i> (2013)
Arroz	Al, As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Se e Zn	ICP OES e ICP-MS	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura (190-210 °C) • Tempo para a etapa final da decomposição (15-25 min) • Concentração de HNO₃ (2-14 mol L⁻¹) 	Tarantino <i>et al.</i> (2017)
Farinha de mandioca, trigo e milho	Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, P, S, Sb, Sr, Zn	ICP OES	<ul style="list-style-type: none"> •Concentração HNO₃ (2-5 mol L⁻¹) • Concentração H₂O₂ (3- 5 % m m⁻¹) 	Correia <i>et al.</i> (2017)
Linhaça e gergelim	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P e Zn	ICP OES	<ul style="list-style-type: none"> • Concentração HNO₃ (2-4 mol L⁻¹) • Volume de H₂O₂ (0-1 mL) • Tempo na última etapa de decomposição (15-25 min) • Temperatura na última etapa de decomposição (180-210°C) 	Souza <i>et al.</i> (2018)
Barras de chocolate	Ba, Ca, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Zn	MIP OES	<ul style="list-style-type: none"> • Concentração HNO₃ (4-10 mol L⁻¹) • Volume H₂O₂ (0-2 mL) • Temperatura do programa de aquecimento (160-210°C) 	Oliveira <i>et al.</i> (2021)
Arroz, Cenoura e Chuchu	Al, Cd, Cr, Cu, Fe K, Na, Pb	ICP OES e fotometria de chama	<ul style="list-style-type: none"> • Volume H₂O₂ (2- 3 mL) • Concentração HNO₃ (0,5- 1,5 mol L⁻¹) 	Serafim <i>et al.</i> (2024)

Fonte: A autora (2024)

Afim de avaliar o efeito das soluções diluídas de HNO_3 na decomposição das amostras de alimentos usando decomposição assistida por radiação micro-ondas diversos trabalhos tem sido propostos (Correia *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2021.; Souza *et al.*, 2018.; Tarantino *et al.*, 2017). Outro fator importante é a massa, como demonstrado anteriormente, a regeneração de HNO_3 depende da presença da matéria orgânica e da presença de oxigênio no meio (Bizzi, Nóbrega e Barin, 2014). Outro fator estudado é a temperatura (Oliveira *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2018; Tarantino *et al.*, 2017). Sabe-se que no processo de decomposição, a temperatura é um parâmetro mais crítico que o tempo de aquecimento, visto que deverá ser alta o suficiente para que toda a massa da amostra seja digerida com eficiência (Rocha, Nóbrega, Kamogawa, 2019).

A técnica de Análise de Componentes Principais (PCA) envolve a decomposição de valores singulares (SVD), na qual a matriz X é separada em duas novas matrizes, conhecidas como T (scores) e P (loadings), sendo um método não supervisionado que correlaciona diferentes variáveis para a avaliação e caracterização dos dados analíticos, identificando tendências e agrupamentos de amostras (Coelho *et al.*, 2023)

2.8 ANÁLISE ELEMENTAR DE AMOSTRAS DE VINAGRES

Ndung'u, Hibdon e Flegal (2004), determinaram os níveis de Pb por ICP-MS e Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GFAAS) em 59 amostras de vinagres diferentes comercializados em lojas de varejo da Califórnia. Dentre as amostras, 52 eram de vinagres balsâmicos, 4 vinagres de vinho, 1 vinagre de maçã, 1 vinagre de alho e 1 vinagre de arroz. Em uma etapa anterior à determinação, as amostras de vinagre balsâmico foram diluídas com água ou foram digeridas com ácido nítrico em um bloco digestor. O procedimento realizado em bloco digestor fez uso de 0,5 a 1,0 g de amostras de vinagre na presença de 10 mL de ácido nítrico (HNO_3) a 67%, como agente oxidante numa temperatura de 50 °C durante 2-3 horas. Posteriormente, a temperatura foi elevada para 90 °C e os materiais foram digeridos até secarem. Os digeridos, após o resfriamento, foram dissolvidos em ácido nítrico 1 M. Outro preparo de amostra empregado foi a decomposição com radiação ultravioleta, na qual foram adicionados 0,5 g de amostras na presença de ácido nítrico

e peróxido de hidrogênio. Com base nas análises, os autores perceberam que determinações diretas de chumbo (realizando previamente apenas a diluição simples aquosa das amostras), podem fornecer medições irreprodutíveis e apresentar baixa concordância entre ICP-MS e GFAAS. Em contrapartida percebeu-se a obtenção de teores de chumbo similares para as técnicas de GFAAS e ICP-MS quando se realizava a decomposição do vinagre com ácido nítrico. Além disso, notou-se que as digestões realizadas em radiação ultravioleta eram mais rápidas e completas em comparação com digestões realizadas em blocos digestores.

Da Silva *et al.*, (2007), elaboraram um método analítico simples, rápido e de baixo custo para determinar os níveis Al, Ba, Ca, Cu, Mg, Mn e Zn usando ICP OES com visão axial em amostras de vinagres comerciais. Foram testados diferentes sistemas de introdução de amostras, dentre eles: um nebulizador de fluxo cruzado combinado com uma câmara de pulverização de caminho duplo (CF-DP) e outro com spray de cone associado a uma câmara de pulverização de ciclone (CS-CC). Inicialmente foi realizada a diluição das amostras comerciais de vinagres de vinho (1:1 v/v) e em seguida, a injeção direta da amostra. O emprego do sistema CS-CC permitiu a determinação de uma média de Mn de $9,3 \text{ mg L}^{-1}$, a qual foi atribuída à adição de ativadores de crescimento durante a fermentação alcoólica. Altas concentrações de potássio (K) e magnésio (Mg) foram detectadas, indicando a autenticidade das matérias-primas empregadas na produção do vinagre, pois são prontamente absorvidas pelas videiras. Os autores acrescentam que ainda que essas concentrações tenham sido elevadas, estas não oferecem riscos a saúde, uma vez que o consumo diário de vinagres é limitado.

Akpinar-bayizit *et al.* (2010), determinaram por ICP OES, as concentrações de elementos principais (Ca, K, Mg, Na e P) e secundários (Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sn e Zn) em 35 amostras de vinagres, dentre os quais, vinagres de vinho, maçã, arroz, ginja e balsâmico. Ainda que não tenha sofrido tratamento prévio de decomposição, as amostras foram diluídas na proporção 1:1 usando ácido nítrico 0,2% (v/v) e centrifugadas durante 20 minutos em 2000 rpm. As concentrações de K foram altas para todos os tipos de vinagre, já as concentrações de metais tóxicos encontradas nos vinagres, a exemplo de Cd, Ni, Sn e Pb, não ofereceram riscos à saúde.

Saei-Dehkordi, Fallah e Ghafari (2012) desenvolveram um método para determinação de Cd, Cu, Pb e Zn por cronopotenciometria de remoção rápida (SCP)

usando um analisador potenciométrico de remoção para determinação dos metais. O preparo das amostras envolveu a filtração de 10 mL de vinagre e a adição desta quantidade na célula de análise do aparelho, seguida de posterior adição de 10 mL de HCl 2 mol L⁻¹, além da adição de 1 mL de solução HgCl₂ 1.000 mg L⁻¹. No caso das determinações de zinco, as amostras foram preparadas usando 10 mL de vinagre microfiltrado, seguido de adição de 10 mL de água ultrapura e 3 mL de solução tampão acetato (pH 4,7), acrescentando-se ainda 1 mL de HgCl₂ (1.000 mg L⁻¹ em solução de banho de HCl 0,05 mol L⁻¹ na célula de análise. O limite de detecção para os quatro metais foi, em ng g⁻¹: 1,2 (Cd); 2,6 (Cu); 2,9 (Pb); 3,4 (Zn). Os resultados obtidos com o SCP foram comparados com a GFAAS como método de referência, o qual demonstrou que não há diferenças significativas entre os valores médios dos resultados obtidos pelos dois métodos para os metais determinados. A faixa de concentração dos analitos para metais tóxicos, em ng g⁻¹ foi: Cd (não detectado); Cu (12,79-1.129); Pb (3,32-253); Zn (26,12-3.725).

Fu *et al.* (2013), elaboraram um método analítico para a determinação simultânea de 20 oligoelementos em amostras de vinagres, incluindo As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, e Zn, e usando a espectrometria de massa acoplada a plasma induzido por campo setorial (SF-ICP-MS). Previamente as amostras foram digeridas usando decomposição assistida por radiação micro-ondas na presença de 5 mL de amostra, 10 mL de HNO₃ e 5 mL de H₂O₂. Os resultados mostraram que LD na faixa de 0,002 - 0,34 µg L⁻¹ com RSD menor que 3 %.

Zheng *et al.* (2014), empregaram a análise de multicomposição e reconhecimento de padrões visando a identificação de dois vinagres protegidos por indicação geográfica, são eles vinagres extras de Shanxi e vinagres de Zhenjiang de outros IGs (vinagre de Kazuo). Foi realizada a decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas usando 2,5 g de amostra de vinagres na presença de 4 mL de HNO₃ e 1 mL de H₂O₂ a 30 % e determinou os níveis de oligoelementos por ICP-MS (As, Ba, Ce, Cd, Co, Cr, La, Mo, Ni, Pb, Sc, Y) e ICP OES (Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn). Os vinagres extras envelhecidos de Shanxi (SXVs), apresentaram teores médios de: Ca (188,3–772,3 mg L⁻¹); Fe (38,5–170 mg L); K (2,061–5,431 mg L); Mn (14,4–52,5); Na (1,693–8,501 mg L⁻¹). O vinagre de Zhenjiang, em contrapartida, apresentaram teores médios baixos para Ca (96,32–296,5 mg L⁻¹) e Fe (17,2–75,3 mg

L⁻¹), em comparação com os vinagres extras de Shanxi, mas também teores similares para K (2,1–5,5 mg L⁻¹); Mn (26,7–58,3 mg L⁻¹); Na (3,32–8,72 mg L⁻¹).

Silva Júnior *et al.* (2015), desenvolveram um método direto para determinação de Hg em amostras de vinagre de álcool comercializadas em supermercados de Salvador, Brasil. O preparo das amostras envolveu a extração por ultrassom realizada em banho ultrassônico na presença de ácido clorídrico e tiourea e a determinação de mercúrio foi realizada por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV-AAS), usando um planejamento fatorial completo de dois níveis e planejamento Box-Behnken para otimizar as condições experimentais para geração de vapor de mercúrio. A otimização das condições permitiu a determinação de mercúrio por calibração externa apresentando respectivamente, limites de detecção e quantificação de 14 e 47 ng L⁻¹. O teste de recuperação variou de 85% a 119%. O método validado foi aplicado em 18 amostras de vinagre de álcool que apresentaram teores de mercúrio de 51,9 a 759,4 ng L⁻¹.

Ozturk *et al.* (2015) avaliaram o conteúdo mineral de vinagres caseiros provenientes de diferentes regiões da Turquia. O preparo da amostra foi realizado em forno de micro-ondas na presença de 5 mL de HNO₃ (65%) e 1 mL de H₂O₂ (30%), enquanto que a análise de minerais foi realizada através de ICP-MS. A análise dos dados revelou teores majoritários de Na, K e Ca. De acordo com os autores, os teores de Cu e Mg variaram de 0,629 a 9,147 mg L⁻¹ e de 0,724 a 1,730 mg L⁻¹, respectivamente. Uma vez que esses teores foram inferiores a 10 mg L⁻¹, limite aprovado pelo código alimentar turco, os resultados obtidos estão em conformidade com a legislação.

Paneque *et al.* (2017), realizaram a diluição de 28 amostras de vinagre de vinho de Denominação de Origem Protegida da Andaluzia, Espanha, usando ácido nítrico 8 % (v/v). As amostras eram do Condado de Huelva (CH), Jerez(J) e Montilla-Moriles (MM). Foram determinados os níveis de Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, Sr por ICP OES, visando caracterizar e discriminar esses produtos de acordo com a sua origem geográfica através da quimiometria. Das 28 amostras, apenas duas excederam o limite máximo de 10 mg L⁻¹ para a concentração de Cu e Zn determinados pela legislação espanhola. Teores de Fe, Mn e outros elementos essenciais apresentaram concentração entre 0,1 a 0,2 mg L⁻¹.

Paktsevanidou, Manousi e Zachariadi (2021), desenvolveram e validaram um método simples e rápido para análise elementar de Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb e, Zn por ICP OES em amostras de vinagres de uva branca, vinho tinto, maçã e balsâmico com análise direta. Somente três amostras de vinagre balsâmico foram diluídas uma vez para evitar a extinção do plasma, devido aos constituintes da matriz. Os coeficientes de correlação para todos os metais foram bons ($r > 0,99$), a faixa linear determinada foi de 0,2 a 20 mg L⁻¹, o erro padrão variou de 0,0007 e 23,3804, o limite de detecção variou entre 0,1 e 22,1 µg L⁻¹ e o limite de quantificação entre 0,3 e 73,0 µg L⁻¹, os valores relativos de recuperação foram de 90,0 a 110,2%, indicando que o método apresentado possui exatidão satisfatória. Ademais as concentrações, em mg L⁻¹, variaram de: 0,97 a 4,76 (Al); 0,004 a 0,07 (Ba); 29,28 a 60,75 (Ca); < LD (Cd); < LD (Co); 0,08 a 0,17 (Cr), 0,02 a 0,06 (Cu); 1,01 a 6,21 (Fe); 16,62 a 60,86 (Mg); 0,01 a 0,12 (Ni); 0,08 a 0,25 (Pb); 0,29 a 4,19 (Zn).

Antoniewicz *et al.* (2022) determinaram os níveis de macro e micronutrientes em vinagres de uva caseiros obtidas por fermentação espontânea cultivadas no noroeste da Polônia usando ICP OES e realizando previamente a decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas de 0,8 mL das amostras na presença de 0,6 mL de HNO₃ (65%) e 0,6 mL peróxido de hidrogênio (30%). Por meio da presente pesquisa percebeu-se que níveis majoritários foram encontrados para Ca, Fe e Cr em vinagres escuros, quando comparados a níveis encontrados em vinagres brancos. Além disso, encontrou-se níveis abundantes de K na grande maioria das amostras.

Na análise elementar de amostras de vinagres, é conhecido que efeitos indesejáveis da matriz podem ser evitados mediante uma etapa de decomposição prévia ou do método de adição de padrão (Da Silva *et al.* 2007; González; Armenta; La Guardia, 2015). Esse procedimento preliminar é comumente necessário devido à presença, tanto no vinagre quanto no vinho, de partículas suspensas e compostos orgânicos poliméricos, como açúcares, além do ácido acético e álcool, os quais interferem nas medições de GFAAS e ICP-MS (Ndung'u; Hibdon; Flegal, 2004). Diante desse contexto, o presente estudo tem como objetivo realizar a determinação da composição mineral de vinagres pela técnica de ICP OES, após decomposição por radiação micro-ondas na presença de ácido nítrico diluído.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAL

Determinar a composição elementar (Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb e Zn) de amostras de vinagre usando ICP OES e fotômetro de chama.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Propor um método para a decomposição assistida por radiação micro-ondas de amostras de vinagres empregando forno de micro-ondas e ácido diluído.
- Realizar o planejamento fatorial a fim de determinar a melhor condição de decomposição de amostras de vinagres, considerando os fatores: massa de amostra, temperatura de decomposição e concentração de ácido nítrico.
- Avaliar a eficiência do procedimento de decomposição através de inspeção visual dos digeridos, bem como através de RCC e de RA.
- Investigar a influência dos fatores (massa de amostra, temperatura de decomposição e concentração de ácido nítrico) no processo de decomposição de amostras de vinagres, bem como avaliar os efeitos principais e de interação.
- Validar o método obtendo os parâmetros: linearidade, faixa linear de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação, precisão e exatidão.
- Aplicar as condições otimizadas na decomposição de amostras de vinagres comercializadas na região metropolitana de Recife e determinar o teor de Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb e Zn em amostras de vinagres de álcool, balsâmico, vinagre de maçã e vinho tinto coletadas na região metropolitana de Recife.
- Comparar os resultados obtidos com outros trabalhos presentes na literatura, bem como com os limites definidos pela legislação nacional e internacional.
- Empregar a Análise de Componentes Principais (PCA) para auxiliar na interpretação de informações sobre a composição dos vinagres em relação aos elementos minerais presentes nas amostras.
- Contribuir para a geração de dados para a Tabela de Composição Química de alimentos.

4 METODOLOGIA

4.1 AMOSTRAS

Foram adquiridas 16 amostras de vinagres em supermercados da região metropolitana de Recife, sendo estas: 4 amostras de vinagre de álcool (A1-A4), 4 amostras de vinagre balsâmico (B1-B4), 4 amostras de vinagre de maçã (M1-M4) e 4 amostras de vinagre de vinho tinto (V1-V4). A escolha desses tipos de vinagre, deve-se ao fato de serem os mais consumidos no Brasil (ANAV, 1999).

Nos testes iniciais de decomposição, escolheu-se aleatoriamente uma amostra de cada tipo de vinagre disponível, sendo estas A1, B1, M3 e V4. Posteriormente, o planejamento fatorial foi realizado com a amostra de vinagre balsâmico **B1**. Esta amostra foi escolhida por aparentemente ser a mais difícil de digerir, provavelmente por conter mais compostos orgânicos. Ndung'u, Hibdon e Flegal (2004) também relataram dificuldades em decompor amostras de vinagre balsâmico. Dessa forma, se a condição selecionada fosse eficiente na decomposição de amostras de vinagre balsâmico, também seria eficiente na decomposição de outros tipos de vinagres.

4.2 MATERIAIS, REAGENTES E SOLUÇÕES

O preparo das soluções foi realizado utilizando reagentes analíticos de alto grau de pureza, e água ultrapura com resistividade específica de 18,2 M Ω cm, proveniente de um sistema de purificação Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Previamente ao uso, as vidrarias, ponteiras, frascos e demais materiais necessários para a realização dos experimentos passaram por um processo de limpeza. Primeiramente, foram lavados com água ultrapura e detergente neutro. Em seguida, foram submersos em uma solução de HNO₃ a 10% (v/v) por um período mínimo de 24 horas, visando a descontaminação completa. Após essa etapa, o material foi novamente lavado com água purificada e cuidadosamente deixado para secar por um período de 6 horas.

Nos testes preliminares de decomposição e na determinação de carbono residual, foram utilizados os seguintes reagentes: ácido nítrico 65% (m/m, 15 mol L⁻¹) (Cromoline Química Fina, São Paulo, Brasil) e peróxido de hidrogênio a 30% (m/m) (Dinâmica Química, São Paulo, Brasil). A fim de fazer uso de reagentes com alto grau

de pureza, todo ácido usado nos experimentos foi purificado previamente em sistema de destilação *sub-boiling*.

Considerando a avaliação das concentrações dos analitos nas amostras, foram preparadas soluções de referência multielementares (Inorganic ventures, Christiansburg, Estados Unidos). Para os microelementos Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn, preparou-se uma solução estoque de referência com concentração de 5 mg L⁻¹, visando a obtenção, após diluição, das concentrações 0; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 e 0,1 mg L⁻¹. Considerando os macroelementos Ca, Mg, preparou-se uma solução de referência de 100 mg L⁻¹, o que permitiu obter os pontos: 0,1; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 10 mg L⁻¹.

Para a avaliação da concentração de K e Na por fotometria de chama foram preparadas soluções nas concentrações de 2; 5; 10; 20; 30; 40; 50; 60; 80; 100 mg L⁻¹, a partir de diluição de solução monoelementar de 1000 mg L⁻¹ (Specsol, Brasil)

Os teores de carbono remanescente e original visando a determinação do teor de carbono residual, foram determinados através do método espectrofotométrico proposto por Da Silva *et al.* (2020). Visando a determinação do teor de carbono residual, preparou-se soluções estoque de dicromato de potássio e de ácido cítrico hidratado.

A solução de dicromato de potássio foi preparada a partir da dissolução de 5 g do sólido (K₂Cr₂O₇, Dinâmica química, São Paulo, Brasil) em água deionizada visando obter 100 mL uma solução de concentração 50 g L⁻¹.

Partindo de uma solução de 10.000 mg L⁻¹ de carbono, preparada a partir de ácido cítrico hidratado (C₆H₈O₇.H₂O, CPQ, Brasil) foi possível obter as concentrações: 100; 1000; 2000; 3000; 4000; 5000 mg L⁻¹ de carbono através de adequadas diluições. Outro reagente empregado considerando esta metodologia foi o ácido sulfúrico a 98 % (H₂SO₄, Química Moderna, Pernambuco, Brasil).

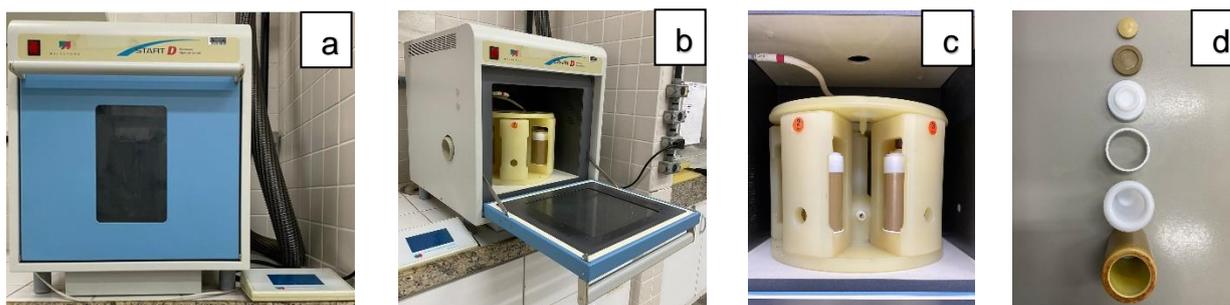
Os testes de adição e recuperação foram realizados usando padrões multielementares (Inorganic ventures, Estados Unidos). Foram realizadas adições em dois níveis: 0,03 mg L⁻¹ e 0,07 mg L⁻¹ para Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn e adições de 3 e 7 mg L⁻¹ para Ca, Mg, K e Na. As amostras foram fortificadas com os analitos em duas diferentes concentrações (baixa e alta) dentro da faixa de uso do método (INMETRO, 2003).

4.3 INSTRUMENTAÇÃO

O ácido nítrico foi purificado em um sistema de destilação *sub-boiling*, modelo SubCLEAN (Milestone, Sorisole, Itália), instalado no Instituto de Pesquisa em Petróleo e Energia (i-LITPEG) da UFPE.

A decomposição das amostras de vinagres foi realizada usando um forno de micro-ondas (Milestone, Sorisole, Itália), modelo Start D, que apresenta cavidade para 10 frascos de TMF® (volume de uso indicado de 8 a 12 mL), potência máxima de 1200 W e equipado com sensor de temperatura (**Figura 10**).

Figura 10 – Forno de micro-ondas Milestone (Modelo Start D): (a) Forno de micro-ondas; (b) Cavidade do forno de micro-ondas e frascos de decomposição em um rotor; (c) Segmentos do rotor contendo frascos de decomposição; (d) Componentes de um frasco de decomposição por micro-ondas (mola especial, placa adaptadora, tampa de TFM, anel de proteção, recipiente de TFM, camisa de proteção)



Fonte: A autora (2024)

Os teores de carbono remanescente, carbono original e por conseguinte o carbono residual, foram obtidos através de um bloco digestor usado para digerir as amostras para posterior determinação de carbono orgânico (Hach Company, Loveland, Colorado), modelo 45600-00, que apresenta capacidade para 25 tubos. Foi utilizado um espectrofotômetro de absorção molecular no visível (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha), modelo nanocolor vis II, operando na faixa de 320 a 1100 nm. Ambos os instrumentos utilizados estão instalados no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) do Centro de Tecnologia e Geociências (CTG) da UFPE.

A quantificação das concentrações elementares foi realizada utilizando um espectrômetro de emissão ótica de plasma acoplado indutivamente (ICP OES), da Perkin Elmer (modelo Optima 7000 DV), **Figura 11**. Esse equipamento está instalado na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE.

Figura 11 – Equipamento de ICP OES marca Perkin Elmer, modelo Optima 7000 DV, usado na quantificação multielementar.



Fonte: A autora (2024)

O instrumento apresenta sistema de detecção CCD, sistema ótico purgado com argônio e ótica Echelle. O sistema de introdução de amostra faz uso de câmara Scott e nebulizador de fluxo cruzado. As condições operacionais estão descritas na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Parâmetros operacionais do ICP OES

Parâmetros	Especificações
Câmara de Nebulização	Scott
Detector	CCD
Faixa de Comprimento de Onda (nm)	160-900
Nebulizador	Fluxo cruzado
Potência de radiofrequência (kW)	1,3
Replicas	3
Taxa de aspiração da amostra (mL min ⁻¹)	1,0
Tempo de integração do sinal (s)	8
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,2
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,8
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Vista de observação do plasma	Axial
	Ca - 317,933
	Cd - 228,802
	Co - 228,616
	Cr - 267,716
Comprimento de onda de detecção (nm)	Cu - 327,393
	Fe - 238,204
	Mg - 285,213
	Mn - 257,610
	Ni - 231,604

Parâmetros	Especificações
	Pb - 220,353
	Zn - 206,200

Fonte: A autora (2024)

Para cada analito, os comprimentos de ondas foram escolhidos analisando-se linhas livres de interferentes espectrais para cada elemento em estudo e também linhas espectrais que apresentavam maior sensibilidade. Além disso, todas as medidas foram feitas em triplicata. O argônio utilizado possuía pureza mínima de 99,999% (Messer Gases - Bad Soden, Alemanha).

Além do emprego de ICP OES para a determinação elementar, um fotômetro de chama, (Digimed, Brasil), modelo DM-61, foi utilizado para determinar o teor de K e Na nas amostras. Este equipamento encontra-se localizado no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) do Centro de Tecnologia e Geociências (CTG) da UFPE.

O equipamento foi operado considerando as seguintes condições: chama de propano-ar, utilizando ar livre de poeira e óleo como oxidante, a uma pressão de 20 psi e uma taxa de fluxo de 9 L min⁻¹, fornecida por um compressor de membrana, modelo 089-CL (Fanem, Brasil); queimador com ignição eletrônica e válvula de segurança para interromper o fluxo de combustível em caso de falta de ar via pressostato; seleção de comprimento de onda por filtros de interferência com uma largura de banda inferior a 12 nm, no comprimento de onda de 766 nm (K) e 589 nm (Na); taxa de fluxo da amostra de 5,0 mL min⁻¹; tempo de resposta de 8 s.

4.4 TESTES PRELIMINARES

Tendo em vista que o vinagre é uma amostra líquida, experimentalmente, observou-se que a massa contida em 0,5 mL de amostra de vinagre equivale a aproximadamente 0,5 g, visto que sua densidade é 1,060 (Giudici, Lemmetti e Mazza (2015).

Sabe-se que vários parâmetros são relevantes quando se promove uma decomposição assistida por radiação micro-ondas em recipiente fechado, como, por exemplo, a massa de amostra, o tipo de ácido, o volume de reagentes, as concentrações da mistura oxidante, a temperatura, a pressão e o tempo de aquecimento (Araújo *et al.*, 2002). Também se sabe que, neste tipo de decomposição

de amostras de alimentos, é comum o emprego de misturas contendo ácido nítrico e peróxido de hidrogênio (Bressy *et al.*, 2013; Da Silva *et al.*, 2020; Fu *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2022; Lin *et al.*, 2014; Tarantino *et al.*, 2017).

Diante desse fato, optou-se por realizar os testes preliminares com misturas desses reagentes digestores. O objetivo dos testes foi determinar a melhor condição de decomposição das amostras, ou seja, a condição que promovesse uma degradação completa da amostra. A eficiência da degradação das amostras foi avaliada através da inspeção visual dos digeridos, bem como pelos teores de RCC e RA.

Os testes em sua maioria foram conduzidos de acordo com o procedimento HPR-FO-69, indicado na seção de alimentação animal do manual de aplicação para os rotores do micro-ondas Milestone Start D, intitulado "SK-10 High Pressure Rotor Application Book" ([s.d.]), seguindo o programa de aquecimento descrito no **Tabela 2**.

Tabela 2 – Programa de aquecimento de amostras de vinagre obtido após aquecimento por micro-ondas em temperatura de 200°C

Etapas	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)	Potência (W)
Rampa	15	200	1200
Patamar	15	200	1200
Resfriamento	15	25	0

Fonte: HPR-FO-69

O programa de aquecimento consiste em 15 minutos de rampa para atingir a temperatura de 200°C à 1200 W, ao atingir a temperatura, permanece por 15 minutos a 200°C na mesma potência e resfriamento a 0 W por 15 minutos, totalizando 45 minutos de decomposição.

Os testes foram realizados em triplicata nas amostras de vinagre de álcool, balsâmico, maçã e vinho tinto, e posteriormente, apenas em uma amostra de vinagre balsâmico, conforme mostra a **Tabela 3**. Após os procedimentos de decomposição e resfriamento, os produtos de decomposição, incluindo os brancos de cada teste, foram transferidos para tubos Falcon de 15 mL e o volume final foi aferido para 15 mL pela adição de água.

Tabela 3 – Testes de decomposição preliminares realizados com as amostras de vinagre, com 7 mL de HNO₃ e 1 mL H₂O₂ 30% (v/v)

Teste	Amostra (g)	HNO ₃ (mol L ⁻¹)	Tipo de amostra*	Avaliação**	Temperatura (°C)
1	0,5	15,0	A, B, M, V	InV, RA, RCC	200
2	0,5	7,50	A, B, M, V	InV	200
3	0,5	3,75	A, B, M, V	InV	200
4	1,0	1,28	A, B, M, V	InV	100
5	1,0	1,28	B	InV, RA, RCC	200
6	1,0	0,64	B	InV, RA, RCC	200
7	1,0	0,2	B	InV, RA, RCC	200
8	1,0	0,1	B	InV, RA, RCC	200

*A: vinagre de álcool; B: vinagre balsâmico; M: vinagre de maçã e V: vinagre de vinho tinto.

** InV: inspeção visual; RA: acidez residual; RCC: teor de carbono residual.

Fonte: A autora (2024)

Considerando o procedimento indicado pela HPR-FO-69, a amostra foi transferida para os frascos de Teflon com auxílio de micropipeta ajustada para 0,5 mL, aonde foram adicionados 7 mL de HNO₃ 15 mol L⁻¹ e 1 mL de H₂O₂. Logo em seguida, os frascos foram selados, colocados no rotor e submetidos ao programa de aquecimento descrito na **Tabela 2**.

Nos testes posteriores, testes 2, 3, 5 a 8, buscou-se avaliar o procedimento de decomposição descrito no **Teste 1**, a fim de encontrar condições de decomposição mais brandas, usando HNO₃ diluído. Os testes foram realizados em triplicata nas amostras de vinagre de álcool, balsâmico, maçã e vinho tinto.

A mesma mistura digestora do **Teste 1** foi usada por Lin *et al.* (2014) na decomposição assistida por radiação micro-ondas de alimentos simulados contendo teores de ácido acético aquoso, visando à posterior determinação de 19 espécies (Al, As, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Er, Ga, Mn, Nd, Pb, Pr, Rb, Sm, Te, V, Y, Zr) por ICP-MS. O método também utilizou um procedimento recomendado pelo manual do forno de micro-ondas (Milestone, Sorisole, Itália), modelo ETHOS T T640, cujo programa de aquecimento recomendado para o modelo consiste em aumento linear da temperatura até 150°C por 10 minutos a 600 W, seguido por um aumento posterior para 200°C por 10 minutos a 800 W e manutenção a 200°C por 10 minutos

No teste 4 foi realizada a decomposição das amostras de vinagre a uma temperatura de 100 °C, numa tentativa de avaliar se a decomposição das amostras

poderia ocorrer de forma eficiente em uma temperatura mais suave em comparação com aquela proposta pela HPR-FO-69. Neste teste, optou-se pela decomposição de 1,0 g de amostra. Os frascos foram selados, e as amostras foram digeridas.

O programa de aquecimento consiste em 15 minutos de rampa até uma temperatura de 100°C, na potência de 1200 W, seguidos por uma permanência de 15 minutos a 100°C, na mesma potência, e, por fim, resfriamento a 0 °C por 15 minutos, totalizando 45 minutos de decomposição. Neste teste percebeu-se que as amostras de vinagres balsâmico seriam mais resistentes à decomposição e optou-se pela continuidade dos testes apenas com uma amostra de vinagre balsâmico.

Nos Testes 5, 6, 7 e 8, assim como no Teste 1, a eficiência da decomposição foi avaliada através da inspeção visual dos digeridos, além de ser feita a determinação do carbono residual e da acidez residual, conforme pode ser observado na **Tabela 3**. Para realizar comparações compatíveis entre esses testes, a massa de amostra do Teste 1 foi modificada para 1,0 g, correspondendo à massa adotada nos demais testes, e os teores de carbono residual e acidez residual foram medidos nessas condições.

4.5 PLANEJAMENTO E OTIMIZAÇÃO DAS DIGESTÕES ÁCIDAS

Um planejamento fatorial completo 2³ de dois níveis foi utilizado para investigar os efeitos dos parâmetros (variáveis) no procedimento de decomposição das amostras de vinagres. As variáveis escolhidas foram: massa de amostra (1,0 a 3,0 g), temperatura de decomposição (120 a 200 °C), concentração de HNO₃ (0,1 a 0,3 mol L⁻¹). Os níveis das variáveis independentes escolhidos para o planejamento fatorial foram adotados a partir de relatos da literatura (Correia *et al.*, 2017; Da Silva *et al.*, 2020; Khajeh, 2009.; Ngah e Yahya, 2012; Oliveira *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2018; Tarantino *et al.*, 2017) e resultados obtidos nos testes preliminares. As respostas analíticas observadas foram: RCC e RA. Na **Tabela 4**, é mostrada a matriz do planejamento fatorial.

Tabela 4 – Matriz do planejamento fatorial 2^3 para a decomposição das amostras de vinagre, com triplicatas do ponto central

Fatores		(-)	(0)	(+)
A:	Massa de amostra (g)	1	2	3
B:	Temperatura de decomposição (°C)	120	160	200
C:	Concentração de HNO ₃ (mol L ⁻¹)	0,1	0,2	0,3
Ensaio	A	B	C	
1	-	-	-	
2	+	-	-	
3	-	+	-	
4	+	+	-	
5	-	-	+	
6	+	-	+	
7	-	+	+	
8	+	+	+	
9 CP	0	0	0	
10 CP	0	0	0	
11 CP	0	0	0	

*CP: Ponto Central

Fonte: A autora (2024)

Além de investigar os efeitos principais e de interação das variáveis, buscou-se determinar a condição que apresentasse baixos teores de carbono residual e acidez residual, o que aponta a eficiência do procedimento de decomposição, empregando a função desejabilidade para avaliar simultaneamente as duas respostas analíticas. O software Minitab versão 19 foi utilizado para otimização multivariada.

Os oito primeiros ensaios foram realizados em triplicata, bem como os três ensaios referentes às repetições no ponto central, sendo realizadas 9 réplicas no ponto central, totalizando 33 experimentos, realizados em ordem aleatória, a fim de evitar fontes de variação sistemática. Para realizar esse planejamento apenas uma amostra foi selecionada, sendo está uma amostra de vinagre balsâmico chamada de **B1**.

A escolha foi feita com base no fato desta amostra, da mesma forma que ocorreu nos testes 5 a 8, ter se mostrado mais resistente ao procedimento de

decomposição em comparação a outras amostras avaliadas nos testes preliminares. Dados da literatura confirmaram a hipótese apontando que vinagres balsâmicos são difíceis de digerir. De acordo com Ndung'u, Hibdon e Flegal (2004), realizando ou não decomposição com ácido nítrico, em consequência do seu conteúdo orgânico, os vinagres balsâmicos são mais difíceis de analisar por GFAAS e ICP-MS.

Após o procedimento de decomposição, as amostras foram diluídas com água até o volume final de 15 mL e foi determinado o teor de carbono residual e de acidez residual. As soluções dos brancos foram preparadas em cada série de decomposição de amostras no forno de micro-ondas, sendo constituída da mesma mistura usada na digestão, ou seja, contendo ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, mas sem a presença da amostra.

Através da análise dos resultados dos parâmetros de resposta do planejamento, determinou-se a condição que foi aplicada às demais amostras de vinagres para posterior análise dos digeridos quanto aos níveis de Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb e Zn por ICP OES e fotômetro de chama.

4.6 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO RESIDUAL E ACIDEZ RESIDUAL

Como já mencionado anteriormente, a eficiência da decomposição de amostras orgânicas foi estabelecida através da determinação do RCC e RA. Sabe-se que o teor de carbono em solução deve ser inferior a 2000 mg L^{-1} para ser considerado adequado para subsequentes análises de ICP OES e ICP-MS (nível de tolerância admitido por Bizzi *et al.*, 2011b); enquanto que a acidez residual não deve ser superior a 10% (v/v) em determinações elementares, visando evitar dificuldades no processo de introdução da solução no atomizador (Rocha; Nóbrega; Kamogawa, 2019).

O RCC das amostras foi determinado utilizando um método espectrofotométrico elaborado por Krushevska *et al.* (1992) e modificado por Da Silva *et al.* (2020). Considerando a determinação dos teores de carbono residual por meio desta metodologia foram empregados: dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, Dinâmica química, São Paulo, Brasil) e ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 PA, química moderna, Brasil).

O preparo das amostras envolveu a transferência de 1,0 mL de digeridos para tubos de ensaio rosqueados, a esses frascos adicionou-se 1,5 mL da solução de

dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) de 50 g L^{-1} e mais $2,5 \text{ mL}$ de solução de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Esses tubos foram tampados e homogeneizados em agitador vortex e posteriormente levados para um bloco digestor, por 2 horas a 150 C° . Após esse procedimento, os tubos foram removidos do bloco digestor e no momento em que atingiram a temperatura ambiente, a absorbância foi lida no próprio tubo no comprimento de 610 nm usando um espectrofotômetro de absorção molecular (Macherey-Nagel, Brasil).

A determinação dos teores de RCC foi realizada segundo a **Equação (6)**, mencionada anteriormente.

$$RCC = (C_R / C_O) \times 100 \text{ (Eq. 6)}$$

Onde

C_R – teor de carbono remanescente após a decomposição

C_O – teor de carbono original da amostra

Fazendo uso da curva analítica do método foi possível obter os teores de carbono remanescente e original das amostras em mg. O teor de carbono remanescente contendo em 15 mL de amostra, inicialmente em mg L^{-1} , foi expresso em mg de carbono empregando a **Equação (7)**.

$$C_R = (\text{mg L}^{-1}) \cdot (1 \text{ L} \cdot 1000 \text{ mL}^{-1}) \cdot (15 \text{ mL}) \text{ (Eq.7)}$$

Uma vez que as massas das amostras foram medidas e tendo em vista que a densidade do vinagre é igual a $1,06 \text{ g cm}^{-3}$, conforme apresentado por Giudici, Lemmetti e Mazza ,2015, determinou-se os volumes das amostras (V_A) em mL e esses foram utilizados para determinar o teor de carbono original da amostra obtido em mg, como mostra a **Equação (8)**.

$$C_O = (\text{mg L}^{-1}) \cdot (1 \text{ L} \cdot 1000 \text{ mL}^{-1}) \cdot V_A \text{ (Eq.8)}$$

Calculando a razão entre os teores de carbono remanescente (C_R) e o teor de carbono original (C_O), foi possível obter o teor de carbono residual (RCC), tanto para as amostras dos testes preliminares, quanto para amostras do planejamento fatorial.

A acidez residual foi determinada nos digeridos resultantes dos testes preliminares e do planejamento fatorial, por meio de titulação ácido-base em triplicata (n=3). A avaliação da acidez residual ocorreu nos testes 1, 5, 6, 7 e 8. As titulações foram conduzidas em triplicata, totalizando 15 ensaios e outras 5 titulações do branco. Em relação à determinação da acidez residual nos digeridos resultantes do planejamento fatorial, foram conduzidos 33 experimentos, acompanhados de 11 determinações do branco.

Para ambos os procedimentos do digerido diluído para um volume final de 15 mL, foi retirada uma alíquota de 1 mL, que foi transferida para um erlenmeyer. Neste recipiente, foram adicionados 1 mL de água ultrapura, seguidos de 2 gotas da solução alcoólica de fenolftaleína (1,0% m v⁻¹ em etanol). Como solução titulante, empregou-se uma solução de NaOH, padronizada com hidrogenoftalato de potássio (KHP). A **Equação (9)** representa os reagentes e os produtos envolvidos no procedimento de titulação, enquanto a **Equação (10)** demonstra a relação estequiométrica entre o ácido presente na amostra e a solução titulante (NaOH). Por sua vez, a **Equação (11)** exhibe a expressão matemática para o cálculo da concentração molar através do volume de solução titulante, considerando que cada mol de ácido consome 1 mol de NaOH, conforme demonstrado na **Equação (11)**.



$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2 \text{ (Eq. 11)}$$

Onde M₁, M₂, V₁, V₂ são nesta ordem, a concentração de ácido nítrico no digerido, a concentração da solução titulante de NaOH (0,0845 mol L⁻¹), o volume de digerido empregado na titulação (1 mL), o volume de base (mL) consumido em cada titulação. O resultado foi expresso em termos da acidez residual, % (v/v): a relação percentual entre o volume de ácido nítrico e o volume do digerido (diluído para o volume final de 15 mL).

Para converter a acidez residual obtida em molaridade para % (v/v) adotou-se valores de massa molar e de densidade para o ácido nítrico descritos por Rumble (2020) na 101ª edição do *Handbook of Chemistry and Physics*, que estão descritos na **Tabela 5**.

Tabela 5 – Dados físico-químicos de HNO₃

Parâmetros	Valores
Massa molar (MM)	63,013 g mol ⁻¹
Densidade (D)	1,5129 g cm ⁻³

Fonte: Rumble (2020)

Considerando-se esses parâmetros, descritos na **Tabela 5**, construiu-se uma expressão que permitiu determinar RA em % (v/v) para digeridos resultantes dos testes preliminares e do planejamento de experimentos e está é representada na **Equação (12)**.

$$RA = (\text{mol L}^{-1} \cdot 63,013 \text{ g mol}^{-1} \cdot (100 \text{ mL} / 1000 \text{ mL})) / 1,5129 \text{ g cm}^{-3} \text{ (Eq.12)}$$

4.7 VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO

Após a etapa de otimização dos parâmetros (variáveis) de decomposição assistida por radiação micro-ondas, o procedimento foi validado através da obtenção dos parâmetros de desempenho: limites de detecção e quantificação, linearidade, precisão e exatidão.

Os limites de detecção e quantificação de ICP OES foram calculados da seguinte forma: LD = $3,3 \times \sigma / IC$ (Eq.13) e LQ = $10 \times \sigma / IC$ (Eq.14), onde “ σ ” é o desvio padrão do sinal analítico do branco e “IC” é a inclinação da curva analítica (BRASIL, 2017). O branco do método foi obtido submetendo 10 alíquotas de um branco de reagentes, que contém os mesmos tipos e concentrações de ácidos que as soluções das amostras ao procedimento completo de mineralização (Barreca *et al.*, 2023; Baird; Eaton; Rice, 2012).

Para K e Na, a estimativa do LQ e do LD foi realizada assumindo que o LQ corresponde à concentração mais baixa do padrão, enquanto o LD é definido como um terço desse valor (Ferreira *et al.*, 2023).

A avaliação da linearidade foi realizada para cada elemento investigado empregando o coeficiente de correlação, que representa a relação entre a concentração do analito e o sinal analítico, conforme descrito por Ferreira *et al.* (2023).

A precisão foi avaliada pelo desvio padrão relativo (DPR) de 4 análises diferentes das 16 amostras, sendo dada pela **Equação 15**. Onde s corresponde ao

desvio padrão e \bar{x} é a concentração média determinada. Os resultados são apresentados na **Tabela 17**, localizada na seção Resultados e Discussão (item 5.4 - Aplicação do Método Proposto na Análise de Amostras).

$$\text{DPR}\% = 100. (s/\bar{x}) \text{ (Eq.15)}$$

Uma vez que não havia disponível material de referência certificado (MRC) de vinagre, a exatidão do método foi avaliada por meio de testes de adição e recuperação (INMETRO, 2003).

Na presença da matriz da amostra e dos reagentes digestores foram realizadas adições em dois níveis de concentração: 0,03 e 0,07 mg L⁻¹ para Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn; de 3 e 7 mg L⁻¹ para Ca, K, Mg, Na. Uma solução estoque de 5 mg L⁻¹ e outra solução de 100 mg L⁻¹ foram obtidas por meio de diluição de solução multielementar de 1000 mg L⁻¹ a fim de atingir os níveis de concentração desejados.

Considerando a diluição para um volume final de 15 mL, foram adicionados 90 e 210 µL da solução de 5 mg L⁻¹ para obter 0,03 e 0,07 mg L⁻¹ para os micros (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn); 450 e 1050 µL da solução de 100 mg L⁻¹ visando os níveis 3 e 7 mg L⁻¹ dos macros (Ca, Mg, Na)

Posteriormente as amostras foram digeridas usando o programa de aquecimento do método selecionados pela melhor condição. O procedimento foi realizado em triplicata, para 4 amostras, são elas: A1, B1, M2, V1. Visando a determinação dos dados de recuperação empregou-se a **Equação 16**.

$$\text{Recuperação (\%)} = 100. (C_1 - C_2) / C_3 \text{ (Eq.16)}$$

Onde

C₁ – concentração do analito na amostra fortificada

C₂– concentração do analito na amostra não fortificada

C₃– concentração do analito adicionado à amostra fortificada.

4.8 ANÁLISE ELEMENTAR POR ICP OES E FOTOMETRIA DE CHAMA

O procedimento proposto validado para decomposição de amostras de vinagres em forno de micro-ondas usando ácido nítrico diluído foi aplicado em 16 amostras de vinagre amostras, em quadruplicada, sendo 4 de vinagre de álcool (A1, A2, A3, A4), 4 de vinagre balsâmico (B1, B2, B3, B4), 4 de vinagre de maçã (M1, M2,

M3, M4), 4 vinagres de vinho (V1, V2, V3, V4). Para a determinação de micro e macroelementos nas amostras (Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn), foi utilizada ICP OES, simultâneo com visão axial. Para determinação das concentrações de K e Na nas amostras foi utilizada a fotometria de chama.

4.9 ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS DADOS EMPREGANDO PCA

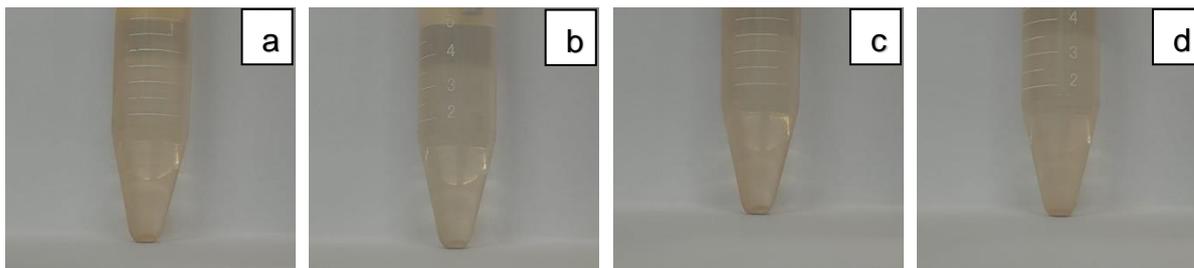
A análise por componentes principais (PCA) foi realizada com as 16 amostras de vinagres, descritas no tópico 4.8, e nos elementos minerais, sendo esses Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn. A análise exploratória possibilitou interpretações acerca da presença desses elementos em relação ao tipo de vinagre de cada amostra. De modo que, os dados de fotometria de chama e ICP OES foram autoescalados, a PCA foi realizada utilizando algoritmo de decomposição em valores singulares (SVD, do inglês: singular value decomposition) e validação cruzada, em ambiente R, pelo RStudio versão 4.4.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TESTES PRELIMINARES

A digestão das amostras de vinagre, realizada através da decomposição assistida por radiação micro-ondas usando o Teste 1, resultou em soluções digeridas límpidas e isentas de sólidos dissolvidos, indicando a decomposição de 0,5 g de amostra na presença de uma mistura digestora contendo 7 mL de HNO_3 a 15 mol L^{-1} e 1 mL de H_2O_2 . A **Figura 12** mostra o aspecto visual dos digeridos dos vinagres de álcool (a), balsâmico (b), maçã (c) e vinho tinto (d), obtidos por meio da aplicação do procedimento HPR-FO-69.

Figura 12 – Comparação entre os digeridos de diferentes vinagres obtidos pelo método proposto pela HPR-FO-69, que utilizou 0,5 g de amostra, 7 mL de HNO_3 15 mol L^{-1} e 1 mL de H_2O_2 : (a) vinagre de álcool; (b) vinagre balsâmico; (c) vinagre de maçã; (d) vinagre de vinho tinto.



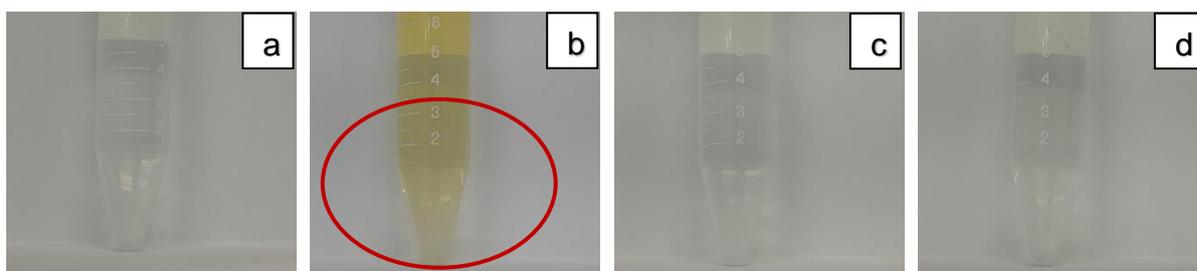
Fonte: A autora (2024)

Embora, o aspecto visual dos digeridos tenha demonstrado, eficiência no procedimento de decomposição, optou-se por otimizar o procedimento descrito pela HPR-FO-69, variando a concentração de HNO_3 com o objetivo de encontrar uma condição eficiente de decomposição da matéria orgânica, fazendo uso de uma solução de HNO_3 com a menor concentração possível, conforme sugerido por Bizzi *et al.* (2011a). Assim, os **Testes 2 e 3** foram realizados com concentrações de HNO_3 de $7,50 \text{ mol L}^{-1}$ e $3,75 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente, o que permitiu obter soluções digeridas claras e sem a presença de resíduos para os quatro tipos de vinagres avaliados.

No **Teste 4**, a massa de amostra foi aumentada de 0,5 g para 1,0 g. De acordo com Cerveira *et al.* (2020), um aspecto importante a ser considerado antes de realizar o aumento da massa de amostra é a obtenção de soluções digeridas límpidas e sem sólidos dissolvidos, o que foi observado nos **Testes 2 e 3**. A utilização de uma solução de HNO_3 de $1,28 \text{ mol L}^{-1}$ e uma temperatura de decomposição de $100 \text{ }^\circ\text{C}$, adotadas

no **Teste 4**, resultou na obtenção de uma solução amarelada para a amostra de vinagre balsâmico, conforme destacado na **Figura 13 (b)**.

Figura 13 – Comparação entre os digeridos de diferentes vinagres obtidos com HNO_3 $1,28 \text{ mol L}^{-1}$ a $100 \text{ }^\circ\text{C}$: (a) vinagre de álcool; (b) vinagre balsâmico, em destaque, cujo digerido apresentou um aspecto amarelado; (c) vinagre de maçã; (d) vinagre de vinho tinto.

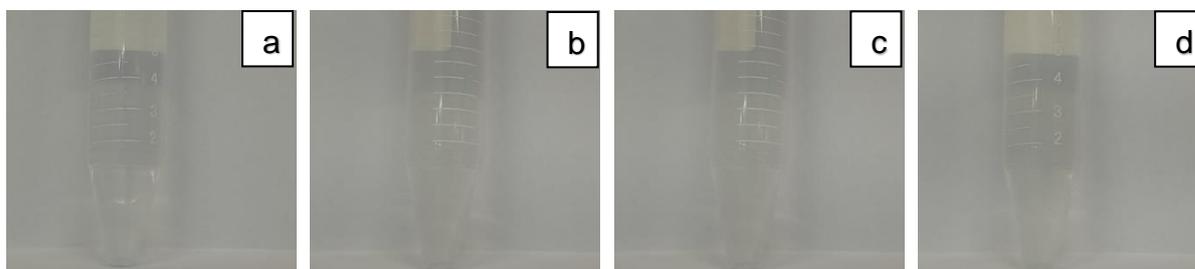


Fonte: A autora (2024)

A partir do **Teste 4**, infere-se que soluções diluídas de ácido nítrico podem ser eficientes no processo de decomposição das amostras. No entanto, observamos que temperaturas mais amenas podem não favorecer esse processo, uma vez que as amostras de vinagre balsâmico apresentaram aspecto amarelado, indicando sua resistência ao procedimento de decomposição. Conforme apontado por Ndung'u, Hibdon e Flegal (2004), vinagres balsâmicos apresentam compostos orgânicos difíceis de decompor, seja realizando ou não decomposição prévia com ácido nítrico. Com isso, os testes seguintes foram conduzidos exclusivamente com essa amostra.

Curiosamente, nos **Testes 5, 6, 7, 8**, realizados com a amostra de vinagre balsâmico B1, a uma temperatura fixa de $200 \text{ }^\circ\text{C}$ e variando apenas a concentração de ácido nítrico entre $1,28 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foram obtidas soluções finais de digeridos límpidas e isentas de sólidos dissolvidos (**Figura 14**). Isso pode indicar que a temperatura é uma variável importante no procedimento de decomposição de amostras de vinagre balsâmico por meio da decomposição assistida por radiação micro-ondas.

Figura 14 – Comparação entre os digeridos de vinagre balsâmico obtidos com o emprego de uma temperatura de decomposição de 200 °C, 1 mL de H₂O₂ e 7 mL de HNO₃ em diferentes concentrações: (a) 1,28 mol L⁻¹; (b) 0,64 mol L⁻¹; (c) 0,2 mol L⁻¹; (d) 0,1 mol L⁻¹



Fonte: A autora (2024)

Idealmente, as amostras digeridas nessas condições deveriam levar à decomposição completa da matéria orgânica usando quantidades mínimas de ácido nítrico, conforme recomendado por Bressy *et al.* (2013). Uma vez que além de serem estáveis e apresentarem baixa concentração de sólidos dissolvidos, os digeridos obtidos devem também exibir baixa RA e RCC, conforme destacado por Nóbrega *et al.* (2012). Esses parâmetros foram determinados para os **Testes 5, 6, 7, 8**, e estão detalhados na **Tabela 6**. Além disso determinou-se o teor de carbono residual e acidez residual para 1,0 g de amostra digerida usando o **Teste 1** para comparar o emprego de soluções diluídas e concentradas de HNO₃ no preparo de amostras.

Tabela 6 – Teores médios de carbono residual (RCC) e acidez residual (RA) para os testes preliminares (1, 5, 6, 7, 8)

Testes	HNO ₃ (mol L ⁻¹)	Massa (g)	RCC (% m/m)	RA (%v/v)
1	15	1,014 ± 0,015	25,72 ± 2,04	5,32 ± 0,04
5	1,28	1,077 ± 0,007	10,37 ± 0,88	2,54 ± 0,09
6	0,64	1,074 ± 0,010	17,14 ± 0,25	1,43 ± 0,04
7	0,2	1,080 ± 0,006	17,42 ± 1,83	0,66 ± 0,04
8	0,1	1,074 ± 0,005	13,96 ± 0,27	0,43 ± 0,02

*As amostras foram digeridas com 7 mL de diferentes concentrações de HNO₃ e 1 mL de H₂O₂ usando um único programa de aquecimento. A média e o desvio foram determinados entre todas as amostras digeridas com cada solução ácida diferente, com um total de n=3 amostras.

Fonte: A autora (2024)

Ao analisar a **Tabela 6**, nota-se que o teor de carbono residual apresentou variação de 10,37 a 25,72 % (m/m), e a acidez residual variou de 0,43 % a 5,32 % (v/v). Embora o aspecto visual dos digeridos do **Teste 1** tenha demonstrado eficiência do procedimento de decomposição, ou seja, sem a presença de sólidos dissolvidos,

conforme demonstrado na **Figura 12**, analisando a **Tabela 6**, nota-se que altos teores de carbono residual e acidez residual foram obtidos para esse teste.

Similarmente Barela *et al.* (2018), também obtiveram digeridos com alto teor de carbono em solução (RCC de $27,4 \pm 3,0\%$) e acidez residual (RA de $18,6 \pm 2,9\%$) na decomposição por radiação micro-ondas de amostras de biodiesel usando 10 mL de HNO_3 a 7 mol L^{-1} e 950 mg de amostra, os quais foram considerados inadequados para a determinação de Ba, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sr e V por SF-ICP-MS.

Considerando o emprego de soluções diluídas de ácido nítrico, o teor de carbono residual variou de 10,37 a 17,42 % (m/m), enquanto que acidez residual foi de 0,43 a 2,54 % (v/v), o que equivale ao intervalo de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,61 \text{ mol L}^{-1}$. Os valores de RCC são similares àqueles determinados por Barbosa *et al.* (2015) na decomposição assistida por radiação micro-ondas de amostras de soja e seus produtos na presença de 7 mL de HNO_3 a $2,1 \text{ mol L}^{-1}$ e 1 mL de H_2O_2 , cujo RCC variou entre 10% e 18%. No entanto, a acidez residual neste trabalho é inferior àquela determinada pelos autores, que variou de $2,38 \text{ mol L}^{-1}$ a $14,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Araújo *et al.* (2002) também compararam o emprego de soluções concentradas e diluídas de ácido nítrico na decomposição assistida por micro-ondas em amostras de plantas do gênero *Paspalum*, utilizando 2 mL de HNO_3 em diferentes concentrações (2 a 14 mol L^{-1}) e 1 mL de H_2O_2 , por meio de um único programa de aquecimento. Nesta pesquisa, foi obtido uma melhoria na oxidação da matéria orgânica, ou seja, baixo teor de carbono residual quando se utilizava solução concentrada de ácido nítrico a 14 mol L^{-1} , permitindo a obtenção de RCC igual a 6,9%, em comparação com soluções diluídas de HNO_3 , cujos teores de carbono residual foram ligeiramente maiores (10,3% a 11,3%). Ainda assim, os autores destacaram a eficiência da oxidação da matéria orgânica usando soluções diluídas de HNO_3 .

Analisando a **Tabela 6**, pode-se notar que os valores de RCC para amostras decompostas com soluções diluídas de HNO_3 foram menores que aquele encontrado na amostra decomposta com solução concentrada de HNO_3 , cujo o RCC foi de $25,72 \pm 2,04 \%$ (m/m), o que permiti inferir que soluções de diluídas de HNO_3 podem ser tão ou mais eficazes que as soluções concentradas na decomposição da matéria orgânica presente em amostras de vinagre.

Ainda na **Tabela 6**, é possível observar que os menores RCC foram obtidos para os **Teste 5 e 8**. Embora o **Teste 5** tenha apresentado um teor de carbono residual de $10,37 \pm 0,88 \%$ (m/m), este teste apresentou maior acidez residual, cerca de 2,54

%v/v ou $0,61 \text{ mol L}^{-1}$, de modo que esta condição foi considerada inadequada para prosseguir na fase de determinação de metais através de técnicas espectrométricas. Fato similar ocorreu com o **Teste 6**, que apresentou acidez residual $1,43 \text{ %v/v}$ ou $0,33 \text{ mol L}^{-1}$.

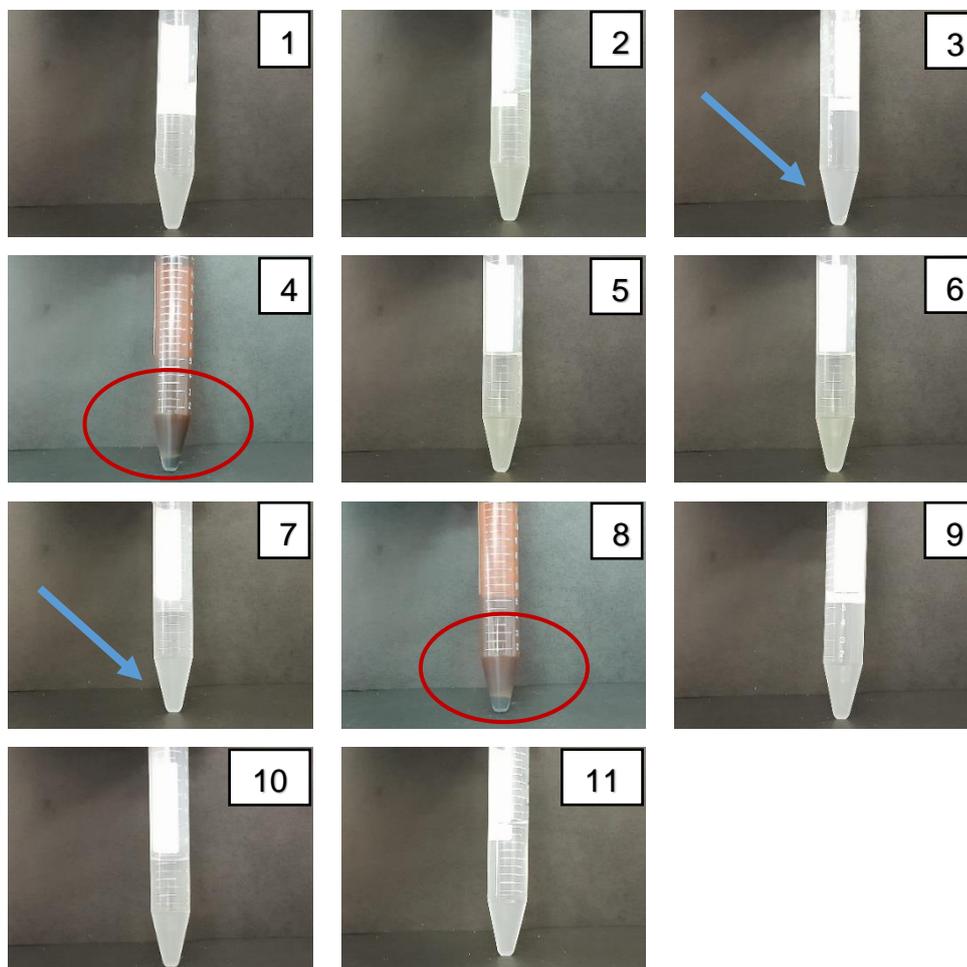
Uma similaridade entre os **Testes 7, 8** é a obtenção de baixos RCC e RA. O **Teste 7** apresentou RCC de $17,42 \pm 1,83 \text{ % (m/m)}$ e AR de $0,66 \pm 0,04 \text{ % (v/v)}$. Enquanto que o **Teste 8** apresentou teor de carbono residual de $13,96 \pm 0,27 \text{ % (m/m)}$ e acidez residual de $0,43 \pm 0,02 \text{ % (m/m)}$. Ambas as condições foram consideradas ótimas e um planejamento fatorial foi estabelecido com bases nessas condições.

5.2 PLANEJAMENTO E OTIMIZAÇÃO DAS DECOMPOSIÇÕES ÁCIDAS

A fim de determinar se a condição obtida através de testes é aquela que apresenta baixos teores de carbono residual e acidez residual, indicando a eficiência do procedimento de decomposição, um planejamento fatorial foi estabelecido com base nos Testes Preliminares, especialmente o **Teste 8**, para avaliar a influência dos fatores (massa de amostra, temperatura de decomposição e concentração de HNO_3) no procedimento de decomposição das amostras de vinagres. Os níveis das variáveis adotados foram: massa de amostra ($1,0\text{-}3,0 \text{ g}$); temperatura de decomposição ($120\text{-}200 \text{ }^\circ\text{C}$); e concentração de soluções diluídas de HNO_3 ($0,1\text{-}0,3 \text{ mol L}^{-1}$).

O aspecto visual das soluções finais dos digeridos da amostra de vinagre balsâmico B1, obtidos para os 11 ensaios do planejamento fatorial, encontra-se na **Figura 15**.

Figura 15 – Comparação entre o aspecto visual dos digeridos resultantes do planejamento fatorial: (1) Ensaio 1; (2) Ensaio 2; (3) Ensaio 3, com obtenção de uma solução de digerido límpida, destacado em azul; (4) Ensaio 4, com alta concentração de sólidos dissolvidos, destacado em vermelho; (5) Ensaio 5; (6) Ensaio 6; (7) Ensaio 7, com obtenção de uma solução de digerido límpida, destacado em azul; (8) Ensaio 8, com alta concentração de sólidos dissolvidos, destacado em vermelho; (9) Ensaio 9; (10) Ensaio 10; (11) Ensaio 11



Fonte: A autora (2024)

Conforme é possível observar ao analisar as **Figuras 15(4) e 15(8)**, verifica-se que os Ensaio 4 e 8 apresentaram alta concentração de sólidos dissolvidos e solução marrom (conforme destacado em vermelho), indicando baixa eficiência na decomposição das amostras nesses ensaios

Uma similaridade entre os ensaios é o emprego da massa de amostra no maior nível, ou seja, 3 g, bem como a adoção de uma temperatura de decomposição de 200 °C. Dessa forma, pode-se inferir que o aumento da massa pode não favorecer o procedimento de decomposição das amostras de vinagre balsâmico, mesmo que a

temperatura de decomposição seja alta e a concentração de HNO_3 varie do menor ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) ao maior nível ($0,3 \text{ mol L}^{-1}$).

Os Ensaios 1, 2, 5, 6, 9, 10 e 11 apresentaram aspecto amarelado após o procedimento de decomposição, indicando também baixa eficiência na decomposição. Amostras com esse aspecto foram aquecidas em chapa de aquecimento por um curto período para avaliar se o aquecimento permitiria a obtenção de soluções límpidas, o que indicaria que a coloração amarelada seria devida à presença dos óxidos nítricos em solução. No entanto, a solução continuou a apresentar aspecto amarelado. Dessa forma, optou-se pela descontinuidade dos testes a fim de evitar a perda por evaporação de compostos voláteis

Dentre os ensaios realizados, somente os **Ensaio 3 e 7**, apresentaram um aspecto límpido, livre de sólidos dissolvidos (**Figura 15 (3) e 15 (7)**), onde os resultados são destacados com setas azuis. A principal semelhança entre esses ensaios reside no uso da menor massa, ou seja, $1,0 \text{ g}$, e na temperatura mais elevada, que corresponde a $200 \text{ }^\circ\text{C}$. A única diferença entre eles é o tipo de solução utilizada, sendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para o **Ensaio 3** e $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ para o **Ensaio 7**.

A fim de avaliar a eficiência dos procedimentos de decomposição dos ensaios do planejamento fatorial, determinou-se o RCC e na **Tabela 7**, são apresentadas as figuras de mérito.

Tabela 7 – Curva analítica e seus parâmetros: limite de detecção, limite de quantificação e faixa linear (mg L^{-1})

Elemento	Equação	Faixa (mg L^{-1})	LD (mg L^{-1})	LQ (mg L^{-1})	Coefficiente de Correlação
C	$Y = 0,0005x + 0,0339$	100-5000 mg L^{-1}	0,016	0,049	0,9991

Fonte: A autora (2024)

Utilizando esta equação, foi possível determinar o teor de carbono remanescente e a acidez residual em cada um dos 11 ensaios do planejamento experimental. Todas as medidas foram realizadas em triplicata e foi aplicado o teste Q, visando a detecção de *outliers*, dentre as repetições de cada ponto do planejamento experimental ($n=3$). Os resultados mostraram que todos os valores são aceitos, em nível de confiança de 95 %. De modo que todos os dados foram

empregados para determinação dos teores médios de carbono residual e acidez residual, como mostra a **Tabela 8**.

Tabela 8 – Matriz do planejamento fatorial 2^3 para a decomposição das amostras de vinagre, com triplicatas do ponto central e teores de RCC e AR

Fatores		(-)	(0)	(+)		
A:	Massa de amostra (g)	1	2	3		
B:	Temperatura de decomposição (°C)	120	160	200		
C:	Concentração de HNO ₃ (mol L ⁻¹)	0,1	0,2	0,3		

Ensaio	A	B	C	RCC (% m/m)	AR (% v/v)
1	-	-	-	45,7 ± 7,2	0,81 ± 0,04
2	+	-	-	54,2 ± 2,5	1,61 ± 0,07
3	-	+	-	21,0 ± 8,7	0,46 ± 0,18
4	+	+	-	41,7 ± 1,7	1,99 ± 0,09
5	-	-	+	50,9 ± 11,1	1,04 ± 0,02
6	+	-	+	46,1 ± 0,7	2,32 ± 0,04
7	-	+	+	13,6 ± 4,5	0,73 ± 0,21
8	+	+	+	42,5 ± 4,4	1,70 ± 0,10
9 CP	0	0	0	30,5 ± 5,1	1,26 ± 0,06
10 CP	0	0	0	29,4 ± 3,9	1,37 ± 0,06
11 CP	0	0	0	27,8 ± 4,0	1,23 ± 0,20

*CP: Ponto Central

Fonte: A autora (2024)

De acordo com a **Tabela 8**, os teores médios de RCC variou de 13,6 a 54,2 %, enquanto o teor médio de RA variou de 0,46 a 2,32 %, considerando os 11 ensaios do planejamento fatorial.

Os ensaios 3 e 7 se destacaram por apresentarem os menores teores médios de carbono residual, com RCC de 21,0% e 13,6%, respectivamente. Adicionalmente, esses ensaios também demonstraram baixos teores de acidez residual, registrando RA de 0,46% para o Ensaio 3 e 0,73% para o Ensaio 7. Isso evidencia a eficiência de decomposição desses ensaios. Além disso, nota-se que esses teores são inferiores a

2000 mg L⁻¹, que corresponde ao teor máximo tolerável de carbono em solução considerado por Bizzi *et al.* (2011b) adequado para prosseguir em análises subsequentes por ICP OES e ICP-MS.

Para investigar os efeitos dos parâmetros (variáveis) massa (A), temperatura (B) e concentração de HNO₃ (C) sobre as respostas analíticas do planejamento fatorial (conforme mostrado na **Tabela 9**), foi utilizado o software Minitab versão 19. A **Tabela 9** demonstra a estimativa dos efeitos principais, efeitos de interação e o erro puro para a variável de resposta RCC.

Tabela 9 – Estimativa dos efeitos para a variável de resposta teor de carbono residual (RCC)

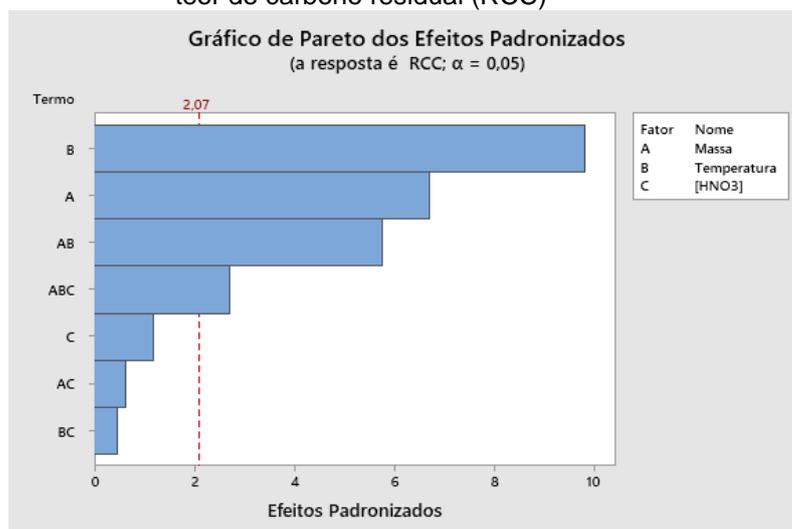
	Estimativa	Erro Puro
Média Global	39,69	0,96
Efeitos Principais		
A	13,33	2,24
B	-19,52	2,24
C	-2,36	2,24
Efeitos de Interação		
AB	11,44	2,24
AC	-1,26	2,24
BC	-0,92	2,24
ABC	5,40	2,24
H ₀ (IC=95%) ²	Efeito <4,62	

Fonte: A autora (2024)

Conforme é possível verificar analisando a **Tabela 9**, no domínio experimental avaliado, os efeitos considerados estatisticamente significativos (diferentes de zero), a 95% de confiança, foram os efeitos principais A (massa) e B (temperatura), bem como o efeito de interação massa e temperatura (AB) e massa, temperatura e concentração de HNO₃ (ABC). Tal resultado é evidenciado pelo gráfico de Pareto apresentado na **Figura 16**.

² H₀: |efeito| > t_{24,s}; com s equivalente ao erro puro e t(GL=24)=2,064. H₀ é rejeitada, o efeito é estatisticamente diferente de zero, quando |efeito| > t_{24,s}.

Figura 16 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados pelo erro puro para a variável de resposta teor de carbono residual (RCC)



Fonte: A autora (2024)

Uma interpretação para a estimativa dos efeitos (**Tabela 9**), confirmada pelo Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados pelo erro puro para a variável de resposta teor de carbono residual (**Figura 16**), é que a mudança do nível (-) para o nível (+) para a variável A (massa), aumenta a resposta de RCC em 13,33; enquanto que o aumento da variável B (Temperatura) entre o nível (-) até (+), diminui o RCC em 19,52. Por sua vez, a mudança entre o nível (-) ao (+) para as variáveis AB, aumentaram o RCC em 11,44. Enquanto que o aumento conjunto das variáveis A, B, C entre o menor e maior nível ocasionam um aumento no RCC de 5,40.

De acordo com a **Tabela 9** e considerando apenas os efeitos significativos, propõe-se a seguinte equação para o modelo de regressão considerando a variável de resposta RCC (**Equação 17**).

$$\text{RCC} = 39,48 + 6,67 \text{ Massa} - 9,76 \text{ Temperatura} + 5,72 \text{ Massa*Temperatura} + 2,70 \text{ Massa*Temperatura*[HNO}_3\text{]} \quad (\text{Eq. 17}).$$

Uma vez que calculando a razão entre a média quadrática para a regressão (MQ_R) e a média quadrática dos resíduos (MQ_r), teremos $1128,91 / 82,25 = 13,73$ e este valor é maior 2,93, que corresponde $F_{(3,29)}$ (no nível de confiança de 95 %), logo, a equação de regressão é estatisticamente significativa. A fim de avaliar falta de ajuste para o modelo, apresenta-se a Análise de variância (ANOVA) para a resposta RCC, apresentando apenas valores significativos na **Tabela 10**.

Tabela 10 – ANOVA para a resposta de RCC, considerando apenas os parâmetros e interações significativos

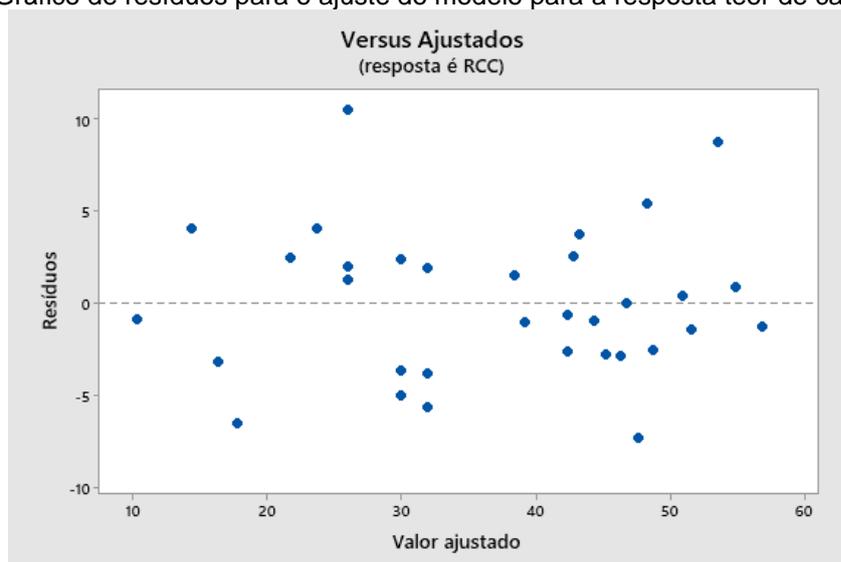
Variável	GL	SQ	MQ	F
Massa	1	1066,12	1066,12	44,91
Temperatura	1	2287,05	2287,05	96,34
Massa * Temperatura	1	785,62	785,62	33,09
Massa* Temperatura* HNO ₃	1	175,06	175,06	7,37
Falta de ajuste	16	407,72	25,48	1,33
Erro Puro	6	114,55	19,09	
Total	32	5771,94		

*GL: Graus de liberdade; SQ: Soma Quadrática; MQ: Média Quadrática

Fonte: A autora (2023)

A razão da média quadrática da falta de ajuste pela média quadrática do erro puro (25,48/19,09) foi igual a 1,33. Uma vez que este valor é inferior de $F_{(16,6)} = 3,92$ (no nível de confiança de 95 %), verifica-se que não há indicio de significância para a falta de ajuste, indicando que o modelo se ajusta aos dados experimentais.

Esta análise demonstrou que o modelo ajustado (**Equação 17**) explica 86,84 % da variabilidade dos dados obtidos experimentalmente. Conforme, é possível avaliar, analisando a **Figura 17**, os resíduos para o ajuste do modelo considerando a variável de resposta RCC se distribuem aleatoriamente em torno de zero, não sendo observado padrão ou tendência, de modo que o modelo de regressão linear é adequado.

Figura 17 – Gráfico de resíduos para o ajuste do modelo para a resposta teor de carbono residual.

Fonte: A autora (2024)

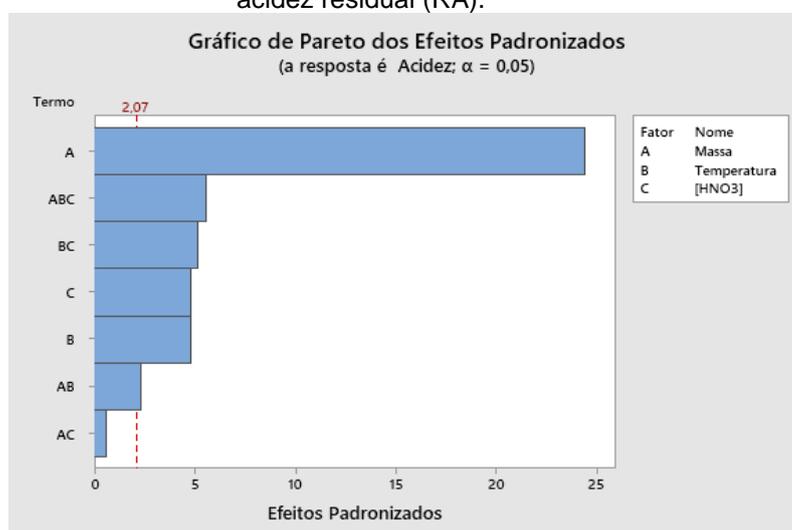
Considerando a acidez residual (RA), determinou-se a estimativa dos efeitos principais e dos efeitos de interação para esta variável como mostra a **Tabela 11**.

Tabela 11 – Estimativa dos efeitos para a variável de resposta acidez residual (RA)

	Estimativa	Erro Puro
Média Global	1,324	0,021
Efeitos Principais		
A	1,149	0,050
B	-0,225	0,050
C	0,225	0,050
Efeitos de Interação		
AB	0,108	0,050
AC	-0,026	0,050
BC	-0,243	0,050
ABC	-0,260	0,050
H_0 (IC=95%) ³	Efeito <0,103	

Fonte: A autora (2024)

Analisando a **Tabela 11**, nota-se que para a resposta da acidez residual todos os efeitos foram significativos, exceto o efeito de interação entre A e C (massa e concentração de HNO_3). Porém a magnitude dos efeitos é pequena em comparação com a magnitude do efeito da variável massa, como mostra o Gráfico de Pareto na **Figura 18**.

Figura 18 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados pelo erro puro para a variável de resposta acidez residual (RA).

Fonte: A autora (2024)

Uma provável interpretação, considerando a estimativa dos efeitos (**Tabela 11**) e o gráfico de Pareto (**Figura 18**), é que quando a variável A (massa), varia entre o menor e maior nível, a variável de resposta acidez residual aumenta em 1,149.

³ H_0 : |efeito| > $t_{24.s}$; com s equivalente ao erro puro e $t(GL=24)=2,064$. H_0 é rejeitada, o efeito é estatisticamente diferente de zero, quando |efeito| > $t_{24.s}$.

Considerando apenas os efeitos significativos pode-se propor um modelo de regressão linear para a variável de resposta acidez residual, que é apresentada na **Equação 18**.

$$\begin{aligned} \text{RA} = & 1,332 + 0,575 \text{ Massa} - 0,113 \text{ Temperatura} + 0,113 [\text{HNO}_3] \\ & + 0,054 \text{ Massa*Temperatura} - 0,121 \text{ Temperatura*}[\text{HNO}_3] \\ & - 0,130 \text{ Massa*Temperatura*}[\text{HNO}_3] \quad (\mathbf{Eq.18}). \end{aligned}$$

Dado que calculando a razão entre a média quadrática para a regressão (MQ_R) e a média quadrática dos resíduos (MQ_r), teremos ($286,97/3,99$) o valor de 71,93 que é maior 2,93, que corresponde $F_{(3,29)}$ (no nível de confiança de 95 %), portanto, a equação de regressão é estatisticamente significativa. Afim de avaliar falta de ajuste para o modelo, apresenta-se a Análise de variância (ANOVA) para a resposta da acidez residual, apresentando apenas valores significativos na **Tabela 12**.

Tabela 12 – ANOVA para a resposta de RA, considerando apenas os parâmetros e interações significativos

Variável	GL	SQ	MQ	F
Massa	1	7,91994	7,91994	596,74
Temperatura	1	0,30403	0,30403	22,91
[HNO ₃]	1	0,30403	0,30403	22,91
Massa*Temperatura	1	0,07020	0,07020	5,29
Temperatura*[HNO ₃]	1	0,35326	0,35326	26,62
Massa*Temperatura*[HNO ₃]	1	0,40618	0,40618	30,60
Falta de ajuste	16	0,19517	0,01220	0,76
Erro Puro	6	0,09681	0,01614	
Total	32	9,72064		

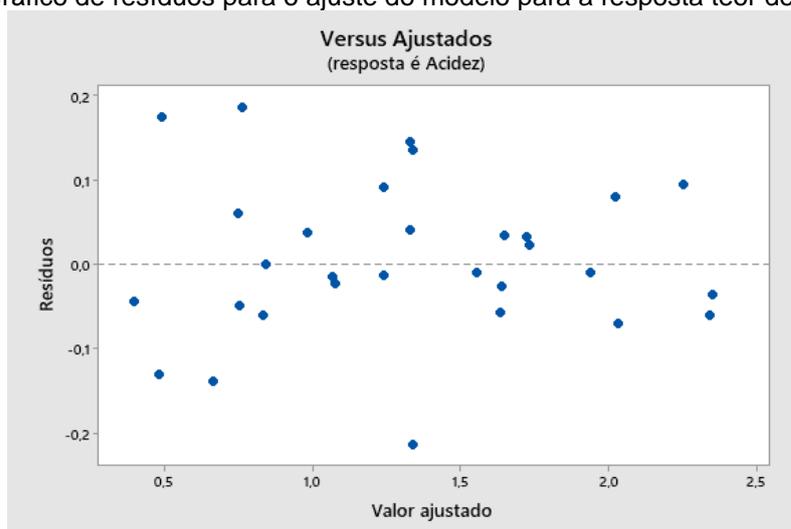
*GL: Graus de liberdade; SQ: Soma Quadrática; MQ: Média Quadrática

Fonte: A autora (2023)

A média quadrática da falta de ajuste pela média quadrática do erro puro ($0,01220/0,01614$) = 0,76. Uma vez que este valor é inferior a $F_{(16,6)} = 3,92$ (no nível de confiança de 95 %), verifica-se que não há indicio de significância para a falta de ajuste, indicando que o modelo se ajusta aos dados experimentais. A porcentagem de variação na resposta que o modelo explica foi de 95,63 %, indicando que os dados se ajustam ao modelo de regressão.

A partir da análise gráfica dos resíduos (**Figura 19**), verifica-se que estes se distribuem aleatoriamente em torno do zero, demonstrando apenas erros aleatórios e que o modelo se encontra bem ajustado.

Figura 19 – Gráfico de resíduos para o ajuste do modelo para a resposta teor de acidez residual

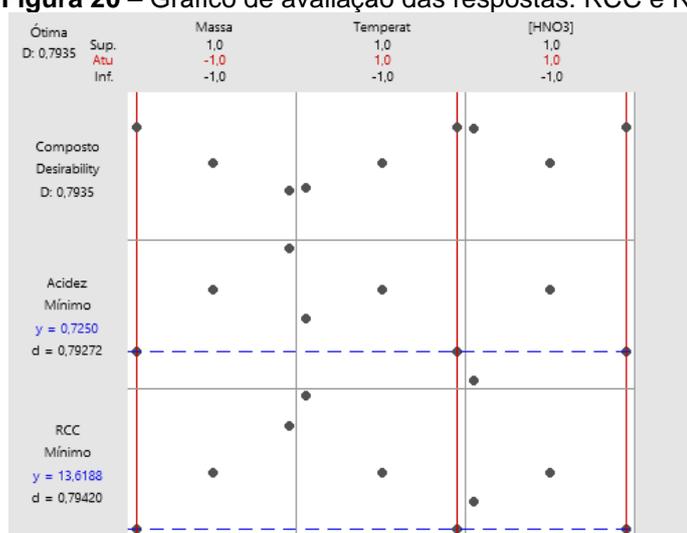


Fonte: A autora (2024)

Uma vez constatado o ajuste dos dados experimentais aos modelos, foi realizada a otimização simultânea das variáveis de resposta, RCC e RA, com o objetivo de determinar a melhor condição, ou seja, aquela que apresenta baixos teores de carbono residual e acidez residual, o que evidencia a eficiência do procedimento de decomposição, utilizando a função de desejabilidade.

A função desejabilidade, proposta por Derringer e Suich em 1980, tem como objetivo encontrar uma condição de compromisso onde todas as respostas estejam dentro de uma região aceita como desejável, onde as respostas originais são codificadas entre 0 (condição indesejável) e 1 (condição desejável) (Hilário *et al.*, 2021). Esta função tem sido utilizada para otimizar métodos de análise de alimentos fazendo uso de respostas múltiplas (Ferreira *et al.*, 2019).

As respostas-alvo de otimização individual foram RCC = 1% (em 15 mL do digerido) e RA = 0,3%, tendo sido atribuído às respostas o mesmo nível de importância. Conforme é possível verificar no Gráfico de avaliação das respostas, apresentado na **Figura 20**, o procedimento otimizado resultou em baixo teor de carbono residual (13,6 %) e acidez residual (0,73 %). Essas condições foram obtidas através de: massa de amostra no menor nível (1,0 g) e os maiores níveis de temperatura (200 °C) e concentração (0,3 mol L⁻¹), o que corresponde ao **Ensaio 7**. Além disso nota-se que a desejabilidade global foi igual a 0,79, o que aponta a concordância entre a avaliação simultânea e avaliação das variáveis de forma independente.

Figura 20 – Gráfico de avaliação das respostas: RCC e RA

Fonte: A autora (2024)

O teor de carbono residual (13,6 %) obtidos para o Ensaio 7 é similar aquele determinado por Araújo *et al.* (2002), na digestão de plantas usando decomposição assistida por radiação micro-ondas na presença de diferentes concentrações de HNO₃ (2; 3; 5; 7; 14 mol L⁻¹), obtendo teores de RCC inferiores a 13 %. Além disso, os teores de RCC determinados neste trabalho são também inferiores àqueles determinados por Bizzi *et al.* (2010). Bizzi e colaboradores (2010) avaliaram eficiência de soluções diluídas de HNO₃ para a decomposição de amostras de fígado bovino usando a decomposição por radiação micro-ondas em recipientes pressurizados com oxigênio, encontrando teores de RCC <15 %, quando utilizou solução 2 mol L⁻¹ HNO₃, bem como o emprego de oxigênio em pressões de 0,5, 1, 1,5 e 2 MPa.

Destaca-se também que o teor de acidez obtido para a condição ótima foi de 0,73 % ou 0,173 mol L⁻¹. Esse teor é inferior aos valores determinados por Tarantino *et al.* (2017), onde a acidez residual dos digeridos resultantes da decomposição assistida por radiação micro-ondas de amostras de arroz utilizando ácidos diluídos variou de 0,9 a 3,2 mol L⁻¹. O teor determinado neste trabalho também é inferior aos valores obtidos por Savio, Fialho e Nóbrega (2019), que usaram soluções diluídas de HNO₃ na decomposição de amostras de grãos e cereais empregados na criação de suínos, obtendo acidez residual inferior a 0,65 mol L⁻¹.

O procedimento otimizado proposto foi então aplicado a 15 outras amostras de vinagres coletadas na Região metropolitana de Recife visando a determinação elementar. No **Quadro 5** apresenta-se as condições experimentais adotadas para aplicação do Ensaio 7 a essas amostras.

Quadro 5 – Condições experimentais estabelecidas através do planejamento fatorial para a decomposição de amostra de vinagres

Massa de amostra	1,0 g
Mistura digestora	7 mL de HNO ₃ (0,3 mol L ⁻¹); 1 mL de H ₂ O ₂
Rampa de Aquecimento	Rampa: 15 min; 200 °C; 1200 W Patamar: 15 min; 200 °C; 1200 W Resfriamento: 15 min; 25 °C; 0 W
Volume Final	15 mL

Fonte: A autora (2024)

Sabe-se que a otimização pode ser realizada usando planejamentos mais complexos, como planejamento de três níveis, composto central (CCD), Box-Behnken, D-ótimo e Doehlert (Candioti *et al.*, 2014). No entanto, uma vez que não foi observado indicio de falta de ajuste e a regressão foi considerada significativa, esses planejamentos não foram necessários para otimizar o procedimento de digestão.

5.3 VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO

O limite de detecção (LD) é a menor concentração que pode ser distinguida com um certo nível de confiança, enquanto que o limite de quantificação (LQ), refere-se a menor concentração ou massa do analito, que pode ser analisada quantitativamente com uma confiabilidade razoável (Skoog *et al.*, 2006; Uhrovčík, 2014). Os valores de limite de detecção e quantificação determinados estão representados na **Tabela 13**.

Tabela 13 – Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) para as determinações por ICP OES e Fotometria de chama do procedimento proposto para a decomposição de vinagres em forno de micro-ondas

Elemento	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)	LD (µg g ⁻¹)**	LQ (µg g ⁻¹)***
Ca	0,076	0,230	1,14	3,45
Cd	0,001	0,002	0,015	0,030
Co	0,001	0,003	0,015	0,045
Cr	0,003	0,009	0,045	0,135
Cu	0,001	0,003	0,015	0,045
Fe	0,009	0,026	0,135	0,390
K*	0,633	1,900	9,49	28,5
Mg	0,040	0,120	0,600	1,800
Mn	0,001	0,002	0,015	0,030
Na*	0,700	2,10	10,5	31,5
Ni	0,014	0,042	0,210	0,630
Pb	0,008	0,025	0,120	0,375
Zn	0,009	0,027	0,135	0,405

*Fotometria de chama; **LD (µg g⁻¹) = 15 × LD (mg L⁻¹), considerando volume final das soluções digeridas e massa de 1 g; ***LQ (µg g⁻¹) = 15 × LQ (mg L⁻¹), considerando volume final das soluções digeridas e massa de 1 g.

Fonte: A autora (2024)

Conforme é possível verificar analisando a **Tabela 13**, os valores de LD variaram de 0,015 µg g⁻¹ (Cd, Co, Cu e Mn) a 1,14 µg g⁻¹ (Ca), considerando ICP OES. Para as medidas por fotometria de chama, os valores de LD foram de 9,49 µg g⁻¹ e 10,5 µg g⁻¹ para os elementos K e Na, respectivamente. Já os valores de LQ foram de 28,5 µg g⁻¹ a 31,5 µg g⁻¹ para K e Na, respectivamente. Esses valores baixos de LD e LQ podem indicar a alta sensibilidade do método, uma vez que conforme apontado por Bizzi *et al.* (2014) e citado por Santos *et al.* (2019b), o uso de soluções altamente diluídas de HNO₃ no preparo de amostras resulta em baixos valores de brancos.

A linearidade de um método pode ser definida como a capacidade de fornecer resultados de medição que são diretamente proporcionais do analito, ou que são diretamente proporcionais após algum tipo de transformação matemática (Yuwono; Indrayanto, 2005). Conforme se pode observar na **Tabela 14**, as faixas dinâmicas lineares são bastante amplas, além disso os resultados revelaram coeficientes de correlação que apontam para uma relação linear consistente em toda a faixa analisada (com $r > 0,9976$). Conforme recomendado pela ANVISA, os coeficientes de correlação devem exceder 0,990 (BRASIL, 2017), enquanto que para o INMETRO (2003) um valor acima de 0,90 é aceito, indicando a consistência e precisão dos resultados obtidos.

Tabela 14 – Equações de regressão linear para 13 elementos

Elemento	Equação de regressão linear	Coefficientes de Correlação	Faixa (mg L⁻¹)
Ca	$y = 202736x + 9201,9$	0,9999	0,1 - 10
Cd	$y = 15192x + 199,71$	0,9983	0,02 - 0,1
Co	$y = 74009 x - 653,87$	0,9977	0,02 - 0,1
Cr	$y = 144367x + 940,86$	0,9989	0,02 - 0,1
Cu	$y = 278781 + 397,82$	0,9989	0,02 - 0,1
Fe	$y = 162886x + 1077,9$	0,9979	0,02 - 0,1
K*	$y = 1,0333x + 0,0277$	1,0000	2 - 100
Mg	$y = 400434x - 68943$	0,9997	0,1 - 10
Mn	$y = 1000000 x + 4021,5$	0,9987	0,02 - 0,1
Na*	$y = 1,0891 x - 0,5783$	0,9999	2 - 100
Ni	$y = 48451 x + 133,83$	0,9994	0,02 - 0,1
Pb	$y = 6857,4 x + 76,356$	0,9979	0,02 - 0,1
Zn	$y = 25165 x + 134,95$	0,9976	0,02 - 0,1

*Fotometria de chama

Fonte: A autora (2024)

A fim de avaliar a precisão e a exatidão, foram realizados testes de recuperação em dois níveis. Os valores de concentração adicionados e os respectivos valores de recuperação dos analitos Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb e Zn, considerando a digestão assistida por radiação micro-ondas estão demonstrados na

Tabela 15.

Tabela 15 – Valores de recuperação (%) determinados via ICP OES e por fotometria de chama para amostras de vinagres

Elementos	Níveis (mg L ⁻¹)	A1	B1	M2	V1
Ca	3	112,1 ± 1,8	137,5 ± 2,6	128,4 ± 0,3	109,6 ± 2,4
	7	113,2 ± 0,6	129,8 ± 4,2	125,3 ± 0,8	126,7 ± 1,8
Cd	0,03	89,7 ± 0,9	90,5 ± 0,7	93,1 ± 1,1	95,4 ± 0,4
	0,07	113,6 ± 1,1	114,8 ± 0,4	122,7 ± 0,7	122,7 ± 0,5
Co	0,03	90,1 ± 0,9	82,6 ± 2,0	99,7 ± 2,1	85,6 ± 0,9
	0,07	88,9 ± 1,2	83,5 ± 0,2	91,1 ± 0,6	92,1 ± 0,3
Cr	0,03	86,6 ± 0,5	79,9 ± 1,5	94,8 ± 0,3	81,4 ± 0,8
	0,07	85,3 ± 0,6	80,4 ± 1,5	89,0 ± 0,5	90,6 ± 1,3
Cu	0,03	89,1 ± 0,8	89,0 ± 1,7	99,8 ± 0,9	88,1 ± 0,7
	0,07	90,8 ± 0,4	87,3 ± 0,4	100,1 ± 0,5	93,6 ± 0,9
Fe	0,03	82,7 ± 2,3	104,3 ± 15,9	86,3 ± 2,9	50,8 ± 7,0
	0,07	86,9 ± 0,4	83,9 ± 14,8	100,4 ± 0,4	73,8 ± 1,8
K	3	120,0 ± 2,3	113,3 ± 5,0	115,6 ± 1,4	84,4 ± 6,7
	7	105,2 ± 0,6	80,0 ± 5,8	114,8 ± 6,9	120,5 ± 5,5
Mg	3	108,6 ± 0,4	124,8 ± 2,0	123,0 ± 1,6	113,1 ± 1,0
	7	110,0 ± 0,3	122,6 ± 2,0	123,1 ± 1,1	126,2 ± 0,7
Mn	0,03	80,6 ± 1,0	86,6 ± 5,1	90,8 ± 0,8	83,0 ± 2,2
	0,07	79,2 ± 0,3	76,3 ± 1,9	83,5 ± 0,1	84,0 ± 1,2
Na	3	104,4 ± 1,5	119,4 ± 5,5	139,8 ± 1,0	73,3 ± 3,7
	7	99,5 ± 1,4	106,3 ± 1,8	115,0 ± 0,5	99,1 ± 0,7
Ni	0,03	90,1 ± 2,0	89,6 ± 4,4	80,0 ± 7,3	92,1 ± 3,8
	0,07	85,1 ± 1,1	89,0 ± 0,4	88,1 ± 2,2	95,3 ± 0,9
Pb	0,03	84,4 ± 11,5	80,5 ± 7,6	86,0 ± 13,3	87,8 ± 9,6
	0,07	86,0 ± 8,6	76,9 ± 2,5	88,3 ± 2,7	89,9 ± 1,7
Zn	0,03	80,6 ± 1,4	91,0 ± 3,4	96,3 ± 3,7	92,1 ± 3,3
	0,07	81,1 ± 2,4	85,9 ± 2,4	97,1 ± 1,7	98,7 ± 1,3

*A1: vinagre de álcool; B1: vinagre balsâmico; M2: vinagre de maçã; V1: vinagre de vinho tinto

Fonte: A autora (2024)

A partir dos dados apresentados na **Tabela 15**, observou-se que a faixa de recuperação variou entre 109,6 e 137,5 % para o Ca, entre 89,7 e 122,7 % para o Cd, entre 82,6 e 99,7 % para o Co, entre 79,9 e 94,8 % para o Cr, entre 87,3 e 100,1 % para o Cu. Além disso, as recuperações para o Fe oscilaram de 50,8 a 104,3, para o K de 80,0 a 120,5, para o Mg de 108,6 a 126,2, para o Mn de 76,3 a 90,8, para o Na de 73,3 a 139,8, para o Ni de 80,0 a 95,3, e para o Pb de 76,9 a 89,9; e entre 80,6 e 98,7 % para o Zn.

Também se nota que para Ca, Mg e Na obteve-se recuperações ligeiramente acima de 120 %. Recuperação acima de 120 % para Ca, Na e K, também foram observadas por Tozo, Pinheiro e Nóbrega (2021), na elaboração de um procedimento

de decomposição assistida por radiação micro-ondas para determinação posterior de As, Cd, Pb e Sn usando ICP-MS e de Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn por ICP OES em alimentos e suplementos infantis. As recuperações variaram de 70 a 128 % para ICP OES e de 82 a 128 % para ICP-MS. Kleemann (2017), ao desenvolver um método para a determinação Al, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V, Ni e Zn em amostras de lodo por MIP OES, realizando previamente digestão ácida com sistema de dedo frio sob refluxo também obteve recuperações altas para Ca entre 133 e 157 % e para K entre 161 e 168 %, as quais foram atribuídas a interferências para os comprimentos de onda usados para estas determinações. Pode-se inferir, portanto, que as altas recuperações observadas para Ca, Mg e Na no presente estudo podem ser atribuídas a possíveis interferências analíticas durante as determinações. Conforme verificado, a literatura documenta que interferências similares têm sido observadas em outros métodos e matrizes.

Nota-se que recuperações baixas foram observadas para Fe na amostra V1, em ambos os níveis de adição, o que pode indicar a ocorrência de efeito de matriz. Desse modo, não se considera o procedimento otimizado validado para a determinação de Fe em amostras de vinagre de vinho, a exemplo de V1. Contudo, recuperações baixas em apenas um nível de adição foram observadas para Cr na amostra B1, para Mn nas amostras A1 e B1, para Na em V1 e para Pb em B1. Considerando que a maioria dos valores de recuperação está dentro do intervalo de 75 a 125% estabelecido pela US EPA (2018), acredita-se que o procedimento proposto neste trabalho se encontra validado para determinação de Ca, Cd, Co, Cr, Cu, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb e Zn (nas amostras de vinagre de álcool, balsâmico, maçã e vinho tinto) e de Fe apenas nas amostras de vinagre de álcool, balsâmico e maçã.

5.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO NA ANÁLISE DE AMOSTRAS

O procedimento de decomposição foi validado para determinar Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb e Zn em 16 amostras de vinagre por ICP OES e fotometria de chama. As amostras, decompostas em quadruplicata, tiveram os teores médios apresentados na **Tabela 16**. Cd, Co, Cr, Ni e Pb não aparecem na tabela por estarem abaixo do limite de quantificação, indicando níveis traço que demandariam uma técnica mais sensível, como o ICP-MS.

Tabela 16 – Concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para amostras de vinagres digeridas usando decomposição assistida por radiação micro-ondas (média \pm desvio padrão, n=4)

Amostras	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Zn
A1	14,4 \pm 2,3	<0,045	0,79 \pm 0,15	32 \pm 4	8,0 \pm 0,7	0,052 \pm 0,003	108 \pm 10	<0,405
A2	7,4 \pm 1,3	<0,045	0,54 \pm 0,08	<28,5	6,4 \pm 0,8	0,045 \pm 0,006	53,6 \pm 6,7	<0,405
A3	20,7 \pm 1,4	<0,045	<0,390	<28,5	8,1 \pm 0,3	<0,030	94 \pm 6	<0,405
A4	27,3 \pm 1,1	<0,045	0,80 \pm 0,05	<28,5	14 \pm 0,4	0,059 \pm 0,004	128 \pm 3	<0,405
B1	149 \pm 10	0,119 \pm 0,002	7,03 \pm 0,31	1336 \pm 68	81 \pm 4	2,10 \pm 0,11	514 \pm 28	0,67 \pm 0,06
B2	101,0 \pm 17,6	0,129 \pm 0,008	4,90 \pm 0,72	1199 \pm 64	81 \pm 9	1,42 \pm 0,19	220 \pm 29	0,64 \pm 0,05
B3	130,3 \pm 17,0	<0,045	3,09 \pm 0,38	2097 \pm 119	97 \pm 5	1,79 \pm 0,21	321 \pm 12	0,50 \pm 0,06
B4	42,4 \pm 1,2	<0,045	4,47 \pm 0,14	468 \pm 7	22,7 \pm 0,5	3,23 \pm 0,09	133 \pm 6	<0,405
M1	20,7 \pm 0,7	<0,045	<0,390	<28,5	8,3 \pm 0,2	<0,030	94 \pm 3	<0,405
M2	16,6 \pm 1,3	<0,045	0,45 \pm 0,04	858 \pm 11	24 \pm 2	0,59 \pm 0,04	<31,5	<0,405
M3	22,5 \pm 1,5	<0,045	1,76 \pm 0,03	782 \pm 7	29 \pm 1	0,70 \pm 0,01	178 \pm 6	<0,405
M4	43,3 \pm 4,9	<0,045	1,03 \pm 0,15	718 \pm 4	24 \pm 2	0,27 \pm 0,02	<31,5	<0,405
V1	35,9 \pm 2,8	<0,045	NV	571 \pm 20	26 \pm 2	0,67 \pm 0,05	104 \pm 9	<0,405
V2	75,7 \pm 8,5	<0,045	NV	458 \pm 27	27 \pm 1	1,24 \pm 0,15	<31,5	<0,405
V3	58,6 \pm 7,0	<0,045	NV	1010 \pm 6	49 \pm 5	1,13 \pm 0,13	<31,5	0,75 \pm 0,11
V4	37,3 \pm 5,0	<0,045	NV	599 \pm 4	26 \pm 2,0	0,59 \pm 0,07	180 \pm 21	<0,405
Faixa	7,4 - 149	<0,045 - 0,129	<0,390 - 7,03	<28,5 – 2097	6,4 - 97	<0,030 - 3,23	<31,5 - 514	<0,405 -0,75

* NV: Procedimento não validado para determinação de Fe em vinagres de vinho tinto

Fonte: A autora (2024)

O desvio padrão relativo (DPR %) é mostrado na **Tabela 17**. Para macrominerais, os desvios padrão relativos (DPR %) variaram de 2,84% a 17,4% para Ca, de 0,52% a 11,7% para K, de 2,00% a 12,6% para Mg e de 2,41% a 13,1% para Na. Considerando os microminerais, a DRP % foi de 1,55 a 6,52% para Cu, de 1,50 a 19,6% para Fe, de 1,54 a 13,2% para Mn, e de

8,20 a 14,5 % para Zn. Uma vez que os valores de DPR % foram inferiores a 20 %, pode-se inferir que o procedimento proposto é preciso.

Tabela 17 – Desvio Padrão Relativo (DPR %) para 16 amostras de vinagres (n=4)

Amostras	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Zn
A1	15,7	< LQ	19,6	11,7	9,21	6,08	9,07	< LQ
A2	17,0	< LQ	15,7	< LQ	12,6	12,26	12,6	< LQ
A3	6,71	< LQ	< LQ	< LQ	4,15	< LQ	6,51	< LQ
A4	4,17	< LQ	6,48	< LQ	3,03	6,50	2,41	< LQ
B1	6,85	1,55	4,47	5,12	5,16	5,11	5,37	8,50
B2	17,4	6,52	14,7	5,31	10,9	13,2	13,1	8,20
B3	13,0	< LQ	12,3	5,66	4,98	11,9	3,76	11,3
B4	2,84	< LQ	3,13	1,47	2,00	2,70	4,39	< LQ
M1	3,16	< LQ	< LQ	< LQ	2,98	< LQ	3,30	< LQ
M2	8,00	< LQ	8,39	1,22	6,47	6,99	< LQ	< LQ
M3	6,54	< LQ	1,50	0,86	3,42	1,54	3,54	< LQ
M4	11,3	< LQ	15,0	0,52	9,24	8,52	< LQ	< LQ
V1	7,65	< LQ	NV	3,42	6,95	7,03	8,54	< LQ
V2	11,3	< LQ	NV	5,81	4,76	11,8	< LQ	< LQ
V3	12,0	< LQ	NV	0,59	11,1	11,5	< LQ	14,5
V4	13,3	< LQ	NV	0,63	6,91	11,3	11,8	< LQ

*< LQ: abaixo do limite de quantificação (LQ); NV: Procedimento não validado para determinação de Fe em vinagres de vinho tinto

Fonte: A autora (2024)

É necessário destacar que a Instrução Normativa nº 160, de 1º de julho de 2022, publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), estabelece os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos (BRASIL, 2022). Apesar de apresentar limites máximos para os teores de As, Cd, Cu, Cr, Pb, Hg, Sn para vários alimentos, ela não contém os limites máximos para esses contaminantes em amostras de vinagres. De acordo com o governo espanhol, em amostra de vinagres, os níveis de As e Pb não deve exceder $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, enquanto que os níveis de Hg devem limitar-se a $0,05 \text{ mg L}^{-1}$. Por sua vez níveis de Cu e Zn não devem exceder 10 mg L^{-1} (Ministerio de la Presidencia, 1993). Diante dos resultados apresentados na **Tabela 16**, verifica-se que nenhuma amostra ultrapassou esses limites.

Neste trabalho, as concentrações de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn encontram-se nos seguintes intervalos: $7,4 - 149 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, $<0,045 - 0,129 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, $<0,390 - 7,03 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, $<28,5 - 2097 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, $6,4 - 97 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, $<0,030 - 3,23 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, $<31,5 - 514 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, $<0,405 - 0,75 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Avaliando esses intervalos, verifica-se que a espécie com maior concentração foi K, seguido de Na, Ca e Mg. Em contrapartida, para os microminerais, a espécie com maior concentração foi Fe, seguido por Mn, Zn e Cu.

Antoniewicz *et al.* (2022), encontraram níveis de K de 936,07 a $1472,3 \text{ mg L}^{-1}$ em amostras de vinagres de uva caseiros, esses teores foram mais altos em comparação aqueles determinados por Akpinar-bayizit *et al.* (2010), que encontrou teor médio de $710,19 \pm 310,659 \text{ mg L}^{-1}$. Os teores de K encontrados para diferentes tipos de vinagres foram inferiores àqueles determinados por estes autores e variaram de 1,900 (para A2, A3, A4, M1) a $139,8 \text{ mg L}^{-1}$ (B3). Com relação aos teores de Na encontrou-se níveis abaixo de $2,10 \text{ mg L}^{-1}$ (para M2, M4, V2, V3) a $34,26 \text{ mg L}^{-1}$ para B1. Rizzon e Miele (1998) também encontraram teores baixo de Na, para vinagres de vinho branco foram encontradas concentrações entre $20 - 526 \text{ mg L}^{-1}$, enquanto que para vinagres de vinho tinto encontrou-se $20 - 557 \text{ mg L}^{-1}$, sendo portanto similar ao nível encontrado no presente trabalho. Esses teores majoritários de Na e K é consistente com outros trabalhos publicados na literatura (Akpinar-bayizit *et al.* 2010, Antoniewicz *et al.*, 2022; Ousaaaid *et al.*, 2022). A exemplo de Akpinar-bayizit acredita-se que a fonte desses minerais no vinagre seja ocasionada pela matéria-prima

utilizada no processo de fabricação, tais como uvas, maçãs e outras frutas, utilizadas na produção.

O teor mais elevado de Ca foi de $149 \mu\text{g g}^{-1}$, obtido para a amostra B1; por sua vez, a amostra B3 apresentou o maior nível de Mg, que foi equivalente a $97 \mu\text{g g}^{-1}$, sugerindo que amostras de vinagre balsâmico são ricas em Ca e Mg. De acordo com Marengo e Aceto (2003), o Ca, Mg e K são os elementos mais absorvidos pelas videiras. Neste trabalho, as concentrações de Ca variaram de $0,49 \text{ (A2)}$ até $9,93 \text{ mg L}^{-1}$ (B1); enquanto que as concentrações de Mg estiveram entre $0,43 \text{ (A2)}$ até $6,47 \text{ mg L}^{-1}$ (B3). Ozturk *et al.* (2015), ao realizar a caracterização de amostras de vinagres caseiros tradicionais produzidos na Turquia, encontraram concentrações variando de Ca entre $88,6$ a $931,90 \text{ mg L}^{-1}$, o que representa teores relativamente altos em comparação ao presente trabalho. Entretanto, teores de Mg entre $5,9$ a $9,3 \text{ mg L}^{-1}$ foram encontrados por Da Silva *et al.* (2007), o que é similar aos teores encontrados pela presente pesquisa.

De acordo com Paneque *et al.* (2017), os teores de Cu e Zn estão presentes naturalmente no solo, mas podem ser influenciados pela atividade agrícola, bem como pelo contato das superfícies metálicas dos tanques e tubos metálicos durante o processo de vinificação. Apenas nas amostras B1 e B2 encontrou-se teores de Cu, que foram, respectivamente, $0,119$ e $0,129 \mu\text{g g}^{-1}$, o que equivale a $0,0079$ e $0,0086 \text{ mg L}^{-1}$. O Zn também foi encontrado nas amostras B1, B2, B3 (nas concentrações em mg L^{-1} de $0,045$; $0,043$; $0,033$), bem como na amostra V3 com um teor elevado de $0,75 \mu\text{g g}^{-1}$ ou $0,050 \text{ mg L}^{-1}$ para a amostra V3. Similarmente ao presente trabalho, Akpinar-bayizit não encontrou teores de Zn para vinagre de maçã. A regulação espanhola estabelece que o teor total de Cu + Zn não deve exceder 10 mg L^{-1} . Os teores de Cu e Zn nas amostras foram, em geral, baixos, de modo que nenhuma das amostras excedeu esse nível.

Em relação ao Mn, os resultados demonstraram que a grande maioria das amostras apresentou teores deste elemento, com exceção de A3 e M1. Notavelmente, os vinagres balsâmicos se destacaram por exibirem os maiores teores, seguidos pelos vinagres de vinho. Segundo Da Silva *et al.* (2007), essa presença de Mn nas amostras pode ser explicada pela adição de ativadores para o crescimento de bactérias durante a fermentação alcoólica. Por outro lado, Guerrero *et al.* (1996) apontam que os níveis

de Mn nos vinagres tendem a ser baixos, o que é compatível com a presente pesquisa, e são influenciados principalmente pela presença de Mn no vinho, sendo este último uma característica da região de produção e de fungicidas ditiocarbâmicos adicionados.

Considerando os níveis de Fe, em geral, foram obtidos teores mais elevados para amostras de vinagres balsâmicos em comparação com vinagres de álcool e de maçã, o que é compatível com dados relatados na literatura (Artiles, 1998). A amostra com o maior teor de Fe foi B1, com um teor de $7,03 \mu\text{g g}^{-1}$ ou $0,49 \text{ mg L}^{-1}$. Esta concentração de ferro pode ser atribuída tanto a fontes naturais, como a absorção do mineral pelo solo por parte das uvas (*Vitis vinífera*) ou resíduos de partículas do solo, quanto a fontes artificiais, como equipamentos de vinificação e recipientes de aço (Marengo; Aceto, 2003).

Em relação aos vinagres de álcool, notou-se variação nos teores, expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$: Ca (7,4 - 27,3); Cu ($<0,045$), Fe ($<0,390 - 0,80$), K ($<28,5 - 32$), Mg (6,4 - 14), Mn ($<0,030 - 0,059$), Na (53,6 - 128), Zn ($<0,405$). Os teores de nutrientes para o vinagre branco ou destilado, conforme indicado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), são em $\mu\text{g g}^{-1}$: Ca (60), Cu (0,06), Fe (0,3), K (20), Mg (10), Mn (0,55), Na (20), Zn (0,1). Para Ca, Cu, Mn, os teores determinados na presente pesquisa encontram-se abaixo dos níveis estabelecidos pela instituição e Zn em todas as amostras, porém para Fe nas amostras A1, A2 e A4, bem como para K na amostra A1 e Mg na amostra A4 e Na em todas as amostras de vinagre de álcool, os teores encontram-se acima dos limites determinados pela instituição. Ressalta-se que a amostra A4 apresentou teor de Mg igual a $14 \mu\text{g g}^{-1}$, o que se aproxima dos resultados apontados pela USDA.

Os dados obtidos experimentalmente, bem como os dados da literatura (Artiles, 1998), que sugerem que vinagre de álcool apresentam níveis menores de elementos minerais. Uma vez que o vinagre branco destilado é elaborado a partir de álcool puro diluído em água, ao qual podem ser adicionados certos nutrientes, prática comum na indústria, infere-se que os baixos teores encontrados são resultantes do processo de fabricação (Heath, 1977).

O USDA aponta que o vinagre balsâmico apresenta os seguintes teores de minerais em $\mu\text{g g}^{-1}$: Ca (270); Cu (0,26); Fe (7,2 mg); K (1120 mg); Mg (120 mg); Na

(230 mg); Zn (0,8 mg). Para vinagre balsâmico, os teores obtidos neste trabalho variaram em $\mu\text{g g}^{-1}$ de: Ca (42,4 - 149); Cu (<0,045 - 0,129); Fe (3,09 -7,03); K (468 - 2097); Mg (22,7 - 97); Mn (1,42 - 3,23); Na (133 - 514); Zn (<0,405- 0,67). A amostra B1 apresentou teores de Fe similares aqueles apresentados pela instituição, níveis de K altos foram obtidos para as amostras B1, B2, B3, mas esses encontram-se próximos do teor esperado apenas para B1 e B2. Em relação a Na teores altos foram obtidos B1 e B3 e níveis baixos para B4, sendo B2 a amostra que apresenta teor mais próximo aquele determinado pela USDA. Para Ca, Cu, Mg e Zn, os teores determinados encontram-se abaixo do teor médio apontado. Pode-se inferir por meio da presente análise que vinagres balsâmicos são ricos em micro e microminerais. Uma vez que o vinagre aceto balsâmico é produzido a partir do mosto ou suco de uva, e tendo em vista que este é rico em Ca e K como elementos principais (Fabani *et al.*, 2009).

Para vinagres de maçã, os teores variaram em $\mu\text{g g}^{-1}$ de: Ca (16,6 - 43,3); Cu (<0,045); Fe (<0,390 - 1,76); K (<28,5 - 858); Mg (8,3 - 29); Mn (<0,030 - 0,70); Na (<31,5 -178); Zn (<0,405). De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA) os seguintes teores em $\mu\text{g g}^{-1}$ são esperados em vinagres de maçã: Ca (70); Cu (tr); Fe (2); K (730); Mg (50); Mn (2,5); Na (50); Zn (0,94). Nota-se que os teores determinados na presente pesquisa se encontram abaixo dos teores médios esperados para as espécies Ca, Fe, Mg, Mn, Zn. Porém destaca-se que os níveis de Cu são apontados como níveis traço, o que é similar a presente pesquisa, destaca-se também que teores de potássio similar aquele apontado pela TBCA foram determinados, além disso os teores de Na determinados na presente pesquisa é superior aquele determinado pela TBCA.

Nota-se também que os vinagres de maçã apresentaram altos teores de Na e K, como Akpinar-Bayizit acredita-se que esses teores sejam resultantes dos materiais utilizados no processo de fabricação, sejam eles uva, maçã e outras frutas. É necessário destacar ainda Ousaid *et al.* (2022) avaliaram o teor de elementos minerais em vinagre de maçã produzidos por métodos industriais; esses autores obtiveram os seguintes valores por elemento, em mg L^{-1} : Ca (3,21); Fe (0,11); K (37,87); Mg (3,72); Na (6,12); Zn (0,24). Esses teores são similares aos encontrados na presente pesquisa para Ca, Fe, K e Na; porém, os teores de Mg e Zn foram inferiores àqueles determinados pelos autores. Acrescenta-se também que os níveis

de Cd, Cr, Cu e Pb não foram encontrados pelos autores, o que também ocorreu na presente pesquisa.

Em vinagres de vinhos, os teores obtidos foram em $\mu\text{g g}^{-1}$: Ca (35,9 - 75,7); Cu (<0,045); K (458- 1010); Mg (26- 49); Na (<31,5 -180); Zn (<0,405 - 0,75). De acordo com USDA, em vinagres de vinho espera-se os seguintes teores minerais em $\mu\text{g g}^{-1}$: Ca (60); Cu (0,1); K (390); Mg (40); Na (80); Zn (0,3). Teores altos em comparação a USDA foram observados em: Ca (V2); K (V1, V2, V3, V4); Mg (V3); Na (V1, V4); Zn (V3). Observa-se ainda que as amostras apresentaram similares ou próximos aos teores médios determinados pela USDA foram: Ca (V2), K (V2), Mg (V3) e Mn (V4).

Os teores minerais encontrados na presente pesquisa para os elementos Ca, K e Mg em vinagres de vinho estão abaixo dos teores médios observados em estudos anteriores, como os de Paneque *et al.* (2017) e Antoniewicz *et al.* (2022). Essas diferenças podem ser atribuídas a uma variedade de fatores, incluindo as características das uvas utilizadas, os métodos de fermentação e maturação, as condições ambientais durante o cultivo e processamento das uvas, bem como as práticas de produção, como o tipo de solo, fertilizantes e técnicas de cultivo empregadas. A interação entre os componentes minerais na matéria-prima e os processos de fermentação e maturação também pode influenciar a composição mineral dos vinagres. No entanto destaca-se que vinagre de vinho apresentaram como elementos majoritários concentrações de K e Na, respectivamente. Como já mencionamos anteriormente, o K é o elemento mais abundante em vinagres de vinho, embora também possa aumentar devido a adição de metabissulfito, enquanto que Na provém naturalmente do Na ou é resultante da adição de cloreto, em tratamentos de salga.

É necessário acrescentar que a quarta e última versão da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2001), publicada em 2011 pela Universidade Estadual de Campinas através do Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA), não apresenta informações sobre a composição mineral de vinagres. No entanto, a TBCA, também chamada de Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, desenvolvida pela Universidade de São Paulo (USP) e pelo Food Research Center (FoRC), bem como pela Rede Brasileira de Dados de Composição de Alimentos (BRASILFOODS), contém alguns dados relevantes sobre a composição

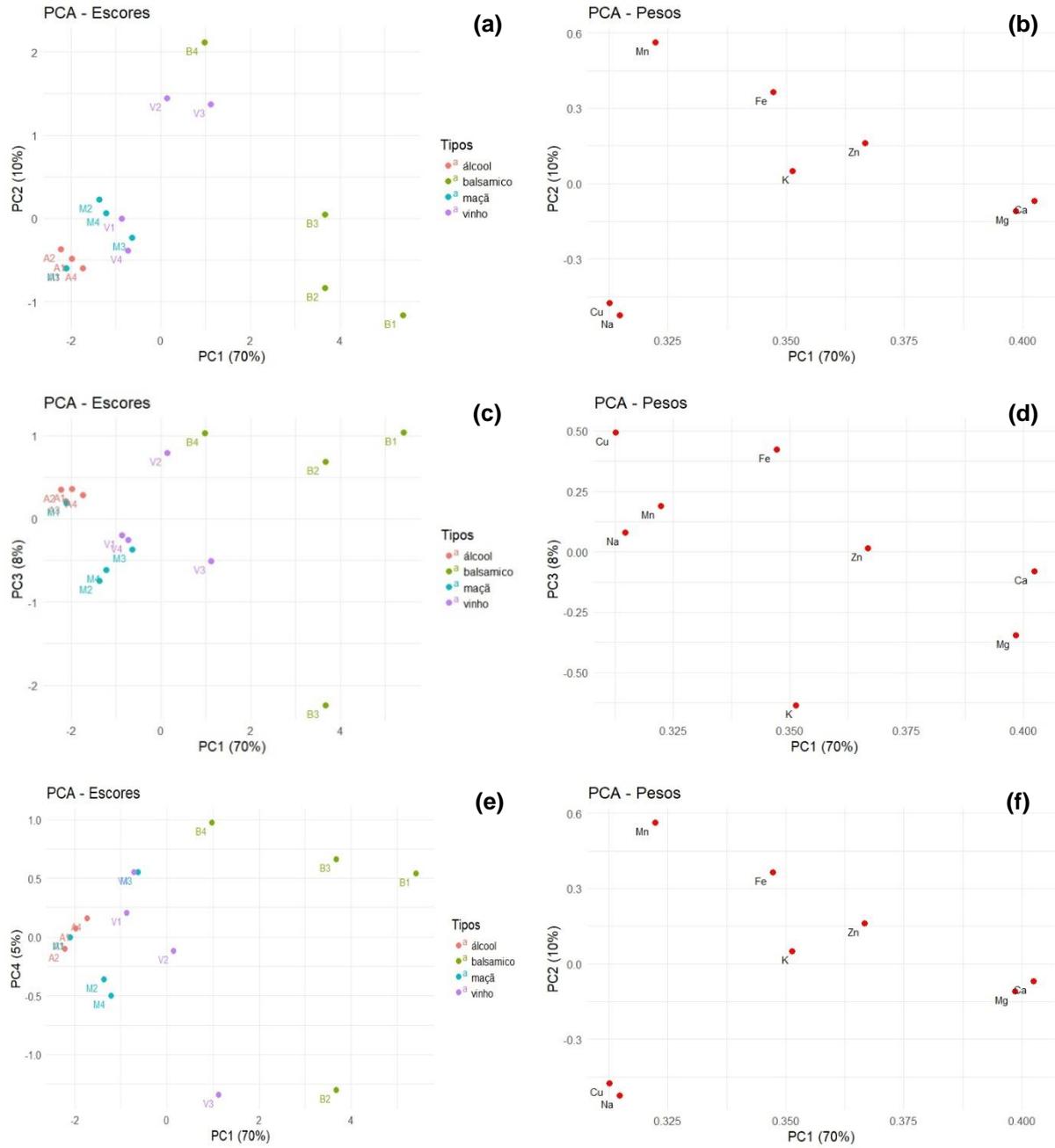
dessas amostras. Portanto o presente trabalho contribui para a geração de dados para a Tabela de Composição Química de alimentos e outros trabalhos.

De acordo com Da Silva *et al.* (2007), ao consumir 5 mL de vinagre por dia, as quantidades dos elementos analisados (como metais ou compostos) ingeridas são substancialmente inferiores aos valores considerados seguros e adequados para a ingestão diária, conforme as recomendações nutricionais.

5.5 ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS DADOS EMPREGANDO PCA

A análise por componentes principais auxiliou na interpretação de informações sobre a composição dos vinagres em relação aos elementos minerais presentes nas amostras, mostrada na **Figura 21**. A primeira componente principal (PC) explicou 70 % da variância total dos dados, enquanto a segunda, 10 %, a terceira, 8 %, e a quarta, 5%, totalizando aproximadamente 95 % da variância explicada, sem presença de amostras anômalas.

Figura 21 – Escores e pesos da PCA para dados de elementos minerais presentes nas amostras de acordo com tipos de vinagre. (a) Escores de PC1xPC2; (b) Pesos de PC1xPC2; (c) Escores de PC1xPC3; (d) Pesos de PC1xPC3; (e) Escores PC1xPC4; (f) Pesos PC1xPC4



Fonte: A autora (2024)

Os gráficos de escores apresentaram agrupamentos das amostras referentes ao mesmo tipo de vinagre, na **Figura 21 (a)** é mais perceptível o agrupamento dos vinagres balsâmicos em relação aos demais, devido aos altos teores de Mg e Zn, apresentados na **Figura 20(b)**. Esse agrupamento se tornou mais perceptível pela PC3, em **20(c)**, considerando também a influência de Ca e Fe nessas amostras de balsâmico. Assim como, os agrupamentos das amostras de vinagres de vinho e maçã se aproximaram em relação a presença de K, apresentando teores intermediários em relação os balsâmicos e alcoólicos, conforme apresentado **Figura 20 (c)** e **Figura (d)**. Aparentemente, os elementos Mn, Na e Cu não contribuíram significativamente na variabilidade dos dados considerando os resultados obtidos pela análise exploratória dos dados.

A Análise de Componentes Principais (PCA) indica que a riqueza de elementos minerais em amostras de vinagres balsâmicos, previamente mencionada na seção 5.4, é responsável pela distinção em um grupo específico. Acredita-se que os altos teores de minerais característicos dessas amostras contribuem para essa distinção. Também se infere pela PCA que os vinagres de álcool e de maçã podem apresentar composição mineral similar, uma vez que formam um grupo com características semelhantes.

Visando à distinção evidente dos padrões de comportamento das amostras, outras estratégias quimiométricas poderiam ser adotadas, como a Análise Hierárquica de Cluster (HCA) ou mesmo técnicas supervisionadas, como a Análise Discriminante Linear (LDA). Também se destaca a necessidade de aumentar o número de amostras, uma vez que a adição de mais dados pode ajudar a aumentar a variabilidade e facilitar a identificação de padrões pela PCA.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi proposto um procedimento de decomposição assistido por micro-ondas para amostras de vinagres usando ácido nítrico diluído e peróxido de hidrogênio como reagente oxidante auxiliar. Um planejamento fatorial de dois níveis, com três repetições no ponto central e três variáveis – massa de amostra, temperatura de decomposição e concentração de HNO_3 - foi empregado para determinar a melhor condição de decomposição das amostras de vinagres.

A inspeção visual dos digeridos apontou o Ensaio 7 como a condição ótima, que permitiu obter digeridos com teor médio de carbono residual e de acidez residual de 13,6% e 0,73%, respectivamente. As condições experimentais otimizadas foram: 1,0 g de amostra, temperatura de 200 °C e uma mistura digestora contendo 1 mL de H_2O_2 e 7 mL de HNO_3 em uma concentração de 0,3 mol L^{-1} .

Os fatores significativos para o RCC foram: o efeito principal da massa (A) e da temperatura (B), bem como o efeito de interação entre massa e temperatura (AB) e os efeitos de interação entre massa, temperatura e concentração de HNO_3 (ABC). Por sua vez, considerando a RA, verificou-se que apenas a interação entre massa (A) e concentração de HNO_3 (C) não foi significativa. Verificou-se ainda que a magnitude dos demais efeitos era pequena quando comparada com o efeito principal da massa (A).

O procedimento otimizado permitiu a obtenção de LD entre 0,015 a 1,14 $\mu\text{g g}^{-1}$ para os analitos (Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn) em ICP OES e LD de 9,49 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 10,5 $\mu\text{g g}^{-1}$, para K e Na, respectivamente, determinados no fotômetro de chama. As curvas analíticas foram lineares com coeficientes de correlação superiores a 0,9976.

Após a validação, o procedimento foi aplicado a 16 amostras de vinagre o que permitiu determinar as concentrações de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn que encontram-se nos seguintes intervalos: 7,4 - 149 $\mu\text{g g}^{-1}$, <0,045 - 0,129 $\mu\text{g g}^{-1}$, <0,390 - 7,03 $\mu\text{g g}^{-1}$, <28,5 - 2097 $\mu\text{g g}^{-1}$, 6,4 - 97 $\mu\text{g g}^{-1}$, <0,030 - 3,23 $\mu\text{g g}^{-1}$, <31,5 - 514 $\mu\text{g g}^{-1}$, <0,405 - 0,75 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

Em relação à PCA, notou-se que aproximadamente 95% da variância total foi explicada pelas quatro primeiras componentes principais: a primeira explicou 70%, a

segunda 10%, a terceira 8% e a quarta 5%. Além disso, não foram observadas amostras anômalas.

7 PERSPECTIVAS

Realizar a determinação dos níveis de Cd, Co, Cr, Ni, Pb em amostras de vinagres através de uma técnica cuja sensibilidade seja alta, como ICP-MS. Além disso, pode-se aumentar o número de amostras a fim de ampliar a variabilidade dos dados, possibilitando assim a identificação de padrões pela PCA.

REFERÊNCIAS

- ABDUL, K.S.M.; JAYASINGHE, S.S.; . CHANDANA, E.P.S.; JAYASUMANA, C.; SILVA, P.M.C.S. Arsenic and human health effects: A review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.40, n.3, p.828-846, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.09.016>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668915300946>. Acesso em: 24 out. 2023.
- ACAR, O.; TUNÇELI, A.; TÜRKER , A.R. Comparison of Wet and Microwave Digestion Methods for the Determination of Copper, Iron and Zinc in Some Food Samples by FAAS. **Food Analytical Methods**, v.8, p. 3201–3208, 2016 . DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0516-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-016-0516-4#citeas>. Acesso: 24 out. 2023.
- ARTILES, A.; ROMERO, D .; DE LA TORRE, A.H. Concentration levels of metals in different types of vinegars. **Die Nahrung**, v. 73, p. 72-73, 1993.
- ADAMS, M.R.; MOSS, M.O. Fermented and Microbial Foods. In: ADAMS, M.R.; MOSS, M.O. **Food Microbiology**. 3.ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2007, p.310-362. ISBN 978-0854042845.
- ADAMS, MR. Vinegar. In: BATT, C.A.; TORTORELLO, M.L. **Encyclopedia of Food Microbiology**. 2. ed. Cambridge: Academic Press, 2014, 717-721. ISBN 978-0123847300.
- AKKUŞ, Memiş .; AKÇAY, Çağlar .; YALÇIN, Mesut .Antifungal and larvicidal effects of wood vinegar on wood-destroying fungi and insects. **Maderas. Ciencia y tecnologia**, v.24, n.37, p.1-10, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-221x2022000100437>. Disponível em: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718221X2022000100437#:~:text=According%20to%20the%20results%2C%20the,%3B%20wood%20preservati on%3B%20wood%20vinegar. Acesso em: 18 jul. 2023.
- AKPINAR-BAYIZIT, A.; TURAN, M. A.; YILMAZ-ERSAN, L.; TABAN, N. Inductively Coupled Plasma Optical-Emission Spectroscopy Determination of Major and Minor Elements in Vinegar. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 38, n. 3, p. 64–68, 2010. DOI: <https://doi.org/10.15835/nbha3834618>. Disponível em: <https://www.notulaebotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/4618>. Acesso em: 14 jul. 2023.
- ALEGRÍA, A.; CILLA, A.; FARRÉ, R.; LAGARDA, M.J. Inorganic Nutrients. In: NOLLET, L.M.L.; TOLDRÁ, F. BOCA RATON. **Handbook of Food Analysis**. 3. ed. Boca Raton: CRC PRESS, 2015, p.733-748, v.1. ISBN 978-1466556560.
- ALTIKULAÇ, A.; TURHAN, Ş. Assessment of the Levels of Potentially Toxic Elements Contained in Natural Bentonites Collected from Quarries in Turkey. **ACS Omega**, v.8, n.23, p. 20979-20986, 2023. DOI:

<https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01773>. Disponível em:
<https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsomega.3c01773>. Acesso em: 05 out. 2023.

ANDRADE, T.B.M. **Desenvolvimento de Métodos de Digestão Empregando Ácido Diluído e de Análise Química por EDXRF para a Batata-doce**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

ANTONIEWICZ, J.; JAKUBCZYK, K.; KUPNICKA, P.; BOSIACKI, M.; CHLUBEK, D.; JANDA, K. Analysis of Selected Minerals in Homemade Grape Vinegars Obtained by Spontaneous Fermentation. **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 2, p. 910-919, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/00032719.2020.1854777>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00032719.2020.1854777>. Acesso em: 28 nov.2023.

ANTONY, J. Fundamentals of design of experiments. In: ANTONY, JIJU. **Design of Experiments for Engineers and Scientists**. Estados Unidos: Elsevier, 2023. p.7-18. ISBN 0443151733,9780443151736.

AQUARONE, E.; LIMA, U. de A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: Edgar Blucher, 1983.

ARAÚJO, C.L.; GONZALEZ, M.H.; FERREIRA, A.G.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, V.57, N.12, p.2121-2132, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(02\)00164-7](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(02)00164-7). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0584854702001647>. Acesso em: 02.nov 2023.

ARRUDA, M.A. Z. ; SANTELLI, R.E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. **Química Nova**, v. 20, n.6, p. 638-643, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421997000600012>. Disponível em: <
<https://www.scielo.br/j/qn/a/dfmyWHxp7zjgtJszFfSPLPR/#:~:text=Com%20a%20mecaniza%C3%A7%C3%A3o%20ou%20a,vis%C3%A3o%20mais%20hol%C3%ADstica%20do%20processo>>. Acesso em: 07 ago. 2023.

ASEJEJE, F.O.;IGHODARO, O.M.;ASEJEJE, G.I.; ADEOSUN, AM. Protective role of apple cider vinegar (APCV) in CCl4-induced renal damage in wistar rats. **Metabolism Open**, v. 8, n. 100063, p. 1-5, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.metop.2020.100063>. DISPONÍVEL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589936820300438>. Acesso em: 14 jul. 2023.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DAS INDÚSTRIAS DE VINAGRES (ANAV). Os tipos de vinagre. **ANAV**, São Paulo, 1999. Disponível em: https://www.anav.com.br/clipping_interna.php?id=26. Acesso em: 24 nov. 2023.

BABA, N.; HIGASHI, Y.; KANEKURA, T. Japanese Black Vinegar “Izumi” Inhibits the Proliferation of Human Squamous Cell Carcinoma Cells Via Necroptosis. **Nutrition and Cancer**, v.65, n.7, p.193-197, 2013. DOI: 10.1080/01635581.2013.815234.

Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01635581.2013.815234?journalCode=hnuc20>. Acesso em: 18 jul. 2023.

BAIRD, R.B.; EATON, A.D.; RICE, E.D. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22.ed. Washington: Brand: American Waterworks Association, 2012. ISBN 978-0875532875.

BAKIRCIOGLU, D.; KURTULUS, Y.B.; UCAR, GOKHAN. Determination of some traces metal levels in cheese samples packaged in plastic and tin containers by ICP-OES after dry, wet and microwave digestion. **Food and Chemical Toxicology**, v.49, n.1, p.202-207, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.017>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691510006290>. Acesso em: 02 nov. 2023.

BAKIRCIOGLU, D.; TOPRAKSEVER, N.; YURTSEVER, S.; KIZILDERE, M.; KURTULUS, Y.B. Investigation of macro, micro and toxic element concentrations of milk and fermented milks products by using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer, to improve food safety in Turkey. **Microchemical Journal**, v.136, p.133-138, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.10.014>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X16304672>. Acesso em: 02 out. 2023.

BARBOSA, AMANDA LAÍS. **Decomposição de amostras de denim para determinação da composição elementar via ICP OES**. 2022. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Pernambuco, 2022.

BARBOSA, J.T.P.; SANTOS, C.M.M.; PERALVA, V.N.; FLORES, E.M.M.; KORN, M.; NÓBREGA, J.A.; KORN, M.G.A. Microwave-assisted diluted acid digestion for trace elements analysis of edible soybean products. **Food Chemistry**, v.175, n.15, p.212-217, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.092>. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814614018214>>. Acesso em: 02 set. 2023.

BARELA, P.S.; SILVA, N.A.; PEREIRA, J.S.F.; MARQUES, J.C.; RODRIGUES, L.F.; MORAES, D.P. Microwave-assisted digestion using diluted nitric acid for further trace elements determination in biodiesel by SF-ICP-MS. **Fuel**, v.204, p.85-90, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.05.028>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016236117305938?via%3Dihub>. Acesso em: 10 nov. 2023.

BARELA, P.S.; SOUZA, J.P.; PEREIRA, J.S.F.; MARQUES, J.C.; MÜLLER, E.I.; MORAES, D.P. Development of a microwave-assisted ultraviolet digestion method for biodiesel and subsequent trace elements determination by SF-ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, n.6, v.33, p.1049-1056, 2018. DOI: 10.1039/C8JA00095F. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/ja/c8ja00095f>. Acesso: 29 nov.2023.

BARNABA, C.; DELLACASSA, E.; NICOLINI, G.; NARDIN, T.; MALACARNE, M.; LARCHER, R. Identification and quantification of 56 targeted phenols in wines,

spirits, and vinegars by online solid-phase extraction – ultrahigh-performance liquid chromatography – quadrupole-orbitrap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1423, p.124-135, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.10.085>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967315015733>. Acesso em: 29 nov.2023.

BARRECA, S.; ORECCHIO, S.; ABBATE, I.; PELLERITO, C. Macro and micro elements in traditional meals of Mediterranean diet: Determination, estimated intake by population, risk assessment and chemometric analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.123, n. 105541, p.1-16, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105541>. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157523004155>. Acesso em: 29 set. 2023.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como a Estatística pode ajudar. In: BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010.p. 2-5. ISBN 978-8577806522.

BEGEROW, J.; DUNEMANN, L. Sampling and Sample Preparation Practical Guide for Analytical Chemists. In: STOEPLER, M. **Microwave-Assisted Decomposition**. Alemanha: Springer, 1997. p.155-166. ISBN 978-3-642-60632-8.

BEHERA, S.S.; RAY, R.C. Forest Bioresources for Bioethanol and Biodiesel Production With Emphasis on Mohua (*Madhuca latifolia* L.) Flowers and Seeds. In: RAY, R.C.; RAMACHANDRAN, S. **Bioethanol Production from Food Crops Sustainable Sources, Interventions, and Challenges**. Boca Raton: Academic Press, 2019, p. 233-247. ISBN 978-0-12-813766-6.

BEKATOROU, A. Current Industrial Vinegar Production Acetators, Processes, and Consumables. In: BEKATOROU, A. **Advances in Vinegar Production**. Boca Raton: Academic Press, 2019, p.84-115. ISBN 978-0815365990.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. Minerals. In: BELITZ, H.D.; GROSCH, W. **Food Chemistry**. 2. ed. Berlim: Heidelberg, 1999, p. 395-401. ISBN 978-3540646921.

BIZZI, C.A.; BARIN, J.S.; GARCIA, E.E.; NÓBREGA, J.A.; DRESSLER, V.L.; FLORES, E.M.M. Improvement of microwave-assisted digestion of milk powder with diluted nitric acid using oxygen as auxiliary reagent. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v.66, n.5, p. 394-398, 2011b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2011.04.013>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0584854711000929>. Acesso em: 10 nov.2023.

BIZZI, C.A.; FLORES, E.L.M.; NÓBREGA, J.A.; OLIVEIRA, J.S.S.; SCHMIDT, L.; MORTARID, S.R. Evaluation of a digestion procedure based on the use of diluted nitric acid solutions and H₂O₂ for the multielement determination of whole milk powder and bovine liver by ICP-based techniques. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 29, n. 2, p. 332-338, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3JA50330E>. Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/ja/c3ja50330e/unauth>. Acesso em: 10 nov.2023.

BIZZI, C.A.; FLORES, E.M.M. ; PICOLOTO, R.S. ; BARIN, S.B.; NÓBREGA, J.A. Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid. **Anal. Methods**, v.2, n.6, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1039/C0AY00059K>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/ay/c0ay00059k>. Acesso em: 10 nov.2023.

BIZZI, C.A.; FLORES, E.M.M.; BARIN, J.S.; GARCIA, E.E.; NÓBREGA, J.A. Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. **Microchemical Journal**, v.99, n.2, p.193-196, 2011a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.05.002>. Disponível em : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X11000841>. Acesso em : 10 nov.2023.

BIZZI, C.A.; FLORES, E.M.M.; MESKO, M.F. Microwaves in sample preparation for elemental determination. In: GRAVOTTO, G.; CARNAROGLIO. **Microwave Chemistry**. De Gruyter: Germany, 2017, p. 452-487. ISBN 9781351240482.

BIZZI, C.A.; NÓBREGA, J.A.; BARIN, J.S. Diluted Acids in Microwave Assisted Wet Digestion. In: FLORES, E.M.M (Ed). **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**. Santa Maria: Elsevier, 2014, p. 179-204. ISBN 978-0444594204.

BOYLE, M. The Basics of Understanding Nutrition . In: BOYLE, M. **Personal Nutrition**. 11.ed. Estados Unidos: Cengage Learning, 2022, p.3-27. ISBN 9780357446935.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. **Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a Padronização, a Classificação, o Registro, a Inspeção, a Produção e a Fiscalização de Bebidas**.Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 4 jul. 2009

BRASIL. Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC No 166, de 24 de julho de 2017. **Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 25 julho 2017

BRASIL. Ministério da Saúde-Agência Nacional de Vigilância Sanitária. INSTRUÇÃO Nº 160, DE 1º DE JULHO DE 2022. **Estabelece os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 06 julho 2022.

BRERETON, R.G. Introduction. In: BRERETON, R.G. **Chemometrics: data driven extraction for Science**. 2. ed. Estados Unidos: Wiley, 2018.p. 21-30. ISBN 978-1118904664.

BRESSY, F.C.; BRITO, G.B.; BARBOSA, I.S.; TEIXEIRA, L.S.G.; KORN, M.G.A. Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages

of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion. **Microchemical Journal**, v.109, 2013, p.145-149. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.03.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X12000562>. Acesso em: 26 out. 2023.

BUDAK, N.H.; AYKIN, E.; SEYDIM, A.C.; GREENE, A.K.; GUZEL-SEYDIM, Z.B. Functional Properties of Vinegar. **Journal of Food Science**, v.79, n.5, p.57-64, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12434>. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1750-3841.12434>. Acesso em: 18 jul. 2023.

CANDIOTI, L.V. ; ZAN, M.M. ; CAMARA, M.S. ; GOICOECHEA, H.C. Experimental design and multiple response optimization. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. **Talanta**, v.124, p. 123-138, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.034>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914014000459?via%3Dihub>. Acesso em: 12 jan.2024.

CAPASSO, A.; LOIZZO, A.; CAROLI, S. .Potentially toxic elements, pollution and hair. In: PREEDY, V.R. **Handbook of hair in health and disease**. Netherlands : Wageningen Academic Publishers, p.297-315, 2012. ISBN: 978-9086861743.

CARLSON, R.; CARLSON, J.E. The Study of Experimental Factors. In: BROWN, S.; TAULER, R.; WALCZAK, B. **Comprehensive Chemometrics**. Estados Unidos: Elsevier, 2020. p.252-285. ISBN 978-0-444-64166-3.

CASTRO, J.T.; SANTOS, E.C.; SANTOS, W.P.C.; COSTA, L.M.; KORN, M.; NÓBREGA, J.A.; KORN, M.G.A. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v.78, n.4-5, p. 1378-1382, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.02.030>. Acesso em: 02. nov 2023.

CASTRO, M.D.L.; PRIEGO-CAPOTE. Microwave-Assisted Extraction. In: LEBOVKA, N.; VOROBIEV, E.; CHEMAT, F. **Enhancing Extraction Processes in the Food Industry**. BOCA RATON: CRC PRESS, 2012, p.85-122. ISBN 978-1138199330.

CERVEIRA, C.; HERMANN, P.R.S.; PEREIRA, J.S.F.; POZEBON, D.; MESKO, M.F.; MORAES, D.P. Evaluation of microwave-assisted ultraviolet digestion method for rice and wheat for subsequent spectrometric determination of As, Cd, Hg and Pb. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.92, n. 103585, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103585>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157520304750>. Acesso em: 07 jan.2023.

CHANDRASEKARAN, S.; RAMANATHAN, S.; BASAK, T. Microwave food processing—A review. **Food Research International**, v.52, n.1, p. 243-261, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.033>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913001385?casa_token=

H58Raoa9wokAAAAA:aOV0OPx4XrZEaqbTO79jyIMtKYSRR2gYtYnpj5qzvAfxdv2AXHaKx7G7ZurGy9w7H1VzTKKky5w#s0005. Acesso em: 11 out.2023.

CHEN, LU.; DING, M.; ZENGMEI, L.; DENG, L. Determination of macro, micro and toxic element concentrations in peanuts from main peanut producing areas of China by ICP-MS: a pilot study on the geographical characterization. **RSC Advances**, v. 12, n. 26, p. 16790-16797, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1039/D2RA02148J>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2022/ra/d2ra02148j>. Acesso em: 08 out.2023.

CHERYAN, M. Acetic Acid Production. In: SCHAECHTER, M. **Encyclopedia of Microbiology**. 3.ed. Cambridge: Academic Press, 2009, p.144-149. ISBN 0123739403.

CLARK, D.E.; FOLZ, D.C.; WEST, J.K Processing materials with microwave energy. **Materials Science and Engineering: A**, v.287, n.2, p.153-158, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0921-5093\(00\)00768-1](https://doi.org/10.1016/S0921-5093(00)00768-1). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921509300007681>. Acesso em: 13 out. 2023.

COELHO, T.L.S.; SILVA, D.S.N.; SOUZA FILHO, L.B.;ROCHA, J.M.; HIGUERA, J.M.H.; SÁ, I.P.; GAMELA, R.R.; NOGUEIRA, A.R.A.; LOPES JUNIOR, C.A.; VIEIRA, E.C. High enhancement of macro and micronutrients quantification in Cajuína by ICP OES using ultrasound and multivariate analysis. **Food Chemistry Advances**, v.2, n. 100265, p.1-8, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100265>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772753X23000850>. Acesso em: 13 out. 2023.

CONNER, H.A.; ALLGEIER, R.J. Vinegar: Its History and Development. In: PERLMAN, D. **Advances in Applied Microbiology**. Cambridge: Academic Press, 1976, v. 20, p.81-133. ISBN 9780080564340.

CORREIA, F.O.; SILVA, D.S.; COSTA, S.S.L.; SILVA, I.K.V.; SILVA, D.R.; ALVES, J.P.H.; GARCIA, C.A.B.; MARANHÃO, T.A.; PASSOS, E.A.; ARAUJO, R.G.O. Optimization of microwave digestion and inductively coupled plasma-based methods to characterize cassava, corn and wheat flours using chemometrics. **Microchemical Journal**, v.135, p.190-198, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.09.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X17301443>. Acesso em: 14 jul. 2023.

DA SILVA, I.J.S.; LAVORANTE, A.F.; PAIM, A.P.S.; DA SILVA, M.J. Microwave-assisted digestion employing diluted nitric acid for mineral determination in rice by ICP OES. **Food Chemistry**, v.319, n.126435, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126435>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620302971>. Acesso em: 08 nov. 2023.

DA SILVA, J.C.J.; CADORE.S.; NÓBREGA, J.A.; BACCAN, N. Dilute-and-shoot procedure for the determination of mineral constituents in vinegar samples by axially

viewed inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Food Additives and Contaminants**, v.24, n. 2, p.130-139, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/02652030600931970>. Disponível: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02652030600931970>. Acesso em: 14 jul 2023.

DAS, A.K.; DEWANJEE, S. Optimization of Extraction Using Mathematical Models and Computation. In: SARKER, S.D.; NAHAR, L. **Computational Phytochemistry**. Cidade: Elsevier, 2018, p.75-106. ISBN 978-0-12-812364-5.

DEBRUYNE, L.K.; PINNA, K. Overview of Nutrition and Health. In: DEBRUYNE, L.K.; PINNA, K. **Nutrition for Health and Health Care**. 8. ed. Estados Unidos: Cengage Learning, 2022, p.1-36. ISBN 978-0357730317.

DRAGO, S.R. Minerals. In: GALANAKIS, C.M. **Nutraceutical and Functional Food Components Effects of Innovative Processing Techniques**. Cambridge : Academic Press, 2017, p.129-157. ISBN 978-0128052570.

DRISKELL, J. A. Introduction. In: DRISKELL, J. A. **Sports Nutrition Nutrition in exercise and sport**. Boca Raton: CRC PRESS, 2000, p.5-7. ISBN 9780849381973, 0849381975.

ELJARRAT, E. Methodologies for Sample Preservation and Stabilization. In: PAWLISZYN, J.; BAYONA, J.M.; LORD, H.L.; LE, X.C.; MONDELLO, L. **Comprehensive sampling and sample preparation: analytical techniques for scientists**, 2012, p. 31-49. ISBN 978-0123813732

EMDE, F. Vinegar. In: ELVERS, B. **Ullmann's Food and Feed**.1.ed. Alemanha:Wiley-VCH, 2017, p.989-1009. ISBN: **978-3527339907**.

ESPAÑA. Real Decreto 2070/1993, de 26 de Noviembre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración y comercialización de los vinagres. **Boletín Oficial del Estado**, Madrid, n. 293, p. 34764-34768, 8 dic. 1993.

EVANS, E.H.; FOULKES, M.E. Sampling. In: EVANS, E.H.; FOULKES, M.E. **Analytical Chemistry: A Practical Approach**. Reino Unido: Oxford University Press, 2019, p.17-38. ISBN ISBN 9780199651719.

FABANI, M.P.; TORO, M.E.; VÁZQUEZ, F.; DÍAZ, M.P.; WUNDERLIN, D.A. Differential Absorption of Metals from Soil to Diverse Vine Varieties from the Valley of Tulum (Argentina): Consequences To Evaluate Wine Provenance. *J. Agric. Food Chem*, V.57, p. 7409–7416, 2009. DOI:10.1021/jf901572k. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/epdf/10.1021/jf901572k>. Acesso em: 18 de jan.2024.

FECHER, P.A.; SCHLEMMER, G.C.; SCHOEBERL, K.S. Safety Aspects, Quality Control, and Quality Assurance using Microwave-Assisted Sample Preparation Systems. In: FLORES, E.M.M. **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**. 1.ed. Elsevier, 2014, p.345-384. ISBN 978-0444594204.

FERREIRA, N.; HENRIQUES, B.; VIANA, T.; CARVALHO, L.; TAVARES, D.; PINTO, J.; JACINTO, J.; COLONIA, J.; PEREIRA, E. Validation of a methodology to quantify macro, micro, and potentially toxic elements in food matrices. **Food Chemistry**,

v.404, part.B, n. 134669,p. 1-9, 2023. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134669>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814622026310>. Acesso em:
13 out. 2023.

FERREIRA, S.L.C.; SILVA JUNIOR, M.M.; FELIX, C.S.A .; DA SILVA, D.L.F.; SANTOS, A.S.; SANTOS NETO, J.H .; SOUZA, C.T.; CRUZ JUNIOR, R.A.; SOUZA, A.S. Multivariate optimization techniques in food analysis – A review. **Food Chemistry**, v.273, p.3-8, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.114>. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617319337>. Acesso em: 13 out. 2023.

FU, LIANG.; NIE, XI-DU.; XIE, HUAN-LIN.; FERRO, M.D. Rapid multi-element analysis of Chinese vinegar by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. **European Food Research and Technology**, v.237, n.5, 2013, p. 795–800. DOI: 10.1007/s00217-013-2056-0. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-013-2056-0#citeas>. Acesso em: 26 out.2023.

GARCIA-PARRILA, M.C.; TORRIJA, M.J.; MAS, A.; CEREZO, A.B.; TRONCOSO, A.M. Vinegars and Other Fermented Condiments. In: FRIAS, J.; MARTINEZ-VILLALUENGA, C.; PEÑAS, E. **Fermented Foods in Health and Disease Prevention**. London: Academic Press, 2017, p. 577-591. ISBN 978-0-12-802549-9

GHEFLATI, A.; BASHIRI, R.; GHADIRI-ANARI, A.; REZA, J.Z.; KORD, M.T.; NADJARZADEH. The effect of apple vinegar consumption on glycemic indices, blood pressure, oxidative stress, and homocysteine in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia: A randomized controlled clinical trial. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 33, p.132-138, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2019.06.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2405457719301263>. Acesso em: 14 jul.2023.

GIDLOW, D.A. Lead toxicity. **Occupational Medicine**, v.65, n.9, p. 348–356, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/occmed/kqv018>. Disponível em: <https://academic.oup.com/occmed/article/65/5/348/1425465>. Acesso: 06 out.2023.

GIUDICI, P; LEMMETTI, F; MAZZA, Stefano. The Balsamic Family. In: GIUDICI, Paolo; LEMMETTI, Federico; MAZZA, Stefano. **Balsamic Vinegars Tradition, Technology, Trade**. Cham: Springer, 2015, p.33-59. ISBN 978-3-319-13758-2.

GIUDICI, P.; DE VERO, L.; GULLO, M. Vinegars. In: SENGUN, I.Y.Acetic Acid Bacteria Fundamentals and Food Applications. 1.ed. Boca Raton: CRC PRESS, 261-287, 2017. ISBN 9781315153490.

GODT, T.; SCHEIDIG, F.; GROSSE-SIESTRUP, C.; ESCHE, V.; BRANDENBURG, P.; REICH, A.; GRONEBERG, D.A. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. **Journal of Occupational Medicine and Toxicology**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2006. DOI :10.1186/1745-6673-1-22. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16961932/>. Acesso em: 06 out. 2023.

GOHIL, K.; CHANDARANA, K.A.; CHANDWANI, S.; JAWAHAR, G.; AMARESAN, NATARAJAN. Production, Cost Analysis, and Marketing of Acetic Acid (Vinegar). In: AMARESAN, N.; DHARUMADURAI, D.; CUNDELL, D.R. **Industrial Microbiology Based Entrepreneurship Making Money from Microbes**. v.42. Singapura: Springer, 2022, p.93-115. ISBN 9789811966644.

GONZÁLEZ, A.M.T; CHOZAS, M. G. Metallic contaminants in Andalusian vinegars. **Die Nahrung**, v.32, n. 8, p.743 – 748, 1988. DOI: 10.1002/food.19880320809. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3231260/>. Acesso em: 10 fev.2024.

GONZALEZ, M.H.; SOUZA, G.B.; OLIVEIRA, R.V.; FORATO, L.A.; NÓBREGA, J.A.; NOGUEIRA, A.R.A. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. **Talanta**, v.79, n.2, 396-401, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.04.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914009002896>. Acesso em: 31 out.2023.

GONZÁLVEZ, A.; ARMENTA, S.; LA GUARDIA, M. Mineral content of seasonings, salt and vinegar. In: LA GUARDIA, M. ;GARRIGUES, S.**Handbook of Mineral Elements in Food**.1. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015, p.1-21. ISBN 9781118654361.

GOUVEIA, S.T.; SILVA, F.V.; COSTA, L.M.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Determination of residual carbon by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry with axial and radial view configurations. **Analytica Chimica Acta**, v.445, n.2, p.269-275, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01255-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01255-7). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003267001012557>. Acesso em: 14 nov.2023.

GUAN, B.; ZHAO, J.; CAI, MINGJING, LIN, H.; YAO, L ; SUN, L. Analysis of volatile organic compounds from Chinese vinegar substrate during solid-state fermentation using a colorimetric sensor array. **Anal. Methods**, v.6, n.23, p. 9383-9391, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1039/C4AY01010H>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/ay/c4ay01010h/unauth>. Acesso em: 29 out.2023.

GUDE, V.G.; PATIL, P.; MARTINEZ-GUERRA, E.; DENG, S.; NIRMALAKHANDAN, N. Microwave energy potential for biodiesel production. **Sustain chem process**, n.5, p.1-3, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1186/2043-7129-1-5>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-016-0516-4#citeas>. Acesso em: 24 out.2023.

GUERRERO, M. I. et al. Mineral elements in wine vinegars made by traditional methods. **Sciences des Aliments**, v. 16, n. 2, p. 143-149, 1996.

GUIZANI, N.; MOTHERSHAW, A. Fermentation. In: HUI, Y.H. **HANDBOOK OF FOOD SCIENCE, TECHNOLOGY, AND ENGINEERING**. Boca Raton: CRC Press, 2006, p. 2-21. ISBN 9780849398476.

GULLO, M.; VERZELLONI, E.; CANONICO, M. Aerobic submerged fermentation by acetic acid bacteria for vinegar production: **Process and biotechnological aspects**. **Process Biochemistry**, v.49, n.10, p.1571-1579, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.07.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359511314003882?via%3Di> hub. Acesso: 21 out.2023.

HANEKAMP, J. C.; SCHWITTERS, B. New RDAs and Intended Normal Use (Part II)—Efficient Tools in the Universal Management of Risks and Benefits of Micronutrients. In: BOISROBERT, C.E.; STJEPANOVIC, A.; LELIEVELD, H.L.M. Ensuring Global Food Safety. 1.ed. **Cambridge**: Academic Press, 2010, p.312-331. ISBN 978-0-12-374845-4.

HAQUE, K.E. Microwave energy for mineral treatment processes —a brief review. **International Journal of Mineral Processing**, v.57, n.1, p.1-24, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0301-7516\(99\)00009-5](https://doi.org/10.1016/S0301-7516(99)00009-5). Disponível: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301751699000095?casa_token=xvLBhzd5k_oAAAAA:5zhM3PBFAYOvug2uZ_eV0eGB1kVFSNX7f7pwaKq08hBbsQi4ByTOGerXIF38vLPB3SMlsmLLpVs. Acesso em: 24 out.2023.

HARTWIG, A.; JAHNKE, G. Toxic Metals and Metalloids in Foods. In: SCHRENK, D.; CARTUS, A. **Chemical Contaminants and Residues in Food**. 2.ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2017, p.209-222. ISBN 978-0081006740.

HEATH, H. B. Flavorings, condiments and relishes. IN: DESROSIER, N.W.; DEROSSIER, N. **Elements of food technology**. 4.ed. Wesport: Avi Pub Co, 1977, p. 666-701. ISBN 978-0870552458.

HILÁRIO, F.F.; CASTRO, J.P.; BARROS, T.E.; PEREIRA-FILHO, E.R. Planejamento de misturas e visualização da região ótima com planilhas no excel: um tutorial. **Química Nova**, v. 44, n.7, p. 874-881, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170750>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/hhF6dvGsddFYhY3kfPD8YdL/?lang=pt>. Acesso em: 12 jan.2024.

HO, C.W.; LAZIM, A.M.; FAZRY, S.; ZAKI, U.K.H.H.; LIM, S.J. Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. **Food Chemistry**, v.221, p. 1621-1630, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.128>. Disponível: <https://www-sciencedirect.ez16.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814616318076>. Acesso em: 17 out. 2023.

HONG, Y.S.; CHOI, J.Y.; NHO, E.Y.; HWANG, I.M.; KHAN, N.; JAMILA, N.; KIM, K.S. Determination of macro, micro and trace elements in citrus fruits by inductively coupled plasma–optical emission spectrometry (ICP-OES), ICP–mass spectrometry and direct mercury analyzer. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 4, p. 1870-1879, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9382>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jsfa.9382>. Acesso em: 13 out.2023.

HORIKOSHI, S.; SCHIFFMANN, R.F.; FUKUSHIMA, F.; SERPONE, N. Microwave Heating . In: HORIKOSHI, S.; SCHIFFMANN, R.F.; FUKUSHIMA, F.; SERPONE, N.

Microwave Chemical and Materials Processing. Singapura: Springer, p.47-85, 2017. ISBN 9789811064661.

HUANG, Hsing-Tsung. **Fermentations and food science.** Cambridge University Press, 2000.

HUTKINS, R.W .Vinegar. In: HUTKINS, R.W. **Microbiology and Technology of Fermented Foods.** 2.ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2019, p.461-484. ISBN 978-1119027447.

HUTKINS, R.W. Vinegar Fermentation. In: HUTKINS, R.W. **Microbiology and Technology of Fermented Foods.**Oxford: Blackwell Publishing, 2006, p.397-417. ISBN :9780813800189.

INSEL, P.; ROSS, D.; MCMAHON.; BERNSTEIN, M. Food choices: nutrients and nourishment. In: INSEL, P.; ROSS, D.; MCMAHON.; BERNSTEIN, M. **Nutrition.** 7.ed. **Burlington:** Jones & Bartlett Learning, 2022, p.2-30. ISBN 1284210952, 9781284210958.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). **Orientação sobre validação de métodos analíticos – DOQ-CGCRE-008, 2003 (Revisão 04 – julho/2011).** Disponível em: http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/vm/vm2.pdf. Acesso em: 02 abr. 2024.

JAMES, S.J.; JAMES, C. Heat processing methods. In: DIKEMAN, M. **Encyclopedia of Meat Sciences.** 3.ed. Cambridge: Academic Press, 2024, p.164-172. ISBN 978-0-323-85198-5.

JAMPAIAH, J.; VENKATASWAMY, P.; REDDY, B.M .Microwave-assisted solution combustion synthesis of nanostructured catalysts . In: CORTES- GONZALES, S .**Solution Combustion Synthesis Of Nanostructured Solid Catalysts For Sustainable Chemistry.** Singapura: World Scientific Publishing Company, 2020, p.49-79. ISBN 9781786348715.

JIMENEZ, D.E.Q.; ZANIN, L.L.; FERREIRA, I.M.; ARAUJO, Y.J.K.; PORTO, A.L.M .Microwave Radiation in Biocatalysis . In: BANIK, B.K.; BANDYOPADHYAY, D .**Advances in Microwave Chemistry.** Boca Raton: CRC PRESS, p.1-22, 2018. ISBN 9781351240482

JOHNSTON, C.S. Medicinal Uses of Vinegar. In: WATSON, R.R. **Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population.**1.ed. **Cambridge:** Academic Press, 2009, p.433-443. ISBN 978-0123742285.

JOHNSTON, C.S.; GAAS, C.A. Vinegar: Medicinal Uses and Antiglycemic Effect. **Medscape General Medicine**, v. 8, n. 2, p. 61, 2006.

JOSHI, V.K.; THAKUR, N.S .Vinegar: Composition and Production. In: VERMA, L.R.; JOSHI, V.K.**Postharvest Technology of Fruits and Vegetables: General concepts and principles.** New Delhi: Indus Publishing Company, 2000, p.1128-1164. ISBN 9788173871085.

KANDYLIS, P. Innovative Vinegar Products. In: BEKATOROU, A. **Advances in Vinegar Production**. 1. Ed. Boca Raton: CRC PRESS, 2019, p.266-289. ISBN 9781351208475.

KAPPE, C.O.; DALLINGER, D.; MURPHEE, S.S. Microwave Theory. In: KAPPE, C.O.; DALLINGER, D.; MURPHEE, S.S. **Practical Microwave Synthesis for Organic Chemists: Strategies, Instruments, and Protocols**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2008, p.11-37. ISBN:9783527320974.

KARA, M.; ASSOUGUEM, A.; EL FADILI, M.; SAFAA, B.; Alshawwa, S.Z.; Al kamaly, O.M.; Saghrouchni, H.; Zerhouni, A.R.; Bahhou, J. Contribution to the Evaluation of Physicochemical Properties, Total Phenolic Content, Antioxidant Potential, and Antimicrobial Activity of Vinegar Commercialized in Morocco. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 770, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27030770>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/3/770>. Acesso em: 29 nov.2023.

KATZ, S.E. Vinegars. In: KATZ, S.E. **Wild Fermentation The Flavor, Nutrition, and Craft of Live-culture Foods**. United States: Chelsea Green Publishing, 2016, p.152-157. ISBN 9781603586283.

KEBBEKUS, B.B. Preparation of samples for metals analysis. In: MITRA, S. **Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry**. Estados Unidos: Wiley-Interscience, 2003, p.127- 270. ISBN 0-471-32845-6.

KHAJEH, M. Optimization of microwave-assisted extraction procedure for zinc and copper determination in food samples by Box-Behnken design. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.22, n.4, p. 343-346, 2009. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.11.017>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157509000817>. Acesso em: 14 jul.2023.

KHANEGHAH, A.M.; FAKHRI, Y.; NEMATOLLANI, A.; PIRHADI. Potentially toxic elements (PTEs) in cereal-based foods: A systematic review and meta-analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v.26, p.30-44, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.007>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092422441930932X?casa_token=AQvjzizH5-cAAAAA:REkKXtHV0TGJ6ObiGYeDe83qLP9hAlgsRS_wt_ZieYnll8MY_R5UnIH9X6jiEvxAzZ-jfeARbhQ#bib7. Acesso em: 5 out.2023.

KING, E.K.; BARCLAY, D. Microwave-based extraction. In: MESTER, Z.; STURGEON, R. **Sample Preparation for Trace Element Analysis**.1. ed. Elsevier, 2003.

KLEEMANN, K. **Desenvolvimento de método para determinação de Al, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V, Ni e Zn em amostras de lodo de estação de tratamento de água por MIP OES após a digestão ácida com sistema de dedo frio sob refluxo**. 2017. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal de Pelotas, 2017.

KORN, M.G.A.; BOA MORTE, E.S. ; SANTOS, D.C.M.B.; CASTRO, J.T.; BARBOSA, J.T.P.; TEIXEIRA, A.P.; FERNANDES, A.P.; WELZ, B.; SANTOS, W.P.C.; SANTOS, E.B.G.N.; KORN, M. 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. DOI:

10.1080/05704920701723980. Disponível:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/05704920701723980>. Acesso: 11 out.2023.

KORN, M.G.A.; GUIDA, M.A.B.; BARBOSA, J.T.P.; FERNANDES, A.P.; SANTOS, J.C.C.; DANTAS, K.G.F.; NÓBREGA, J.A. Element Determination in Brazilian Propolis by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry and Their Discrimination According to Geographic Region. **Food Analytical Methods**, v.6, p.872-880, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9497-0>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-012-9497-0#citeas>. Acesso: 26 out .2023.

KOYAMA, M.; OGASAWARA, Y.; ENDOU, K.; AKANO, H.; NAKAJIMA, T.; AOYAMA, T.; NAKAMURA, K. Fermentation-induced changes in the concentrations of organic acids, amino acids, sugars, and minerals and superoxide dismutase-like activity in tomato vinegar. **International Journal of Food Properties**, V.20, n.4, p.888-898, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1188309>. Disponível: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2016.1188309>. Acesso em: 29 nov.2023.

KRUSHEVSKA, A.; BARNES, R.M.; AMARASIRIWARADENA, C.J.; FONER, H.; MARTINES, L. Determination of the Residual Carbon Content by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry After Decomposition of Biological Samples. **Journal Of Analytical Atomic Spectrometry**, v.7,n,6, p.845-850, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1039/JA9920700845>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/1992/ja/ja9920700845>. Acesso em: 14 nov.2024.

LATIMER JR., George W. Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals. In: LATIMER JR., George W (ed.). **Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL**. Oxford: Oxford University Press, 2013. Disponível em: http://www.eoma.aoac.org/app_k.pdf. Acesso em: 28 mar. 2024.

LAUNHOLT, T.L.; KRISTIANSEN, C.B.; HJORTH, P. Safety and side effects of apple vinegar intake and its effect on metabolic parameters and body weight: a systematic review. **European journal of nutrition**, v.59, p.2273–2289, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02214-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00394-020-02214-3#citeas>. Acesso em: 07 dez.2023.

LAZIM, A. M.; LIM, S.J.; HO, C.W.; FAZRY, S. Types of vinegars. In: BEKATOROU, A (Ed.). **Advances in vinegar production**. Boca Raton: CRC PRESS, 2019, p. 19-27. ISBN: 9781351208475.

LEE, JIAN.; PARK, YE-SEUL.; LEE, DO YUP. Fast and green microwave-assisted digestion with diluted nitric acid and hydrogen peroxide and subsequent

determination of elemental composition in brown and white rice by ICP-MS and ICP-OES. **LWT**, v.175, n. 114351, p.1-9, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114351>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643822012865>. Acesso em: 02 set.2023.

LEE, JIAN.; PARK, YE-SEUL.; LEE, HWA-JEONG.; KOO, Y. E. Microwave-assisted digestion method using diluted nitric acid and hydrogen peroxide for the determination of major and minor elements in milk samples by ICP-OES and ICP-MS. **Food Chemistry**, v.373, n. 131483, p.1-9, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131483>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814621024894>. Acesso em: 02 set. 2023.

LEWIS, C.S. As Crônicas de Nárnia. In: LEWIS, C.S. Adeus às terras sombrias. 2.ed. São Paulo: Editora WMF Martins Fontes, 2009, p.731-737. ISBN 978-85-7827-069-8.

LIM, S.J.; HO, W.C.; LAZIM, A.M.; FAZRY, S. History and Current Issues of Vinegar. In: **Advances in Vinegar Production**. Boca Raton: CRC Press, 2019, p. 1-14. ISBN 9781351208475.

LIN, QIN-BAO.; CHEN, Y.; SONG, H.; WU, HAI-JUN.; WANG, XIAO-YUN. Kinetic Migration of Chemical Elements from Ceramic Packaging into Simulated Foods and Mature Vinegar. **Packaging Technology and Science**, v.27, n.1, 2014, p. 59–67. DOI: <https://doi.org/10.1002/pts.2007>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pts.2007>. Acesso em: 26 out.2023.

LINDSAY, R. C. Sabor. In: DAMODARAN, S; PARKIN, Kirk L; FENNEMA, Owen R. **Química de alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2010, p. 520. ISBN 9780824723453.

LING, J.W.A.; MUN, S.L.; FAZRY, S.; LAZIM, A.M.; LIMM S.J. Health benefits of vinegars. In: BEKATOROU, A. **Advances in Vinegar Production**. Cambridge: Academic Press, 2019, p.379-400. ISBN 978-0815365990.

LIU, J.; GAN, J.; NIRASAWA, S.; ZHOU, Y.; XU, J.; ZHU, S.; CHENG, Y. Cellular uptake and trans-enterocyte transport of phenolics bound to vinegar melanoidins. **Journal of Functional Foods**, v.37, p.632-640, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.08.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464617304723>. Acesso em: 29 nov.2023.

LÓPEZ, F. Application of membrane technology in Vinegar. In: TAMIME, A.Y. **Membrane Processing Dairy and Beverage Applications**. New Jersey: Wiley, 2013, p.334-338. ISBN 9781444333374.

Malhotra, P. Sampling. In: Malhotra, P. **Analytical Chemistry: Basic Techniques and Methods**. New Delhi: Springer, 2023, p.17-25. ISBN: 9783031267567.

- MANDHA, J.; RAES, K. Minerals and phytates. In: KOKSEL, H.; TAYLOR, J.R.N.; SHEWRY, P.R. **ICC Handbook of 21st Century Cereal Science and Technology**. 1.ed. Estados Unidos: Elsevier Science, 2023, p.97-102. ISBN 9780323952965.
- MARENCO, E.; ACETO, M. Statistical investigation of the differences in the distribution of metals in Nebbiolo-based wines. **Food Chemistry**, v.81, n.4, p.621-630, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00564-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00564-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814602005642>. Acesso em: 17 de jan.2023.
- MAS, A.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA-PARRILA, M.C. Vinegar. In: CABALLERO, B.; FINGLAS, P.M.; TOLDRÁ, F. **Encyclopedia of Food and Health**. 1.ed. Cambridge: Academic Press, 2016, p.418-423. ISBN: 978-0123849472.
- MATUSIEWICZ, H. Sample Decomposition Techniques in Inorganic Trace Elemental Analysis. In: BARANOWSKA, I. **Handbook of Trace Analysis Fundamentals and Applications**. Cham: Springer, 2016, p.75-122. ISBN 978-3-319-19614-5.
- MAZZA, S.; MUROOKA, Y. Vinegars Through the Ages. In: SOLIERI, L.; GIUDICI, P. **Vinegars of the World**. Milano: Springer, 2009, p.17-39. ISBN 978-8847008656.
- MCGUIRE, M.; BEERMAN, K.A. The Science of Nutrition. In: MCGUIRE, M.; BEERMAN, K.A. **Nutritional Sciences From Fundamentals to Food**. 4. ed. Boston: Cengage Learning, 2022, p.3-30. ISBN 978-0357730539.
- MELLO, P.A.; BARIN, J.S.; GUARNIERI. Microwave Heating. In: FLORES, E.M.M. **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**. 1.ed. Elsevier, 2014, p.59-75. ISBN 978-0444594204.
- MORAES, D.P.; BIZZI, C.A.; NÓBREGA, J.A.; FLORES, E.M.M.; NOGUEIRA, A.R.A.; BARIN, J.S.; MESKO, M.F. Preparo de amostra assistido por radiação micro-ondas. In: KRUG, F.J.; ROCHA, F.R.P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. 2. ed. São Paulo: EditSBQ, 2019.p.301-359.
- MRMOŠANINA, J.M.; PAVLOVIĆA, A.N.; KRSTIĆA, J.N.; MITIĆA, S.S.; TOŠIĆA, S.B.; STOJKOVIĆA, M.B.; MICIĆB, R.J.; ĐORĐEVIĆA, M.S. Multielemental quantification in dark chocolate by ICP OES. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.67, p.163-171, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.01.008>. Disponível: Multielemental quantification in dark chocolate by ICP OES - ScienceDirect. Acesso em: 13 out.2023.
- MÜLLER, E.I.; MESKO, M.F.; MORAIS, D.P.; KORN, M.G.A.; FLORES, E.M.M. Wet Digestion Using Microwave Heating. In: FLORES, E.M.M. **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**. Editora, 2014, p.99-142. ISBN 978-0444594204.
- NARDI, T.; BORDIGA, M. Fermentation Process. In: BORDIGA, M. **Post-Fermentation and -Distillation Technology Stabilization, Aging, and Spoilage**. 1.ed. Boca Raton: CRC Press, 2018, p.2-34. ISBN 9781498778701.
- NDUNG'U, Kuria; HIBDON, Sharon; FLEGAL, A. Russell. Determination of lead in vinegar by ICP-MS and GFAAS: evaluation of different sample preparation

procedures. **Talanta**, v. 64, n. 1, p. 258-263, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.02.017>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914004000815>. Acesso em: 26 nov.2024.

NGAH, CW.Z.CW.; YAHYA, M.A. Optimisation of digestion method for determination of arsenic in shrimp paste sample using atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v.134, n.4, p. 2406-2410, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.032>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814612006693>. Acesso em: 14 jul.2023.

NICKOL, G.B. Vinegar. In: PEPPLER, H.J.; PERLMAN, D. **Microbial Technology Fermentation Technology**. 2.ed. Cambridge: Academic Press, 1979, p. 155-172. ISBN 978-0125515023.

NÓBREGA, J.A.; PIROLA, C.; FIALHO, L.L.; ROTA, G.; CAMPOS JORDÃO, C.E.K.MA.; POLLO, F. Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become?. **Talanta**, v.98, p.272-276, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.06.079>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914012005462>. Acesso em: 11 de nov.2023.

NUNES, A.M.; ACUNHA, T.S.; ORESTE, E.Q.; LEPRI, F.G.; VIEIRA, M.A.; CURTIUSC, A.J.; RIBEIRO, A.S. Determination of Ca, Cu, Fe and Mg in Fresh and Processed Meat Treated with Tetramethylammonium Hydroxide by Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.22, n.10, p.1850-1857, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011001000004>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbchs/a/yrVLwdjvVTz9WYHqSKSS6Xn/?format=pdf&lang=en>. Acesso: 11 out.2023.

OJEDA, C.B; ROJAS, F.S. Sample Dissolution for Elemental Analysis | Microwave Digestion. In: TOWNSHEND, A.; POOLE, C.F.; MIRO, M.; WORSFOLD. **Encyclopedia of Analytical Science**. 3.ed. Elsevier Science, 2019, p.85-97. ISBN 978-0081019832.

OKAFOR, N.; OKEKE, B.C. Production of vinegar. In: OKAFOR, N.; OKEKE, B.C. **Modern Industrial Microbiology and Biotechnology**. 2. ed. Boca Raton: CRC PRESS, 2017, p.358-364. ISBN 0367781670.

OLIVEIRA, L.B.; MELO, J.C.; MORTE, E.S.B.; JESUS, R.M.; TEIXEIRA, L.S.G.; KORN, M.G.A. Multi-element determination in chocolate bars by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Food Chemistry**, v. 351, n. 129285, p.1-7, 2021. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129285>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814621002909>. Acesso em: 16 jul.2023.

OUSAAID, D.; GHOUZI, A. EL .; LAAROUSSI, H.; BAKOUR, M .; MECHCHATE, H .; ES-SAFI, I .; KAMALY, O. AL.; SALEH, A.; CONTE, R.; LYOUSSEI, B.; ARABI, ILHAM EL. Anti-Anemic Effect of Antioxidant-Rich Apple Vinegar against

Phenylhydrazine-Induced Hemolytic Anemia in Rats. **Life**, v. 12, n. 2, p. 239, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/life12020239>. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35207526/>. Acesso: 12 abr.2024.

OZTURK, I.; CALISKAN, O.; TORNUK, F.; OZCAN, N.; YALCIN, H.; BASLAR, M.; SAGDIC, O. Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. **LWT - Food Science and Technology**, v.63, n.1, p. 144-151, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643815001437>. Acesso em: 13 out.2023.

PAKTSEVANIDOU, I.P.; MANOUSI, N.; ZACHARIADIS, G.A. Development and Validation of an Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) Method for Trace Element Determination in Vinegar. **Analytical Letters**, v. 54, n. 13, p. 2227–2238, 2021. DOI: 10.1080/00032719.2020.1854777. Disponível:<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00032719.2020.1854777>. Acesso em: 14 jul.2023.

PANEQUE, P.; MORALES, M.L.; BURGOS, P.; PONCE, L.; CALLEJÓN, R.M. Elemental characterisation of Andalusian wine vinegars with protected designation of origin by ICP-OES and chemometric approach. **Food Control**, v.75, p.203-210, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095671351630679X>. Acesso em: 26 nov. 2023.

PANESAR, P.S.; KAUR, S.; KAUR, G. PANESAR, R. Organic acids, gums and vitamins. In: JOSHI, V. K.; SINGH, R.S. **Food Biotechnology Principles and Practices**. New Jersey: International Publishing House, 2012, p.562-609. ISBN 9789381141496.

PAWLISZYN, J. Theory of Extraction. In: PAWLISZYN, J.; LORD, H.L. **Handbook of Sample Preparation**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2010, p.11-32. ISBN 978-0470099346.

PIRHADI, M.; ALIKORD, M.; TAJDAR-ORANJ, B.; KHANIKI, G.J.; NAZMARA, S.; FATHABAD, A.E.; GHALHARI, M.R.; SADIGHARA, P. Potential toxic elements (PTEs) concentration in wheat and flour products in Iran: A probabilistic risk assessment. **Heliyon**, v.8, n.11, p.1-10, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11803>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844022030912#bib3>. Acesso em: 5 out.2023.

PLESSI, M. Vinegar. In: CABALLERO, B. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. 2. ed. Cambridge: Academic Press, 2003. p. 5996-6004. ISBN 978-0-12-227055-0.

QUINTAES, K.D.; DIEZ-GARCIA, R.W. The importance of minerals in the human diet. In: LA GUARDIA, M.; GARRIGUES, S. **Handbook of Mineral Elements in Food**.1. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015, p.1-21. ISBN 9781118654361.

RAMOS, L. Basics and advances in sampling and sample preparation. In: PICO, Y. **Chemical analysis of food**. 2. ed. Cambridge : Academic Press, 2020, p.3-31. ISBN 0128132663,9780128132661.

Ritgen, U. Sampling and Sample Preparation. In: Ritgen, U. **Analytical Chemistry I**. Berlin: Springer, 2023, p.7-15. ISBN 978-3-662-66335-6.

RIZZON, L.A.; MIELE, A. Características Analíticas de Vinagres Comerciais de Vinhos Brasileiros. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 1, n.1-2, p.25-31, 1998. Disponível em : https://www.researchgate.net/profile/Alberto-Miele/publication/276444179_Physicochemical_composition_minerals_and_pesticide_residues_in_organic_grape_juices/links/555e296708ae86c06b5f3601/Physicochemical-composition-minerals-and-pesticide-residues-in-organic-grape-juices.pdf. Acesso em: 12 abr.2024.

ROCHA, F.R.P.; NÓBREGA, J.A.; KAMOGAWA, M.Y. Fundamentos do preparo de amostras. In: KRUG, F.J.; ROCHA, F.R.P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. 2. ed. São Paulo: EditSBQ, 2019. p-21-39. ISBN 978-85-64099-22-7.

RODRIGUES, M.I.; LEMMA. Initial Considerations. In: RODRIGUES, M.I.; LEMMA. **Experimental Design and Process Optimization**. Estados Unidos: CRC Press, 2014, p.1-3. ISBN 9780429161865.

ROSMA, A.; NADIAH, A.H.S.; RAJ, A.; TANASUPAWAT, S.; SHARMA, S.; JOSHI, V.K. Acetic Acid Ferment Food Products. In: JOSHI, V.K. **Indigenous Fermented Foods of South Asia**. Boca Raton: CRC Press, 2016, p.598-635. ISBN 9781439887905.

RUMBLE, J. CRC handbook of chemistry and physics. 101 ed. Boca Raton: CRC Press, 2020.

SAEI-DEHKORDI, S.S.; FALLAH, A.A; GHAFARI, E. Determination of Lead, Cadmium, Copper, and Zinc Content in Commercial Iranian Vinegars Using Stripping Chronopotentiometry. **Food Anal. Methods**, v.5, p:767–773, 2012. DOI 10.1007/s12161-011-9303-4. Disponível: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-011-9303-4#citeas>. Acesso em: 26 set.2023.

SAMAD, A.; AZLAN, A.; IMAIL, A. Therapeutic effects of vinegar: a review. **Current Opinion in Food Science**, v.8, p.56-61, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.03.001>. Disponível: <https://www-sciencedirect.ez16.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S2214799316300479>. Acesso em: 17 out. 2023.

SANTOS, H.M .; COUTINHO, J.P.; AMORIM, F.A.C .; LÔBO, I.P.; MOREIRA, L.S.; NASCIMENTO, M.M.; DE JESUS, R.M. Microwave-assisted digestion using diluted HNO₃ and H₂O₂ for macro and microelements determination in guarana samples by ICP OES. **Food Chemistry**, v.273, p.159-165, 2019b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.074>. Disponível em: <https://www->

sciencedirect.ez16.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814617320459. Acesso em: 12 abr.2024.

SANTOS, H.O.; MORAIS, W.M.A.M.; SILVA, G.A.R.; PRESTES, J.; SCHOENFELD, B.J. Vinegar (acetic acid) intake on glucose metabolism: A narrative review. **Clinical Nutrition ESPEN**, v.32, p.1-7, 2019a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2019.05.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405457719303055>. Acesso em: 23 out.2023.

SANTOS, W.P.C.; SANTOS, D.C.M.B.; FERNANDES, A.P.; CASTRO, J.T.C.; KORN, M.G.A. Geographical Characterization of Beans Based on Trace Elements After Microwave-Assisted Digestion Using Diluted Nitric Acid. **Food Anal. Methods**, v.6, p. 1133–1143, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9520-5>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-012-9520-5#citeas>. Acesso: 12 jan.2024.

SAVIO, M.; FIALHO, L.L.; NÓBREGA, J.A. Greening microwave-assisted acid digestion of animal feed samples. **Anal. Methods**, v.11, n.46, 2019. DOI : <https://doi.org/10.1039/C9AY01586H>. Disponível em : <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/ay/c9ay01586h/unauth>. Acesso em : 12 jan.2024.

SERAFIM, W.K.M .; TORRES, B.S.S.; KUNST, T.H.; NASCIMENTO, A.L.S.; DA SILVA, I.J.S.; RIBEIRO, M.A.; PAIM, A.P.S. Mineral Composition of Rice, Carrots, and Chayote after Microwave-Assisted Decomposition using Diluted Nitric Acid. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, p.1-16, 2024. DOI: 10.30744/brjac.2179-3425.AR-48-2023. Disponível em: <https://discovery.researcher.life/article/mineral-composition-of-rice-carrots-and-chayote-after-microwave-assisted-decomposition-using-diluted-nitric-acid/a2fc119ab21f3076b9e37ef91563cef9>. Acesso em: 12 jan. 2024.

SETORKI, M.; ASGARY, S.; EIDI, A.; ROHANI, A.H.; KHAZAEI, M. Acute effects of vinegar intake on some biochemical risk factors of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. **Lipids in health and disease**, v.9, n.10, p. 1-8, 2010. DOI: 10.1186/1476-511X-9-10. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20109192/>. Acesso em: 17 jul. 2023.

SHAIKH, Y. JAGTAP, M.R . Organic Acid and Solvent Production from Microbial Fermentation . In: SARKAR, A.; AHMED, I .A. **Microbial products for future industrialization**. Singapore: Springer, 2023, p. 267–296. ISBN 9789819917365.

SILVA JUNIOR, M.M.; SILVA, L.O.B.; LEAO, D.J.; SANTOS, W.N.L.; WELZ, B.; FERREIRA, S.L.C. Determination of mercury in alcohol vinegar samples from Salvador, Bahia, Brazil. **Food Control**, v.47, p.623-627, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.043>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514004289>. Acesso em: 14 jul.2023.

SINGH, J.; BISHT, N.; GARG, A.P. Preparation, production and characteristics of sugarcane vinegar. **Journal of Biology and Medicine**, v. 7, n. 1, p. 008-016, 2023.

DOI: 10.17352/jbm.000036. Disponível em:
<https://www.peertechzpublications.org/articles/JBM-7-136.php>. Acesso em: 29
nov.2023.

SINGH, R.P.; HELDMAN, D.R . Heat Transfer in Food Processing. In: SINGH, R.P.; HELDMAN, D.R. **Introduction to Food Engineering**. 5.ed. Boca Rato: Academic Press, 2013, p.265-417. ISBN 978-0123985309.

SK-10 High Pressure Rotor Application Book. . [s.l: s.n.].

SKOOG, D.; WEST, D.; HOLLER, J.; CROUCH, S. **Fundamentos de Química Analítica**. 8.ed. São Paulo: Cengage, 2006. ISBN: 978-8522104369.

SMITH, P.G. Heat Processing of Foods. In: SMITH, P.G . **Introduction to Food Process Engineering**. 2.ed. Boston: Springer, 2011, p.129-188. ISBN 978-1-4419-7661-1.

SMOLIN, L. A.; GROSVENOR, M. B. Nutrition: Food for Health. In: SMOLIN, L. A.; GROSVENOR, M. B. **Nutrition: Science and Applications**. 4.ed. New Jersey: Wiley, 2019, p.3-31. ISBN 978-1-119-22469-3.

SOBOLEV, A.P.; CIRCI, S.; MANNINA, L. Advances in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Food Authenticity Testing. *Advances in Food Authenticity Testing*. IN: DOWNEY, G. **Advances in Food Authenticity Testing A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2016, p.147-170. ISBN: 978-0081002209.

SOUZA, L.A.; SOUZA, T.L.; SANTANA, F.B.; ARAUJO, R.G.O.; TEIXEIRA, L.S.G.; SANTOS, D.C.M.B.; KORN, M.G.A. Determination and in vitro bioaccessibility evaluation of Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P and Zn in linseed and sesame. **Microchemical Journal**, v. 137, p.8-14, 2018. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.09.010>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X16306117>. Acesso em:
26 de out.2023.

STANFIELD, P.S.; HUI, Y.H. Minerals, Water, and Body Processes. In: STANFIELD, P.S.; HUI, Y.H . **Nutrition and Diet Therapy Self-Instructional Approaches**.5.ed. Canada: Jones and Bartlett Publishers, 2009, p.79-97. ISBN 978-0763761370.

SUN, Y. Introduction . In: SUN, Y. **Adaptive and Intelligent Temperature Control of Microwave Heating Systems with Multiple Sources**. Alemanha: KIT Scientific Publishing, 2016, p.1-10. ISBN 9783731504672.

SWAMY, G.J.; MUTHUKUMARAPPAN, K. Microwave and Radiofrequency Processing of Plant-Related Food Products. In: KNOERZER, K.; MUTHUKUMARAPPAN, K. **Innovative Food Processing Technologies A Comprehensive Review**. Elsevier Science, 2021, p.731-742. ISBN 9780128157824.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). Universidade Estadual de Campinas. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. 4 ed, 2011. São Paulo,

2023. Acesso em: 2 dez. 2023. Disponível em: https://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.2. São Paulo, 2023. Acesso em: 2 dez.2023. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>.

TAGLIAZUCCHI, D.; VERZELLONI, E.; CONTE, A. Antioxidant properties of traditional balsamic vinegar and boiled must model systems. **European Food Research and Technology**, v.227, p. 835–843 , 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0794-6>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-007-0794-6>. Acesso em: 18 jul.2023.

TARANTINO, T.B.; BARBOSA, I.S.; LIMA, D.C.; PEREIRA, M.G.; TEIXEIRA, L.S.G.; KORN, M.G.A. Microwave-Assisted Digestion Using Diluted Nitric Acid for Multi-element Determination in Rice by ICP OES and ICP-MS. **Food Analytical Methods**, v.10, p. 1007–1015, 2017. DOI: 10.1007/s12161-016-0658. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-016-0658-4>. Acesso em: 26 de out.2023.

TAYLOR, S.L.; BAUMERT, J.L. Chemical Safety of foods. In: SUN, D. **Handbook of Food Safety Engineering**. 1.ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011, p.57-76. ISBN 9781444333343,9781444355321.

TESFAYE, W.; MORALES, M.L.; BENÍTEZ, B. GARCÍA-PARRILA, M.C.; TRONCOSO, A.M. Evolution of wine vinegar composition during accelerated aging with oak chips. **Analytica Chimica Acta**, v.513, n.1, 239–245, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.11.079>. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003267003015770>. Acesso em: 30 nov.2023.

TESFAYE, W.; MORALES, M.L.; GARCÍA-PARRILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. **Trends in Food Science & Technology**, v.13, n.1, p.12-21, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00023-7). Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224402000237>. Acesso em: 06 jul.2023.

THOSTENSON, E.T.; CHOU, T.W. Microwave processing: fundamentals and applications. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v.30, n.9, p.1055-1071, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1359-835X\(99\)00020-2](https://doi.org/10.1016/S1359-835X(99)00020-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359835X99000202>. Acesso: 26 out.2023.

TORRIJOS, R.C.; PHAN-TAN-LUU. R.Introduction Experimental Designs. In: BROWN, S.; TAULER, R.; WALCZAK, B. **Comprehensive Chemometrics**. Estados Unidos: Elsevier, 2020. p.252-285. ISBN 978-0-444-64166-3.

TOZO, M.L.L.; PINHEIRO, F.C.; NÓBREGA, J.A. Determination of Macro, Micro and Toxic Elements using Argon-Based Plasma Spectroanalytical Methods in order to

support Brazilian Regulations on Inorganic Constituents in Infant Foods. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, v.8, n.31, p.74-88, 2021. DOI: 10.30744/brjac.2179-3425.AR-50-2020. Disponível em: <https://www.brjac.com.br/artigos/2021-V8-10Years/brjac-50-2020.pdf>. Acesso em: 10 de abr.2024.

TREVIZAN, L.C.; DONATI, G.L.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Microwave-assisted procedures for sample preparation: recent developments. In: ARRUDA, M.A.Z. **Trends in Sample Preparation**. New York: Nova Science Publishers Inc, 2007, p.29-52. ISBN 978-1600211188.

TRIPATHI, N.M.; PRINSI.; SHARMA, D.; RANGA, P.; ASERI, G.K.; SINGH, D. **Microbial Technologies for acetic acid production using fruit waste**. In: SHARMA, D.; SINGH, J. *Microbial Resource Technologies for Sustainable Development*. Elsevier Science, 2022, p.157-178. ISBN 9780323913263.

UHROVČÍK, J. Strategy for determination of LOD and LOQ values – Some basic aspects. **Talanta**, v.119, p. 178-180, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.061> . Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914013008710>. Acesso em: 12 abr.2024.

United States Environmental Protection Agency – US EPA. Method 6010D (SW846): Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry (Update VI, Revision 5). (2018).

UNITED STATES. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. FoodData Central Search Results. Vinegar, balsamic. **USDA**, Washington, D.C., 01 abr. 2019a. Disponível em: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/172241/nutrients>. Acesso em: 20 jan. 2023.

UNITED STATES. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. FoodData Central Search Results. Vinegar, distilled. **USDA**, Washington, D.C., 01 abr. 2019b. Disponível em: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/172237/nutrients>. Acesso em: 20 jan. 2023.

UNITED STATES. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. FoodData Central Search Results. Vinegar, red wine. **USDA**, Washington, D.C., 01 abr. 2019c. Disponível em: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/172240/nutrients>. Acesso em: 20 jan. 2023.

VICENTINI, C.B.; MANFREDINI, S.; MARES, D.; BONACCI, T.; SCAPOLI, C.; CHICCA, M.; PEZZI, M. Empirical “integrated disease management” in Ferrara during the Italian plague (1629-1631). **Parasitology International**, v.75, n. 102046, p.1-10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.102046>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383576919303976>. Acesso em: 23 nov.2023.

WOJNAROWICZ, J.; CHUDOBA, TADEUSZ.; TADEUSZ, W. A Review of Microwave Synthesis of Zinc Oxide Nanomaterials: Reactants, Process Parameters and Morphologies. **Nanomaterials**, v.10, n.6, p.1086, 2020.

DOI:10.3390/nano10061086. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32486522/>. Acesso 24 out.2023.

WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E.; STOEPLER, M. Residues from biological materials after pressure decomposition with nitric acid : Part 1. Carbon conversion during sample decomposition. **Analytica Chimica Acta**, v.226, n.1, 1989, p.1-16. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)80900-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)80900-9). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003267000809009>. Acesso em: 08 nov. 2023.

XIA, T.; ZHANG, BO.; DUAN, W.; ZHANG, J.; WANG, M. Nutrients and bioactive components from vinegar: A fermented and functional food. **Journal of functional Foods**, v.64, n. 103681, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103681>. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S175646461930605X>. Acesso em: 29 nov.2023.

XIONG, X.; LIU, XUEMING.; YU, I.K.M.; WANG, L.; ZHOU, J.; SUN, X.; RINKLEBE, J.; SHAHEEN, S.M.; OK, Y.S.; LIN, Z.; TSANG, C.W. Potentially toxic elements in solid waste streams: Fate and management approaches. **Environmental Pollution**, v.253, p.680-707, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.012>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749119313661>. Acesso em: 05 out.2023.

YAGNIK, D.; SERAFIN, V.; SHAH, A.J. Antimicrobial activity of apple cider vinegar against Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Candida albicans; downregulating cytokine and microbial protein expression. **Scientific Reports**, v.8, n. 1732, p.1-12, 2018. DOI: 10.1038/s41598-017-18618-x. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-18618-x>. Acesso em: 14 jul. 2023.

YÁÑEZ, J .; SANDOVAL, C.; MANSILLA, H.D.;AMARASIRIWARDENA, D. New approach for understanding the fundamental chemistry of the oxidative sample digestion in spectrochemical analysis. **Applied Spectroscopy Reviews**, v.51, n.10, p.791-798, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1080/05704928.2016.1179643>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/05704928.2016.1179643>. Acesso em: 29 out.2023.

YUWONO, M.; INDRAYANTO, G. Validation of Chromatographic Methods of Analysis. **Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients**, v.32, p. 243-259, 2005. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(05\)32009-0](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(05)32009-0). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0099542805320090>. Acesso em: 12 abr. 2024.

ZAHIR, F.; RIZWI, S.J.; HAQ, S.K.; KHAN, R.H. Low dose mercury toxicity and human health. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v .20, n.2, p.351–360, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.03.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668905000700>. Acesso em: 06 de out.2023.

ZAMORA, F. Biochemistry of Alcoholic Fermentation. In: Moreno-Arribas, M.V., Polo, M.C. (eds). **Wine Chemistry and Biochemistry**. New York: Springer, 2009,p.3-26. ISBN: 978-0-387-74116-1.

ZHENG, Y.; RUAN, G.; LI, B.; XIONG, C.; CHEN, S.; LUO, M.; LI, Y.; DU, F. Multicomposition analysis and pattern recognition of Chinese geographical indication product: vinegar. **Eur Food Res Technol**, v. 238, p.337-344, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2135-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-013-2135-2#citeas>. Acesso em: 26 nov. 2023.

APÊNDICE A – RESUMO SIMPLIFICADO

Modalidade: Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco

Estudante: Suennia Carinne da Silva Sena

Orientador: Prof.^a Dr.^a Ana Paula Silveira Paim / Co-orientador: Prof.^a Dr.^a Laís Araújo Souza

Agência financiadora do projeto: FACEPE

RESUMO SIMPLIFICADO

Diversos estudos científicos têm demonstrado as propriedades terapêuticas dos vinagres. O vinagre é um alimento da classe dos condimentos e podem ser compostos de nutrientes e bioativos. Conhecidos há quase 10.000 anos, os vinagres não eram apenas utilizados na preservação de alimentos, mas também na elaboração de medicamentos e rituais. Tendo em vista que estão disponíveis no mercado uma variedade de marcas e tipos de vinagres, bem como pela importância dos metais no metabolismo, a potencial toxicidade de certos elementos e a detecção de adulteração do produto, assim como a caracterização do vinagre, é importante a quantificação da composição elementar no vinagre. Dessa forma, o presente trabalho desenvolveu um método de digestão de amostras de vinagres, através da decomposição assistida por radiação micro-ondas na presença de ácido nítrico diluído e peróxido de hidrogênio para a determinação de Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES) e de K e Na por fotometria de chama. As respostas do planejamento fatorial foram o teor de carbono residual (RCC) e acidez residual (RA). A condição otimizada permitiu a obtenção de digeridos finais com teor médio de carbono residual e acidez residual de 13,6% e 0,73%. A aplicação da condição otimizada em 16 amostras de vinagres, sendo elas amostras de vinagre de álcool, balsâmico, maçã e vinho tinto, permitiu a obtenção das seguintes faixas de concentração em $\mu\text{g g}^{-1}$: Ca (7,4 - 149), Cu (<0,045 - 0,129), Fe (<0,390 - 7,03), K (<28,5 - 2097), Mg (6,4 - 97), Mn (<0,030 - 3,23), Na (<31,5 - 514), Zn (<0,405 - 0,75), respectivamente. Concentrações de Cd, Co, Cr, Ni e Pb foram encontradas abaixo do limite de quantificação para todas as amostras analisadas.