

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

VICTOR MIRANDA AMAZONAS

**Avaliação de diferentes métodos de decomposição visando a determinação
de micronutrientes em amostras de mel produzidas no Estado da Bahia**

Junho / 2024

VICTOR MIRANDA AMAZONAS

Avaliação de diferentes métodos de decomposição visando a determinação de micronutrientes em amostras de mel produzidas no Estado da Bahia

Dissertação (em formato de artigo) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química.

Orientador: Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes (UESB)

Coorientador: Prof. Dr. João Honorato Santos Neto (UFAL)

JEQUIÉ – BA

Junho / 2024

A489a Amazonas, Victor Miranda.

Avaliação de diferentes métodos de decomposição visando a determinação de micronutrientes em amostras de mel produzidas no Estado da Bahia / Victor Miranda Amazonas.- Jequié, 2024.
22f.

(Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, sob orientação do Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes e coorientação do Prof. Dr. João Honorato Santos Neto)

1.Decomposição de amostra 2.Micronutriente 3.Mel de abelha
4.Planejamento experimental 5.Analise de componentes principais
I.Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II.Título

CDD – 638.14

TERMO DE APROVAÇÃO

VICTOR MIRANDA AMAZONAS

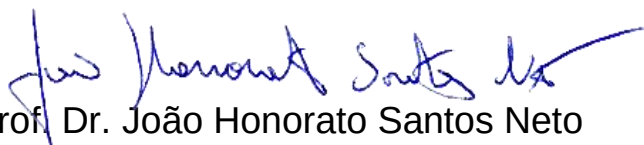
Avaliação de diferentes métodos de decomposição visando a determinação de micronutrientes em amostras de mel produzidas no Estado da Bahia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes
(UFBA, Salvador – BA, 2011) (Orientador)



Prof. Dr. João Honorato Santos Neto
(UFBA, Salvador – BA, 2022)
(Coorientador)



Prof. Dr. Clayton Queiroz Alves
(UFBA, Salvador – BA, 2012)



Prof. Dr. Marcos de Almeida Bezerra
(UFBA, Salvador – BA, 2006)

Dissertação aprovada pelo Colegiado do Curso de Pós-graduação em Química em 19 / 06 / 2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ser essencial em minha vida, me guiando em todos os passos desse caminhar.

Agradeço à minha mãe Zariosania, por sempre ter potencializado os meus sonhos me mostrando que sempre haveria um jeito de conquistá-los. Agradeço ao meu padrasto Erivan, aos meus irmãos Laura e Vinicius. Agradeço aos meus sobrinhos Lavínia e Akin, que sem saberem deixavam a minha rotina mais feliz e alegre.

Agradeço aos meus amigos Alexia, Aila, Jessica, Nájila, Stéfane, Jefferson, Rebeca e Vivian, por todo apoio emocional e motivação.

Gostaria de expressar minha sincera gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes, não apenas pelo vasto conhecimento transmitido, mas também pelo seu tempo, sua genialidade, compreensão e apoio às minhas ideias. O comprometimento dele com a minha formação elevou ainda mais a admiração que tinha por ele, sendo ele uma pessoa a qual me espelho. Não foi apenas como um bom orientador, mas também um bom amigo, ele esteve presente durante todo esse percurso, oferecendo orientação, apoio e inspiração. Sou imensamente grato por sua dedicação e amizade ao longo dessa jornada.

Agradeço ao Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos, que não apenas cedeu os espaços e parte dos reagentes para o desenvolvimento da pesquisa, mas por ser também um professor que instrui, apoia e inspira seus alunos a se tornarem profissionais e seres humanos melhores. Sua orientação e dedicação foram inestimáveis e fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Aos colegas do Laboratório de Química Analítica III, Ana Luiza, Anderson, Jeferson, Joselânio, Rosivan e Uneliton pelo apoio, amizade e solidariedade durante o desenvolvimento do trabalho. Em especial, agradeço à Andréia, Luana e Márcio por todo suporte teórico e técnico que me deram para que pudesse realizar este estudo. Vocês foram essenciais durante esse percurso.

Ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (PGQUI/UESB) pela oportunidade e por todo o excelente suporte prestado durante todo o curso, bem como ao excepcional corpo docente e secretariado do programa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo pagamento integral de bolsa de mestrado, que contribui para que essa pesquisa tivesse bons resultados em tempo hábil. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio na forma de projetos e outros fomentos.

“Maior que o temporal é a fé que habita em mim
Um vendaval de sonho e realização...”

Hungria Hip Hop

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Variedade da diversidade de abelhas nativas do Brasil.	12
Figura 2. Estrutura química dos principais constituintes químicos presentes no mel	14
Figura 3. Estrutura química geral dos flavonoides.	14
Figura 4. Espectro de ondas eletromagnéticas com destaque para as subclassificações da radiação	23
Figura 5. Esquema reacional da fotodegradação de compostos orgânicos.	24
Figura 6. Câmara de radiação de preparo de amostra.	28
Figura 7. Região experimental do planejamento de mistura com restrição.	32
Figura 8. Ensaios teóricos do teste de Benedict para reduzir açúcares.	33
Figura 9. Ensaios teóricos do teste de Molisch para reduzir açúcares.	33
Figura 10. Respostas obtidas para Cu e Zn nos ensaios preliminares por FAAS para decomposição por Radiação UV.	35
Figura 11. Respostas obtidas para Cu e Zn nos ensaios preliminares por FAAS.	37
Figura 12. Imagens obtidas nos ensaios preliminares.	37
Figura 13. Superfície de contorno obtida para o planejamento de mistura usando absorvância como resposta para: (a) Cobre e b) Zinco	40
Figura 14. Planejamento de mistura usando RM como resposta de Superfície de contorno.	41
Figura 15. Superfície de contorno obtida para o planejamento de mistura usando acidez residual como resposta.	42
Figura 16. Imagem da aplicação do teste Benedict em Mel.	43
Figura 17. Imagens obtidas da aplicação do teste Benedict para o planejamento de mistura.	43
Figura 18. Imagem da aplicação do teste Molish em Mel.	44
Figura 19 Imagens obtidas da aplicação do teste Molish para os ensaios 5,6 e 12.	44
Figura 20 Curva de calibração para cobre	45
Figura 21 Curva de calibração para ferro	45
Figura 22 Curva de calibração para manganês	45
Figura 23 Curva de calibração para zinco	45
Figura 24. Concentração de Cu, Fe, Mn e Zn nas amostras de mel analisados por FAAS.	48
Figura 25. Gráficos dos escores (a) e loadings (b) obtidos para a análise por PC1 versus PC2.	50
Figura 26. Gráficos dos escores (a) e loadings (b) obtidos para PC1 versus PC2 (sem duas amostras).	52

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Classificação do mel pela legislação brasileira vigente desde 2000.	13
Tabela 2. Revisão bibliográfica de artigos referentes a determinação de metais em amostras de méis.	19
Tabela 3. Variedade de amostras e respectivos pontos de origem.	27
Tabela 4. Domínio e matriz experimental utilizados no planejamento de mistura com restrição.	29
Tabela 5. Ensaios multivariados preliminares utilizados para a decomposição ácida.	30
Tabela 6. Domínio e matriz experimental utilizados no planejamento de mistura para a decomposição por Via Úmida.	32
Tabela 7. Respostas obtidas nos ensaios para decomposição por Via Seca.	34
Tabela 8. Respostas obtidas no planejamento de mistura para decomposição por Radiação UV.	35
Tabela 9. Respostas obtidas nos ensaios preliminares multivariados para a decomposição por Via Úmida.	36
Tabela 10. Matriz e resultados do planejamento de mistura.	39
Tabela 11. Dados da curva de calibração do cobre, ferro, manganês e zinco.	46
Tabela 12.. Concentração dos micronutrientes encontrados em amostras de mel	47
Tabela 13 Concentração dos micronutrientes encontrados ($\mu\text{g g}^{-1}$) e comparação com valores da literatura	49
Tabela 14. Valores para as correlações entre as componentes principais e variáveis das amostras de mel.	50
Tabela 15. Valores para as correlações entre as componentes principais e variáveis das amostras de mel (sem duas amostras).	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ETAAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês <i>Atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization</i>
GFAAS	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, do inglês <i>graphite furnace atomic absorption spectrometry</i>
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
FAES	Espectrometria de emissão atômica com chama, do inglês <i>Flame Atomic Emission Spectrometry</i>
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
ICP OES	Espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
LQ	Limite de Quantificação
PC	Componente Principal, do inglês <i>Principal Component</i>
PCA	Análise de Componentes Principais, do inglês <i>Principal Component Analysis</i>
PTFE	Politetrafluoroetileno
R²	Coeficiente de determinação

Avaliação de diferentes métodos de decomposição visando a determinação de micronutrientes em amostras de mel produzidas no Estado da Bahia

Autor: Victor Miranda Amazonas

Orientador: Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes (UESB)

Coorientador: Prof. Dr. João Honorato Santos Neto (UFAL)

RESUMO: O foco deste estudo foi avaliar qual o método de decomposição de amostra seria mais eficiente para decompor e disponibilizar em solução os micronutrientes presentes no mel de abelha a serem analisados. Após a investigação de qual método melhor disponibilizaria os micronutrientes o utilizado foi a decomposição por via úmida em a um reator autoclave de alta pressão (bombas de digestão Parr Instrument), onde uma mistura contendo água deionizada, peróxido de hidrogênio e ácido nítrico diluído foram adicionadas a uma massa de 0,5g de mel de abelha e levadas à estufa, onde foi mantida por 4 horas a uma temperatura de 100 ± 10 °C. Para otimizar o método, um planejamento experimental com restrições foi aplicado, visando a otimização no método e estabelecer qual a melhor condição favorece a extração de cobre e zinco das amostras. Após avaliação dos resultados do planejamento experimental foi verificado que os volumes que melhor proporcionavam a extração dos micronutrientes foi 1,0 mL de HNO_3 (3 mols L^{-1}), 1,75 mL de H_2O e 1,25 mL H_2O_2 30%, sendo esses os volumes ideais. Após a otimização, três amostras de mel de abelhas, adquiridos com produtores e comércio local de cidades do estado da Bahia. Os elementos cobre, ferro, manganês e zinco foram determinados por FAAS e apresentaram-se dentro dos padrões estabelecidos pela EMBRAPA e pelo Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. A disponibilidade do Cu variou de $< \text{LOD}$ e $5,10 \mu\text{g g}^{-1}$, Fe teve uma variação entre 1,09 e $20,83 \mu\text{g g}^{-1}$, Mn variou entre $< \text{LOD}$ e $1,58 \mu\text{g g}^{-1}$ e Zn apresentou a maior variação e concentração entre os micronutrientes extraídos variando de 0,41 até $46,90 \mu\text{g g}^{-1}$. Uma alternativa utilizada para fazer um agrupamento dos resultados foi a análise de componentes principais (PCA), que auxilia na avaliação da similaridade que as amostras possuem de acordo com a concentração encontrada. A PCA identificou a formação de dois grupos, onde um desses grupos foi gerado apenas pela amostra de Lafaiete Coutinho devido a mesma conter a maior concentração de Zn e ter alto teor dos outros micronutrientes o que explica sua segregação das demais amostras. Nenhuma das amostras analisadas apresentou teores superiores aos estabelecidos pelo Decreto nº 55.871 de 1965, demonstrando sua adequação para o consumo humano.

Palavras-chave: Decomposição de amostra, micronutriente, mel de abelha, planejamento experimental, análise de componentes principais

Evaluation of different decomposition methods for the determination of micronutrients in honey samples produced in the state of Bahia

Author: Victor Miranda Amazonas

Advisor: Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes (UESB)

Co-advisor: Prof. Dr. João Honorato Santos Neto (UFAL)

ABSTRACT: The focus of this study was to evaluate which sample decomposition method would be most efficient for decomposing and making available in solution the micronutrients present in bee honey to be analyzed. After investigating which method would best make the micronutrients available, wet decomposition was used in a high-pressure autoclave reactor (Parr Instrument digestion pumps), where a mixture containing deionized water, hydrogen peroxide and diluted nitric acid was added to a 0.5g mass of bee honey and taken to the oven, where it was kept for 4 hours at a temperature of 100 ± 10 °C. To optimize the method, an experimental design with restrictions was applied in order to optimize the method and establish which condition best favors the extraction of copper and zinc from the samples. After evaluating the results of the experimental design, it was found that the volumes that best provided extraction of the micronutrients were 1.0 mL of HNO₃ (3 mols L⁻¹), 1.75 mL of H₂O and 1.25 mL H₂O₂ 30%, these being the ideal volumes. After optimization, three samples of honey were purchased from producers and local businesses in cities in the state of Bahia. The elements copper, iron, manganese and zinc were determined by FAAS and were within the standards established by EMBRAPA and Decree 55,871 of March 26, 1965. The availability of Cu ranged from < LOD to 5.10 µg g⁻¹, Fe varied between 1.09 and 20.83 µg g⁻¹, Mn varied between < LOD and 1.58 µg g⁻¹ and Zn showed the greatest variation and concentration among the extracted micronutrients, ranging from 0.41 to 46.90 µg g⁻¹. An alternative used to group the results was principal component analysis (PCA), which helps to assess the similarity of the samples according to the concentration found. PCA identified the formation of two groups, one of which was generated only by the Lafaiete Coutinho sample because it contained the highest concentration of Zn and had a high content of the other micronutrients, which explains its segregation from the other samples. None of the samples analyzed had levels higher than those established by Decree 55.871 of 1965, demonstrating their suitability for human consumption.

Keywords: Sample decomposition, micronutrient, bee honey, experimental design, principal component analysis.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS	25
2.1. Objetivo geral.....	25
2.2. Objetivo específico.....	25
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	26
3.1. Instrumentação.....	26
3.2. Reagentes e soluções.....	26
3.3. Aquisição das amostras.....	26
3.4. Preparo das amostras.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1. Decomposição por Via Seca.....	34
4.2. Decomposição por Radiação Ultravioleta.....	34
4.3. Decomposição por Via Úmida.....	36
4.3.1. Teste de Benedict.....	43
4.3.2. Teste de Molish.....	44
4.4. Linearidade do método e faixas de trabalho utilizadas.....	45
4.5. Aplicação do método	44
4.6. Tratamento dos dados usando análise de componentes principais	49
5. CONCLUSÃO.....	53
6. PERSPECTIVAS.....	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

APRESENTAÇÃO

Esta Dissertação de Mestrado faz parte dos estudos desenvolvidos no âmbito do Projeto de Pesquisa denominado *Caracterização química e avaliação dos impactos causados por substâncias potencialmente tóxicas em amostras ambientais e alimentos provenientes da Bacia Hidrográfica do Rio de Contas*. Este projeto está cadastrado na Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UESB.

O trabalho de dissertação foi desenvolvido no Laboratório de Química Analítica III da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus de Jequié. As análises utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) foram realizadas no Laboratório de Química Analítica da UESB e as análises utilizando as técnicas de emissão óptica com plasma foram realizadas no Laboratório de Análises Ambientais do Extremo Sul da Bahia, em parceria com o Prof. Dr. Allison Gonçalves Silva (IFBA).

Este trabalho foi escrito seguindo o formato de *Publicação*, conforme as orientações constantes no *Manual para Elaboração de Dissertações* do Programa de Pós-Graduação em Química (PGQUI-UESB). A escrita da dissertação seguiu as instruções do periódico *Journal of the Brazilian Chemical Society (JBCS)*, para submissão após as alterações sugeridas pela banca examinadora. O Periódico é enquadrado como estrato A2 na CAPES e Fator de Impacto de 2,135 (JCR 2022).

Link para acesso ao Manual de dissertações do PGQUI:

http://www2.uesb.br/ppg/ppgquimica/wp-content/uploads/2018/09/Manual-paraelabora%C3%A7%C3%A3o-de-disserta%C3%A7%C3%A3o-Vers%C3%A3o-Final-_01.04.pdf

1. INTRODUÇÃO

Mel

A apicultura é umas das criações de animais mais antigas e importantes para o mundo, prestando grande contribuição ao homem através da produção do mel, da geleia real, da própolis, da apitoxina, da cera e do pólen apícola, além dos recursos de polinização que melhoram a produtividade na agricultura e a manutenção da biodiversidade¹.

As abelhas são insetos pertencentes à ordem Hymenoptera, da superfamília Apoidea². Cultuadas ao longo da história por diversas civilizações como símbolo de riqueza, trabalho ou perseverança, as abelhas surgiram muito antes do homem, há mais de 100 milhões de anos³.

O Brasil é considerado privilegiado devido a suas proporções continentais e riquezas de ecossistemas, pois abriga cerca de ¼ das espécies de abelhas existentes (aproximadamente 5.000 espécies). Só no estado de São Paulo foram listadas 729 espécies e no Rio Grande do Sul mais de 500 espécies⁴. Uma ampla diversidade de abelhas existe em nossa fauna com diversas formas, tamanhos e cores como exposto na Figura 1.



Figura 1. Variedade da diversidade de abelhas nativas do Brasil. Fonte: Meliponário do Sertão⁴.

Dos produtos fornecidos pelas abelhas, o mel é sem dúvida o mais conhecido e difundido. Foi um dos primeiros alimentos do homem e praticamente todas as civilizações antigas o utilizaram como alimento e recurso medicinal. Atualmente o homem utiliza-se fartamente do mel como alimento, sem desconhecer suas qualidades medicinais e seu valor nutricional⁵.

O mel não pode ser considerado um alimento completo pelos padrões nutricionais humanos, mas oferece potencial como suplemento dietético, sendo recomendado para bebês, idosos e pessoas com deficiência por ser um alimento de fácil digestão, podendo ser ingerido diretamente ou utilizado como adoçante em uma variedade de produtos⁶. O mel de abelha se destaca apresentando características terapêuticas, como propriedades antioxidantes, características essas que têm atraído cada vez mais consumidores, aumentando sua comercialização em todo o mundo.

A fabricação do mel começa com a coleta do néctar nas flores, que é a principal fonte de energia das abelhas e nada mais é que uma solução de açúcares, composta principalmente pela sacarose. Quando coletado, o néctar é armazenado em uma estrutura interna no corpo das abelhas, o papo, e ali entra em contato com duas enzimas, a invertase e a glicose oxidase³.

As concentrações dos minerais presentes no mel são influenciadas por sua origem geográfica, como a composição do solo que é determinada por características geoquímicas e geológicas (atividades vulcânicas e hidrotermais), condições regionais e mudanças climáticas da área forrageada pelas abelhas. Assim como a cor e o sabor do mel variam de acordo com a fonte floral (Tabela 1), também variam os teores de vitaminas, minerais, antioxidantes e aminoácidos⁷.

Tabela 1: Classificação do mel pela legislação brasileira vigente desde 2000.

Origem	Grupos	Descrição da obtenção
Mel Floral	Unifloral ou monoclonal	Néctar coletado da mesma família, gênero ou espécies de flores.
	Multifloral ou polifloral	Néctar coletado de famílias de flores, melatos ou mel de melatos, secreções de plantas e excreções de insetos sugadores de plantas.
Mel Escorrido	-----	Obtido por escorrimento dos favos desoperculados, sem larvas.
Mel Prensado	-----	Obtido por prensagem dos favos, sem larvas.
Mel Centrifugado	-----	Obtido por centrifugação dos favos desoperculados, sem larvas.

Fonte: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA - 2000⁸.

O mel é utilizado na medicina popular tradicional e na apiterapia e é um excelente conservante natural. As vitaminas encontradas no mel podem incluir

(dependendo da variedade floral) niacina, riboflavina e ácido pantotênico; os minerais presentes incluem cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio e zinco⁹.

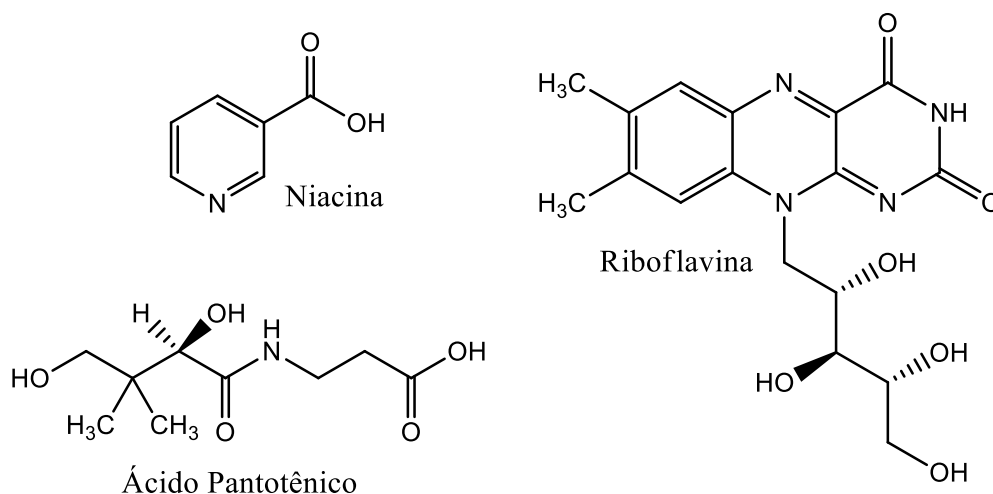


Figura 2: Estrutura química dos principais constituintes químicos presentes no mel.

As evidências científicas permitem afirmar que a propriedade antioxidante das especiarias e de outros vegetais está relacionada, principalmente, com os seus compostos fenólicos. A maioria dos antioxidantes naturais é composta de fenólicos contendo grupos funcionais ativos na posição *orto*, com exceção dos tocoferóis, enquanto que nos antioxidantes sintéticos, com exceção dos galatos, esses grupos encontram-se na posição *para*. Esses compostos, em geral, possuem estrutura fenilbenzopirona (C6-C3-C6), onde as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel γ -pirano, denominado de anel C (Figura 3)¹⁰.

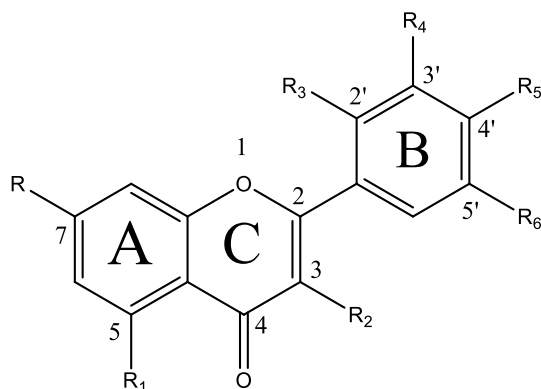


Figura 3: Estrutura química geral dos flavonoides. Fonte: Adaptado de Adelman¹¹.

Devido às suas aplicações, propriedades, valores nutricionais e avaliação ambiental o mel de abelha vem sendo objeto de pesquisas. Dentre esses estudos, diversas pesquisas buscam determinar espécies inorgânicas presentes nas amostras de méis e, por ser uma matriz complexa e rica em matéria orgânica, ambos estudos propõem métodos de preparo dessa amostra e formas de reduzir os interferentes que possam conter.

Preparo da Amostra

Diversas estratégias de preparo de amostras podem ser aplicadas à matriz do mel. Dentre elas pode-se destacar o banho de ultrassom com aquecimento em forno de micro-ondas¹⁷, a decomposição usando aquecimento em placa aquecedora associada a uma posterior pré-concentração, decomposição em forno micro-ondas, decomposição em placa aquecedora, extração em ponto nuvem associado ao aquecimento em frascos de politetrafluoroetileno (PTFE)¹⁵, incineração da amostra¹⁶ e a decomposição em banho maria¹⁸.

Diversos estudos com digestão de mel foram realizados e publicados na literatura científica. Dentre eles, pode-se destacar o estudo realizado por Mendes, Baccan (*et al.* 2006)⁶, no qual foi feita a decomposição de mel (20,0 g) através da dissolução por ultrassom. O estudo relata que amostras foram filtradas e levadas processo de ultrassom por 15 minutos. Em seguida, 1,0 g da solução final foi misturada com 0,5 mL de HNO₃ concentrado, 0,5 mL de solução de ítrio (100,0 mg/L) foi adicionado como um padrão interno e o volume completado para 25,0 mL com água deionizada. Em um outro procedimento de decomposição realizado no mesmo estudo, uma mistura de 1,0 g de mel, 2,0 mL de HNO₃ concentrado, 2,0 mL de peróxido de hidrogênio 30% v/v e 0,5 mL de ítrio (100,0 mg/L, usado como padrão interno) foi submetida a um programa de aquecimento em forno de micro-ondas. A solução resultante foi diluída com água deionizada para 25,0 mL em um frasco volumétrico antes de ser analisada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), afim de quantificar as espécies K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Zn, Cu, Co, Ni, Pb e Cd.

Em outro estudo, desenvolvido por Santos *et al.* (2008)¹², a decomposição foi realizada usando 2,0 g da amostra em um cadinho de porcelana. A temperatura do forno foi aumentada lentamente da temperatura ambiente para 550 °C durante 1 h. As amostras foram queimadas por cerca de 8 h até que um resíduo de cinzas branca fosse

obtido. O resíduo foi dissolvido em 5 mL de HCl (50% v/v) e a mistura foi aquecida lentamente para dissolver o resíduo, quando necessário. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL e completado o volume com água ultrapura. Os elementos Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn foram determinados diretamente na solução usando a técnica FAAS.

No estudo realizado por Daşbaşı *et al.* (2016)¹³, a decomposição das amostras de méis foi realizada da seguinte forma: 10,0 g de amostra foi colocado em um béquer de 100 mL, em seguida, foi adicionado 20 mL de HNO₃ concentrado e 4 mL de H₂O₂ concentrado, na presença de aquecimento através de placa aquecedora. A solução obtida após a digestão foi filtrada através de um papel de filtro com fita azul. O pH da solução da amostra foi ajustado para 4,0. Após a etapa de decomposição, as amostras foram submetidas a uma etapa de pré-concentração usando um novo material adsorvente (resinas quelantes multidentadas, ácido poli (MPAEMA-co-DVB-co-AMPS)) para extração de íons Cd(II), Co(II), Cr(III), Cu(II), Fe(III), Mn(II), Pb(II) e Zn(II). Após a extração e eluição, o eluato final foi analisado por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).

Hungerford *et al.* (2020)¹⁴, realizaram a decomposição do mel utilizando forno micro-ondas. Para isso, uma alíquota de 1,0 g de amostra foi retirada e pesada com precisão em tubos de digestão e 4 mL de ácido nítrico concentrado de alta pureza foram adicionados. Os elementos traço (Ag, Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, V e Zn) foram analisados por espectrometria de massas por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Para a decomposição em placa aquecedora, 5 mL de ácido nítrico foram adicionados inicialmente, seguidos por outra alíquota de 5 mL até a conclusão, quando cerca de 1 mL da solução digerida permaneceu. As amostras digeridas foram diluídas para 40 mL com água de alta pureza para análise dos minerais (Ca, K, Mg, Na e P) por ICP OES.

No estudo desenvolvido por Khammas *et al.* (2012)¹⁵, as amostras de mel foram ligeiramente aquecidas em banho-maria a 40 °C por 2 h. Após o resfriamento, alíquotas contendo 1,0 g de cada amostra foram pesadas diretamente em frascos de PTFE, para os quais 0,5 mL de HNO₃ e 0,5 mL de H₂O₂ foram adicionados e a mistura deixada em repouso durante 12 h. Posteriormente, os frascos foram fechados com tampas de rosca e aquecidos a 100 °C por 3 h. Após resfriamento à temperatura ambiente, os frascos foram abertos, a solução resultante foi transferida para frascos graduados de polipropileno e o volume foi aferido para 25 mL com HCl 0,5 mol/L. As

alíquotas da solução final foram extraídas e analisadas quanto ao teor de chumbo e cádmio de acordo com o procedimento geral prescrito para extração em ponto nuvem com detecção por espectrofotometria utilizando o 7- (6-metoxi 2-benzotiazolil azo) -8-hidroxiquinolina [7- (6MBTA8HQ)] para agir como quelante para formar complexos hidrofóbicos.

Dhahir e Hemed (2015)¹⁶, utilizaram a seguinte metodologia para a realização da decomposição da matriz orgânica presente no mel. Foi pesado cerca de 1,0 g da amostra em um cadinho de porcelana de alta forma. A temperatura do forno mufla foi lentamente aumentada da temperatura ambiente para 450 °C em 1 h. As amostras permaneceram cinzas por cerca de 5 h até que um resíduo branco ou acinzentado foi obtido. O resíduo foi dissolvido em 5 mL de HNO₃ (25% v/v) e a mistura, quando necessário, foi aquecida lentamente para dissolver o resíduo. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, completado o volume e as análises para As, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se e V foram realizadas por FAAS e G FAAS.

No estudo desenvolvido por Moniruzzaman *et al.* (2014)¹⁷, foi realizada a decomposição de amostras de mel assistida por micro-ondas antes da análise para minimizar os efeitos da matriz orgânica. Uma alíquota de 0,5 g da amostra foi digerida com 4 mL de HNO₃ (65% v/v) e 2 mL de H₂O₂ (30% v/v) usando um sistema fechado de micro-ondas. O branco foi preparado de forma semelhante as amostras. As amostras digeridas foram diluídas até um volume final de 50 mL com água duplamente deionizada. No entanto, para a análise de Na e K, uma etapa de diluição adicional (até uma diluição de 10 vezes) foi realizada antes da análise por FAAS, FAES e GFAAS.

No procedimento adotado por Adugna (*et al.* (2020)¹⁸, 1,0 g de amostra de mel misturada e homogeneizada, foi pesada e colocada em frasco cônico, 8 mL de ácido nítrico concentrado e 4 mL de peróxido de hidrogênio foram adicionados ao frasco contendo a amostra. Em seguida, a mistura foi colocada no banho-maria e aquecida por 4h. O frasco foi removido do banho de água e resfriado à temperatura ambiente. À amostra resfriada, foi adicionada água deionizada para dissolver a massa seca, e o conteúdo foi filtrado por filtração simples com papel de filtro e transferido para um balão volumétrico de 10 mL. Posteriormente, o volume da solução foi completado com água deionizada. Da mesma forma, o branco do reagente foi preparado tomando uma mistura dos reagentes (ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio) e tratando-a da mesma maneira que a amostra. Os metais (Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn) foram medidos nas amostras de mel utilizando o instrumento FAAS.

Andrade *et al.* (2014)¹⁹, propuseram uma análise direta do mel, utilizando FAAS e ETAAS para determinar Cd, Pb e Cr. As amostras foram decompostas em soluções com peróxido de hidrogênio 10% e ácido nítrico concentrado e adicionadas diretamente no atomizador eletrotérmico (atomização com plataformas pirolíticas de grafite). Um banho ultrassônico também foi empregado para auxiliar na etapa de preparação das soluções de análises contendo o mel.

Por fim, Sixto *et al.* (2019)²⁰, apresentaram um procedimento de pré-concentração usando microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) e determinação por FAAS. A acetonitrila foi usada como agente dispersante e tetracloreto de carbono como solvente de extração. Um tampão (pH 3,5 - 0,5 mL) foi adicionado a 10 mL de solução de amostra contida em um tubo de polietileno de fundo cônico de 15 mL. Uma mistura de acetonitrila (300 µL) e tetracloreto de carbono (140 µL) contendo 1,0 mg de pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC) foi injetado a uma vazão de fluxo de 1800 µL.s⁻¹ na solução de amostra por meio da bomba de seringa. O método de decomposição da amostra para determinação de Cd por ETAAS foi adaptado, usando 0,5 g de mel e 7,0 mL de HNO₃ concentrado. A decomposição foi auxiliada por aquecimento em forno micro-ondas. Após a decomposição, as amostras foram diluídas com água ultrapura para 50 mL.

Na Tabela 2 está apresentado um resumo de informações acerca de estudos envolvendo diferentes sistemas para decomposição ou preparação de amostras de mel, com a detecção envolvendo técnicas espectroanalíticas tais como FAAS, ETAAS, Espectrofotometria UV-Vis, ICP OES e ICP-MS.

Tabela 2: Revisão bibliográfica de artigos referentes a determinação de metais em amostras de méis.

Analitos	Técnica analítica	Preparo da amostra	Informações adicionais	Aquisição das amostras	Referência
K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Zn, Cu, Co, Ni, Pb e Cd	ICP OES	Banho de Ultrassom/Aquecimento em forno de micro-ondas	Certificação foi verificada por meio do fator de recuperação em dois níveis de fortificação para quatro amostras.	Brasil	6
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn.	FAAS	Extração seca/Banho de Ultrassom	Aplicação de PCA, para atingir uma redução de dimensão, mantendo a quantidade máxima de variabilidade presente nos dados.	Sudoeste da Bahia, Brasil	9
Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn	FAAS	Placa aquecedora/ Pré-Concentração	Utilização de resinas quelantes multidentadas, ácido poli (MPAEMA-co-DVB-co-AMPS).	Kayseri, Turquia	13
Ag, Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, V e Zn Ca, K, Mg, Na e P	ICP-MS ICP OES	Forno micro-ondas/Bloco aquecedor	Certificação foi verificada por meio do fator de recuperação e material certificado.	Queensland, Austrália	14
Cd e Pb	UV-Vis	Extração em ponto nuvem/Aquecimento em frasco de PTFE	Sintetização do 7- (6-metoxi 2-benzotiazolil azo) -8-hidroxiquinolina [7- (6MBTA8HQ)] para agir como quelante para formar complexos hidrofóbicos.	Iraque	15
As, Cd, Cu, Fe, K,	FAAS	Incineração	-----	Iraque	16

Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se e V	GFAAS				
Ca, Fe, Mg, Zn	FAAS	Forno micro-ondas	Uma solução de paládio (500 g/mL) foi usada como modificador químico na análise dos oligoelementos.	Malásia	17
K, Na	FAES				
As, Cd, Co, Cu e Pb	GFAAS				
Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn	FAAS	Banho Maria	-----	Etiópia	18
Cd, Pb e Cr	ETAAS	Banho de ultrassom	Utilização do dihidrogenofosfato de amônio (1,0 g/L ⁻¹), magnésio (600 mg/L ⁻¹) e paládio (364 mg/L ⁻¹).	Paraná, Brasil	19
Cd	FAAS ETAAS	Pré-concentração/Forno micro-ondas	Adição de 5 µg de paládio como modificador químico.	Uruguai	20

ETAAS: Absorção atômica eletrotérmica; FAAS: Espectrometria de absorção atômica com chama; FAES: Espectrometria de emissão atômica com chama; GFAAS: Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite; PCA: Análise de Componentes Principais; ICP OES: Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma acoplado indutivamente; ICP-MS: Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente; UV – Vis: Espectrometria ultravioleta visível.

Decomposição da amostra

Decomposição por Via Seca

A decomposição por via seca é comumente utilizada em matrizes com alto teor de carbono presente na amostra. Devido à resistência ao ataque ácido na matriz a decomposição a seca ainda é o modo mais efetivo, conveniente e, talvez, o mais antigo para a decomposição de materiais orgânicos. Os sistemas de combustão permitem a conversão de carbono e hidrogênio em seus correspondentes produtos de oxidação, majoritariamente dióxido de carbono e água, respectivamente. Considerando a elevada temperatura atingida, praticamente todas as matrizes orgânicas podem ser decompostas durante a combustão e, desta forma, interferências menos significativas são esperadas nas análises²¹.

Para a decomposição por via seca, a utilização do forno mufla faz-se necessária devido ao equipamento conseguir atingir temperaturas que podem chegar até 1200 °C, o que facilita a incineração da matriz orgânica presente na amostra²². Essa característica também pode ser uma desvantagem a depender do analito que se quer determinar, pois certos analitos como o arsênio, mercúrio e o selênio possuem baixo pontos de fusão e podem acabar sendo perdidos por volatilização²³.

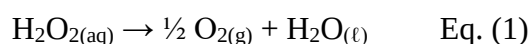
Decomposição por Via úmida

A decomposição por via úmida é um método de preparo de amostra voltado para degradação da matriz orgânica presente na amostra. O método visa disponibilizar os constituintes inorgânicos por meio da destruição da amostra. A decomposição implica no aquecimento da amostra na presença de um ácido oxidante, uma mistura entre ácidos oxidantes ou uma mistura entre um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio. Em todos os casos, ao final do processo, os analitos ficam disponibilizados em uma solução ácida²⁴.

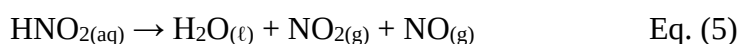
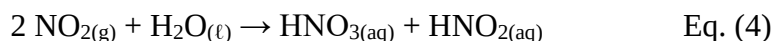
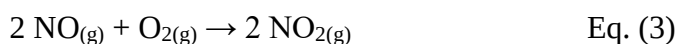
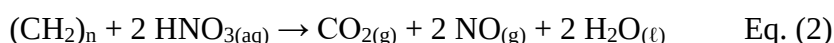
Devido à composição das mais variadas matrizes estudadas ao longo do tempo, os métodos de decomposição passaram a utilizar um ácido mineral oxidante concentrado nos procedimentos, visando facilitar a degradação orgânica das matrizes. Diversos estudos^{13,14,15,18}, como apresentados na Tabela 2, comprovam tal eficiência e eles abordam a utilização de ácidos oxidantes concentrados bem como a utilização de sistemas abertos ou fechados para a realização do procedimento de decomposição da

matriz orgânica presente na amostra. Neste processo, o ácido oxidante mais comumente utilizado é o ácido nítrico (HNO_3), pois o mesmo apresenta propriedades oxidantes e a capacidade de dissolver uma ampla gama de materiais, promovendo a degradação de matrizes complexas disponibilizando os analitos em meio aquoso. Outro fator que agrega valor à utilização do HNO_3 é a fácil obtenção comercial com um alto nível de pureza do ácido, o que é indicado para os procedimentos de decomposição²⁵.

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é bastante utilizado associado a um ácido oxidante concentrado. A sua utilização na decomposição dá-se ao fato que o peróxido de hidrogênio é um forte agente oxidante e na decomposição torna-se uma fonte de oxigênio, que após decomposto, forma água e oxigênio como descrito na equação 1²⁶.



A utilização de ácido nítrico diluído na presença de peróxido de hidrogênio é uma alternativa aos métodos usando ácidos concentrados e esse procedimento de decomposição é abordado na literatura para os mais variados tipos de matrizes. Para uma decomposição bem sucedida da amostra é necessário levar em conta dois fatores: i) presença de oxigênio na fase gasosa dentro do sistema fechado, contribuindo para o processo de oxidação da matéria orgânica que posteriormente é reabsorvido pela fase líquida e ii) o gradiente de temperatura entre a fase líquida e gasosa, que contribui com o menor aumento da pressão. A influência desses fatores concomitantemente origina um ciclo de reações que resultam na regeneração do ácido nítrico, como mostra as equações 2 a 5²⁷.



Este ciclo é efetivo enquanto duas condições forem obedecidas simultaneamente: (i) a presença de matéria orgânica, que é oxidada pelo ácido nítrico formando $\text{NO}_{(\text{g})}$ (Eq. 2); e (ii) a presença de oxigênio na fase gasosa, aumentando a produção de $\text{NO}_{2(\text{g})}$ a partir da oxidação de $\text{NO}_{(\text{g})}$ (Eq. 3). Posteriormente, o $\text{NO}_{2(\text{g})}$ é reabsorvido pela solução com a consequente regeneração de $\text{HNO}_{3(\text{aq})}$ e formação de $\text{HNO}_{2(\text{aq})}$ (Eq. 4). A molécula de $\text{HNO}_{2(\text{aq})}$ irá se decompor em $\text{NO}_{2(\text{g})}$ e $\text{NO}_{(\text{g})}$ (Eq. 5),

estes por sua vez participam das sequências reacionais descritas nas equações 3 e 4. Assim, o ácido nítrico reinicia em um novo ciclo²⁷.

Durante esse processo, o controle da temperatura é de extrema importância por ser um dos fatores determinantes para a regeneração do ácido nítrico e manutenção do ciclo, bem como para a extração de analitos específicos, pois esses podem ser perdidos por volatilização em sistemas abertos.

Decomposição por Radiação UV

A radiação eletromagnética pode ser classificada como uma frequência de onda que é característica de cada energia. A classificação dos diversos tipos de radiação em função do seu efeito físico levou a organização de um espectro eletromagnético que abrange desde a radiação gama até as ondas de rádio. Dentro desse espectro de ondas eletromagnético encontra-se a radiação ultravioleta (UV) (Figura 4), que tem destaque por apresentar diversas aplicações na ciência²⁸.

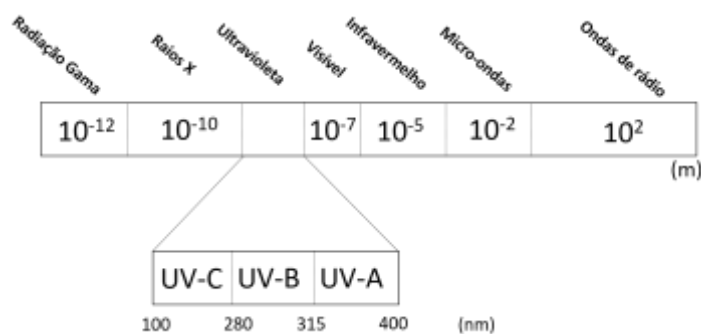


Figura 4. Espectro de ondas eletromagnéticas com destaque para as subclassificações da radiação ultravioleta.

A radiação UV constitui a porção do espectro eletromagnético localizada entre a radiação visível e os raios-X, com comprimentos de onda (λ) de 40 a 400 nm. A região UV é, geralmente, subdividida em UV-A (400-315 nm), UV-B (315-280 nm) e UV-C (280-100 nm) ou, ainda, em ultravioleta próximo (400-200 nm) e ultravioleta distante (ou no vácuo, $\lambda < 200$ nm)²⁹.

Devido às suas propriedades, a radiação UV tem sido empregada no pré-tratamento de amostras. A radiação UV gera fotoderivados que melhoram a detectabilidade do analito de interesse. A Figura 5 apresenta o esquema reacional de degradação da matriz orgânica promovida pela radiação UV.

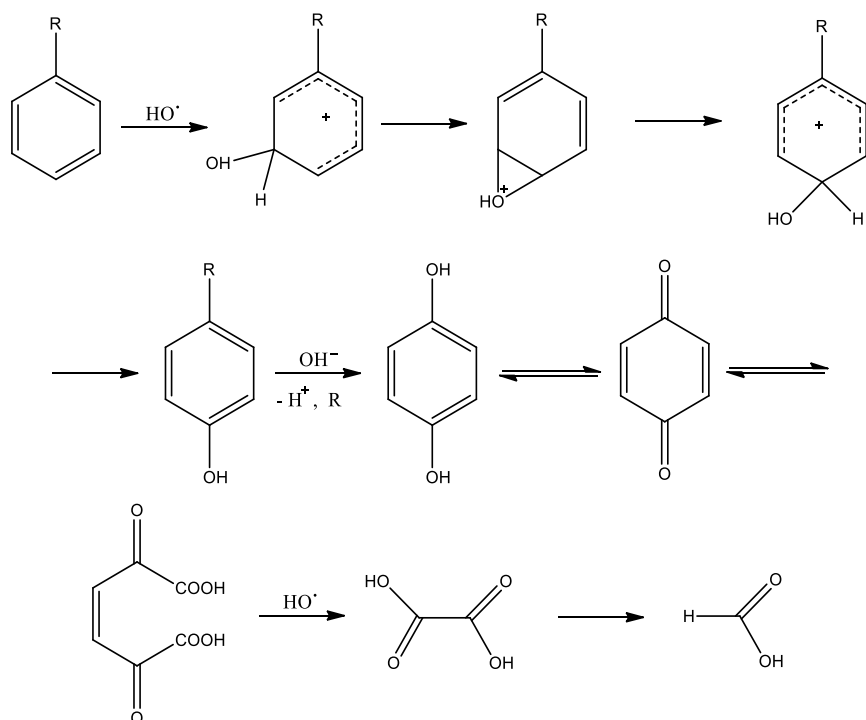


Figura 5: Esquema reacional da fotodegradação de compostos orgânicos. Adaptada de ^{30,31 e 32}.

Esse tipo de decomposição está em conformidade com os princípios da Química Verde, pois é um pré-tratamento rápido, limpo, com baixa ou nenhuma geração de resíduos, promovendo a quebra das ligações químicas e produzindo os fotoquímicos sem o uso de solventes ou reagentes, que possam produzir rejeitos tóxicos²⁸. Desse modo, o método se apresenta como uma alternativa a ser estudada para fins de análises de amostras de mel ou de matrizes similares.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Otimizar um método de decomposição de méis de abelha oriundas de diferentes regiões produtoras na Bahia, visando a determinação de metais.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar diferentes sistemas de decomposição de amostras de mel de abelha;

Utilizar planejamentos de mistura como ferramenta estatística visando a otimização multivariada dos sistemas de decomposição;

Aplicar a metodologia proposta na determinação de micronutrientes em mel de abelha após a realização do processo de extração;

Utilizar a Análise de Componentes Principais como ferramenta para avaliação da similaridade das amostras com base na composição mineral quantificada por FAAS;

Comparar os resultados obtidos com outros estudos utilizando a mesma matriz;

Fornecer informações nutricionais sobre o mel produzido na Bahia.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentação

No estudo foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica em chama (FAAS) Perkin Elmer (Norwalk, CT, EUA), modelo PinAAcle 500, equipado com lâmpada de deutério como corretor de fundo. Uma composição contendo ar/acetileno foi utilizada na formação da chama. Lâmpadas de cátodo oco foram utilizadas como fonte de radiação e as condições operacionais do espectrômetro foram as sugeridas pelo fabricante. Os comprimentos de onda utilizados foram 324,75 nm para Cu, 248,33 nm para Fe, 279,5 nm para Mn e 213,86 nm para Zn.

3.2 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções foram todas preparadas com água ultrapura (Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, EUA; resistividade de 18,2 MΩ cm). Soluções de ácido nítrico, preparadas por diluição apropriada de solução estoque 65% (Merck, Darmstadt, Alemanha), e de peróxido de hidrogênio 30% foram utilizadas na etapa de digestão. Soluções padrão de Cu, Fe, Mn e Zn para calibração foram preparadas a partir de soluções estoque de cada elemento (1000 mg L⁻¹, Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA). Vidrarias convencionais de laboratório, previamente descontaminada com HNO₃ 10% por 24 h, foram utilizadas.

3.3 Aquisição das amostras

As amostras foram adquiridas em cidades das regiões Sudoeste, Sul, Baixo Sul e Chapada Diamantina, Bahia. A Tabela 3 apresenta uma descrição dos pontos de origem das amostras com informações adicionais sobre as mesmas. A origem da produção das amostras foi obtida nos rótulos das respectivas embalagens.

Tabela 3. Locais de aquisição das amostras e informações adicionais sobre as mesmas.

Origem da amostra	Codigos das amostas	Mel (espécie)	Informações adicionais
Barra do Choça	BCE	Europa	Produzido e comercializado pela Apis Jordans
Caatiba	CTE	Europa	Mel do apiário Tica-Bela, adquirido no centro comercial de Itapetinga
Eunápolis	EUE	Europa	Adquirido em casa de produtos naturais na cidade de Itabuna
Ilhéus	ILE	Europa	Adquirido em casa de produtos naturais na cidade de Itabuna
Irajuba	IJE	Europa	Adquirido com vendedor ambulante de produtos naturais
Itabuna	IBE	Europa	Adquirido em casa de produtos naturais em Itabuna
Itacaré	IRE	Europa	Adquirido em casa de produtos naturais em Itacaré
Itiruçu	ITE	Europa	Produzido artesanalmente e comercializado no mercado municipal da cidade
Jequié	JQE	Europa	Adquirido no centro de abastecimento Vicente Grilo
Jitaúna	JTE	Europa	Produção artesanal feita por mulheres da zona rural de Jitaúna
	JTJ	Jatay	
	JTU	Uruçu	
Lagedo do Tabocal	LTJ	Jatay	Comercializado no mercado municipal
Lafaiete Coutinho	LFE	Europa	Comercializado no mercado municipal
Manoel Vitorino	MVE	Europa	Produção artesanal e comercializado no mercado municipal
Maracás	MCE	Europa	Produzido artesanalmente e comercializado no mercado municipal
Palmeiras	PLE	Europa	Adquirido no centro comercial de Mucugê, Chapada Diamantina.
Ribeirão do Largo	RLE	Europa	Produção artesanal da Fazenda Oásis da Paz, adquirido no centro de abastecimento de Vitória da Conquista
Santa Inês	SIU	Uruçu	Adquirido no comércio local
Vitória da Conquista	VCE	Europa	Comercializado no centro de abastecimento da cidade

3.4 Preparo das amostras

3.4.1 Decomposição por Via Seca

Neste estudo a metodologia foi adaptada do estudo desenvolvido por Santos *et al.* (2008)⁹, onde para decompor a amostra foi pesado 5,0 g da amostra em um cadinho de porcelana e levado ao forno mufla, onde a temperatura foi aumentada lentamente da temperatura ambiente para 550 °C durante 1 h. As amostras foram queimadas por 4 h e o resíduo obtido após a queima foi dissolvido em 5 mL de HNO₃ 3,0 mol/L. A mistura formada precisou ser aquecida para promover a dissolução total. A solução formada foi transferida para tubos cônicos e avolumados para 25 mL. Os elementos Cu e Zn foram determinados diretamente na solução usando a técnica FAAS. Três ensaios variando os volumes de ácido nítrico 3,0 mol/L e H₂O₂ 30% foram estudados para massas aproximadas de 5,0 g de mel.

3.4.2 Decomposição por Radiação UV

Para a decomposição usando radiação UV (Figura 6) foi usada uma combinação de peróxido de hidrogênio e ácido nítrico concentrado para decompor a amostra de mel, utilizando uma lâmpada de mercúrio de 20W, seguindo adaptações de Santos *et al.* (2009)³³.

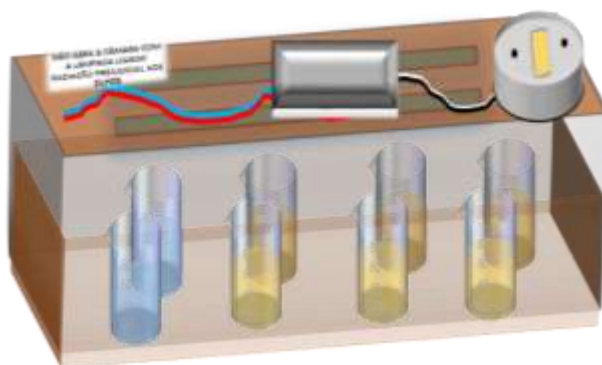


Figura 6: Câmara de radiação de preparo de amostra.

Otimização multivariada usando Planejamento de Mistura para a Decomposição por Radiação UV

No intuito de obter os volumes ideais dos reagentes auxiliares no processo de decomposição, foi aplicado também um planejamento de mistura com restrição. Para o

estabelecimento do planejamento foram avaliados os volumes de três componentes que estão presentes no meio reacional (amostra de mel, ácido nítrico 3,0 mol/L e peróxido de hidrogênio 30%), conforme apresentado na Tabela 4. O volume da solução final em todos os ensaios foi de 10,0 mL, completados com água ultrapura.

Tabela 4. Domínio e matriz experimental utilizados no planejamento de mistura para decomposição por Radiação UV.

Variáveis	Domínio experimental			
	Mínimo	Ponto Central (PC)	Máximo	
Massa da amostra (g)	2,00	2,50	3,00	
Volume de H ₂ O ₂ 30% (mL)	1,50	2,00	2,50	
Volume de HNO ₃ 3,0 mol/ L (mL)	2,00	3,00	4,00	
Matriz experimental				
Ensaio	Volume de amostra (mL)	Volume de HNO ₃ 3,0 mol/L (mL)	Volume de H ₂ O ₂ 30% (mL)	Volume de H ₂ O (mL)
1	3,00	4,00	2,50	0,50
2	3,00	2,00	2,50	2,50
3	3,00	4,00	1,50	1,50
4	3,00	2,00	1,50	3,50
5	2,00	4,00	2,50	1,50
6	2,00	2,00	2,50	3,50
7	2,00	4,00	1,50	2,50
8	2,00	2,00	1,50	4,50
PC	2,50	3,00	2,00	2,50
PC	2,50	3,00	2,00	2,50
PC	2,50	3,00	2,00	2,50

PC – Ponto Central

3.4.3 Decomposição por Via Úmida

O procedimento de decomposição utilizou-se a seguinte metodologia, adaptada de Khammas *et al.*¹⁵: Massas aproximadas de 0,5 g da amostra de mel foram pesadas diretamente em frascos de PTFE. Aos frascos foram adicionados solução de ácido nítrico 3,0 mol/L, água ultrapura e peróxido de hidrogênio 30%. Posteriormente, foram colocados em um camisa de aço de alta pressão (bombas de digestão Parr Instrument) e levadas à estufa, onde foram aquecidas por 4 horas a uma temperatura de 100 ± 10 °C.

Inicialmente, os volumes dos reagentes utilizados na decomposição foram estudados através da aplicação de seis ensaios multivariados para definir um domínio experimental a ser aplicado em um planejamento de mistura. Tal mistura, contendo ácido diluído na presença de peróxido de hidrogênio, é uma alternativa viável para decompor matrizes ricas em matéria orgânica, como a amostra de mel²⁴. Para este estudo foi utilizado uma amostra teste de mel adquirida em meliponário do município de Jequié-Bahia. Os ensaios realizados estão apresentados na Tabela 4. Foram avaliados os sinais de absorvância de Cu e Zn medidos no FAAS bem como aspectos visuais (coloração e presença de sólidos). Em todos os ensaios foram utilizados um volume total da mistura de 4,0 mL.

Tabela 5. Ensaios multivariados preliminares utilizados para a decomposição ácida.

Ensaios	Volumes		
	HNO ₃ 3,0 mol/L	H ₂ O	H ₂ O ₂ 30%
1	1,0	3,0	0,0
2	1,5	2,5	0,0
3	0,75	3,0	0,25
4	1,5	1,5	1,0
5	1,5	2,0	0,5
6	1,0	2,25	0,75

A partir dos resultados obtidos nos ensaios preliminares foi definido um novo domínio experimental a ser aplicado em um planejamento de mistura com restrição com o objetivo de obter uma proporção ideal dos volumes dos três componentes presentes na mistura reacional.

Planejamento de mistura para otimização da decomposição por Via Úmida

A otimização multivariada foi realizada através do planejamento de mistura com restrição. A “restrição” está associada ao fato de a decomposição exigir obrigatoriamente uma mínima quantidade dos componentes para ocorrer uma digestão. Neste planejamento foram avaliados os mesmos componentes e respostas dos ensaios preliminares (Tabela 4). O volume total da solução final em todos os ensaios foi de 4,0 mL. A nova matriz experimental com as condições estudadas no planejamento de mistura e o domínio experimental aplicado estão apresentadas na Tabela 5 e na Figura 7.

Como respostas foram avaliadas as absorvâncias de Cu e Zn obtidas por FAAS, a resposta múltipla (RM), a cor residual, presença de sólido residual e a acidez residual do digerido. A função RM foi usada para os dados normalizados de absorvância do Cu e Zn obtidos por FAAS. A RM é calculada como mostra a equação 6, onde R_{x1} é a resposta analítica de um elemento em um experimento particular e LS_{x1} é a maior resposta em um conjunto de experimentos para aquele elemento. O somatório dessas frações resulta na RM³⁴. Para calcular a acidez residual foi utilizada uma solução padronizada de hidróxido de sódio 0,1 mol/L em um processo de titulação de neutralização usando fenolftaleína como indicador para 100 µL do digerido obtido após o processo de digestão.

$$RM = \left[\frac{R_{x1}}{LS_{x1}} + \frac{R_{x2}}{LS_{x2}} + \frac{R_{x3}}{LS_{x3}} \dots \frac{R_{xn}}{LS_{xn}} \right] \quad \text{Eq. (6)}$$

Tabela 6. Domínio e matriz experimental utilizados no planejamento de mistura para a decomposição por Via Úmida.

Variáveis	Domínio experimental		
	Mínimo	Ponto Central (PC)	Máximo
Volume de água ultrapura (mL)	1,0	1,5	2,0
Volume de H ₂ O ₂ 30% (mL)	0,5	1,0	1,5
Volume de HNO ₃ 3,0 mol/L (mL)	1,0	1,5	2,0

Matriz experimental			
Ensaio	Volume de HNO ₃ 3,0 mol/L (mL)	Volume de H ₂ O (mL)	Volume de H ₂ O ₂ 30% (mL)
1	2,00	1,50	0,50
2	1,00	1,50	1,50
3	2,00	1,00	1,00
4	1,50	1,00	1,50
5	1,50	2,00	0,50
6	1,00	2,00	1,00
7	1,00	1,75	1,25
8	2,00	1,25	0,75
9	1,75	1,75	0,50
10	1,25	1,25	1,50
11	1,75	1,00	1,25
12	1,25	2,00	0,75
13 (PC)	1,50	1,50	1,00
14 (PC)	1,50	1,50	1,00
15 (PC)	1,50	1,50	1,00

PC – Ponto Central

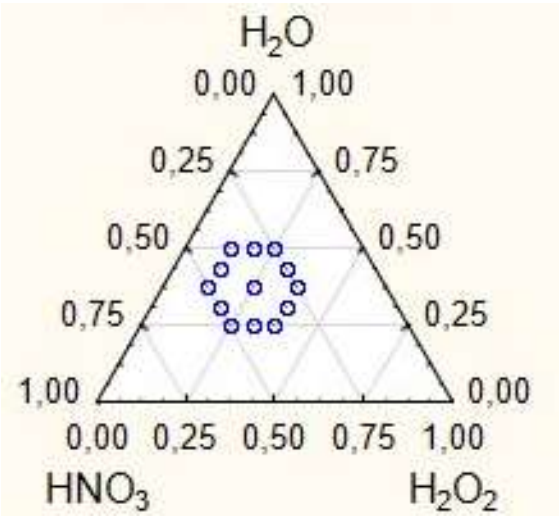


Figura 7: Região experimental do planejamento de mistura com restrição.

Teste de Benedict

Este teste é utilizado para detecção da presença de açúcares redutores presentes em amostras e tem o seguinte procedimento experimental a ser seguido: 1 mL da solução de amostra (obtida no digerido) a 2% é testada com 5 mL de reagente Benedict (a solução pode ser preparada previamente misturando 10 g de carbonato de sódio e 17,3 g de citrato de sódio desidratado em 85 mL de água. À mistura é adicionada 10 mL de solução de sulfato de cobre (1,73 g/100 mL). Em seguida colocar os tubos de ensaio em banho maria por 2 min³⁵~~Erro! Indicador não definido.~~. A formação de precipitado de cor vermelho a vermelho tijolo representa um resultado positivo (que ainda há a presença de açúcares na amostra), como mostrado na Figura 8.

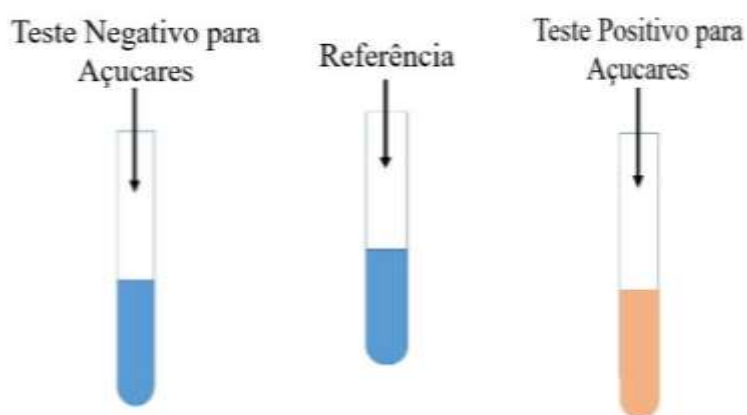


Figura 8: Ensaios teóricos do teste de Benedict para reduzir açúcares. Fonte: Arquivo pessoal.

Teste de Molisch

Para a realização do teste é utilizado o seguinte procedimento: adicionar 2 gotas do reagente de Molisch (preparado dissolvendo 0,1 g de alfa naftol em 2 mL de etanol) a 2 mL da solução de açúcar a ser testada. Após realizada a mistura, o tubo é inclinado e, vagarosamente, 2 mL de ácido sulfúrico concentrado é adicionado na lateral do tubo de ensaio. Uma cor roxa na interface entre o açúcar e o ácido indica um resultado positivo, conforme demonstrado na Figura 9.

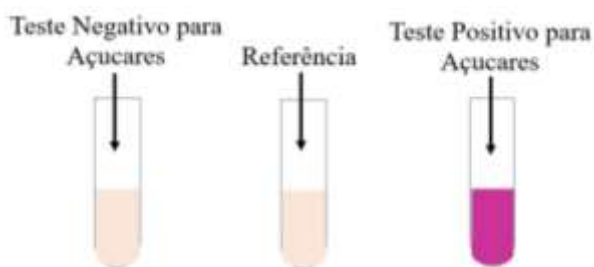


Figura 9: Ensaios teóricos do teste de Molisch para reduzir açúcares. Fonte: Arquivo pessoal.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Decomposição por Via Seca

A decomposição por via seca, comumente chamada de decomposição por incineração ou mineralização é fundamentada na degradação da matriz orgânica presente na amostra por meio da elevação da temperatura transformando a matéria em cinzas que, por sua vez, é homogeneizada com ácido nítrico em banho maria para dissolução e, em seguida, a solução é filtrada. Na Tabela 6 estão presentes os dados referentes aos testes feitos para avaliar o procedimento de decomposição da amostra de mel de Jequié-BA.

Tabela 7: Respostas obtidas nos ensaios para decomposição por Via Seca.

Ensaio	Massa de amostra (g)	Volumes (mL)		Respostas (Absorvância)			
		HNO ₃ 3,0 mol/L	H ₂ O ₂ 30%	Cu	Fe	Mn	Zn
1	4,9879	2,50	0,50	0,0413	0,0242	0,0327	0,2396
2	5,0010	2,50	2,50	0,0397	0,0174	0,0346	0,2038
3	5,0178	1,50	1,50	0,0135	0,0157	0,0260	0,0835

Os resultados apresentam uma absorvância elevada, atribuída à quantidade de amostra decomposta para análise. No entanto, mesmo com valores elevados de absorvância, a aplicabilidade do método em questão é questionável devido à perda de analito que pode ter ocorrido durante a decomposição, o que o torna inadequado para ser empregado neste tipo específico de amostra.

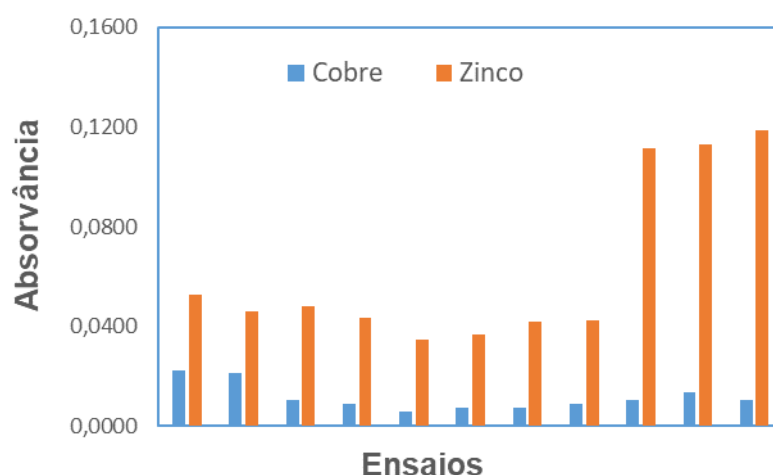
4.2. Decomposição por Radiação UV

Os resultados obtidos para o planejamento de mistura aplicado estão apresentados na Tabela 7 e Figura 10. Os maiores sinais estão destacados em negrito e os menores em vermelho.

Tabela 8: Respostas obtidas no planejamento de mistura para decomposição por Radiação UV.

Ensaio	Volumes (mL)			Respostas			
	HNO ₃ 3,0 mol/L	H ₂ O	H ₂ O ₂ 30%	Absorvância		Cor residual	Presença de sólido residual
				Cu	Zn		
1	4,0	2,5	0,5	0,0224	0,0525	Incolor	Sim
2	2,0	2,5	2,5	0,0213	0,0459	Incolor	Sim
3	4,0	1,5	1,5	0,0105	0,0482	Incolor	Sim
4	2,0	1,5	3,5	0,0089	0,0432	Incolor	Sim
5	4,0	2,5	1,5	0,0056	0,0348	Incolor	Sim
6	2,0	2,5	3,5	0,0073	0,0366	Incolor	Sim
7	4,0	1,5	2,5	0,0072	0,0416	Incolor	Sim
8	2,0	1,5	4,5	0,0086	0,0426	Incolor	Sim
9.1 (PC)	3,0	2,0	2,5	0,0106	0,1116	Incolor	Sim
9.2 (PC)	3,0	2,0	2,5	0,0133	0,1129	Incolor	Sim
9.3 (PC)	3,0	2,0	2,5	0,0105	0,1187	Incolor	Sim

PC: Ponto Central

**Figura 10:** Respostas obtidas para Cu e Zn nos ensaios preliminares por FAAS para decomposição por Radiação UV.

Os resultados utilizando a radiação UV para decompor a matriz orgânica presente no mel mostraram-se promissores. Sinais significativos de absorvância foram observados após a decomposição. Para o Cu os melhores resultados foram obtidos usando maior quantidade de ácido e menor de peróxido, já para o Zn a região central (condições intermediárias de ácido e de peróxido) mostrou-se a melhor condição, dentro do domínio experimental adotado. No entanto, a presença de resíduos sólidos na amostra sugere a persistência de matriz orgânica residual. Este fato pode representar um risco potencial de danos ao equipamento utilizado para a determinação dos analitos, requerendo etapas adicionais de filtração, otimização das concentrações de ácido e de

peróxido de hidrogênio bem como do tempo de radiação, entre outras. Além disso, parte da matéria orgânica possivelmente ainda permanece no meio, o que aumenta o efeito de matriz.

Na literatura não foram encontrados resultados específicos sobre a decomposição de amostras de méis usando radiação UV. Contudo, estudos conduzidos com uma matriz similar em relação ao teor de açúcares, como o vinho, podem ser considerados como referência para orientar o desenvolvimento de um método de decomposição da matriz orgânica presente no mel. Entre os artigos publicados que utilizam radiação ultravioleta para decompor a matriz orgânica em amostras de vinho, destaca-se o estudo realizado por Santos *et al.* (2009)³³. Estudos como o proposto por Cruz Junior *et al.* (2019), também para decomposição de vinho, indicam a utilização do peróxido de hidrogênio e o ácido nítrico como bons auxiliares na decomposição de matrizes ricas em teor de matriz orgânica³⁶.

No entanto, é fundamental realizar testes e adaptações específicas para a matriz do mel, pois mesmo que o mel e o vinho possuam algumas semelhanças em sua composição orgânica devido a ao alto teor de açúcares, também apresentam diferenças significativas em outras características. Ajustes no método são necessários para garantir sua eficácia e aplicabilidade à matriz do mel. Portanto, estudos posteriores visando a otimização do método proposto são recomendados e, neste caso, o método não foi utilizado para análise de amostras de mel.

4.3. Decomposição por Via Úmida

A decomposição de materiais orgânicos ou biológicos por via úmida implica em aquecimento da amostra. Isso pode ocorrer geralmente na presença de um ácido mineral oxidante, misturas contendo ácidos oxidantes ou ainda uma mistura de um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio. Neste estudo foi utilizado uma mistura de HNO₃ como ácido oxidante na presença de H₂O₂. Os resultados obtidos para os seis ensaios preliminares estão apresentados na Tabela 8 e na Figura 11. O maior sinal está destacado em negrito e o menor em vermelho.

Tabela 9: Respostas obtidas nos ensaios preliminares multivariados para a decomposição por Via Úmida.

Ensaio	Variáveis			Respostas			
	Volumes (mL)			Absorvância		Cor residual	Presença de sólido residual
	HNO ₃ 3,0 mol/L	H ₂ O	H ₂ O ₂ 30%	Cu	Zn		
1	1,0	3,0	0,0	0,0005	0,0100	Âmbar	Sim
2	1,5	2,5	0,0	0,0000	0,0106	Âmbar	Sim
3	0,75	3,0	0,25	0,0013	0,0211	Âmbar	Sim
4	1,5	1,5	1,0	0,0013	0,0131	Incolor	Não
5	1,5	2,0	0,5	0,0027	0,0188	Incolor	Não
6	1,0	2,25	0,75	0,0015	0,0185	Incolor	Não

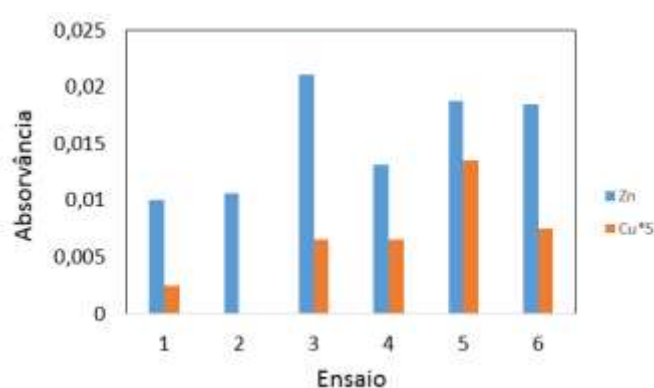


Figura 11: Respostas normalizadas obtidas para Cu e Zn por FAAS nos ensaios preliminares usando decomposição por Via Úmida.

De acordo com as respostas apresentadas na Tabela 8 e Figura 11 é possível observar que a presença de H₂O₂ influencia positivamente na decomposição da matriz orgânica presente na amostra. Nos ensaios 1 e 2, pode-se observar os menores sinais para Cu e Zn, sinal este que possivelmente está associado à ausência de peróxido de hidrogênio nos ensaios. Ao mesmo tempo, essas soluções apresentaram coloração âmbar e presença de sólidos não digeridos, como pode ser observado na Figura 12.



Figura 12: Imagens obtidas nos ensaios preliminares. Fonte: Arquivo pessoal.

No ensaio 3, na presença de peróxido de hidrogênio em menor quantidade (0,25 mL), o resultado para Cu e para Zn aumentou significativamente. No entanto, a presença de coloração âmbar e sólidos residuais também foram observados (Figura 12), o que caracteriza uma decomposição incompleta da matéria orgânica.

Nos ensaios 4, 5 e 6, a decomposição aparentemente apresentou maior eficiência, demonstrando a ausência de cor e de sólidos residuais. Adicionalmente, os três ensaios apresentaram melhores sinais para Cu, sendo o ensaio 5 o que apresentou maior absorvância. Para o Zn também ocorreu melhoria nos sinais, sendo o ensaio 5 a segunda melhor condição obtida. Apesar do sinal de absorvância no ensaio 5 ter sido um pouco menor do que o ensaio 3, o mesmo não apresentou presença de sólidos e coloração residual. Assim, as condições do ensaio 5 foram norteadoras para definir o novo domínio e a matriz experimental a serem aplicados no planejamento de mistura. A matriz experimental com os respectivos resultados obtidos após a aplicação do planejamento está apresentada na Tabela 10. O maior sinal está destacado em negrito e o que apresentou cor âmbar e presença de sólido residual em vermelho.

Tabela 10: Matriz e resultados do planejamento de mistura.

Ensaio	Volumes (mL)			Respostas					
	HNO ₃ 3,0 mol/L	H ₂ O	H ₂ O ₂ 30%	Absorvância		RM	Cor residual	Presença de sólido residual	Acidez residual (%)
				Cu	Zn				
1	2,00	1,50	0,50	0,0029	0,0323	0,3027	Incolor	Não	8,91
2	1,00	1,50	1,50	0,0109	0,0696	0,8339	Incolor	Não	8,88
3	2,00	1,00	1,00	0,0061	0,0496	0,5054	Incolor	Não	8,88
4	1,50	1,00	1,50	0,0031	0,0259	0,2752	Incolor	Não	8,80
5	1,50	2,00	0,50	0,0027	0,0278	0,2645	Incolor	Não	8,66
6	1,00	2,00	1,00	0,0032	0,0336	0,3297	Âmbar	Sim	8,74
7	1,00	1,75	1,25	0,0229	0,1887	1,9569	Incolor	Não	8,88
8	2,00	1,25	0,75	0,0225	0,0193	1,1088	Incolor	Não	8,95
9	1,75	1,75	0,50	0,0027	0,0191	0,2271	Incolor	Não	8,58
10	1,25	1,25	1,50	0,0126	0,0685	0,8615	Incolor	Não	9,63
11	1,75	1,00	1,25	0,0036	0,0274	0,3130	Incolor	Não	9,31
12	1,25	2,00	0,75	0,0036	0,0312	0,3127	Incolor	Não	9,30
13 (PC)	1,50	1,50	1,00	0,0035	0,0237	0,2975	Incolor	Não	9,17
14 (PC)	1,50	1,50	1,00	0,0035	0,0252	0,2920	Incolor	Não	9,08
15 (PC)	1,50	1,50	1,00	0,0038	0,0227	0,2889	Incolor	Não	9,14

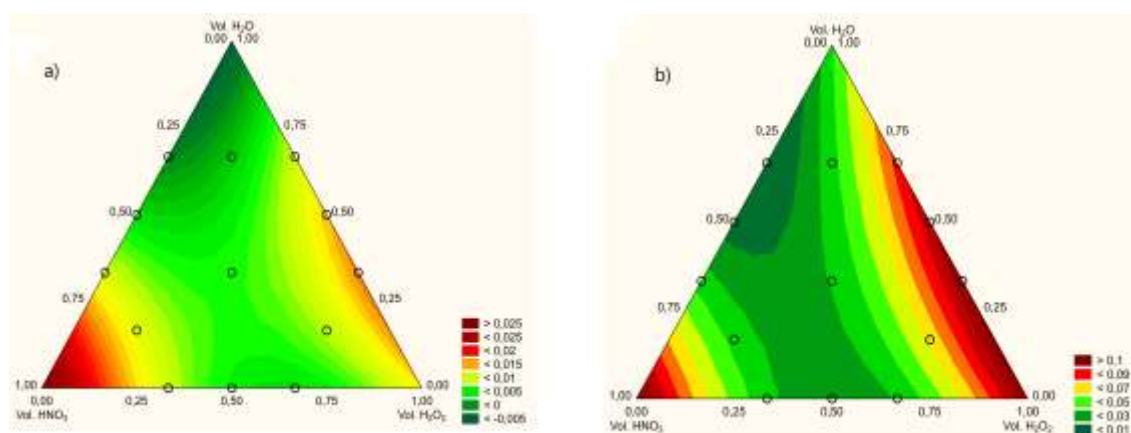
- PC: Ponto Central; *Resposta em Absorvância; RM: Resposta Múltipla.

A otimização multivariada aplicada na forma de planejamento de mistura é um recurso utilizado quando pretende-se definir as proporções que gerem a melhor resposta de um processo, neste caso uma melhor decomposição da matriz orgânica. Esse modo de otimização permite estudar vários fatores simultaneamente, e as melhores condições são encontradas através de recursos matemáticos e estatísticos. Essa otimização multivariada permite reconhecer se existe interações entre os fatores avaliados, além de proporcionar a redução no conjunto de ensaios experimentais, comparado com a otimização univariada. Oferece ainda aspectos econômicos e sustentáveis, coerente com os princípios da química verde, sem perder a eficiência do processo³⁷.

Para este estudo, o método de decomposição utilizou reatores de alta pressão de PTFE adaptado de Khammas *et al.*¹⁵. Visualmente, a decomposição realizada aplicando o planejamento experimental mostrou-se eficiente para a maior parte do experimento, exceto para o ensaio 6. Em todos os ensaios bem-sucedidos foi observado o clareamento da amostra de âmbar para incolor e a diminuição da viscosidade das amostras, porém a amostra 6 permaneceu com a coloração levemente âmbar. Dentre os resultados, a condição que apresentou as melhores respostas foi aquela obtida no ensaio 7.

Os dados experimentais para absorvância, RM e acidez residual foram tratados no programa Statistica 12 e geraram as superfícies de resposta, apresentadas nas Figuras 13 a 15.

Figura 13: Superfície de contorno obtida para o planejamento de mistura usando absorvância como resposta para: (a) Cobre e b) Zinco.



Neste estudo, o ponto máximo obtido pela avaliação da absorvância tanto do Cu quanto do Zn é identificado como uma condição de sela, uma região de interseção

entre um mínimo relativo e um máximo relativo. É possível observar na Figura 13 que a superfície possui duas regiões de máximos e, portanto, as coordenadas desses pontos apresentam duas melhores condições adequadas para obter uma maior resposta. Um desses pontos inclusive situa-se fora do domínio experimental estudado. O ponto máximo é identificado na cor vermelha nos gráficos da figura, onde destaca-se o ensaio 7. Os pontos críticos são obtidos pela aplicação do critério de Lagrange, que é baseado no determinante Hessiano³⁸.

O modelo quadrático obtido para ambas as respostas (Absorvâncias) do Cu e Zn apresentou superfícies muito semelhantes em relação aos pontos de máximo e de mínimo, ao aspecto visual e às condições ideais. Isso demonstra que a digestão acontece numa mesma tendência para ambos os elementos estudados. Contudo, as coordenadas do ponto de sela gerados pela equação não representam condições ideais para o processo avaliado e os valores críticos podem estar compreendidos fora do domínio experimental avaliado. É necessário então uma inspeção visual da superfície obtida a fim de encontrar as condições ideais.

O fato de o ensaio 7 estar dentro do domínio experimental e apresentar as maiores respostas faz com que ele seja o ponto definido com condições ótimas para promover a extração mais eficiente dos metais Cu e Zn. O ponto 8 também apresentou ótima resposta para o Cu, mas não apresentou para o Zn.

Além da utilização das respostas em absorvâncias dos elementos Cu e Zn, a função resposta múltipla (Figura 14) foi obtida a partir do somatório das absorvâncias individuais após normalização dos dados³⁹.

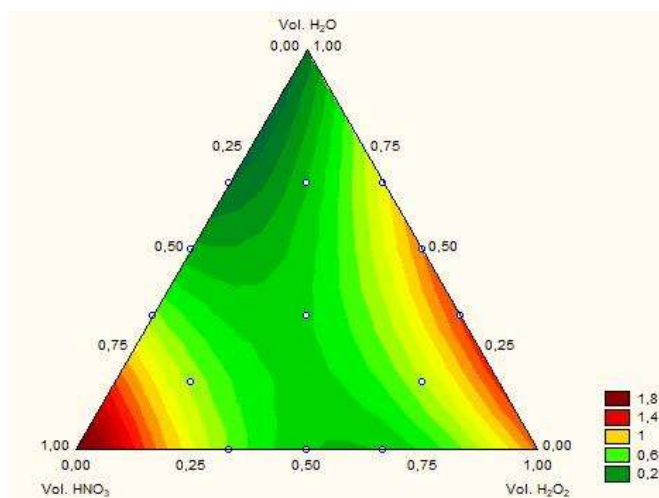


Figura 14: Superfície de contorno para o planejamento de mistura usando RM como resposta.

A RM mostrou-se muito útil para uma avaliação global do sistema, visto que o comportamento individual dos elementos é mantido mesmo quando se usa a resposta global. Neste caso, a ferramenta consolidou ainda mais as respostas individuais que apontavam como ponto ótimo o ensaio 7.

Os resultados também foram avaliados pela acidez residual do digerido (Tabela 10) e foi obtida a superfície de contorno, conforme apresentada na Figura 15.

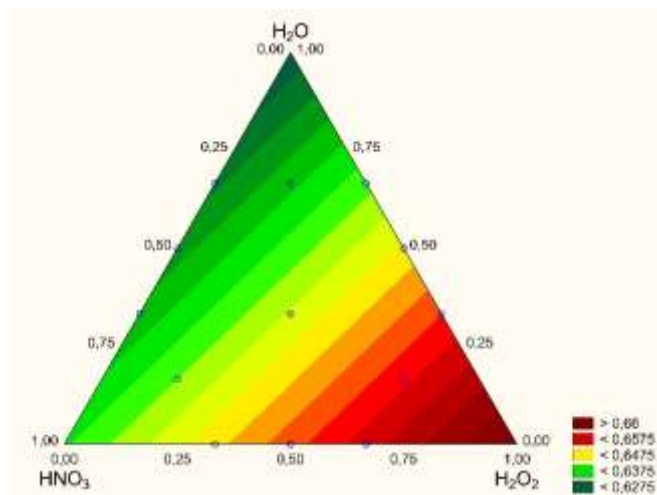


Figura 15: Superfície de contorno obtida para o planejamento de mistura usando acidez residual como resposta.

Ao analisar a Figura 15, nota-se uma tendência de aumento no resíduo de acidez quando são utilizadas maiores quantidades de peróxido de hidrogênio nos experimentos. Esses resultados estão alinhados com as superfícies de contorno apresentados na Figura 13 (resultados de absorvância para Cu e Zn), evidenciando que a eficiência da digestão está diretamente relacionada à combinação do ácido nítrico 3,0 mol L⁻¹ e peróxido de hidrogênio 30%. Fica nítido que os volumes de H₂O₂ e HNO₃ empregados neste estudo desempenham um papel significativo na decomposição da matriz analisada.

Em técnicas espectrométricas como FAAS e ICP OES, é recomendável utilizar soluções com acidez inferior a 10% v/v para evitar interferências no transporte de aerossóis durante a introdução da amostra. Todos os ensaios realizados apresentaram uma acidez residual menor que 10%, em conformidade com as diretrizes recomendadas para análises espectrométricas. Tais resultados indicam que o ácido que estava presente no meio foi usado para degradar a matéria orgânica com efetividade, com auxílio do reagente peróxido.

4.3.1 Teste de Benedict

O Teste de Benedict foi aplicado tanto para uma amostra de mel sem decomposição quanto para os digeridos obtidos após a decomposição nos ensaios com as diferentes condições propostas pelo planejamento de mistura (Tabela 10). A Figura 16 traz o resultado visual positivo para aplicação do teste no mel constatando a presença de açúcares na amostra, de acordo com o que está apresentado na literatura. Com as amostras digeridas (Figura 17), nota-se que não há uma mudança brusca na coloração como na Figura 16, porém há uma leve mudança da coloração saindo do azul para um tom pouco esverdeado nos ensaios 5, 6 e 12, o que é um indicativo ainda da presença de açúcares.

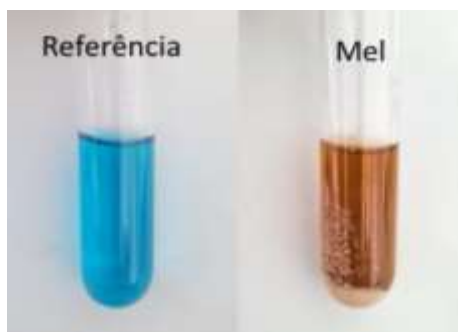


Figura 16: Imagem da aplicação do Teste de Benedict em mel. Fonte: Arquivo pessoal.

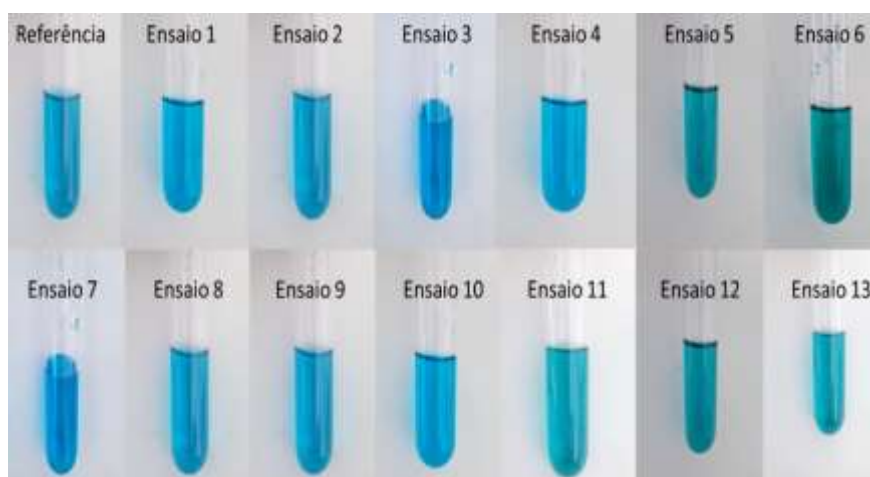


Figura 17: Imagens da aplicação do Teste de Benedict para o planejamento de mistura. Fonte: Arquivo pessoal.

De acordo com o teste aplicado, o resultado positivo é somente indicado quando há a mudança da coloração azul para um tom de vermelho tijolo, o que não ocorreu nos ensaios avaliados. No entanto, o Teste de Molisch foi aplicado para evidenciar ou não a presença de açúcares redutores nos ensaios 5, 6 e 12.

4.3.2 Teste de Molisch

O Teste de Molisch é usado para detectar a presença de carboidratos. Se for obtido um resultado negativo, a presença de açúcares na amostra não é detectada. É um teste útil para identificar compostos que possam ser desidratados em furfural ou hidroxitometilfurfural na presença de H_2SO_4 . O alfa naftol reage com o aldeído cíclico para formar produtos de condensação de cor púrpura.

Os resultados para o Teste de Molisch realizados somente com os ensaios 5, 6 e 12 podem ser observados nas Figuras 18 e 19. Nos três ensaios, a matéria orgânica na forma de açúcares permaneceu sem a total decomposição, sinalizando que ainda existe carboidratos presente na solução³⁵. Portanto, essas condições não apresentam uma decomposição efetiva para ser usada nas amostras de mel. As condições definidas então, com base em todos os resultados supracitados, correspondem a 1,0 mL de HNO_3 3,0 mol/L, 1,25 mL de H_2O_2 30% e 1,75 mL de água ultrapura, para uma massa aproximada de 0,5000 g de mel.

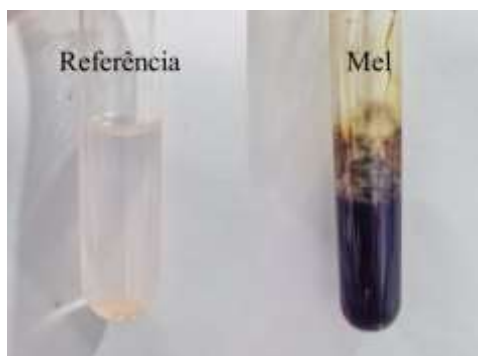


Figura 18: Imagem da aplicação do Teste de Molish em mel. Fonte: Arquivo pessoal.

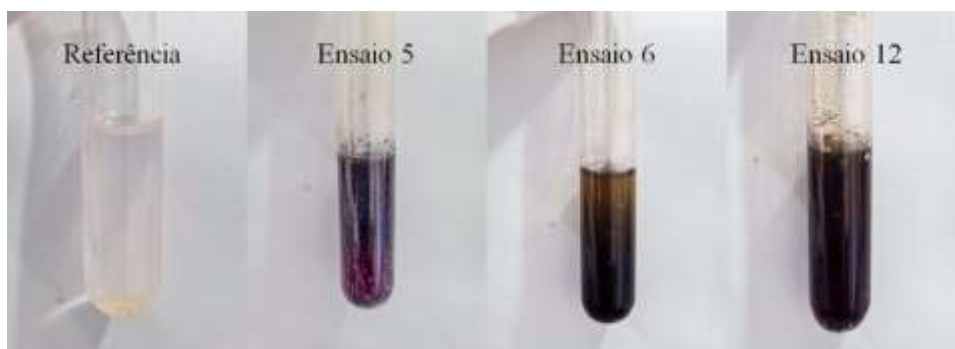


Figura 19: Imagens obtidas da aplicação do Teste de Molish nos digeridos dos ensaios 5,6 e 12. Fonte: Arquivo pessoal.

4.4 Linearidade do método e faixas de trabalho utilizadas

Após o processo de otimização e a definição das condições ideais dos volumes dos reagentes estabelecidos com o planejamento de mistura, realizou-se o processo de calibração instrumental usando ajuste pelo método dos mínimos quadrados, com o intuito de gerar um modelo matemático linear. Tal técnica tenta encontrar o melhor ajuste para um conjunto de dados buscando minimizar a soma dos quadrados das diferenças entre o valor estimado e os valores observados. Essas diferenças são denominadas resíduos.

Mendes *et al.* (2006)⁶ e Santos *et al.* (2008)⁹ ressaltam a importância da calibração em análises quantitativas, pois esse processo indica que a resposta dada pelo sistema de medida a ser utilizado está diretamente relacionada às concentrações dos padrões preparados. Os gráficos das Figuras 20 a 23 trazem no eixo vertical as respostas instrumentais (absorvância) obtidas a partir da análise das soluções preparadas com concentrações crescentes. Na Tabela 11 são expressos os parâmetros referentes às curvas de calibração de Cu, Fe, Mn e Zn. Para os parâmetros de calibração e posterior análise das amostras, a aplicação do método foi estendida para a determinação de ferro e manganês, usando os mesmas condições otimizadas para Cu e Zn.

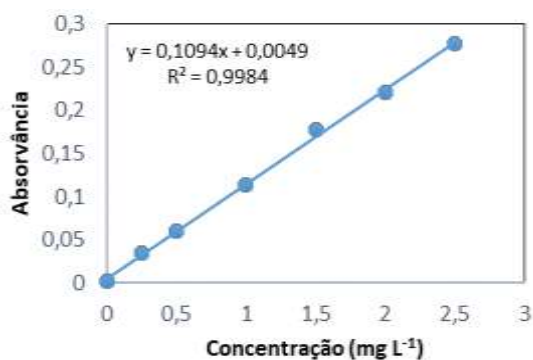


Figura 20. Curva de calibração para cobre.

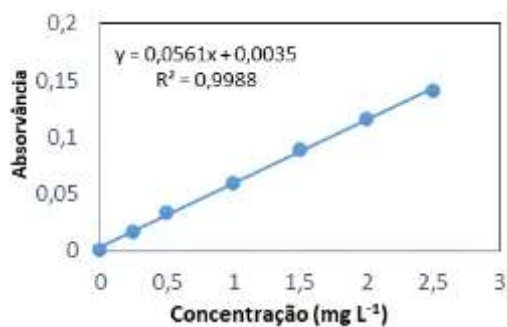


Figura 21. Curva de calibração para ferro.

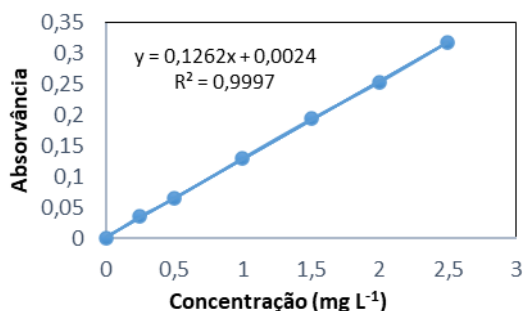


Figura 22. Curva de calibração para manganês.

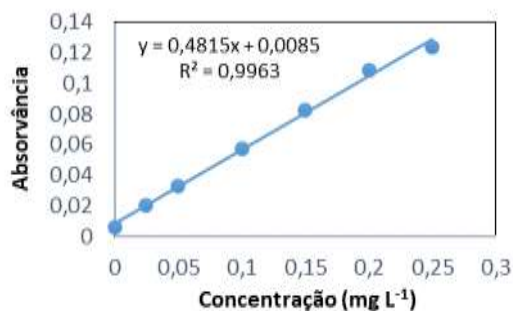


Figura 23. Curva de calibração para zinco.

Tabela 11: Dados da curva de calibração do cobre, ferro, manganês e zinco.

Elemento	Equação	R ²	Linearidade
Cu	y = 0,1094 Conc. + 0,0049	0,9984	0 – 2,5 mg L ⁻¹
Fe	y = 0,0561 Conc. + 0,0035	0,9988	0 – 2,5 mg L ⁻¹
Mn	y = 0,1262 Conc. + 0,0024	0,9997	0 – 2,5 mg L ⁻¹
Zn	y = 0,4815 Conc. + 0,0085	0,9963	0 – 0,25 mg L ⁻¹

R²: Coeficiente de determinação; y = absorvância medida experimentalmente.

Os coeficientes de correlação R² foram superiores a 0,99, indicando uma excelente linearidade das curvas, atendendo às exigências mínimas estabelecidas pelo INMETRO⁴⁰.

4.5 Aplicação do método

Após a calibração instrumental, a análise das amostras de mel de abelha foi realizada e os cálculos de concentração em µg g⁻¹ (Tabela 12 e Figura 26) foram conduzidos com base nas equações estabelecidas para cada elemento. Os sinais de absorvância obtidos para as amostras estavam dentro da faixa analítica de trabalho atribuída nas curvas de calibração. Os resultados foram plotados em gráficos de barras. Nesta etapa, o método foi utilizado também para a determinação de Fe e Mn, utilizando as condições previamente otimizadas para Cu e Zn.

Tabela 12. Concentração dos micronutrientes encontrados em amostras de mel.

Amostra	Estatística Básica	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)			
		Cu	Fe	Mn	Zn
Barra do Choça	Média $\pm$ DP	$0,009 \pm 0,027$	$1,65 \pm 0,32$	$1,59 \pm 0,03$	$0,73 \pm 0,12$
	CV	3,1	0,19	0,016	0,17
Caatiba	Média $\pm$ DP	$0,055 \pm 0,073$	$1,60 \pm 0,32$	$0,34 \pm 0,06$	$1,23 \pm 0,08$
	CV	1,3	0,20	0,17	0,071
Eunapolis	Média $\pm$ DP	< LQ	$1,99 \pm 0,20$	< LQ	$0,93 \pm 0,16$
	CV		0,10		0,18
Ilhéus	Média $\pm$ DP	< LQ	$1,81 \pm 0,03$	< LQ	$0,74 \pm 0,48$
	CV		0,017		0,65
Irajuba	Média $\pm$ DP	< LQ	$2,00 \pm 0,36$	< LQ	$1,89 \pm 1,04$
	CV		0,18		0,55
Itabuna	Média $\pm$ DP	< LQ	$1,89 \pm 0,08$	$1,42 \pm 0,02$	$1,31 \pm 0,16$
	CV		0,042	0,016	0,12
Itacaré	Média $\pm$ DP	$2,10 \pm 1,97$	$2,32 \pm 0,68$	$0,69 \pm 0,86$	$3,57 \pm 3,88$
	CV	0,94	0,29	1,25	1,09
Itiruçu	Média $\pm$ DP	< LQ	$2,20 \pm 0,60$	$0,29 \pm 0,46$	$1,08 \pm 0,55$
	CV		0,27	1,60	0,51
Jequié	Média $\pm$ DP	< LQ	$1,03 \pm 0,18$	$0,11 \pm 0,49$	$1,44 \pm 0,28$
	CV		0,17	4,43	0,20
Jitauna	Média $\pm$ DP	$0,08 \pm 0,35$	$1,76 \pm 0,20$	$0,89 \pm 0,04$	$1,33 \pm 0,50$
	CV	4,2	0,11	0,044	0,37
Jitauna	Média $\pm$ DP	$0,12 \pm 0,22$	$1,84 \pm 0,09$	$0,95 \pm 0,04$	$1,42 \pm 0,44$
	CV	1,9	0,050	0,043	0,31
Jitauna	Média $\pm$ DP	< LQ	$1,23 \pm 0,26$	< LQ	$0,43 \pm 0,07$
	CV		0,22		0,17
Jiquiriçá	Média $\pm$ DP	< LQ	$1,56 \pm 0,19$	$0,48 \pm 0,19$	$1,39 \pm 0,31$
	CV		0,12	0,39	0,22
Lagedo do Tabocal	Média $\pm$ DP	< LQ	$20,8 \pm 0,4$	< LQ	$0,77 \pm 0,39$
	CV		0,020		0,51
Lafaiete Coutinho	Média $\pm$ DP	$1,71 \pm 0,74$	$17,4 \pm 0,8$	$0,29 \pm 0,02$	$46,9 \pm 0,7$
	CV	0,43	0,048	0,068	0,015
Manoel Vitorino	Média $\pm$ DP	$0,42 \pm 1,30$	$1,77 \pm 0,39$	$0,17 \pm 0,05$	$2,3 \pm 3,0$
	CV	3,1	0,22	0,31	1,30
Maracás	Média $\pm$ DP	$0,50 \pm 0,21$	$3,43 \pm 1,51$	$1,52 \pm 0,0694$	$3,2 \pm 0,8$
	CV	0,43	0,44	0,0457	0,24
Palmeiras	Média $\pm$ DP	< LQ	$1,77 \pm 0,33$	< LQ	$0,42 \pm 0,06$
	CV		0,18		0,15
Ribeirão do Largo	Média $\pm$ DP	$0,53 \pm 1,58$	$1,09 \pm 0,05$	$0,16 \pm 0,03$	$14,2 \pm 0,51$
	CV	3,0	0,042	0,18	0,11
Santa Inês	Média $\pm$ DP	< LQ	$2,22 \pm 0,18$	$0,24 \pm 0,002$	$3,7 \pm 0,3$
	CV		0,081	0,008	0,091
Vitória da Conquista	Média $\pm$ DP	$2,80 \pm 1,36$	$2,07 \pm 0,43$	$0,77 \pm 0,08$	$2,6 \pm 0,9$
	CV	0,48	0,21	0,11	0,34

*n = 3; DP: Desvio Padrão; CV: Coeficiente de Variação.

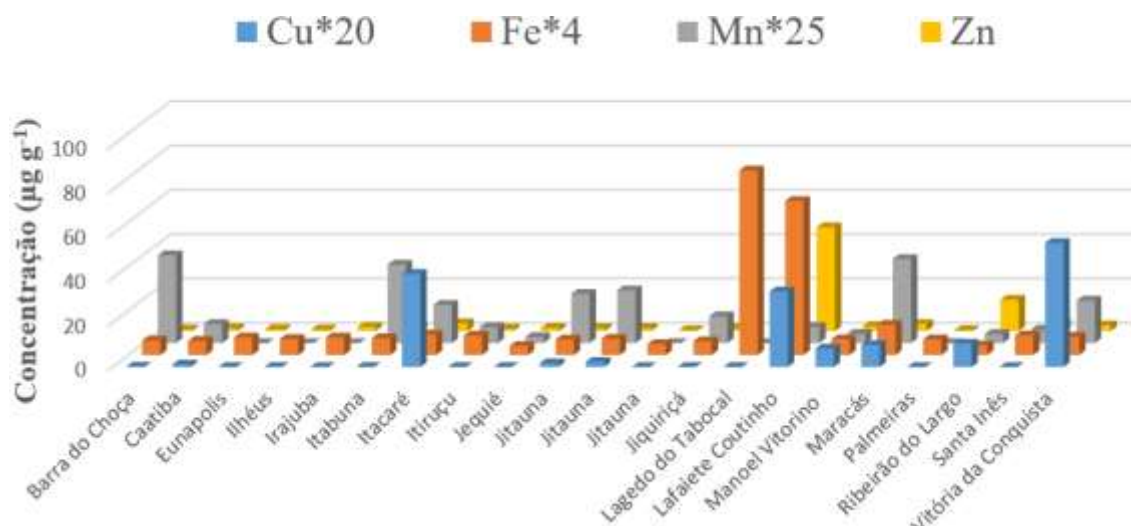


Figura 24. Concentração de Cu, Fe, Mn e Zn nas amostras de mel analisados por FAAS.

Com base no Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965, que foi posteriormente revogado pelo Decreto nº 9.917, de 2019, as quantidades máximas permitidas para cobre e zinco em alimentos em geral são de $30 \mu\text{g g}^{-1}$ e $50 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente⁴¹, porém a referida portaria não contém informações acerca das quantidades máximas de ferro e manganês. Cada amostra de alimento pode variar em sua composição devido a diversos fatores, como o solo, o método de coleta e possíveis contaminações.

No estudo em questão, as amostras analisadas apresentaram concentrações médias de cobre variando entre $0,00$ a $2,80 \mu\text{g g}^{-1}$ e de zinco entre $0,00$ a $46,9 \mu\text{g g}^{-1}$. Todas as amostras analisadas mostraram valores inferiores aos limites máximos estabelecidos. O valor máximo de cobre foi encontrado na amostra adquirida da cidade de Vitória da Conquista, enquanto o valor máximo de concentração de zinco foi identificado na cidade de Lafaiete Coutinho, ambas adquiridas no sudoeste baiano.

Para o elemento ferro, foi observada uma concentração de $20,8 \mu\text{g g}^{-1}$ no mel adquirido em Lagedo do Tabocal, o que representa o valor mais alto entre todas as cidades analisadas. Em seguida, o segundo maior valor foi de $17,4 \mu\text{g g}^{-1}$ para a amostra de Lafaiete Coutinho. A menor concentração registrada foi de $1,03 \mu\text{g g}^{-1}$ para a amostra de Jequié.

Quanto ao elemento manganês, a concentração mais alta ($1,58 \mu\text{g g}^{-1}$), foi encontrada no mel adquirido em Barra do Choça. Em segundo lugar, a amostra de Maracás apresentou uma concentração de $1,51 \mu\text{g g}^{-1}$. A menor concentração detectada

foi de 0,11 $\mu\text{g g}^{-1}$ para a amostra de Jequié. É importante observar que as cidades de Eunápolis, Ilhéus, Irajuba, Jitaúna (Uruçu), Lagedo do Tabocal e Palmeiras apresentaram concentrações abaixo do limite de quantificação para ambos os elementos, indicando níveis muito baixos ou indetectáveis desses elementos nas amostras de mel.

A Tabela 13 apresenta os valores de concentração encontrados nas amostras e faz uma comparação com valores descritos na literatura. Os teores encontrados estão condizentes com os encontrados na literatura.

Tabela 13. Concentração dos micronutrientes ($\mu\text{g g}^{-1}$) e comparação com valores da literatura.

Analito	Este estudo (FAAS)	FAAS	ICP OES	ICP-MS
Cu	< LOD – 5,10	< 0,1 ¹³	< LOQ ⁶	0,16 ⁴⁴
		< LOD – 33,66 ¹²	< 0,1 ⁴²	< 0,1 ⁴⁵ ;
		< 0,1 ¹⁶	< LOD – 0,1 ⁴³	
Fe	1,09 – 20,8	< 0,1 ¹³	< 0,1 ⁶	< 0,3 ⁴⁴
		< 1,50 – 89,08 ¹²	< 0,1 ⁴²	< 0,1 ⁴⁵ ;
		< 0,1	< LOD – 0,0004 ⁴³	
Mn	< LOD – 1,58	< 0,1 ¹³	< LOQ – 0,1 ⁶	6,3 ⁴⁴
		< LOD – 52,98 ¹²	< 0,1 ⁴²	< 0,1 ⁴⁵ ;
		< 0,1	< LOD ⁴³	
Zn	0,41 – 46,9	< 0,1 ¹³	< LOQ – 0,1 ⁶	< 0,04 ⁴⁴
		< LOD – 14,26 ¹²	< 0,1 ⁴²	< 0,1 ⁴⁵ ;
			< LOD – 0,0003 ⁴³	

4.6 Tratamento dos dados usando análise de componentes principais

A utilização da Análise de Componentes Principais tem como objetivo reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados original, mantendo a maior quantidade possível de informação (variância). Essa redução é alcançada através da criação de novas variáveis ortogonais entre si, chamadas de componentes principais (PCs). Os gráficos obtidos representam as amostras em um sistema cartesiano, onde os eixos são as PCs. Isso permite visualizar a distribuição das amostras no espaço definido pelas PCs, o que facilita a identificação de padrões, agrupamentos ou diferenças entre as amostras⁴⁶.

Inicialmente montou-se uma matriz de dados (21 amostras $\times$ 4 variáveis) contendo informações referentes às amostras de mel dispostas em linhas e as

informações referentes às variáveis (valores individuais de concentração dos elementos) dispostas em coluna. Na Tabela 14 estão apresentados os valores associados às correlações entre as variáveis e as três primeiras PCs. Considerou-se como contribuição significativa a variável com valor de correlação acima de 0,60, destacado em negrito na tabela.

Tabela 14: Valores para as correlações entre as componentes principais e variáveis das amostras de mel.

Parâmetro	PC1	PC2	PC3
Cu	- 0,619	0,560	0,501
Fe	- 0,781	- 0,292	- 0,438
Mn	0,146	0,871	- 0,469
Zn	- 0,886	0,009	- 0,040

PC: Componente Principal.

As variáveis que mais contribuem na variância total (Cu, Fe e Zn) apresentaram valores significantes na PC1, ressaltando que essa primeira PC representa 44,98% da variância dos dados. A segunda componente principal (PC2) é responsável por 28,94% dos dados, sendo o Mn a única variável que apresenta maior contribuição nesta PC. Como PC 1 e PC 2 já explica uma parcela significativa da variância dos dados (73,92%), a inclusão da terceira componente não adicionaria informações relevantes para a análise, visto que sua contribuição é de apenas 16,60%. A aplicação da PCA aos dados de concentração obtidos resultou no gráfico presente na Figura 27.

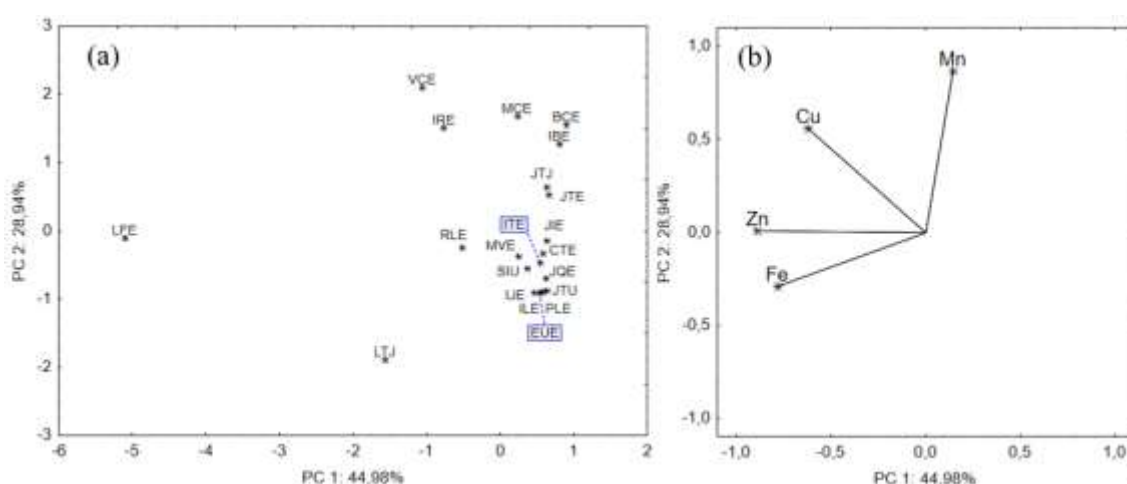


Figura 25. Gráficos dos escores (a) e loadings (b) obtidos para a análise por PC1 versus PC2.

Na Figura 27a fica evidente a formação de um grupo formado pelas amostras adquiridas nas cidades de Barra do Choça, Caatiba, Eunápolis, Ilhéus, Irajuba, Itabuna, Itacaré, Itiruçu, Jequié, Jitaúna (Europa, Jataí e Uruçu), Jiquiriçá, Lagedo do Tabocal, Manoel Vitorino, Maracás, Palmeiras, Ribeirão do Largo, Santa Inês e Vitória da Conquista. Essa similaridade é atribuída principalmente às baixas concentrações de Cu, Fe e Zn nessas amostras. Por outro lado, há uma distinção da amostra proveniente de Lafaiete Coutinho. Essa amostra destaca-se por apresentar uma concentração de Zn significativamente maior em comparação com as demais amostras, resultando em sua separação nítida no gráfico, localizada na parte esquerda da PC1. Da mesma forma, a amostra proveniente de Lajedo do Tabocal destaca-se por apresentar uma concentração de Mn significativamente menor que as demais.

Para uma melhor análise do único grupo formado, as amostras das cidades de Lafaiete Coutinho e Lajedo do Tabocal foram retiradas da análise por PCA. Assim, uma matriz de dados composta por 19 amostras $\times$ 4 variáveis foram analisadas. Na Tabela 15 estão os valores das correlações para as três primeiras PCs. Considerou-se novamente como contribuição significativa a variável com valor de correlação acima de 0,60.

Tabela 15: Valores para as correlações entre as componentes principais e variáveis das amostras de mel (sem duas amostras).

Parâmetro	PC1	PC2	PC3
Cu	0,569	-0,608	-0,480
Fe	0,823	0,192	-0,117
Mn	0,776	0,169	0,510
Zn	-0,064	-0,880	0,404

PC: Componente Principal.

As variáveis Fe e Mn apresentaram valores significantes na PC1 (40,17% da variância) enquanto Cu e Zn estão representadas pela PC2 (30,25% da variância). Os gráficos dos escores e loadings (PC1 *versus* PC2) estão presentes na Figura 28.

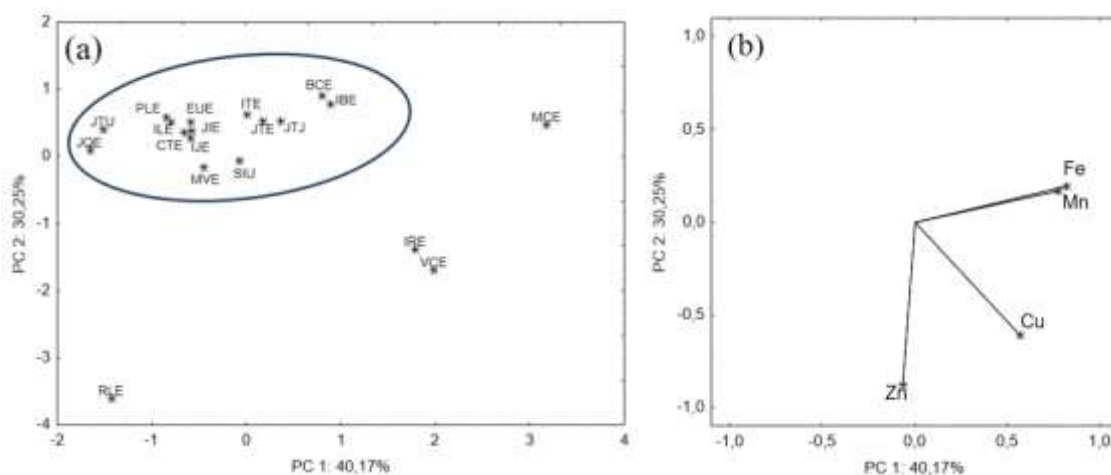


Figura 28. Gráficos dos escores (a) e loadings (b) obtidos para PC1 *versus* PC2 (sem duas amostras).

Na análise da Figura 28a ficou evidente a formação de um grupo formado pelas amostras adquiridas nas cidades de Barra do Choça, Caatiba, Eunápolis, Ilhéus, Irajuba, Itabuna, Itiruçu, Jequié, Jitaúna (Europa, Jataí e Uruçu), Jiquiriçá, Lagedo do Tabocal, Manoel Vitorino, Palmeiras e Santa Inês. O grupo foi formado em decorrência das baixas concentrações de Cu, Fe, Mn e Zn nas amostras. Dentro do grupo, as amostras de Barra do Choça, Itabuna e Jitaúna apresentaram as maiores concentrações de Cu.

Nessa nova análise, as amostras adquiridas em Itacaré, Maracás, Ribeirão do Largo e Vitória da Conquista se separaram do grupo principal, devido à maior concentração de Fe e Mn obtida para a amostra de Maracás, maior concentração de Zn obtida para a amostra de Ribeirão do Largo e maior concentração de Cu obtida para as amostras de Vitória da Conquista e Itacaré.

5. CONCLUSÕES

Neste estudo foi avaliada a eficiência de três métodos de decomposição de amostras, buscando evidenciar qual dos métodos propostos disponibilizaria a maior quantidade dos micronutrientes em meio aquoso sem perder a eficiência dos demais parâmetros. O método de decomposição por via seca demonstrou resultados pouco satisfatórios. A decomposição por radiação UV mostrou resultados promissores, porém um fato a ser ressaltado é que a persistência de resíduo orgânico após a decomposição é um fato que pode dificultar a utilização deste método, pois um teor maior de carbono residual pode acabar gerando danos aos equipamentos bem como aumentar as interferências na forma de efeito de matriz.

O método escolhido foi a decomposição por via úmida que também apresentou resultados satisfatórios. Nesse sentido, o planejamento de mistura utilizando ácido diluído demonstrou características satisfatórias, como rapidez e eficiência, visando aprimorar o método de digestão. Além disso, a utilização de ácido diluído ressoa com os princípios da Química Verde, ao empregar substâncias menos danosas ao meio ambiente.

Os resultados de acidez residual atenderam bem ao método, gerando uma acidez menor que 10%, garantindo a vida útil do sistema de introdução de amostra e reduzindo efeitos de matriz.

Este estudo oferece resultados valiosos que contribuem para a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, onde as análises apresentaram valores inferiores ao estabelecido pelo Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Considerando que o conhecimento da composição dos alimentos consumidos no Brasil é crucial para garantir a segurança alimentar no país e para avaliar e ajustar a ingestão de nutrientes por indivíduos ou populações, é essencial atualizar os dados disponíveis. Além disso, destaca-se a importância da criação de uma normativa com valores atualizados dos teores máximos permitidos nas amostras, proporcionando uma base mais sólida para as políticas de segurança alimentar e regulamentação de produtos alimentícios no país.

A avaliação da similaridade das amostras com base na composição mineral através da Análise de Componentes Principais trouxe informações úteis, com as duas principais componentes (PC1 e PC2) explicando acima de 70% da variância dos dados.

6. PERSPECTIVAS

É interessante como os resultados do estudo sugerem uma série de potenciais fontes para o alto teor de zinco nas amostras analisadas. A investigação detalhada dessas variáveis pode fornecer insights valiosos sobre a origem do metal e possíveis medidas para mitigar sua presença em níveis indesejáveis. A consideração de fatores como adubação, uso de fertilizantes, materiais de revestimento e poluição ambiental é crucial para entender melhor a composição do mel e garantir sua qualidade. Além disso, a possibilidade de adulteração do produto destaca a importância de medidas de controle de qualidade robustas em toda a cadeia de produção e distribuição.

Os resultados obtidos na decomposição por radiação UV certamente abrem caminho para explorar ainda mais essa técnica e sua otimização em conjunto com outras variáveis. A combinação de diferentes métodos analíticos, como ICP-MS, GFAAS e HG AAS, pode oferecer uma compreensão mais abrangente dos nutrientes presentes na matriz em estudo. A aplicação da análise química por imagem digital também parece ser uma abordagem promissora para quantificar os constituintes químicos presentes na amostra, fornecendo uma visualização mais detalhada da distribuição dos elementos na amostra. Essas estratégias complementares podem enriquecer significativamente a análise e a interpretação dos dados, contribuindo para uma investigação mais abrangente e precisa.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ PEDROSO, C.G.S.J. A apicultura como prática educacional de conservação, sustentabilidade e fonte de renda no campo. APACAME – Associação Paulista de Apicultores Criadores de Abelhas Melíficas Europeias, 2018.
- ² CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: MOURE, J.S.; URBAN, D.; MELO, G.A.R. (Orgs). Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version, 2013.
- ³ A.B.E.L.H.A. Disponível em: <<https://abelha.org.br/>>. Acesso em 07 de dezembro de 2021.
- ⁴ PIANARO, Adriana et al. Ecologia química de abelhas brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*. 2007.
- ⁵ ABREU, B. X. Avaliação físico-químico e microbiológica de méis não inspecionados comercializados no Estado do Rio de Janeiro. 56f. 2003. Monografia. Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, 2003.
- ⁶ MENDES, Teresa MFF; BACCAN, S. Nivaldo; CADORE, Solange. Procedimentos de tratamento de amostras para a determinação de constituintes minerais em mel por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. *Jornal da Sociedade Brasileira de Química*, v. 17, p. 168-176, 2006.
- ⁷ ITO, Erica Harue. Minerais em méis de abelhas *Apis mellífera* L. produzidos na região do Pólo Cuesta, Estado de São Paulo. 2012.
- ⁸ BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000. Brasília, 2000.
- ⁹ SANTOS, José Soares dos et al. Classificação do mel nas zonas semi-árida, Mata Atlântica e Floresta de Transição na Bahia, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Química*, v. 19, n. 3, pág. 502-508, 2008
- ¹⁰ BORSATO, Débora Maria et al. Physicochemical quality, botanical origin and antioxidant properties of floral honeys from Campos Gerais region, Brazil. *Interciencia*, v. 39, n. 4, p. 249-254, 2014.
- ¹¹ ADELMANN, J. Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante. 2005, 186f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- ¹² SANTOS, José Soares dos et al. Classificação do mel nas zonas semi-árida, Mata Atlântica e Floresta de Transição na Bahia, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Química*, v. 19, pág. 502-508, 2008.
- ¹³ DAŞBAŞI, Teslima et al. Uma nova resina quelante de síntese, caracterização e aplicação para determinação de alguns metais traço em amostras de mel por FAAS. *Química dos Alimentos*, v. 203, p. 283-291, 2016.

-
- ¹⁴ HUNGERFORD, N. L. et al. Análise de minerais e elementos traço do mel *Apis mellifera* da Austrália / Queensland. *Jornal internacional de pesquisa ambiental e saúde pública*, v. 17, n. 17, pág. 6304, 2020.
- ¹⁵ KHAMMAS, Z. A. A.; GHALI, AZHAR A.; KADHIM, K. H.. Combined point cloud extraction and spectrophotometric detection of lead and cadmium in honey samples using a new ligand. *Int j chem sei* , v. 10, n. 3, pág. 1185-1204, 2012
- ¹⁶ DHAHIR, S. A.; HEMED, A. H. Determinação de metais pesados e níveis de oligoelementos em amostras de mel de diferentes regiões do Iraque e comparadas com outros tipos. *American Journal of Applied Chemistry* , v. 3, n. 3, pág. 83-92, 2015.
- ¹⁷ MONIRUZZAMAN M., CHOWDHURY M., RAHMAN M. A., SULAIMAN S. A., GAN S. H. Determinação dos níveis de minerais, oligoelementos e pesticidas em amostras de mel originárias de diferentes regiões da Malásia em comparação com o mel de Manuka. *BioMed Res. Int.* 2014; 359890 - [PMC](#) - [PubMed](#)
- ¹⁸ ADUGNA, E., Hymete, A., Birhanu, G., Ashenef, A. Determinação de alguns metais pesados em mel de diferentes regiões da Etiópia. **Cogent Food & Agriculture** , v. 6, n. 1, p. 1764182, 2020.
- ¹⁹ ANDRADE, C. K.; et al. Determinação direta de Cd, Pb e Cr em mel por espectrometria de absorção atômica eletrotérmica de amostragem de lama. *Química alimentar*, v. 146, p. 166-173, 2014.
- ²⁰ SIXTO, A.; MOLLO, A; KNOCHEN, M.. Método rápido e simples usando DLLME e FAAS para a determinação de vestígios de cádmio no mel. *Journal of Food Composition and Analysis* , v. 82, p. 103229, 2019.
- ²¹ POHL, P. Determinação do teor de metais no mel por espectrometrias de absorção e emissão atômica. *Tendências do TrAC em Química Analítica* , v. 1, pág. 117-128, 2009.
- ²² RODRIGUEZ-OTERO, J. L. et al. Mineral content of the honeys produced in Galicia (North-west Spain). *Food Chemistry*, v. 49, n. 2, p. 169-171, 1994.
- ²³ YILMAZ, H.; YAVUZ, Ö.. Content of some trace metals in honey from south-eastern Anatolia. *Food chemistry*, v. 65, n. 4, p. 475-476, 1999.
- ²⁴ KRUG, F. J.; Rocha, F. R. P.; métodos de preparo de amostras para análise elementar; editsbq: são paulo, brazil, 2016.
- ²⁵ MATUSIEWICZ, H. Sample Preparation for Trace Element Analysis. Elsevier cap. 6, Wet digestion methods, 193–233. doi:10.1016/S0166- 526X(03)41006-4, 2003.
- ²⁶ FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, J. C.; KUBOTA, L. T.; KORN, M.; OLIVEIRA, P. V.; ARRUDA, M. A. Influence of microwave heating on fluoride, chloride, nitrate and sulfate concentrations in water. *Talanta*, 85, 2707-2710, 2011.

-
- ²⁷ FLORES, E. M. M.. Diluted Acids in Microwave-Assisted Wet Digestion, in: E.M.M. Flores (Ed), Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis, Elsevier, Amsterdam. (2014)179-204.
- ²⁸ GOUVÊA, M. M. et al. Aplicação da radiação ultravioleta como forma de contribuição para a química verde e construção de um reator fotoquímico alternativo e de baixo custo, para pré-tratamento de amostras. Química Nova, v. 37, p. 337-343, 2014.
- ²⁹ SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006.
- ³⁰ WANG, G.S.; HSIEH, S.T.; HONG, C.S. Destruction of humic acid in water by UV light-catalyzed oxidation with hydrogen peroxide. Water Research, 34, 3883-3887, 2000
- ³¹ NEFFRECHOUX, E.; CHANOUS, S.; PETRIER, C.; SUPTIL, J. Sonochemical and photochemical oxidation of organic matter. Ultrasonic sonochemistry, 7, 255-259, 2000
- ³² CORIN, N.; BACKLUND, P.; KULOVAARA, M. Degradation products formed during UV-irradiation of humic water. Chemosphere, 33, 245-255, 1996
- ³³ SANTOS, Walter NL et al. Um procedimento de foto-oxidação utilizando radiação UV/H₂O₂ para decomposição de amostras de vinho - Determinação do teor de ferro e manganês por espectrometria de absorção atômica com chama. Spectrochimica Acta Parte B: Espectroscopia Atômica , v. 6, pág. 601-604, 2009.
- ³⁴ BEZERRA, M.A.; FERREIRA, S. L. C.; NOVAES, C. G.; DOS SANTOS, A. M. P.; VALASQUES, G. S.; CERQUEIRA, U. M. F. M.; ALVES, J. P. S.. Simultaneous optimization of multiple responses and its application in Analytical Chemistry - A review, Talanta: 194 (2019) 941-959.
- ³⁵ ELZAGHEID, M. I. Atividades laboratoriais para introdução da análise qualitativa de carboidratos a universitários. World J. Chem. Educ , v. 6, n. 2, pág. 82-86, 2018.
- ³⁶ CRUZ JUNIOR, R. A. et al. Um sistema fechado em linha para digestão de amostras usando peróxido de hidrogênio a 70% e radiação UV. Determinação de chumbo em vinho utilizando ETAAS. Talanta , v. 479-484, 2019.
- ³⁷ NOVAES, C. G. Et al. Otimização de métodos analíticos usando metodologia de superfícies de respostas-parte ii: variáveis de mistura. Revista virtual de química, v. 10, n. 2, p. 393-420, 2018.
- ³⁸ CAMPAÑA, A.M.G.; RODRIGUEZ, L.C.; GONZÁLEZ, A.L.; BARRERO, F.A.; CEBA, M.R. Sequential response surface methodology for multioptimization in analytical chemistry with three-variable Doehlert designs. Analytica Chimica Acta 348, 237-246, 1997)

-
- ³⁹ BEZERRA, M. A.; et al. Otimização simultânea de respostas múltiplas e sua aplicação em química analítica – uma revisão. *Talanta* , v. 194, p. 941-959, 2019
- ⁴⁰ INMETRO DOQ-CGCRE-008: Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, 2003.
- ⁴¹ Brazil (1965) Decreto No 55871, de 26/03/1965. Modifica o Decreto No 50.040, de 24/01/1961 referente as normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto No 691, de 13/03/1962. D.O.U., Brasília, BR.
- ⁴² HUNGERFORD, N. L. et al. Análise de minerais e oligoelementos do mel *Apis mellifera* australiano/Queensland. *Revista internacional de pesquisa ambiental e saúde pública* , v. 17, n. 17, pág. 6304, 2020.
- ⁴³ LEAL, S. S. et al. Perfil de elementos inorgânicos em amostras de mel do estado do maranhão como um potencial bioindicador de origem geográfica. *Química Nova*, v. 45, p. 531-536, 2022.
- ⁴⁴ MULLER, E. I. et al. Green microwave-assisted wet digestion method of carbohydrate-rich foods with hydrogen peroxide using single reaction chamber and further elemental determination using ICP-OES and ICP-MS. *Microchemical Journal*, v. 134, p. 257-261, 2017.
- ⁴⁵ SILVA, B. et al. Elemental profiling by ICP-MS as a tool for geographical discrimination: The case of bracatinga honey. *Journal of Food Composition and Analysis* , v. 96, p. 103727, 2021.
- ⁴⁶ CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 2, 481-487, 2007.