

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

INSTITUTO DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, FÍSICO-QUÍMICA E INORGÂNICA

GIOVANNA NALHIATI

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO SUSTENTÁVEL PARA
CONTROLE DA QUALIDADE DE VINAGRE DE ÁLCOOL COMPOSTO
TINTO**

ARARAQUARA

2023

GIOVANNA NALHIATI

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO SUSTENTÁVEL PARA
CONTROLE DA QUALIDADE DE VINAGRE DE ÁLCOOL COMPOSTO
TINTO**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Fabiola Manhas
Verbi Pereira

ARARAQUARA

2023

N169d Nalhiati, Giovanna
Desenvolvimento de método analítico sustentável para controle da qualidade de vinagre de álcool composto tinto / Giovanna Nalhiati. -- Araraquara, 2023
59 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara
Orientadora: Fabiola Manhas Verbi Pereira

1. Vinagre. 2. Imagens digitais. 3. Alimentos Análise. 4. Quimiometria. 5. Coloração. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**TÍTULO DA
DISSERTAÇÃO:****"Desenvolvimento de método analítico sustentável para controle da
qualidade de vinagre de álcool composto tinto"****AUTORA: GIOVANNA NALHIATI****ORIENTADORA: FABIOLA MANHAS VERBI PEREIRA**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Química, pela
Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **FABIOLA MANHAS VERBI PEREIRA**
Data: 17/03/2023 17:27:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a FABIOLA MANHAS VERBI PEREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP -
Araraquara

Documento assinado digitalmente
 **LUIZ ALBERTO COLNAGO**
Data: 17/03/2023 20:04:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. LUIZ ALBERTO COLNAGO (Participação Virtual)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA - São Carlos

Documento assinado digitalmente
 **POLIANA MACEDO DOS SANTOS**
Data: 17/03/2023 19:00:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. POLIANA MACEDO DOS SANTOS (Participação Virtual)
Departamento Acadêmico de Química e Biologia / Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR - Curitiba

Araraquara, 17 de março de 2023

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Giovanna Nalhiati

Nome em citações bibliográficas: NALHIATI, G.

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Rua José do Patrocínio, número 884, bairro centro, Lençóis Paulista/SP –
CEP:18.682-057

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

- 2014 – 2018 Bacharel em Química

Instituição: Universidade do Sagrado Coração (USC) – Campus Bauru/SP

- 2020 – 2021 Especialista em Engenharia Química, controle de processos

Instituição: Universidade Estácio de Sá – Campus Lençóis Paulista/SP

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

- Etec Cidade do Livro, Centro Paula Souza (CPS) - Disciplinas ministradas: Química Ambiental, Química dos Alimentos, Operações Unitárias I e II, Planejamento de Trabalho de Conclusão de Curso, Síntese dos Compostos Orgânicos, e Análises de Processos Físicos e Químicos I. Período: Abr/2021 – atualmente.
- Vinagre Belmont S/A – Gerente Químico. Período: Jan/2019 – Dez/2022

Dedicatória

*Aos meus pais, Carmen e Donizeti, meus maiores
orientadores da vida.*

Ao meu marido, Tiago, meu maior fã.

Todo mérito, honra e glória, à Deus.

Agradecimento

Agradeço a Deus por sua presença em minha vida, e por me presentear sem merecimento algum, sabedoria, força, e a guia de seu Santo Espírito para passar por todos os momentos de dificuldades com muita fé.

Agradeço aos meus pais, Carmen e Donizeti, por ter me fornecido muito amor, apoio, confiança e exemplo. Se nesse momento realizo mais um grande sonho de minha vida, foi por meio de vocês que obtive forças para lutar até conseguir. Simplesmente, obrigada por tanto amor!

À minha doce irmã e minha alma gêmea, Caroline, por muitas vezes me incentivar, me dar força, colocar em muitos momentos minhas vontades acima da sua. Pelas risadas e, acima de qualquer coisa, por ser minha eterna companheira de vida. Desejo muitas bênçãos divinas para você. Muito obrigada por nunca me abandonar.

Ao meu amado esposo, Tiago, que se não fosse pelos incentivos, apoio, companheirismo, carinho e ombro amigo, não haveria mais uma etapa vencida. Você foi essencial nessa jornada pois sempre acreditou em mim. Nas conversas em que eu dizia “vou desistir”, você depositava em mim confiança e coragem para enfrentar os desafios. Nunca se esqueça: Você é o meu universo de átomos!

Aos meus sogros, Wlademir e Renata, e meus familiares, especialmente meu primo Isaque e minha tia Noemi, que me forneceram muito carinho e me apresentaram em suas orações constantemente. Muito obrigada!

Um agradecimento especial a minha orientadora Profa. Dra. Fabiola Manhas Verbi Pereira, pela orientação, cuidado, apoio, conselhos, paciência, e toda ajuda fornecida durante a realização deste trabalho. Você é um grande exemplo

profissional, e alguém que levarei para sempre em minhas lembranças. Serei sempre grata por ter me aceitado como orientanda.

Ao amigo e companheiro de grupo, Dr. Marco Aurélio Sperança que me ajudou em muitos conteúdos, dúvidas, explicações, apoio e incentivo ao longo da escrita deste trabalho. Serei eternamente grata pela sua atenção, que Deus continue abençoando a ti.

A equipe técnica do Centro de Pós-Graduação da UNESP - Araraquara, por estar sempre de prontidão e fornecendo todo o suporte acadêmico.

Um agradecimento especial aos amigos e colegas de trabalho que diversas vezes me incentivaram, me ajudaram e tiveram um papel fundamental à essa conclusão de trabalho. Muito obrigada, Andréia, Altair, José Luiz, e especialmente, Maria Luíza.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram de alguma maneira na realização deste trabalho.

RESUMO

O vinagre é uma bebida muito presente na alimentação das pessoas, usado principalmente como condimento alimentício. Nos tempos atuais, muitas opções de sabor têm surgido nas gondolas de supermercados, possuindo sabor, odor e cores diferentes entre si. O Ministério da Agricultura é o órgão responsável pela fiscalização da qualidade dos produtos. Entretanto, não é preconizado um método para avaliar a cor do vinagre já como produto final. Nesse estudo de mestrado trinta soluções amostrais foram preparadas com o objetivo de produzir vinagre de boa qualidade usando um planejamento fatorial composto central, com ponto central em 625:3 (suco de uva tinto concentrado:metabissulfito de potássio) e pontos axiais ($-\sqrt{2}$; $\sqrt{2}$). Os parâmetros de cor e qualidade também foram testados com composições das amostras distantes do ponto central (1,5 – vezes). Dados de imagens de 400x400 pixels convertidas em histogramas de cores de *red* (R), *green* (G), e *blue* (B), *hue* (H), *saturation* (S), e *value* (V), cores relativas do RGB designadas de r, b, e g, e *luminosity* (L) foram usados para os cálculos de modelos de classificação multivariados, como *k-nearest neighbors* (kNN), *soft independent modeling of class analogy* (SIMCA), e *partial least squares – discriminant analysis* (PLS-DA), e os parâmetros da qualidade mostraram que a confiabilidade dos modelos de classificação multivariada foi superior a 0,9 para acurácia, sensibilidade e especificidade. Em seguida, uma ferramenta analítica de baixo custo e um método fácil de usar foi utilizado para identificação de possíveis erros operacionais e produtos finais fora do padrão e especificações.

Palavras-chave: vinagre, imagem digital, análise de alimentos, quimiometria.

ABSTRACT

Vinegar is a standard beverage in people's diets, mainly used as a food condiment. Diverse flavor options have appeared on supermarket shelves in different colors. The Brazilian Ministry of Agriculture is responsible for inspecting the quality of products. However, a method is not recommended to evaluate the color of vinegar as a final product. In this master's study, thirty sample solutions were prepared to produce good quality vinegar using a 22 central composite design (CCD), with a central point (625:3; concentrated grape juice and potassium metabisulfite) and axial points ($-\sqrt{2}$; $\sqrt{2}$). Color and quality parameters were also tested with sample compositions distant from the central point. Image data converted to color histograms of red (R), green (G), and blue (B), hue (H), saturation (S), and value (V), relative RGB colors designated by r, b, and g, and luminosity (L) were used to calculate multivariate classification models, such as k-nearest neighbors (kNN), soft independent modeling of class analogy (SIMCA), and partial least squares – discriminant analysis (PLS-DA). The quality parameters showed that the reliability of the multivariate classification models was more significant than 0.9 for accuracy, sensitivity, and specificity. Afterward, a low-cost and easy-to-use analytical method can aid in identifying operational errors and end-product out-of-specifications.

Keywords: vinegar, digital image, food analysis, chemometrics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular do conservante metabissulfito de potássio 17

Figura 2 – Variação de cor nos vinhos de acordo com seu tipo sendo (A) casta Vallpolicela, (B) casta Carbenet Sauvignon, (C) casta Nebbiolo, e (D) casta Sangiovesse..... 17

Figura 3 – Vinagre de vinho tinto de marcas comerciais diferentes, com coloração escura (A) e outra mais clara (B)..... 18

Figura 4 – Recipiente de madeira usado para fermentação lenta (Processo Orleans), sendo (A) funil para a entrada do vinho, (B) abertura com tela para entrada de ar, (C) orifício vedado para visualização interna, e (D) torneira para saída do vinagre pronto. 23

Figura 5 – Vinagreira para acetificação no processo alemão - (A) entrada do vinagre/vinho; (B) área porosa; (C) entrada de ar; (D) bomba para recirculação; (E) saída de gases; (F) saída do produto..... 25

Figura 6 – Acetificador Frings para produção de vinagre pelo método submerso; (A) entrada do fermentado alcoólico; (B) motor elétrico; (C) rotor; (D) entrada de ar; (E) serpentina de refrigeração; (F) entrada de água para a serpentina; (G) saída da água da serpentina; (H) saída de vinagre; (I) termômetro; (J) saída de gases e vapor. 27

Figura 7 – Cubo de cores do modelo RGB..... 31

Figura 8 – Modelo HSV (A), obtido por meio de um corte transversal do cubo RGB (B). 32

Figura 9 – Modelo HSV em prisma ilustrando a obtenção de cores..... 33

Figura 10 – Gráfico representativo das proporções entre suco e conservante usado nas soluções, onde o ponto central representa aquela mais utilizada na indústria. 34

Figura 11 – Sistema de aquisição das imagens digitais utilizando o scanner de uma impressora de bancada (A – B), sendo necessária a remoção do fundo branco da tampa (C), as amostras foram posicionadas na área de varredura do scâner (D) cobertas pelo fundo branco (E), e a tampa preta posicionada acima (F). 37

Figura 12 – Representação das posições adotadas para a obtenção das imagens digitais (A), e sua disposição sob o scanner (B)..... 38

Figura 13 – Reposicionamento das amostras na área de varredura do scanner de maneira que fosse realizado leitura em toda área..... 38

Figura 14 – Esquema da seleção da área de interesse (B, C e D) a partir da imagem obtida após a digitalização do scanner (A)..... 39

Figura 15 - Histogramas de cores calculados com teores de suco e conservantes diferentes, sendo respectivamente 253mg e 3mg (A), 640mg e 3mg (B), e 984mg e 3mg (C). 41

Figura 16 - Gráfico de score e loadings calculado da matriz 180×2560 , indicando a influência das posições das placas de Petri na área de leitura do scanner. 43

Figura 17 - Gráfico de *scores* e *loadings* calculado para os dados médios (30×2304) sem a variável L indicando os clusters separados conforme o teor de suco. 45

Figura 18 - Gráfico de score indicando a não interferência do conservante nas amostras..... 46

Figura 19 - Gráfico de score para o conjunto de amostras de validação e treinamento do modelo, indicando a formação de três agrupamentos de acordo quantidade de suco usado nas amostras. 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massa de insumos adicionados em cada amostra. 35

Tabela 2 - Resumo dos parâmetros da qualidade para conjuntos de treinamento e validação usando kNN, SIMCA e PLS-DA. 50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação dos vinagres brasileiros de acordo com a legislação.. 22

Quadro 2 – Parâmetros de qualidade de vinagres de frutas, cereais, e mel de abelha, de acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 HISTÓRICO DO VINAGRE.....	19
2.2 LEGISLAÇÃO NACIONAL SOBRE A PRODUÇÃO DO VINAGRE	21
2.3 PROCESSOS DE PRODUÇÃO DO VINAGRE	22
2.3.1 Processo Orleans ou lento	23
2.3.2 Processo Alemão ou rápido	24
2.3.3 Processo Frings ou submerso	26
2.4 MÉTODOS UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO DO VINAGRE	28
2.5 IMAGENS DIGITAIS E QUIMIOMETRIA EM ALIMENTOS	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1 AMOSTRAS	33
3.2 INSTRUMENTO DE AQUISIÇÃO DAS IMAGENS	36
3.3 AQUISIÇÃO DOS DADOS.....	37
3.4 ANÁLISE DE DADOS	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

O vinagre é uma bebida conhecida mundialmente e muito utilizada no preparo dos alimentos e também como conservante, produzida a partir da fermentação acética de mosto alcoólico por meio de bactérias do gênero *Acetobacter* e *Gluconobacter* (LEONEL; SUMAN; GARCIA, 2015). O processo de fabricação pode utilizar diversos tipos de matérias-primas, desde que, inicialmente, sejam submetidas à fermentação alcoólica, como exemplo, os vinhos de uva ou de maçã (ADAMS, 1998).

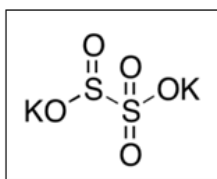
Por meio da Instrução Normativa de N° 3 de 6 de abril de 2012, não é mais permitido a produção e venda do vinagre *agrin* (BRASIL, 2013). O vinagre *agrin* é um produto com composição de 90% fermentado acético de álcool e 10% de fermentado acético de vinho tinto. A proibição foi imposta devido ao avanço dos casos de adulteração por parte de algumas indústrias, recorrendo ao uso do corante caramelo para escurecimento da cor e, assim, diminuindo a quantidade do vinagre de vinho tinto (RÍOS-REINA, et al, 2020). Dessa forma, a comercialização do vinagre *agrin* foi substituído pelo vinagre de álcool composto por suco de frutas e o vinagre de álcool colorido artificialmente com corante caramelo conforme autorização do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

O vinagre possui composição de ácido acético (CH_3COOH) de 4 a 13g/100mL, água e compostos inorgânicos que variam diretamente de acordo com a matéria-prima de origem. Atualmente, no Brasil, os tipos mais comercializados são: vinagre de vinho tinto e vinho branco, vinagre de maçã, vinagre de arroz e vinagre de álcool (AQUARONE, E. et al., 2001).

A composição do vinagre de álcool composto tinto é obtida por meio do

fermentado acético de álcool acrescido de suco de uva tinto concentrado e conservantes do tipo metabissulfito de potássio, o qual é um sal de coloração branca, solúvel em água, de composição molecular $K_2S_2O_5$. A Figura 1 mostra a estrutura molecular do conservante metabissulfito de potássio.

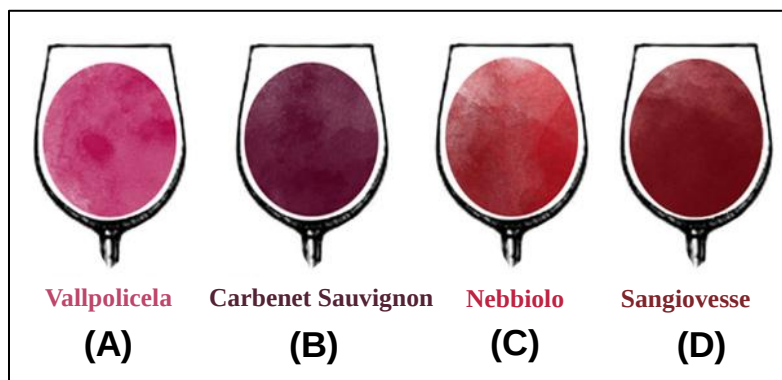
Figura 1 – Estrutura molecular do conservante metabissulfito de potássio



Fonte: Elaborada pela autora

Na produção do vinagre de vinho é comum ocorrer variações na cor do produto em cada lote produzido, pois este efeito está relacionado ao tipo de safra, tempo de maturação e origem da matéria-prima (RÍOS-REINA, R. et al., 2019). A Figura 2 mostra diferentes colorações conforme o tipo de vinho como exemplo, tipos de uvas diferentes com tonalidade violeta (Fig. A e B) e outras com tonalidade vermelho (Fig. C e D).

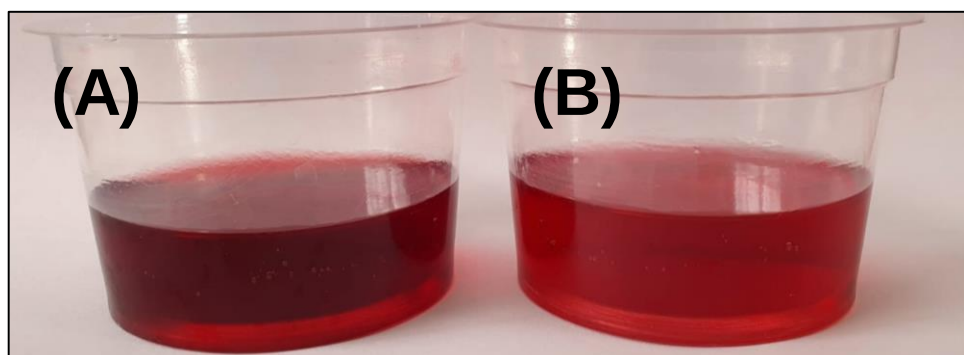
Figura 2 – Variação de cor nos vinhos de acordo com seu tipo sendo (A) casta Vallpolicela, (B) casta Carbenet Sauvignon, (C) casta Nebbiolo, e (D) casta Sangiovesse.



Fonte: CROWNWINES, 2020

Embora ocorra esta variabilidade devido às características naturais da fruta, ao observar um mesmo produto com tonalidades diferentes pode gerar suspeita de adulteração ou de uma produção de baixa qualidade, como mostram as Figuras 3-A e 3-B. Todavia, esta concepção é ambígua devido à falta de informações sobre o processo de produção (FIERENS et al., 2018).

Figura 3 – Vinagre de vinho tinto de marcas comerciais diferentes, com coloração escura (A) e outra mais clara (B).



Fonte: Elaborado pela autora

Neste contexto, a variação da cor da fruta é inerente ao processo de produção e, por isso, é sempre desafiador encontrar um padrão específico. Diante desta questão, métodos analíticos que utilizam imagens digitais tem apresentado um desempenho favorável no setor alimentício, como exemplo, na qualidade de leite bovino perante as adulterações diversas, tais como; diluição com água, adição de peróxido de hidrogênio e soro, presença de urina, adições de ureia e soda cáustica (SANTOS; WENTZELL; PEREIRA-FILHO, 2013).

No que envolve vinagres, existem métodos que usam imagens para determinar o conservante metabissulfito de potássio (ALMEIDA, et al., 2018) e

ainda, o teor de ácido acético (CHANLA, 2019). No entanto, ambos envolvem o uso de reagentes químicos tóxicos ou instrumentação específica e não objetivam a relação da cor do produto com a qualidade final.

Sendo assim, o objetivo desta dissertação de mestrado visa desenvolver um método ausente de subjetividade para avaliar a qualidade final do vinagre de álcool composto tinto por meio da cor utilizando imagens digitais e quimiometria.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO DO VINAGRE

O vinagre é uma bebida mundialmente conhecida, descoberta no Antigo Egito há vários milênios a.C., simultaneamente com a criação da bebida alcoólica (ADAMS, 1997). A palavra vinagre vem do francês *vinaigre*, oriunda da designação vinho azedo (SACHS, 1990).

O primeiro vinagre produzido ocorreu de forma espontânea pelo contato do vinho com o ar, e desde então tem se tornado um produto utilizado há muitos anos como bebida, adicionado aos refrigerantes, medicamentos e condimentos alimentícios (SACHS, 1990).

Segundo Aquarone et al. (2001), Jabir Hayyan, conhecido como Geber, foi quem purificou pela primeira vez ácido acético a partir do vinagre quando submetido a uma destilação, no século VIII. Em 1790, Antoine- Laurent de Lavoisier comprovou cientificamente a participação do oxigênio na produção do ácido acético a partir de um produto alcoólico (AQUARONE et al., 2001).

Ao estudar sobre a ocorrência de bebidas alcoólicas sofrerem azedamento,

Louis-Pasteur descobriu, em 1894, que o vinho azedava não pela presença do oxigênio, mas, pela ação do fermento *Mycoderma Aceti*. Grandes avanços foram atingidos e, a partir de 1950, Hromatka Otto e Ebner Heinz registraram a primeira patente relacionada à produção de vinagre pelo processo submerso, aerado e interrupto (AQUARONE et al., 2001).

Do ano de 1960 em diante a indústria dedicada à produção de vinagre começou a se expandir devido ao desenvolvimento de equipamentos elaborados por Heinrich Frings. Como exemplo; o *Acetador Frings*, que fermentava volumes maiores e com mais rapidez que o processo natural (AQUARONE et al., 2001).

De acordo com o *The Vinegar Institute* (2019), nos Estados Unidos da América (EUA), o consumo de vinagre aumentou em 15% à frente de outros condimentos alimentícios entre 2000 e 2002, sendo que, nos últimos 9 anos, obteve um aumento de 29% no consumo. Em relação às vendas no varejo é estimado um valor acima de U\$200,00 milhões no ano de 2006. A utilização do vinagre para outros fins, como exemplos para a limpeza de superfícies e medicina alternativa, obteve um aumento de 86% entre 2004 e 2005 na Europa e na Ásia (THE VINEGAR INSTITUTE, 2019).

Segundo a Associação Nacional das Indústrias de Vinagre – ANAV (2015), a região sudeste do Brasil é responsável por 53% do consumo nacional, seguida pelas regiões Sul, com 23%, norte-nordeste com 19% e centro-oeste com 5%.

Em relação à produção industrial, a região da grande São Paulo é o maior polo produtor de vinagre, caracterizando por 37% da produção total nacional. Todavia, o interior deste mesmo estado é o principal consumidor, responsável por 24% da produção nacional (ANAV, 2015).

2.2 LEGISLAÇÃO NACIONAL SOBRE A PRODUÇÃO DO VINAGRE

As duas formas de produção de ácido acético mais conhecidas no Brasil são a produção a partir da carbonilação do metanol e a segunda por meio da rota fermentativa (CHEN, et al., 2015).

A legislação brasileira não permite o uso de vinagre artificial, ou seja, utilização da diluição do ácido acético produzido de outra maneira que não seja pela fermentação do etanol, como exemplo, a carbonilação do metanol (BRASIL, 2012). Sendo assim, de acordo com as definições do MAPA:

“Fermentado acético é o produto obtido da fermentação acética do fermentado alcoólico de mosto de frutas, cereais ou de outros vegetais, de mel, ou da mistura de vegetais, ou ainda da mistura hidroalcoólica, devendo apresentar acidez volátil mínima de 40 gramas por litro, expressa em ácido acético, podendo ser adicionado de vegetais, partes de vegetais ou extratos vegetais aromáticos ou de sucos, aromas naturais ou condimentos.”

As matérias-primas para produção variam segundo as culturas de cada país. No Japão, o vinagre mais consumido é o de arroz. Já na Índia e Filipinas é o de coco. Na Itália, país onde originou o vinagre balsâmico, que é fabricado com suco de uva de espécies mais específicas e envelhecido em barris de carvalho, é o tipo mais consumido (SIEPMANN; CANAN; COLLA, 2015).

Atualmente, no Brasil, os vinagres mais comercializados são de vinhos tinto e branco, de maçã, de arroz, e de álcool. Além desses tipos, também é possível classificar os vinagres conforme os teores de acidez, sendo triplo (acidez $\geq 12\%$), duplo (acidez $\geq 8\%$ e $\leq 11,9\%$) e o comercial (acidez 4%).

Em relação às características organolépticas, é desejável que a

comercialização do produto seja conforme a Instrução Normativa nº 6 de 3 de abril de 2012, isto é, com aspecto líquido, límpido e sem depósito, com sua coloração em concordância com a matéria-prima que lhe deu origem (MARQUES, F. P. P., et al, 2010).

Os tipos de vinagres permitidos, a fabricação e suas classificações são feitas conforme o Quadro 1 abaixo.

Quadro 1 – Classificação dos vinagres brasileiros de acordo com a legislação.

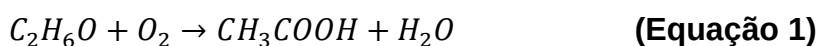
Vinagre	Matéria prima
Álcool	Mistura álcool etílico e água.
Fruta	Fermentado alcoólico de uma ou mais frutas (ex: maçã).
Cereal	Fermentado alcoólico de um ou mais cereais (ex: malte).
Vegetal	Fermentado alcoólico de um ou mais vegetais (ex: cana-de-açúcar).
Mel	Fermentado alcoólico de mel de abelha.
Composto	Fermentado acético acrescido do suco de fruta, vegetal ou do mel de abelha (ex: vinagre de álcool composto tinto).
Duplo	Fermentado acético de álcool com acidez volátil superior a 80 g/L.
Triplo	Fermentado acético de álcool com acidez volátil superior a 120 g/L.

Fonte: BRASIL, 2012

2.3 PROCESSOS DE PRODUÇÃO DO VINAGRE

A produção industrial do vinagre pode ocorrer de acordo com três tipos de processos, tais como: o Orleans ou lento, o processo Alemão ou rápido, e o processo Frings ou submerso (SIEPMANN; CANAN; COLLA, 2015).

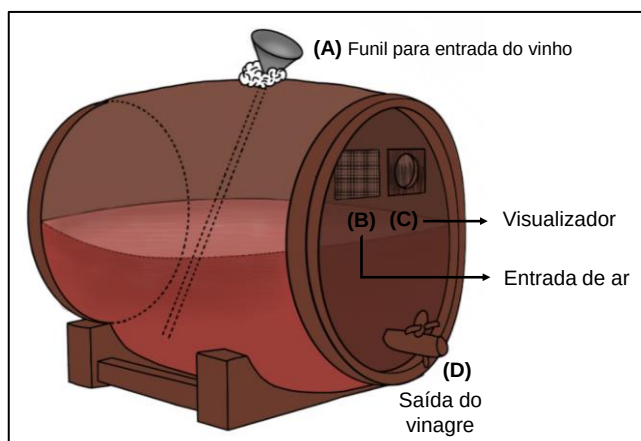
A fermentação acética ocorre por meio do contato de um fermentado alcoólico com o oxigênio, de forma que as bactérias acéticas presentes no ar consigam oxidar o etanol em ácido acético, de acordo com a Equação 1.



2.3.1 Processo Orleans ou lento

O método de acetificação foi aprimorado pela primeira vez na cidade de Orleans na França, sendo este designado o nome para a técnica de produção. O processo Orleans, conhecido também como processo lento, é o mais antigo e tradicional para elaboração de vinagres e consiste em um método contínuo onde o vinagre é produzido por uma fermentação lenta (SACHS, 1990). A Figura 4 mostra o acetificador do processo Orleans.

Figura 4 – Recipiente de madeira usado para fermentação lenta (Processo Orleans), sendo (A) funil para a entrada do vinho, (B) abertura com tela para entrada de ar, (C) orifício vedado para visualização interna, e (D) torneira para saída do vinagre pronto.



Fonte: Elaborada pela autora (Adaptado: ADAMS,1998)

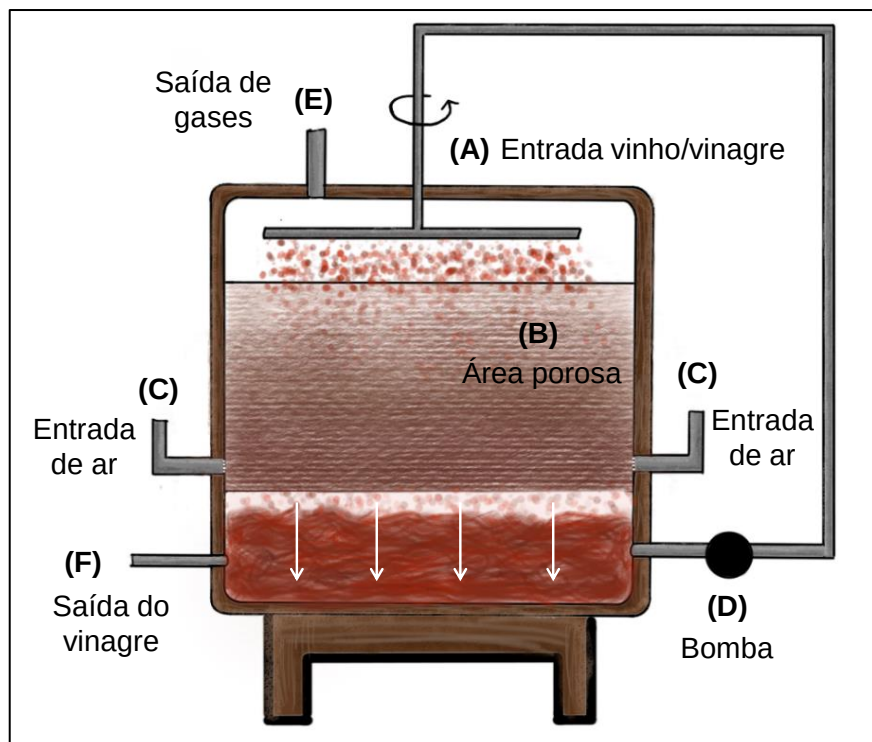
O mosto alcoólico fica armazenado em barris de madeira possuindo aberturas para que haja troca de gases. As bactérias acéticas que iniciam o processo fermentativo ficam dispostas em uma interface ar-líquido que, em contato ao ar atmosférico, produz um biofilme chamado “mãe do vinagre” cuja substância possui cepas de bactérias selvagens aos gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter* (RIZZON; MENEGUZZO, 2002; HUTKINS, 2008).

Após ser atingido um teor de acidez desejado, em teor de álcool menor que 1°GL, deve-se retirar cerca de 10% do volume total e, substituir pelo mesmo mosto alcoolizado (RIZZON; MENEGUZZO, 2006; AQUARONE, et al., 2001).

2.3.2 Processo Alemão ou rápido

Em 1831, Schützenbach aperfeiçoou um acetificador, na Alemanha utilizando um barril de madeira perfurado com diferentes materiais porosos para que a superfície de contato da bactéria do ar com o vinho fosse aumentada. Este mesmo barril possuía um fundo falso que permitia fazer um reciclo do líquido até que fosse obtido uma acidez desejada (RIZZON; MENEGUZZO, 2006; AQUARONE, E. et al., 2001). A Figura 5 demonstra o equipamento usado no processo Alemão.

Figura 5 – Vinagreira para acetificação no processo alemão - (A) entrada do vinagre/vinho; (B) área porosa; (C) entrada de ar; (D) bomba para recirculação; (E) saída de gases; (F) saída do produto.



Fonte: Elaborada pela autora (Adaptado: AQUARONE, E. et al., 2001)

O equipamento era conhecido como vinagreira, produzido inicialmente em madeira, porém, também poderia ser utilizado em aço inoxidável. Nesse processo, o vinho é inserido pela parte superior (Figura 4-A) percorrendo pela área porosa de maravalhas de madeira (Figura 4-B) o qual contém as bactérias acéticas presente no ar (Figura 4-C), e recirculado por meio de uma bomba (Figura 4-D) para sofrer completamente a acetificação (RIZZON; MENEGUZZO, 2006; AQUARONE, E. et al., 2001).

Este foi o início para a industrialização da produção de vinagre, uma vez que o processo Alemão é consideravelmente mais rápido que o Orleans. Porém,

mesmo representando um grande avanço tecnológico, acarreta perdas de 10% de substâncias voláteis por evaporação, e também é de fácil contaminação devido à área porosa ser úmida (RIZZON; MENEGUZZO, 2002).

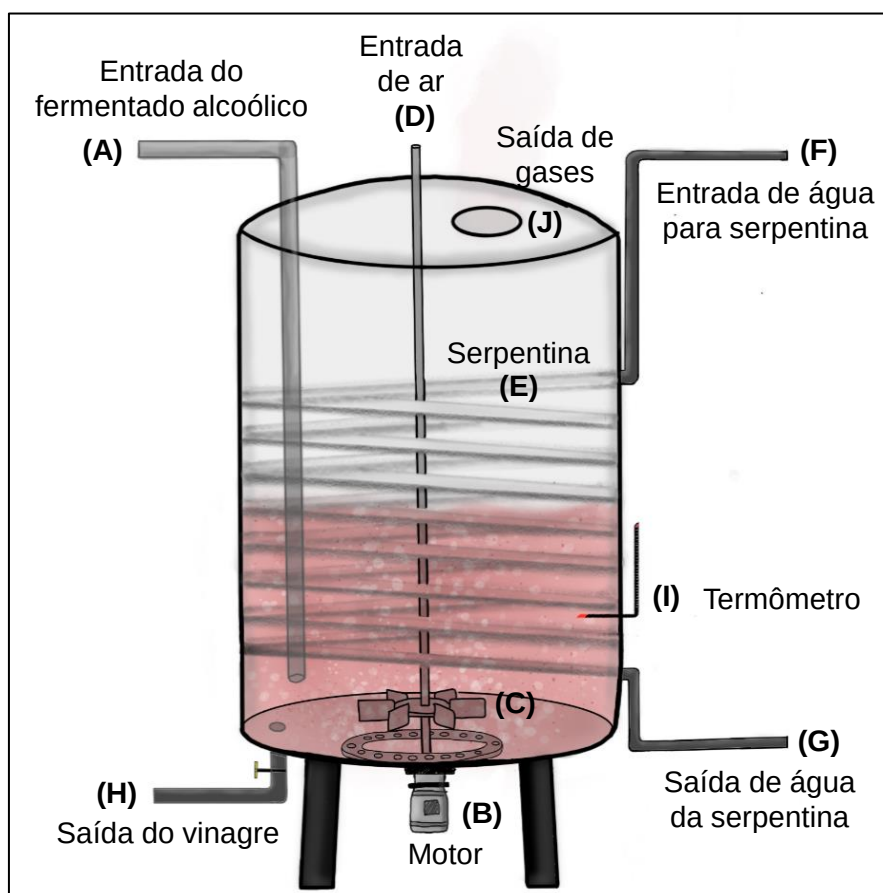
2.3.3 Processo Frings ou submerso

Em 1932, Heinrich Frings, iniciou na Alemanha o desenvolvimento industrial da produção do vinagre. O acetificador Frings possuía dispositivos para controle de temperatura, aeração forçada, assim como para renovação semi contínua da carda e vinho e vinagre (RIZZON; MENEGUZZO, 2002).

Neste equipamento, síntese do ácido acético ocorre por meio da ação de microrganismos submersos no líquido que será acetificado e saturado constantemente por microbolhas de ar, garantindo alta eficiência (AQUARONE et al, 1983).

No caso deste processo em relação àquele alemão a diferença ocorre no que tange à cultura de microrganismo ser submersa sem que haja a presença de nenhum material poroso para suporte. No líquido a ser fermentado podem ser encontradas as bactérias acéticas, que realizam o processo metabólico, produzindo o ácido acético. Para que a reação seja catalisada é necessário que exista um acompanhamento contínuo das bactérias com o fornecimento de oxigênio em todos os pontos do tanque, pois o rendimento pode ser afetado, mormente nas fases iniciais da fermentação (RIZZON; MENEGUZZO, 2006; AQUARONE, E. et al., 2001).

Figura 6 – Acetificador Frings para produção de vinagre pelo método submerso; (A) entrada do fermentado alcoólico; (B) motor elétrico; (C) rotor; (D) entrada de ar; (E) serpentina de refrigeração; (F) entrada de água para a serpentina; (G) saída da água da serpentina; (H) saída de vinagre; (I) termômetro; (J) saída de gases e vapor.



Fonte: Elaborada pela autora (Adaptado: ADAMS,1998)

Neste processo, o fermentado alcoolizado é introduzido ao tanque (Figura 6-A) e posteriormente o motor é acionado, (Figura 6-B) ligado a um dispositivo interno chamado rotor (Figura 6-C) que suga o ar externo para dentro da vinagreira (Figura 6-D). Por meio da entrada de ar, as bactérias sofrem o processo de multiplicação, ocorrendo então a acetificação do fermentado alcoólico. Devido a isso a temperatura deve ser controlada por meio de um trocador de calor (Figura 6-E, F, G) para não ocorrer a paralisação da fermentação. Quando o vinagre atinge o teor

alcoólico de 0,1°GL é retirada uma parte de dentro da vinagreira (Figura 6-H) e adicionada uma nova quantidade de fermentado alcoólico para continuar a fermentação acética.

2.4 MÉTODOS OFICIAIS UTILIZADOS PARA AVALIAÇÃO DO VINAGRE

A qualidade do vinagre produzido varia de acordo com o tipo de processo industrial, a matéria-prima utilizada e o tempo de maturação. Esses fatores são cruciais na determinação da composição final do produto (CHINNICI, 2009). Um vinagre de boa qualidade é importante para que o mesmo atenda as características funcionais, tais como; a assepsia de hortaliças, a conservação de carnes e de alimentos, a limpeza e a conservação de madeiras, na parte de produção de cosméticos, entre outros (AQUARONE, E. et al., 2001).

Como característica de parâmetros de qualidade, a legislação vigente determina que vinagres produzidos a partir do álcool destilado deve-se possuir o teor de acidez mínimo de 4%, teor alcoólico máximo de 1°GL, bem como também coloração correspondente à matéria-prima de origem e composição (BRASIL, 2012). Quanto aos vinagres de frutas, de cereais, e de mel, os parâmetros exigidos devem ser idênticos aos valores expressos no Quadro 2.

Quadro 2 – Parâmetros de qualidade de vinagres de frutas, cereais, e mel de abelha, de acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Parâmetro	Valor	
	Mínimo	Máximo
Acidez volátil em ácido acético (g/100mL)	4,0	N/A
Álcool (%v/v) a 20°C	0	1,0
Cinzas (g/L)	1,0	5,0
Extrato seco reduzido (g/L)	7,0	N/A
Sulfatos (g/L) de sulfato de potássio	0	1,0
Aspecto	Ausência de elementos estranhos à sua natureza e composição	
Cheiro	Característico	
Sabor	Ácido	
Cor	De acordo com a matéria-prima de origem e composição	

Nota: N/A – não se aplica

Fonte: BRASIL, 2012

Conforme o Escopo de bebidas, vinhos e vinagres: ensaios físico-químicos disponibilizados pelo MAPA (2021), as análises de cinzas e extrato seco total são determinados por meio de análises gravimétricas. Para a determinação e quantificação do teor de conservantes, são recomendados métodos de análise que utilizam a gravimetria e a volumetria. No entanto, não há previsto técnicas para quantificação colorimétricas dos produtos.

2.5 IMAGENS DIGITAIS

Uma imagem é capaz de reproduzir visualmente um objeto real ou um cenário. No processo da digitalização da imagem, a mesma é dividida em pixels que são organizados em uma matriz bidimensional composta por linhas e colunas.

Cada pixel da imagem é representado por um valor numérico (sendo x e y, as coordenadas espaciais de cada ponto localizado da imagem), que indica a intensidade em relação às cores do sistema de cores utilizado (RUSS, 2006; GONZALEZ; WOODS, 2009).

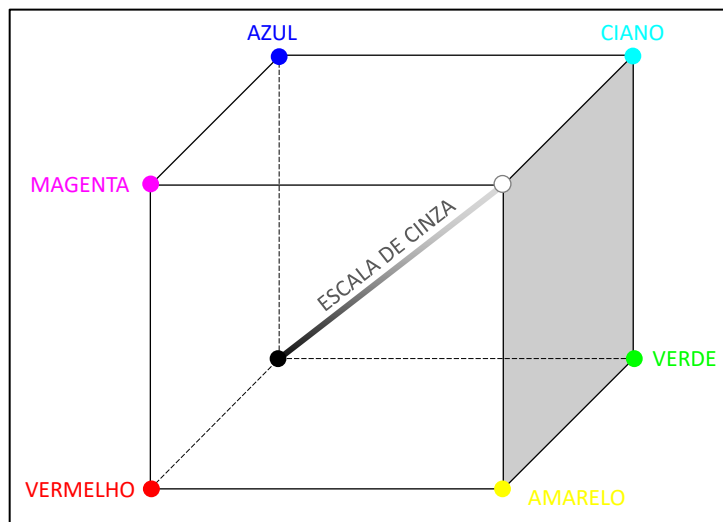
O sistema de cores RGB (representação das cores vermelho – *red*, verde – *green* e azul – *blue*) é amplamente utilizado em dispositivos de captura de imagem devido à similaridade com a percepção e entendimento do olho humano na identificação das cores (DANIEL, 2009; GELADI, P.; WOLD, S.; ESBENSEN, K, 1986).

Por ser o sistema de cores mais utilizados no sistema de captura, os dispositivos de imagens fornecem em cada imagem capturada informações com as coordenadas assumidas de RGB. Sendo assim, o RGB é o espaço de cores mais utilizados no sistema de captura e, desse modo, os dispositivos de imagens fornecem em cada imagem capturada informações com as coordenadas assumidas de RGB. Sendo assim, as imagens coloridas representadas pelo sistema RGB são matrizes tridimensionais que atribuem três valores numéricos correspondentes de cada canal de cor atribuídas em cada pixel (SOLOMON; BRECKON, 2011). Existem mais de 16 milhões de combinações de cores diferentes possíveis com este sistema, pois ocorre a combinação dos valores das cores vermelho, verde e azul, uma vez que cada canal de cor possui entre 0 e 255 cores, correspondendo a 256 variações de cores por cada canal, pois esse sistema de cores utiliza 8 bits (CAPITÁN-VALLVEY, et al. 2015). Com 8 bits, é possível atingir 256 intensidades de cor (WOJNAR, 2019).

Na Figura 7, tem-se a representação geométrica do modelo de canais de cor RGB que pode ser visto como um cubo, onde três de seus vértices são as cores

primárias e outras três as cores secundárias.

Figura 7 – Cubo de cores do modelo RGB.

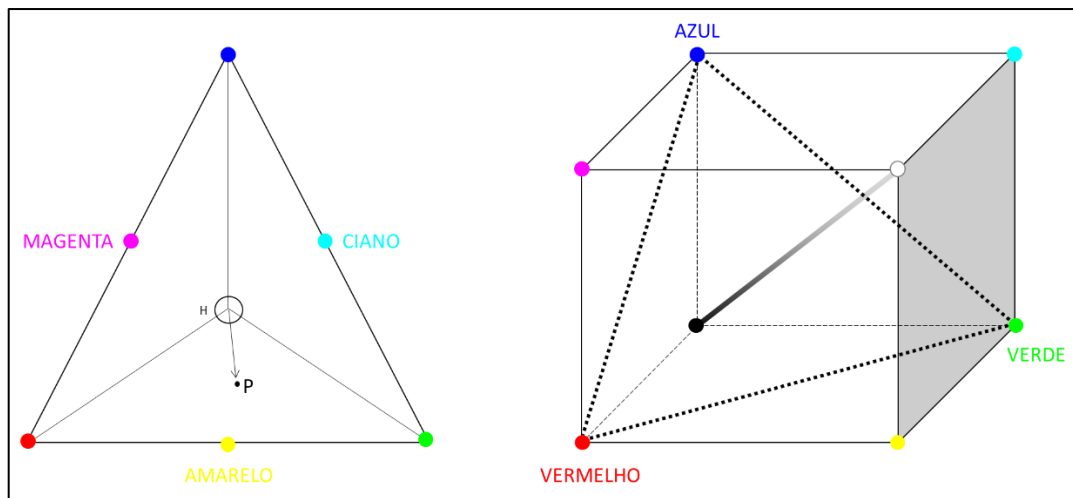


Fonte: Elaborada pela autora (Adaptado: SOLOMON; BRECKON, 2011)

Outro modelo muito utilizado é o HSV, definido como matiz - *hue* (H), a cor atribuída abrangendo todas as cores do espectro visível, saturação - *saturation* (S), atribuída pela quantidade de luz branca misturada com o matiz, e valor - *value* (V) ou intensidade - *intensity* (I), que está diretamente relacionado com o brilho da cor. Este modelo possui a versatilidade de separar estes componentes da forma como o olho humano detecta (MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999).

O modelo HSV é definido geometricamente como um triângulo (Figura 8-A) obtido por meio de um corte transversal do cubo de cores do modelo RGB (Figura 8-B), nos quais os vértices contêm as cores primárias e o centro corresponde à combinação destas cores em iguais proporções (MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999).

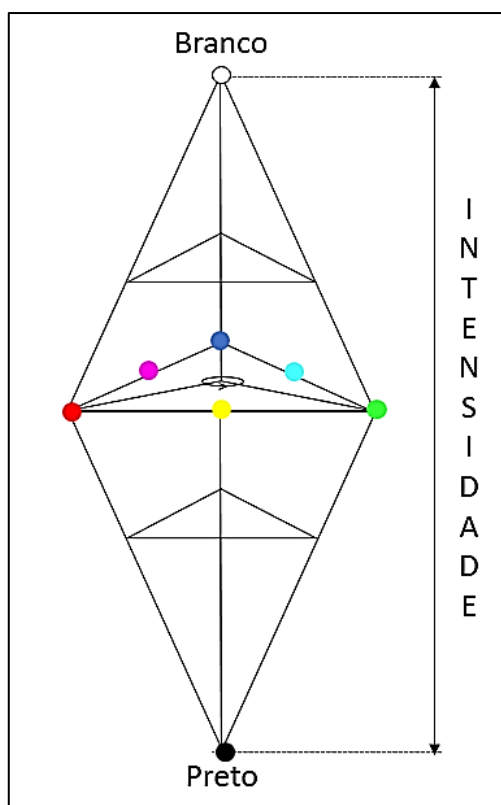
Figura 8 – Modelo HSV (A), obtido por meio de um corte transversal do cubo RGB (B).



Fonte: Elaborada pela autora (Adaptado: MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999)

Utilizando a Figura 8-A como exemplo, no ponto P o valor de H encontrado é correspondente ao ângulo do vetor da cor P em relação a cor vermelha. Logo, uma vez que $H = 0^\circ$, a cor correspondente é a vermelha, porém, quando o valor de H chega a 60° , a cor correspondente é a amarela, seguindo para as demais cores. A cor no ponto P possui intensidade diferente pois é caracterizada por S, sendo esta proporcional à distância do ponto P até o centro do triângulo. A intensidade da saturação da cor aumenta a medida onde o centro do triângulo se distancia do ponto P. Este valor é medido em relação à uma linha perpendicular ao triângulo que passa pelo seu centro (DANIEL, 2009; GELADI, P.; WOLD, S.; ESBENSEN, K, 1986). A Figura 9 representa de forma ilustrativa.

Figura 9 – Modelo HSV em prisma ilustrando a obtenção de cores.



Fonte: Elaborada pela autora (Adaptado: MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

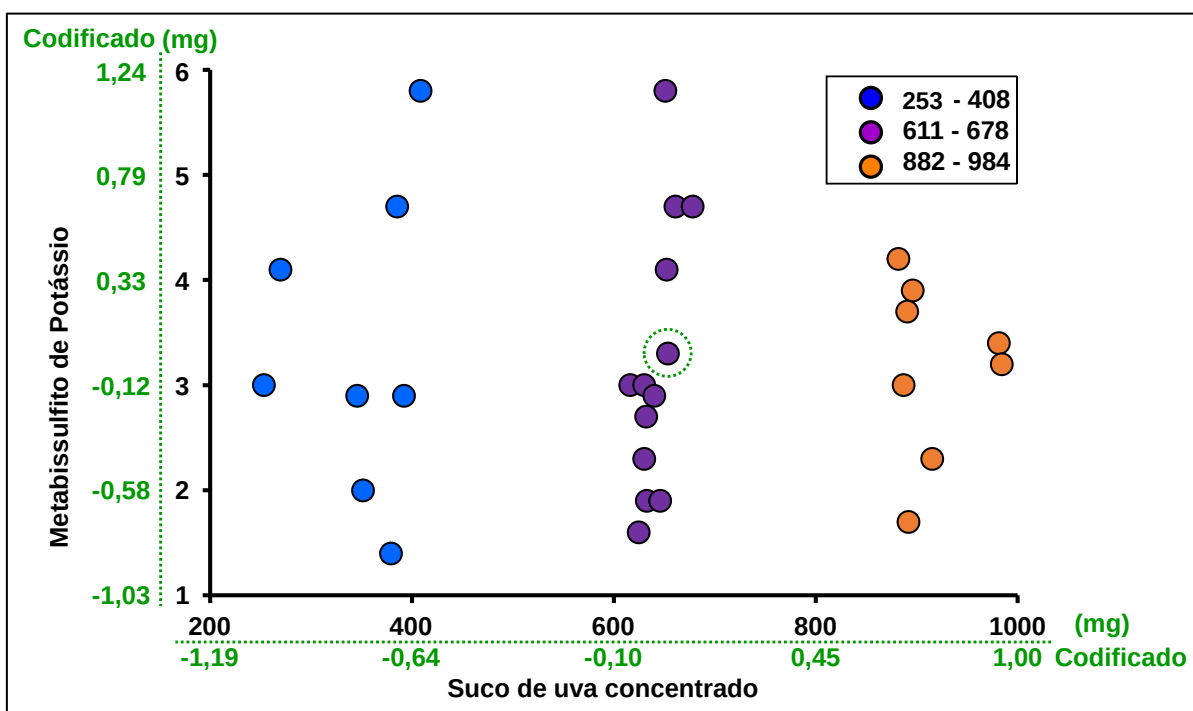
3.1 AMOSTRAS

Os materiais utilizados foram fornecidos por uma indústria situada na cidade de Lençóis Paulista/SP. As amostras foram preparadas contendo vinagre de álcool duplo tratado com bentonita de uma mesma batelada e posteriormente ajustado o teor de acidez para 4%, acrescido com proporções diferentes, suco de uva tinto concentrado e de metabissulfito de potássio, sendo estes utilizados de um único lote, respectivamente, 5331/22 e 92303724V0.

Para estipular a variação da quantidade de suco e conservante necessário em cada amostra, foi utilizado um planejamento fatorial completo 2^2 + ponto central (625:3) e pontos axiais ($-\sqrt{2}$; $\sqrt{2}$). Determinou-se como referência o parâmetro mais utilizado na indústria, sendo 625mg e 3mg respectivamente, posicionado no centro do domínio experimental.

Estabelecendo um fator de 1,5 neste planejamento, os valores foram estipulados de modo que reproduzisse variações acima do valor de referência, como excesso de produto/insumos, e abaixo como falha do processo produtivo. Dessa forma, as proporções estabelecidas entre suco de uva tinto e metabissulfito de potássio foram estabelecidas conforme o gráfico ilustrado na Figura 10 abaixo, adotando o ponto central como o valor referência.

Figura 10 – Gráfico representativo das proporções entre suco e conservante usado nas soluções, onde o ponto central representa aquela mais utilizada na indústria.



Fonte: Elaborada pela autora.

Foram preparadas 30 amostras com as quantidades em massa de suco e conservante conforme descritas na Tabela 1, adicionados em 100mL de vinagre límpido e sem depósitos. Alíquotas de 15mL das soluções de cada uma das 30 amostras preparadas foram acondicionadas em placas de Petri de poliestireno com tamanho de 60 × 15mm, durante a aquisição das imagens digitais.

Tabela 1 - Massa de insumos adicionados em cada amostra.

<i>Amostra</i>	<i>Suco (g)</i>	<i>Conservante (g)</i>	<i>Amostra</i>	<i>Suco (g)</i>	<i>Conservante (g)</i>
1	0,3787	0,0014	16	0,3511	0,0020
2	0,6507	0,0058	17	0,6607	0,0047
3	0,6455	0,0019	18	0,6107	0,0039
4	0,4082	0,0058	19	0,6296	0,0030
5	0,6777	0,0047	20	0,3849	0,0047
6	0,6324	0,0019	21	0,8903	0,0037
7	0,9151	0,0026	22	0,6533	0,0033
8	0,6396	0,0029	23	0,8917	0,0017
9	0,9840	0,0032	24	0,9811	0,0034
10	0,6297	0,0023	25	0,6243	0,0016
11	0,6316	0,0027	26	0,3453	0,0029
12	0,2528	0,0030	27	0,8817	0,0042
13	0,3917	0,0029	28	0,6519	0,0041
14	0,6158	0,0030	29	0,2692	0,0041
15	0,8959	0,0039	30	0,8867	0,0030

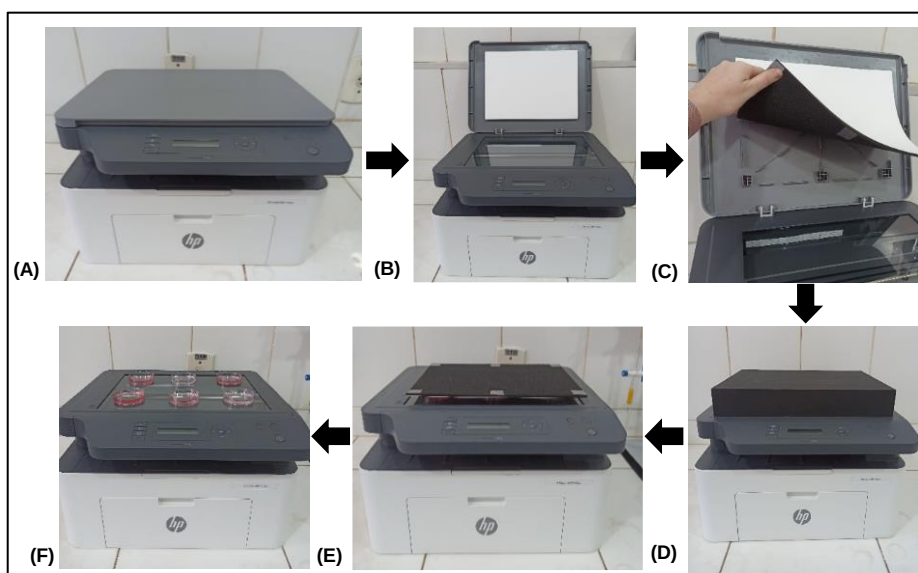
Fonte: Elaborado pela autora

3.2 SISTEMA DE AQUISIÇÃO DAS IMAGENS

Foi utilizado o scanner de uma impressora multifuncional de bancada HP Laser MFP 135w (4ZB83A, São Paulo, Brasil) para adquirir as imagens. Removeu-se o fundo branco liso da tampa do scanner com tamanho de 30 × 22cm, para posicionar na parte superior das amostras de modo que minimizasse a reflexão da luz incidente (Figura 11-C).

Após o posicionamento das placas, foi retirada a tampa do scanner e ajustada uma tampa nova, preparada previamente, de modo que substituísse a do scanner para evitar possível interferência da luz ambiente no momento da leitura (Figura 11-F). Essa tampa foi elaborada de madeira (MDF) com tamanho de largura e profundidade idêntico ao da área de varredura da impressora, sendo, 34 × 26 × 5cm, e pintada de preto. A Figura 11 abaixo, demonstra como foi realizada esta etapa.

Figura 11 – Sistema de aquisição das imagens digitais utilizando o scanner de uma impressora de bancada (A – B), sendo necessária a remoção do fundo branco da tampa (C), as amostras foram posicionadas na área de varredura do scâner (D) cobertas pelo fundo branco (E), e a tampa preta posicionada acima (F).



Fonte: Elaborada pela autora

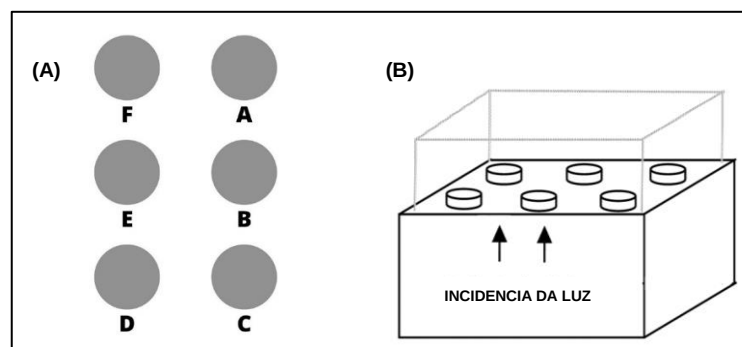
3.3 AQUISIÇÃO DOS DADOS

As amostras foram colocadas em seis posições diferentes indicados como A a F, conforme a Figura 12-A. Desse modo, cada amostra percorreu toda extensão da área de leitura do scanner resultando seis imagens por amostras com distâncias de aproximadamente 5cm, como representado na Figura 12-B. Na Figura 13-A, a amostra de nº1 está posicionada no canto superior direito assumindo a posição A, já na segunda leitura (Figura 13-B) ela assume da posição B, e assim por diante até terminar com a sua última leitura na posição F (Figura 13-F).

Durante a digitalização das imagens, o software do scanner foi habilitado com leitura *true color* (cores verdadeiras), resolução de 300dpi e imagem em

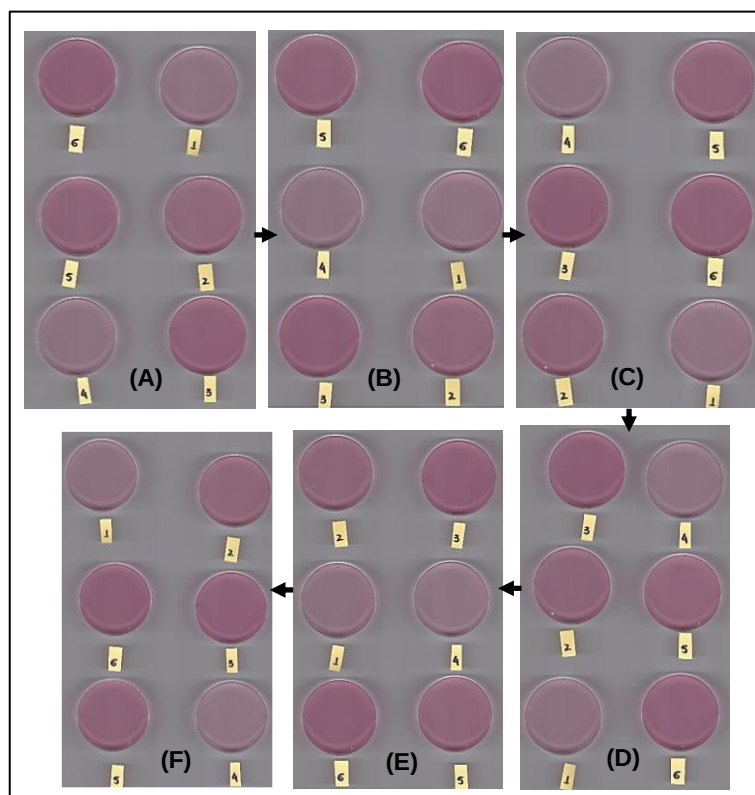
formato *joint photographic experts group* (jpeg).

Figura 12 – Representação das posições adotadas para a obtenção das imagens digitais (A), e sua disposição sob o scanner (B).



Fonte: Elaborada pela autora

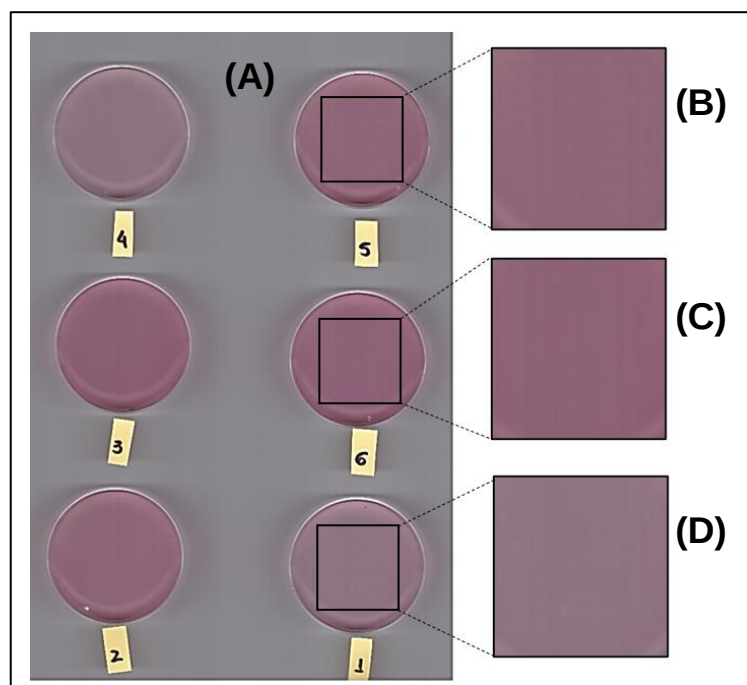
Figura 13 – Reposicionamento das amostras na área de varredura do scanner de maneira que fosse realizado leitura em toda área.



Fonte: Elaborada pela autora

Com um total de 180 imagens digitais, utilizou o software Photoscape-free 3.6 (Mooii Tech, Korea) para definir uma área de 400×400 pixels - *region of interest* (ROI) de forma a aproveitar o máximo de informação, conforme demonstrado na Figura 14.

Figura 14 – Esquema da seleção da área de interesse (B, C e D) a partir da imagem obtida após a digitalização do scanner (A).



Fonte: Elaborada pela autora

3.4 ANÁLISE DE DADOS

Com o auxílio de uma rotina computacional desenvolvida para ser utilizada em Matlab (The MathWorks, Natick, MA, EUA), as imagens foram convertidas em matriz numérica de acordo com os canais: RGB, HSV, *luminosity* (L) e cores relativas rgb.

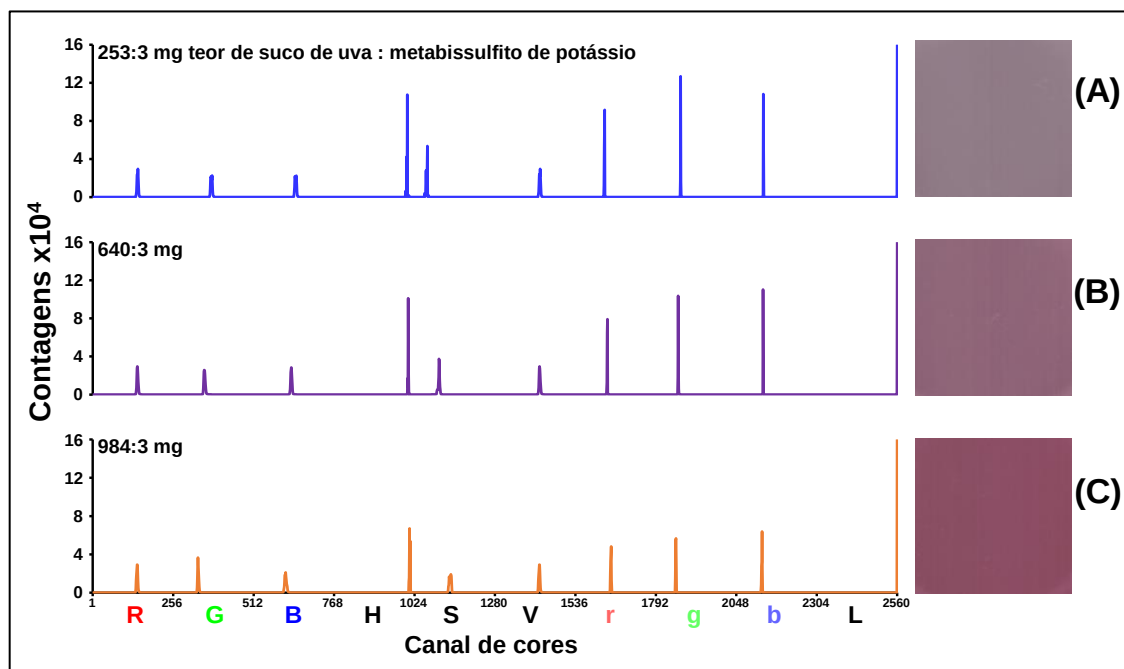
Os dados da matriz são organizados em 180 linhas × 2560 colunas para os histogramas de cores.

Centrou-se na média o histograma de cores e posteriormente foram realizados cálculos quimiométricos com algoritmos disponíveis no software Pirouette 4.5 rev. 1 (Infometrix, Bothell, WA, EUA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira avaliação considerou a correlação entre as cores e a possibilidade de obtenção de um modelo univariado a partir dos histogramas. A Figura 15 mostra exemplos dos perfis dos histogramas de cores das amostras obtidos a partir das imagens 400x400 pixels considerando variações nos teores de suco de uva tinto concentrado. Os resultados dos dados brutos verificaram a tendência de correlação entre os seguintes canais de cor g e S (0,87 para o coeficiente de correlação); g e r (0,82); r e b (0,85); e g e b (0,85). As demais variáveis apresentaram correlações inferiores a 0,76. Assim, as variáveis não eram altamente correlacionadas de acordo com essa avaliação inicial.

Figura 15 - Histogramas de cores calculados com teores de suco e conservantes diferentes, sendo respectivamente 253mg e 3mg (A), 640mg e 3mg (B), e 984mg e 3mg (C).



Fonte: Elaborada pela autora

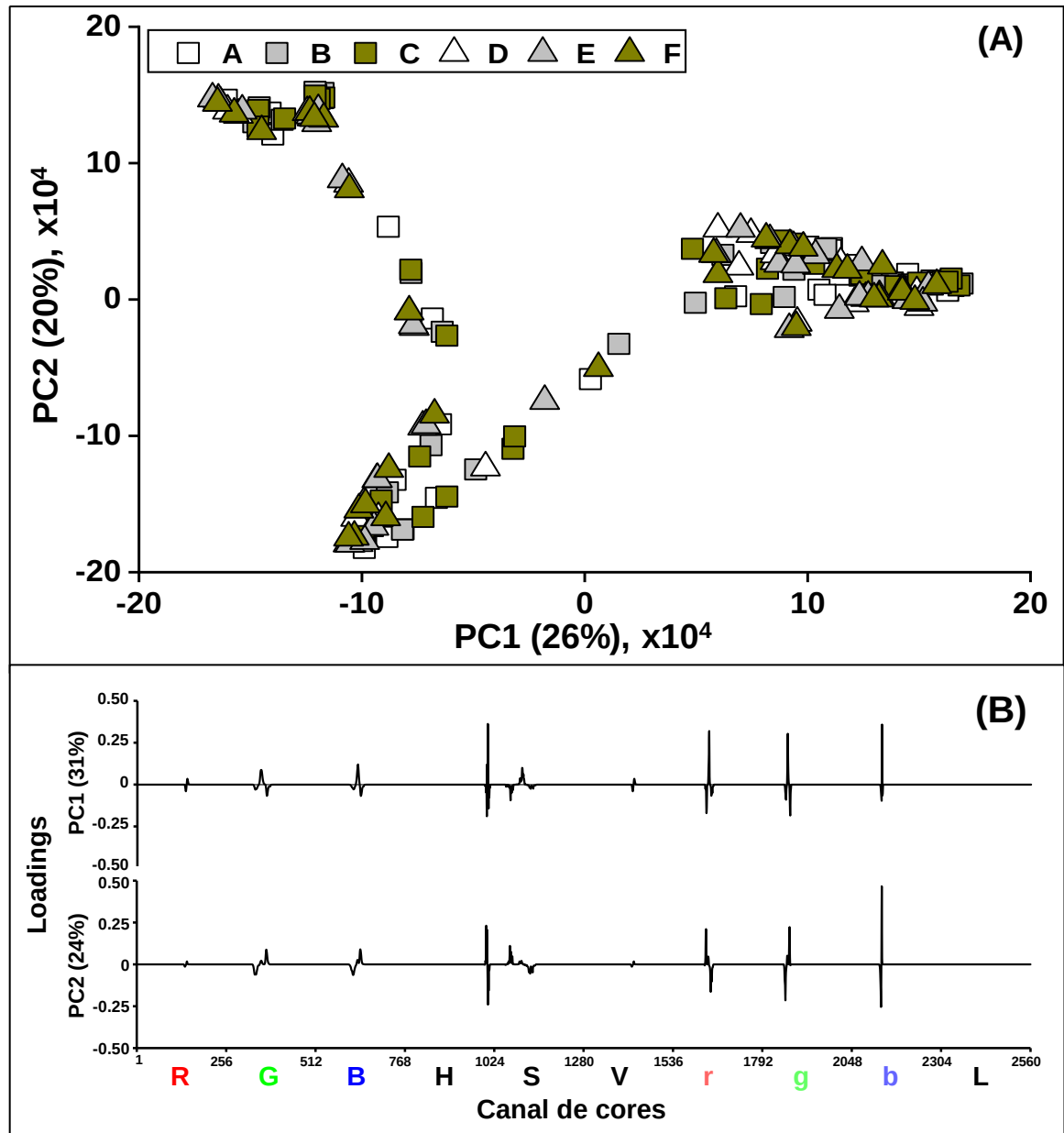
Uma análise exploratória foi realizada para obter informações sobre tendências de agrupamentos, quais variáveis poderiam ser necessárias para esses agrupamentos e a natureza considerando a composição das amostras, como a influência do suco de uva tinto concentrado ou conservador e posição das amostras poderiam influenciar durante a digitalização das amostras (soluções nas placas de Petri).

Assim, a composição das amostras e a posição das placas de Petri no scanner também foram investigadas. Conforme mostrado na Figura 16, avaliando todos os dados e os descritores que influenciaram sobre a posição de digitalização e composição das amostras. Uma análise exploratória usando análise de

componentes principais (PCA) foi calculada para uma matriz numérica de 180 x 2560 (amostras x canais de cor).

Durante a aquisição da imagem as seis posições diferentes das placas de Petri no scanner de A a F podem ser visualizadas com gráficos de *scores* (Figura 16-A). A PCA revelou que as diferentes posições das placas de Petri no scanner não influenciaram a qualidade da imagem das amostras e a fonte da informação analítica. Estes resultados são reforçados de acordo com a distribuição dos *scores* que não mostraram tendência de se agrupar ao longo de PC1 ou PC2. A partir do gráfico de *loadings* (Figura 16-B), todos os canais de cores foram significativos para as informações visualizadas nos gráficos de *scores*. A exceção foi o canal de cor L que não apresentou influência nos resultados. Em seguida foram realizados os cálculos subsequentes, retirando-se o canal de cor L.

Figura 16 - Gráfico de score e loadings calculado da matriz 180×2560 , indicando a influência das posições das placas de Petri na área de leitura do scanner.



Fonte: Elaborada pela autora

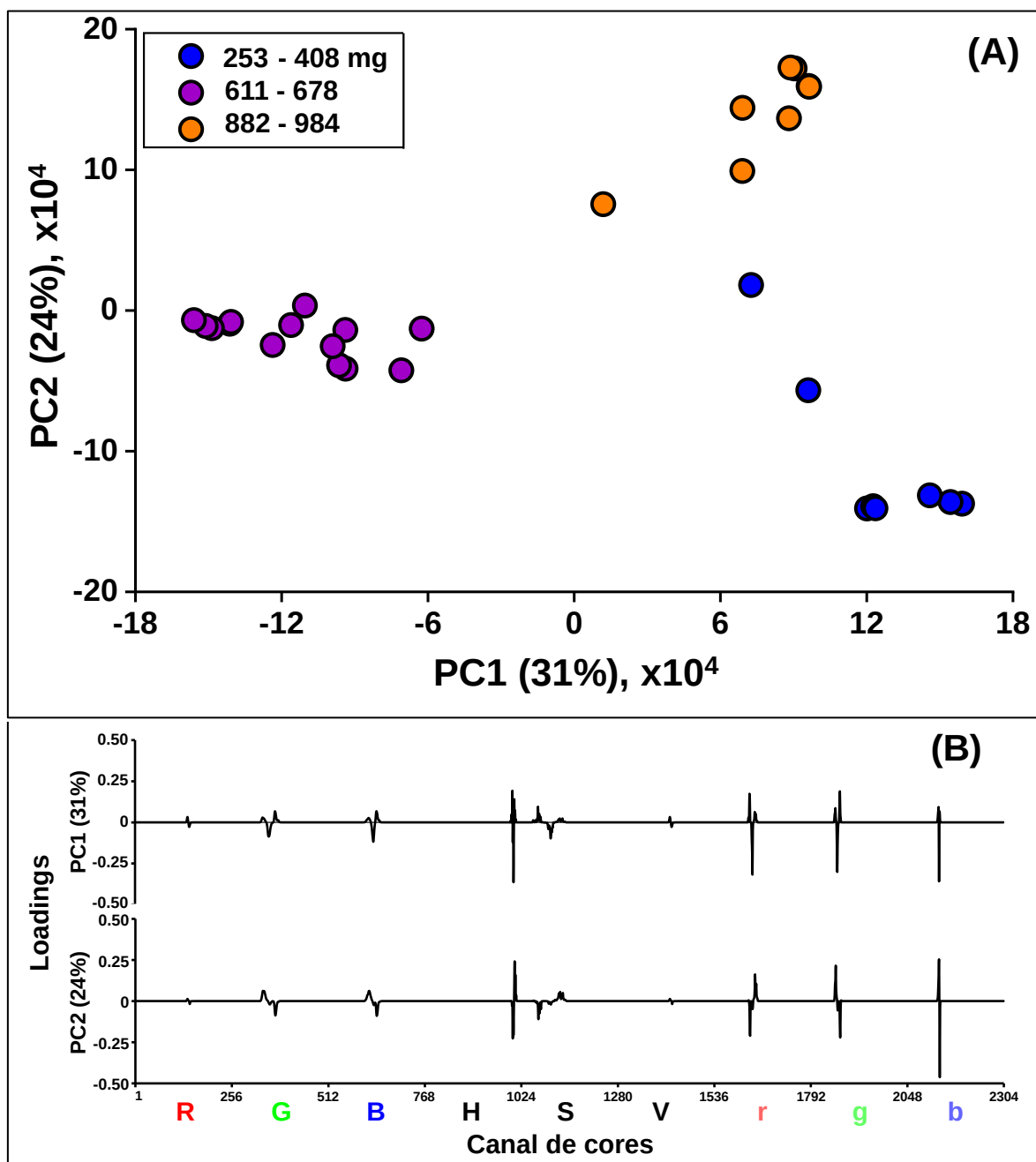
Em seguida uma nova PCA foi realizada para os dados usando os histogramas médios para cada amostra de imagem usando uma matriz numérica com 30 amostras e 2304 variáveis (RGB, HSV e rgb). A média dos histogramas de

cores foi calculada usando os dados brutos dos histogramas das amostras das imagens adquiridas nas seis posições de A a F.

A Figura 17-A mostra os três agrupamentos de dados dos *scores*, sendo que os símbolos roxos estão relacionados a uma proporção mais utilizada no processo de fabricação do vinagre de álcool composto tinto, o que significa que os valores de teor de suco de uva tinto concentrado variam entre 611 e 678mg (próximo ao ponto central descrito na Figura 10).

Os valores dos *scores* desses dados estão posicionados na parte negativa de PC1 e PC2. Os menores teores de suco de uva tinto concentrado, variando de 253 a 408mg, estiveram próximos aos valores positivos e negativos de PC1 e principalmente valores negativos de PC2 (símbolos azuis). Os teores nesta faixa representam produtos com qualidade ruim e estão posicionados entre $-\sqrt{2}$ a -1, na Figura 10. Os símbolos laranja representam os maiores teores de suco de uva concentrado (entre +1 a $\sqrt{2}$ na Figura 10); os *scores* estão localizados nas partes positivas de PC1 e PC2. Todos os descritores de cor mantiveram influência nos agrupamentos, conforme mostrado na Figura 17-B, os valores de *loadings* para PC1 e PC2, computando 55% da variância explicada.

Figura 17 - Gráfico de *scores* e *loadings* calculado para os dados médios (30 × 2304) sem a variável L indicando os clusters separados conforme o teor de suco.

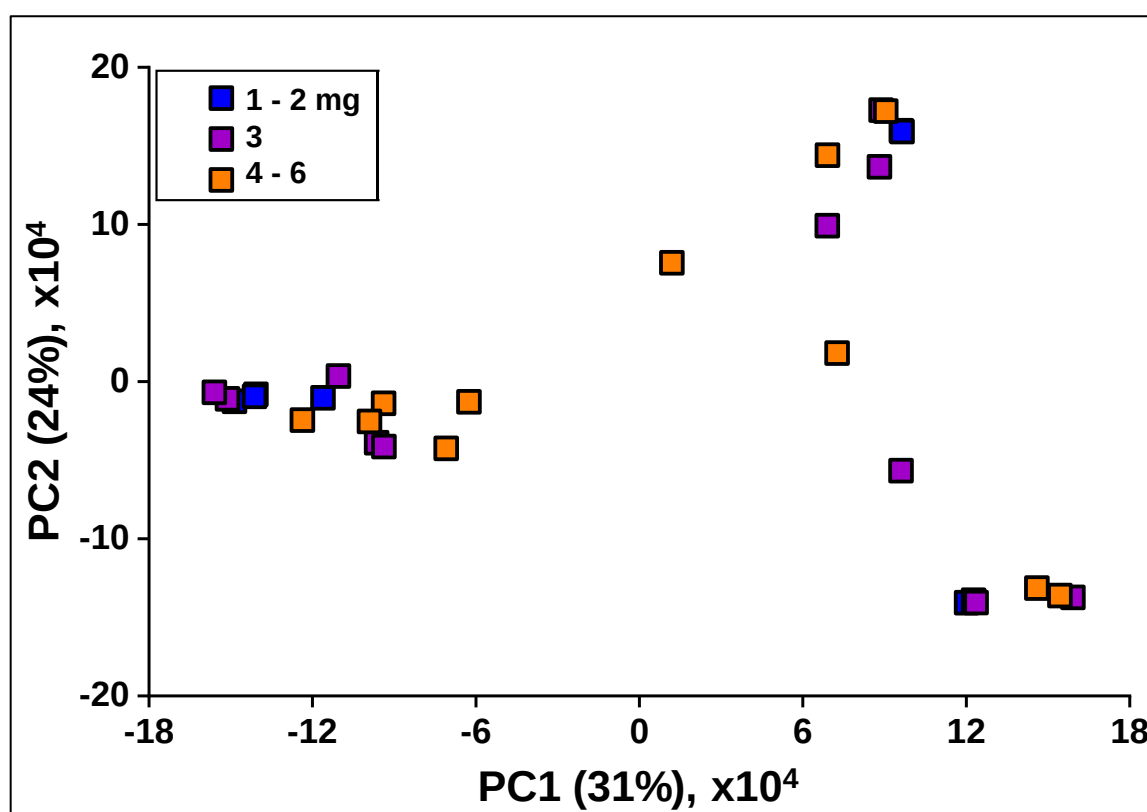


Fonte: Elaborada pela autora

Com a mesma PCA, não foi verificada nenhuma evidência de teor de conservador metabissulfito de potássio para o agrupamento das amostras; Figura

18. As amostras estão distribuídas aleatoriamente ao longo de PC1 e PC2, independentemente do teor de conservador na composição das amostras, evidência que reforça que o agrupamento formado foi relacionado ao teor de suco de uva tinto concentrado de acordo com os resultados do PCA.

Figura 18 - Gráfico de score indicando a não interferência do conservante nas amostras.

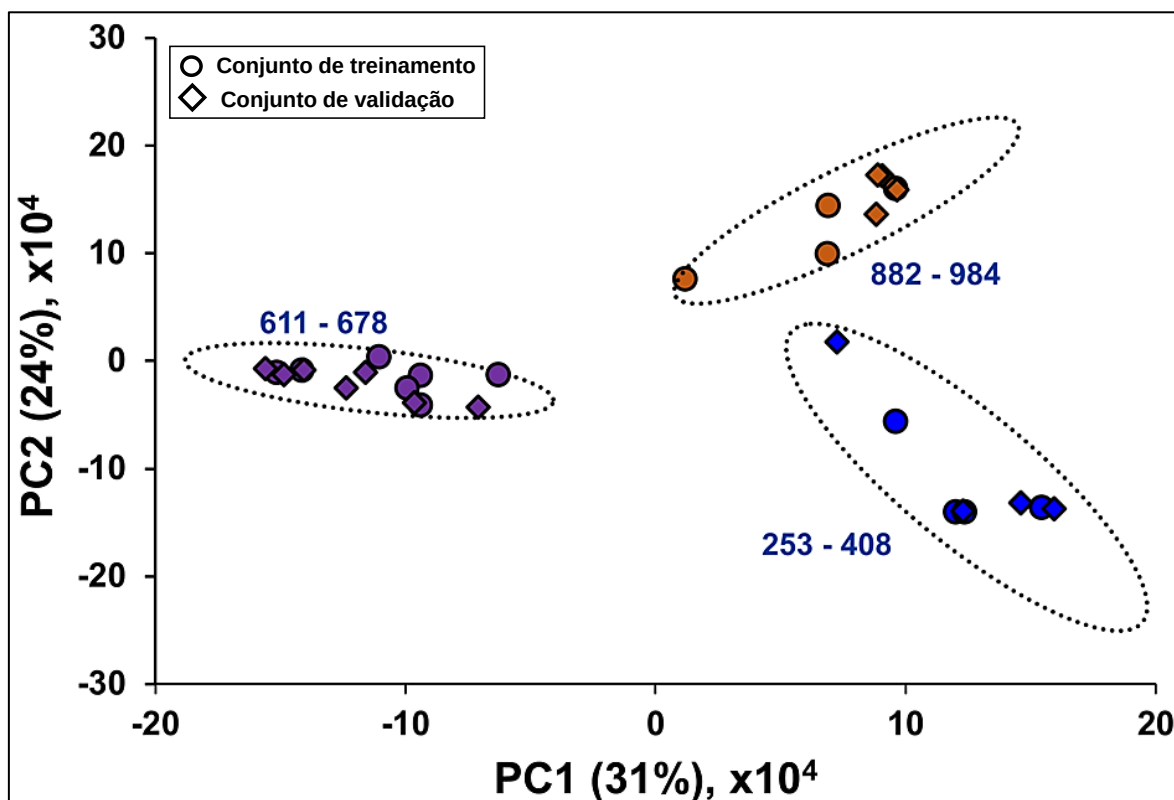


Fonte: Elaborada pela autora

O gráfico de *scores* da Figura 19 também representa as 15 amostras que foram selecionadas para o conjunto de treinamento para obter modelos de calibração representados por círculos, e as 15 amostras restantes foram para

validar o anteriormente modelo construído com o conjunto de treinamento, verifique os símbolos de losango.

Figura 19 - Gráfico de score para o conjunto de amostras de validação e treinamento do modelo, indicando a formação de três agrupamentos de acordo quantidade de suco usado nas amostras.



Fonte: Elaborada pela autora

Cada nível continha amostras representadas em ambos os conjuntos. Os três agrupamentos com teores de suco de uva tinto concentrado apresentaram separação. As elipses de confiança calculadas com nível de confiança de 95% evidenciam esta informação, auxiliando na seleção das amostras para compor os conjuntos de treinamento e validação.

Os modelos de classificação foram calculados usando os três algoritmos a seguir: *k-nearest neighbors* (kNN), *soft independent modeling of class analogy* (SIMCA), e *partial least squares - discriminant analysis* (PLS-DA). A Tabela 2 resume os principais parâmetros da qualidade de um modelo otimizados, tais como acurácia, sensibilidade, taxa de falso alarme e especificidade.

A interpretação de modelos de alta qualidade utiliza, como exemplo, os índices de acurácia, sensibilidade e especificidade onde o melhor valor é 1,0 e o alarme falso é zero. Todos os três algoritmos classificam efetivamente as amostras para o conjunto de treinamento, obtendo os melhores índices. O produto final ideal foi bem previsto, ocorrendo o mesmo para o nível superior como uma situação não ideal. Ocorreu apenas um erro de classificação para o conjunto de validação usando o modelo SIMCA para uma amostra do menor teor de suco de uva concentrado, conforme mostra a Tabela 2.

O resultado notável foi a ausência de erros de classificação para as previsões usando um ou dois vizinhos no algoritmo kNN. A um nível de confiança de 95%, o modelo SIMCA alcançou altas distâncias interclasses, 12,283 e 40,847, entre os níveis 1 e 2 e 1 e 3, respectivamente. A distância interclasse para os níveis 2 e 3 foi de 10,257. O poder total de modelagem evidenciou que todos os nove canais de cores, RGB, HSV e rgb, possuíam informações relevantes para os cálculos. No caso do PLS-DA, o erro padrão de validação cruzada (SECV) foi de 0,15 para o nível 1 com três variáveis latentes (*latente variable*, LV), o nível 2 foi de 0,15 para 2, e o nível 3 foi de 0,18 para selecionar 2. As imagens de 400x400 pixels, convertidas em histogramas de dez escalas de cores, detectam quando o teor de suco de uva concentrado é diferente em intervalos específicos.

Os resultados mostraram que esses algoritmos podem ser efetivamente aplicados para a classificação da cor do vinagre de álcool composto tinto quando o produto também está fora da especificação.

Tabela 2 - Resumo dos parâmetros da qualidade para conjuntos de treinamento e validação usando kNN, SIMCA e PLS-DA.

Algoritmo	Parâmetro	Conjunto de treinamento			Conjunto de validação		
	Nível	1	2	3	1	2	3
	Suco de uva (mg)	253-408	611-678	882-984	253-408	611- 678	882-984
	Número de amostras	4	7	4	4	7	4
kNN	Número de vizinhos	1	1	1	1	1	1
	Erros de classificação	0	0	0	0	0	0
	Acurácia	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	Sensibilidade	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	Taxa de falso alarme	0	0	0	0	0	0
	Especificidade	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
SIMCA	Número componentes principais	2	3	3	2	3	3
	Variância explicada (%)	100	93	100	100	93	100
	Erros de classificação	0	0	0	1	0	0
	Acurácia	1,0	1,0	1,0	0,93	0,93	0,93
	Sensibilidade	1,0	1,0	1,0	1,0	0,88	0,91
	Taxa de falso alarme	0	0	0	0,25	0	0
	Especificidade	1,0	1,0	1,0	0,75	1,0	1,0
PLS-DA	Número de variáveis latentes	3	2	2	3	2	2
	Variância explicada (%)	61	48	33	61	48	33
	Classificações incorretas	0	0	0	0	0	0
	Acurácia	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	Sensibilidade	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	Taxa de alarme falso	0	0	0	0	0	0
	Especificidade	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste estudo de mestrado foi desenvolvido um método analítico que não necessita adicionar produtos químicos ou realizar pré-tratamento das amostras para a análise do vinagre de álcool composto tinto e ausente de subjetividade. Os dados das cores das imagens digitalizadas combinadas com análise exploratória revelaram a formação de três agrupamentos influenciados pelas faixas de teores de suco de uva concentrado. Além disso, não houve influência do conservante metabisulfito de potássio. As posições das amostras no *scanner* durante a digitalização não causaram diferenças nos resultados. Os canais de cores RGB, HSV e rgb foram os aqueles responsáveis pelas informações analíticas relevantes para os modelos de classificação multivariados. Os três algoritmos, kNN, SIMCA e PLS-DA revelaram bons índices para os parâmetros da qualidade de um modelo, com índices superiores a 0,9 para acurácia, sensibilidade e especificidade.

Como perspectivas, este método analítico pode auxiliar na detecção de possíveis adulterações efetuadas com a substituição do suco por corantes; e também, viabiliza o desenvolvendo de cartas de controle para o processo de fabricação. O método analítico desenvolvido pode ser configurado como uma alternativa aos órgãos e às agências reguladoras, visando estabelecer parâmetros durante o processamento do vinagre.

6 REFERÊNCIAS

ADAMS, M. R. Vinegar. In: WOOD, B. J. B. Microbiology of fermented foods. London: **Elsevier Applied Science**, 1997. v. 1, p. 1-44.

AGNOLETTI, B. Z. et al. Discriminação de café arábica e conilon utilizando propriedades físico-químicas aliadas à quimiometria. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 785-805, 2019.

ALMEIDA, P. L. et al. A rapid, sensitive and green analytical method for the determination of sulfite in vinegars using pararosaniline reaction with image detection. **Analytical Methods**, v. 10, n. 4, p. 448-458, 2018.

ANAV. Vinagre. In: **Vinagre**. [S. l.], 2015. Disponível em: <https://www.anav.com.br/vinagre.php>. Acesso em: 24 nov. 2022.

AQUARONE, E. et al. **Biotechnologia Industrial: Biotechnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgar Blucher, v. 4, 523p, 2001.

BOFFO, E. F. et al. Classification of Brazilian vinegars according to their ¹H NMR spectra by pattern recognition analysis. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 9, p. 1455-1460, 2009.

BRASIL. Câmara dos Deputados. **Projeto de Decreto Legislativo nº 1.122, de 7 de agosto de 2013**. Susta a aplicação do art. 25 da Instrução Normativa nº 6, de 3 de abril de 2012, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Brasília: Câmara dos Deputados, 2013. Disponível em: <<https://www.camara.leg.br/buscaProposicoesWeb/result>>. Acesso em: 20 abr. 2022

BRASIL. **Instrução Normativa nº6 de 3 de abril de 2012**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária do Abastecimento, 3 abr. 2012. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-ebebidas/instrucao-normativa-no-6-de-3-de-abril-de-2012.pdf/view>>. Acesso em: 20 abr. 2022

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Bebidas, Vinhos e Vinagre. **Escopo de Bebidas, Vinhos e Vinagres: ensaios físico químicos**. Brasília, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfd/legislacao-metodos-da-rede-lfda/bebidas-vinhos-e-vinagres>> Acesso em 16 out. 2022.

CAPITÁN-VALLVEY, L. F.; LÓPEZ-RUIZ, N.; MATÍNEZ-OLMOS, A; ERENAS, M; PALMA, A. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review. **Analytica Chimica Acta**, v. 899, p. 23-56, 2015.

CHANLA, J. et al. Smartphone application as digital image colorimetric detection for

batch and flow acid-base titration. **Chiang Mai J. Sci.** , v. 46, n. 5, pág. 975-986, 2019.

CHEN, G. et al. Production and characteristics of high quality vinegar from sugarcane juice. **Sugar Tech**, v. 17, n. 1, p. 89-93, 2015.

CHEN, Q. et al. Monitoring vinegar acetic fermentation using a colorimetric sensor array. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 183, p. 608-616, 2013.

CHINNICI, F. et al. Gas Chromatography– Mass Spectrometry (GC– MS) characterization of volatile compounds in quality vinegars with protected European geographical indication. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 11, p. 4784-4792, 2009.

DANIEL, G. B. **Digital imaging. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 4, p. 667–676, 2009.

FIERENS, T. et al. Caramel colour and process contaminants in foods and beverages: Part II–Occurrence data and exposure assessment of 2-acetyl-4-(1, 2, 3, 4-tetrahydroxybutyl) imidazole (THI) and 4-methylimidazole (4-MEI) in Belgium. **Food chemistry**, v. 255, p. 372-379, 2018.

GARCIA-ALVAREZ, M. et al. Determination of polarimetric parameters of honey by near-infrared transreflectance spectroscopy. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 3, p. 419-425, 2002.

GARCÍA-PARRILLA, M. Carmen et al. Measurement of wine vinegars' color: Application of the characteristic vector method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4238-4241, 1998.

GELADI, P.; WOLD, S.; ESBENSEN, K. Image analysis and chemical information in images. **Analytica Chimica Acta**, v. 191, p. 473–480, 1986.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. C. **Processamento digital de imagens**. Pearson Educación, 3ed, 2009.

HUTKINS, R. W. **Microbiology and technology of fermented foods**. John Wiley & Sons, 2008.

KARADAĞ, A. et al. Use of Principal Component Analysis and Cluster Analysis for Differentiation of Traditionally-Manufactured Vinegars Based on Phenolic and Volatile Profiles, and Antioxidant Activity. **Polish journal of food and nutrition sciences**, v. 70, n. 4, 2020.

LEONEL, M.; SUMAN, P. A.; GARCIA, E. L.. Production of ginger vinegar. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 39, p. 183-190, 2015.

MONTES, C. et al. Instrumental factors influencing absorption measurements for fluid food color determination. **Journal of AOAC International**, v. 87, n. 3, p. 632-638, 2004.

MARQUES, F. P. P., et al. Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais. **Food Science and Technology**, v. 30, p. 119-126, 2010.

MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H.. Processamento Digital de Imagens, Rio de Janeiro: **Brasport**, 1999. ISBN 8574520098.

OZBEK, N.; AKMAN, S.. Determination of total sulfur concentrations in different types of vinegars using high resolution flame molecular absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 213, p. 529-533, 2016.

PEREIRA, F. M. V.; BUENO, M. I. M. S.. Image evaluation with chemometric strategies for quality control of paints. **Analytica chimica acta**, v. 588, n. 2, p. 184-191, 2007.

RÍOS-REINA, R. et al. Application of hierarchical classification models and reliability estimation by bootstrapping, for authentication and discrimination of wine vinegars by UV–vis spectroscopy. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 191, p. 42-53, 2019.

RÍOS-REINA, R. et al. Assessment of UV–visible spectroscopy as a useful tool for determining grape-must caramel in high-quality wine and balsamic vinegars. **Food chemistry**, v. 323, p. 126792, 2020.

RÍOS-REINA, R. et al. Sampling methods for the study of volatile profile of PDO wine vinegars. A comparison using multivariate data analysis. **Food Research International**, v. 105, p. 880-896, 2018.

RÍOS-REINA, R. et al. Spectralprint techniques for wine and vinegar characterization, authentication and quality control: Advances and projections. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 134, p. 116121, 2021.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. Elaboração de Vinagre. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimentos**: Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, n. 36, ed. 1, p. 31, n 2001.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. Sistema de Produção de Vinagre. **Embrapa**, [s. l.], Sistema de produção, n. 13, 2006. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinagre/SistemaProducaoVinagre/autores.htm>>. Acesso em: 25 set. 2022.

RUSS, J. C. **The image processing handbook**. 5th ed. Boca Raton, FL, EUA: Imprensa CRC, 2006

SACHS, L.G. **Tecnologia dos produtos agropecuários – Transformações de produtos vegetais**. FFALM, Bandeirantes, Pp.58-73, 1990.

SANTOS, P. M.; WENTZELL, P. D.; PEREIRA-FILHO, E. R. Scanner digital images combined with color parameters: a case study to detect adulterations in liquid cow's milk. **Food Analytical Methods**, v. 5, p. 89-95, 2012.

SIEPMANN, F. B.; CANAN, C.; COLLA, E. Processos e substratos para produção de vinagres: uma revisão. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia**, v. 6, n. 14, p. 12-22, 2015.

SINANOGLOU, V. J. et al. On the characterization and correlation of compositional, antioxidant and colour profile of common and balsamic vinegars. **Antioxidants**, v. 7, n. 10, p. 139, 2018.

SOLOMON, C.; BRECKON, T. **Fundamentals of Digital ImageProcessing - A Practical Approach withExamples in Matlab**. 1st Edition. United States of America: John Wiley& Sons Ltd, 2011.

THE VINEGAR INSTITUTE. Marjet Trends: Non-Food Introductions Containing Vinegar. In: **Marjet Trends: Non-Food Introductions Containing Vinegar**. [S. l.], 2019. Disponível em:< <https://versatilevinegar.org/>>. Acesso em: 20 set. 2022.

TUBINO, M.; BARROS, F. G. Conductometric and colorimetric determination of volatile acidity of vinegars by flow-injection analysis. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 74, n. 2, p. 346-350, 1991.

WOJNAR, Leszek. **Image analysis: applications in materials engineering**. Crc Press, 2019.