

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

CAMILLA PASTORE ANIZELLI

**AUTENTICAÇÃO DE ORIGEM DE MÉIS DE ORTIGUEIRA-PR USANDO
VOLTAMETRIA CÍCLICA E ELETRODOS DE CARBONO MODIFICADOS**

CAMPO MOURÃO

2022

CAMILLA PASTORE ANIZELLI

**AUTENTICAÇÃO DE ORIGEM DE MÉIS DE ORTIGUEIRA-PR
USANDO VOLTAMETRIA CÍCLICA E ELETRODOS DE
CARBONO MODIFICADOS**

**Origin authentication of honey from Ortigueira-PR using cyclic
voltammetry and modified carbon electrodes**

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de Mestre em Tecnologia de
Alimentos da Universidade Tecnológica Federal
do Paraná (UTFPR).

Orientador: Evandro Bona.

Coorientador: Luís Avelino Guimarães Dias.

CAMPO MOURÃO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Medianeira



CAMILLA PASTORE ANIZELLI

**AUTENTICAÇÃO DE ORIGEM DE MÉIS DE ORTIGUEIRA-PR USANDO VOLTAMETRIA
CÍCLICA E ELETRODOS DE CARBONO MODIFICADOS**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 26 de Abril de 2022

Evandro Bona, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Angela Maria Gozzo, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Maria Brigida Dos Santos Scholz, Doutorado - Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (Iapar-Emater)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 26/04/2022.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade e me abençoar nessa nova caminhada, sem a proteção dele eu não teria conseguido tantas conquistas e força para chegar até aqui.

Ao meu orientador Professor Doutor Evandro Bona por todo conhecimento, paciência, disponibilidade, ajuda e experiências transmitidas durante todo o trabalho realizado. Ao meu coorientador e pesquisador, Professor Doutor Luís Avelino Guimarães por todas as contribuições no trabalho.

À minha família, meu pai Paulo Roberto Anizelli, que não está mais entre nós, mas sei que está muito orgulhoso de tudo que venho conquistando e a minha mãe Regina Célia Pastore Anizelli que não mediu esforços e me incentivou desde o início do mestrado. Ao meu noivo Kauã Gabriel Darodda Magioni, que esteve sempre ao meu lado, me apoiando e que não me deixou desistir, nos momentos difíceis.

Agradeço imensamente ao ex-aluno de iniciação científica, o Vitor pelo auxílio nas análises e pelas contribuições da aluna Luana. Gratidão pelo auxílio em meu trabalho e por todo o apoio. Agradeço também a todas os (as) colegas de disciplinas cursadas durante todo o mestrado.

À UTFPR, pela oportunidade de orgulhosamente fazer parte da comunidade acadêmica e desenvolver este trabalho. Aos professores que me acompanharam ao longo da minha jornada e que contribuíram não só com a minha formação acadêmica, mas também pessoal.

A todos, manifesto a minha gratidão pela contribuição para a realização desta Dissertação de Mestrado.

Agradeço também, alguns parceiros que auxiliaram na execução de algumas etapas do trabalho: a Central Analítica Multiusuário da UTFPR de Campo Mourão (CAMulti-CM); o IDR-Paraná pelo fornecimento das amostras; o CNPq (312595/2021-2) pelo apoio financeiro; a Universidade Estadual de Londrina (UEL) e o Dr. Mario Henrique Montazolli Killner pelo potenciostato e o Instituto Politécnico de Bragança (IPB) pelo fornecimento do eletrodo de óxido de níquel.

RESUMO

O mel é uma substância naturalmente doce e é produzido pelas abelhas a partir do néctar das flores. É uma fonte alimentar rica em carboidratos e consiste em uma mistura de açúcares, principalmente glicose e frutose. A origem geográfica é um fator intrínseco para as características do mel que, geralmente, são avaliadas através de análises físico-químicas que demandam elevado tempo de análise e custo. A voltametria cíclica pode ser utilizada como ferramenta analítica alternativa para a autenticação de amostras de méis, sendo ela uma técnica rápida, instrumentalmente simples e barata. O objetivo desse estudo foi aplicar a voltametria cíclica para a autenticação de origem de méis de Ortigueira (Paraná – Brasil) empregando eletrodos de pasta de carbono modificados com óxido de níquel, óxido de ferro, óxido de cobre e nanotubos de carbono. Os voltamogramas coletados foram tratados utilizando métodos quimiométricos de análise exploratória e de classificação. Os resultados da análise de agrupamentos hierárquicos e nos gráficos de *scores* obtidos na análise de componentes principais demonstraram um desempenho superior do eletrodo de grafite formado por 60% de grafite e 40% de resina epóxi, em comparação aos demais eletrodos. O melhor modelo de classificação das amostras com a língua eletrônica foi obtido também com os dados do eletrodo C60 com 2 variáveis latentes, obtendo um percentual de classificação correta para o conjunto de previsão de 94,44%. O modelo PLS-DA (mínimos quadrados parciais com análise discriminante) usando os voltamogramas obtidos com o eletrodo C60 apresentou maior exatidão e principalmente maior seletividade, em relação ao modelo PLS-DA usando os dados físico-químicos que resultou em um modelo de alta sensibilidade, porém com baixa seletividade, ou seja, elevadas taxas de falso positivo. Com base nos resultados da análise de língua eletrônica e sendo este um método rápido (cerca de 5 minutos por amostra) e de baixo custo, esta metodologia pode ser implantada com mais frequência para verificar a autenticidade da origem geográfica de amostras de mel.

Palavras-chave: quimiometria; língua eletrônica; designação de origem.

ABSTRACT

Honey is a naturally sweet substance and is produced from the nectar of flowers. It is a food source rich in carbohydrates and consists of a mixture of sugars, mainly glucose and fructose. The geographic characteristics are of mechanical and mechanical analysis of a time factor, normally they are of geographic origin of analysis that demand a time factor. Electrical voltammetry can be used as an alternative analytical tool for authenticating honey samples, as it is a fast, instrumentally simple and inexpensive technique. The aim of this study was to apply a cyclic voltammetry for authentication of origin of metals from Ortigueira (Paraná – Brazil) using carbon mass electrodes modified with carbon oxide, iron oxide, copper oxide and carbon nanotubes. Controlled voltammograms were used using chemometric exploratory analysis and classification methods. The results of analysis of hierarchical groupings and in the graphs of scores in the analysis of graphite components formed a superior performance of the electrodes formed by 60% of epoxy resin and 40% of epoxy resin, in comparison to the other electrodes. The best classification model of the samples with the electronic language was also collected with data from the C60 with 2 latent variables, presenting a percentage of correct classification for the prediction set of 94.44%. The PLS-DA (partial least squares with analysis) using voltammograms discriminant to with the C60 electrode presented larger and mainly PLS-DA using the physicochemical data that resulted in a model of high sensitivity, however with low selectivity, that is, high false positive rates. Based on the electronic tongue and this being a fast method (about 5 minutes per sample) and low cost, this methodology can be implemented more frequently to verify the analysis of the geographical origin of honey sample.

Keywords: chemometrics; electronic tongue; designation of origin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução temporal dos artigos sobre autenticidade do mel (base de dados Scopus 12/2020).....	15
Figura 2 - Problemas de autenticidade do mel investigados em artigos de pesquisa.....	16
Figura 3 - Avaliação temporal dos estudos por questão de autenticidade.....	17
Figura 4 - Porcentagens de artigos de autenticidade de mel por técnica analítica.....	18
Figura 5 - Diagrama esquemático dos componentes estruturais básicos de uma língua eletrônica.....	19
Figura 6 - Representação esquemática de uma célula eletroquímica para experimentos.....	24
Figura 7 - Varredura de voltametria cíclica realizada com eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubo de carbono de paredes múltiplas com sensor de curcumina.....	25
Figura 8 - Polimento mecânico dos eletrodos.....	27
Figura 9 - Amostras de mel.....	31
Figura 10 - Quantidade de amostras para cada grupo.....	32
Figura 11 - Local do apiário das amostras.....	33
Figura 12 - Distribuição da flora das amostras de mel.....	35
Figura 13 - Escala de cores padrão do mel e respectivos intervalos de valores <i>mm</i> PFund.....	37
Figura 14 - Distribuição da cor das amostras de mel, de acordo com a escala de Pfund.....	38
Figura 15 - Reações ocorridas entre o sulfato de cobre (CuSO_4) e o hidróxido de sódio (NaOH) com aquecimento entre 80 a 100°C.....	40
Figura 16 - Reação ocorrida na produção de nanopartículas de óxido de ferro.....	40
Figura 17 - Diagrama simplificado do potenciostato utilizado.....	42
Figura 18 - Sinais das amostras de mel obtidos com o eletrodo C60 (A), Cu (B), CV (C), Fe (D), NT (E) e Ni (F).....	47
Figura 19 - Média de diferença no sinal para cada tipo de mel (Ortigueira e Externo) com o eletrodo C60 (A), Cu (B), CV (C), Fe (D), NT (E) e Ni (F).....	48
Figura 20 - Gráfico de <i>score</i> para as análises físico-químicas.....	50
Figura 21 - Biplot para PC1 vs. PC4 para os dados físico-químicos.....	51
Figura 22 - Gráfico de <i>score</i> do eletrodo C60.....	52
Figura 23 - Gráfico de <i>score</i> do eletrodo Fe.....	52
Figura 24 - Gráfico de <i>score</i> do eletrodo de Ni.....	53
Figura 25 - Gráfico de <i>score</i> do eletrodo Cu.....	54
Figura 26 - Gráfico de <i>score</i> do eletrodo CV.....	54
Figura 27 - Gráfico de <i>score</i> do eletrodo NT.....	55
Figura 28 - Gráfico de loadings para os eletrodos C60 (A), Fe (B) e Ni (C).....	56
Figura 29 - Dendrograma das análises Físico-Químicas.....	57
Figura 30 - Dendrograma do eletrodo C60.....	58
Figura 31 - Dendrograma do eletrodo Cu.....	59

Figura 32 - Dendrograma do eletrodo CV.....	60
Figura 33 - Dendrograma do eletrodo Fe.....	61
Figura 34 - Dendrograma do eletrodo NT.....	62
Figura 35 - Dendrograma do eletrodo Ni.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Categoria de cor de mel de acordo com a leitura de absorbância em 635 nm (C635) e equivalência com a escola Pfund (<i>mm</i>).....	36
Tabela 2 - Composição dos eletrodos construídos.....	39
Tabela 3 - Parâmetros utilizados para a análise das amostras de mel por voltametria cíclica.....	43
Tabela 4 - Variância representada em cada PC para cada conjunto de dados.....	49
Tabela 5 - Modelos PLS-DA para classificação dos méis usando dados físico-químicos (análises tradicionais) e dados obtidos pela língua eletrônica.....	65
Tabela 6 - Figuras de mérito para os modelos PLS-DA usando os voltamogramas obtidos com o eletrodo C60 e dados físico-químicos.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS

DA	Atividade de diástase
EXT1	Externo 1
EXT2	Externo 2
EXT 3	Externo 3
HCA	Análise de agrupamentos hierárquicos
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IDR - PR	Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
LDA	Análise discriminante linear
MLAPV	Voltametria de pulso de grande amplitude multifrequencial
ORT	Ortigueira
PCA	Análise de componentes principais
PLS-DA	Mínimos quadrados parciais com análise discriminante

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	Mel	14
3.2	Metodologias de autenticação	15
3.3	Língua eletrônica	18
3.3.1	Tipos de línguas eletrônicas	20
3.3.1.1	Potenciométrica.....	20
3.3.1.2	Voltamétrica.....	21
3.3.2	Aplicações das línguas eletrônicas	22
3.4	Voltametria	23
3.4.1	Voltametria cíclica	24
3.5	Potenciostato	25
3.6	Eletrodos de trabalho	26
3.7	Tratamento de dados	28
3.7.1	Análise de componentes principais (PCA)	28
3.7.2	Análise de agrupamento hierárquico (HCA)	29
3.7.3	Mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS-DA)	29
4	MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1	Amostras	31
4.2	Confecção dos eletrodos de trabalho e preparo das nanopartículas	38
4.3	Potenciostato e célula eletroquímica	41
4.4	Preparação das amostras e voltametria	42
4.5	Tratamento de dados	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
7	CONCLUSÃO	67
	REFERÊNCIAS	68

1 INTRODUÇÃO

O mel é uma substância natural produzida por várias espécies de abelhas no mundo. O produto resultante da coleta e processamento de néctar pelas abelhas da vegetação ao redor delas é uma solução densa e viscosa que consiste em açúcares e proteínas, enzimas e aminoácidos (MINDEN-BIRKENMAIER; BOWLIN, 2018).

O consumo mundial de mel desde os primeiros tempos baseia-se no reconhecimento de seus efeitos benéficos para a saúde humana. Esse consumo está associado às características físico-químicas, sensoriais e nutricionais do mel. A fonte floral predominante na área de produção, bem como localização geográfica resultará em características diferentes, principalmente quanto à cor, sabor e aroma. Por isso, a caracterização regional e o estabelecimento de padrões são de grande importância, considerando a diversidade botânica e a variação climática de cada região (BARONI *et al.*, 2009; CASTRO-VÁZQUEZ *et al.*, 2008; WELKE *et al.*, 2008).

A produção de mel no Brasil se destaca em assentamentos de reforma agrária e pequenos proprietários que produzem esse alimento, para aumento da renda familiar (DIAS *et al.*, 2013).

No Brasil, a região de Ortigueira no estado do Paraná é reconhecida como produtora de mel de alta qualidade que pode ser atribuída às características da flora desse território, sendo as mais prevalentes no estudo: silvestre, assapeixe e capixingui (SCHOLZ *et al.*, 2020). No contexto produtivo, o Paraná ocupa a terceira posição entre os estados produtores de mel e derivados no Brasil, tendo o município de Ortigueira como o principal produtor. Em 2013, Ortigueira iniciou o processo de certificação de indicação geográfica para o mel produzido no município comprovando a potencialidade e o reconhecimento da sua produção (RODRIGUES; DURSO; ROCHA JUNIOR, 2014). Os documentos que comprovam a sua autenticidade são necessários por meio da certificação. Portanto, no caso da produção de mel deve haver a confirmação de sua origem por meio de análises físico-químicas e sensoriais (VIUDA-MARTOS *et al.*, 2010; WOODCOCK *et al.*, 2007).

Pelas características e história da indústria apícola local, o município de Ortigueira recebeu certificação de origem, em maio de 2015, pelo Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI).

Vários métodos instrumentais, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (ZHANG *et al.*, 2019), cromatografia gasosa com espectrometria de massa (GC-MS) (RISSATO *et al.*, 2007) e espectroscopia de emissão (WEI; WANG; LIAO, 2009) são utilizados para determinar origens botânicas e para verificar a autenticidade das amostras de mel. A maioria desses métodos analíticos é demorada e envolvem várias etapas de preparação da amostra. Por esta razão, algumas tentativas já foram realizadas para identificar o tipo de mel por método eletroquímico de análise como as línguas eletrônicas (MAJOR *et al.*, 2011; WEI; WANG; LIAO, 2009).

O sistema de multisensores de uma língua eletrônica assemelha-se ao funcionamento da língua humana traduzindo a informação global sobre as amostras. Quando a língua eletrônica é imersa em uma amostra obtém-se um padrão de sinais eletroquímicos que variam de acordo com os compostos presentes no líquido analisado. Esse padrão de sinais pode ser analisado gerando informação qualitativa ou quantitativa (VLASOV *et al.*, 2005).

Não há estudos relacionados à aplicação da língua eletrônica voltamétrica para autenticação do mel da região de Ortigueira, a aplicação dessa metodologia eletroquímica para desenvolver uma metodologia analítica para certificação de amostras de mel provenientes dessa região.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Aplicação da voltametria cíclica com eletrodos de carbono modificados para realizar a autenticação de origem de méis de Ortigueira-PR.

2.2 Objetivos específicos

- Produção de eletrodos modificados de carbono contendo nanopartículas de óxido de níquel, óxido de ferro, óxido de cobre e nanotubos de carbono;
- Realização de análises dos méis com os eletrodos de carbono modificados usando voltametria cíclica;
- Determinação do melhor conjunto de parâmetros para a técnica de voltametria cíclica;
- Utilização de métodos quimiométricos exploratórios e de classificação para analisar os dados coletados através da voltametria.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Mel

O mel é uma solução de açúcar reconhecida por seus efeitos benéficos à saúde (CIANCIOSI *et al.*, 2018). Estudos recentes mostraram as propriedades preventivas do mel contra o câncer (AFRIN *et al.*, 2020; CIANCIOSI *et al.*, 2020) e na prevenção e tratamento de doenças associadas ao estresse oxidativo, infecções microbianas e distúrbios inflamatórios (AL-HATAMLEH *et al.*, 2020).

O mel possui inúmeras substâncias presentes em sua composição, sendo os açúcares (principalmente glicose e frutose) e água, os mais abundantes. Componentes menores compreendem: minerais, proteínas, vitaminas, lipídios, ácidos orgânicos, aminoácidos, compostos fenólicos, fitoquímicos, pigmentos, ceras e grãos de pólen (SILVA *et al.*, 2020).

No entanto, a composição do mel, cor, aroma e sabor variam de acordo com a matéria-prima, espécie de abelha, condições climáticas, flora, origem, processamento, embalagem e condições de armazenamento. A origem botânica é um dos principais parâmetros que influenciam a qualidade do mel, muitas vezes determinando seu valor de mercado (POSSEBON, 2019; SILVA *et al.*, 2020).

Observa-se um consumo cada vez maior de mel como resultado de um estilo de vida saudável seguido por muitos indivíduos. Porém, o mel é um grande alvo de fraude em consideração ao seu preço, alto consumo e mercado globalizado, e os requisitos regulatórios variam de acordo com o país. Portanto, a identificação da qualidade é essencial nesse produto alimentício e a análise de parâmetros adequados e confiáveis é necessária para garantir o consumo seguro de mel (HASSOUN *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020).

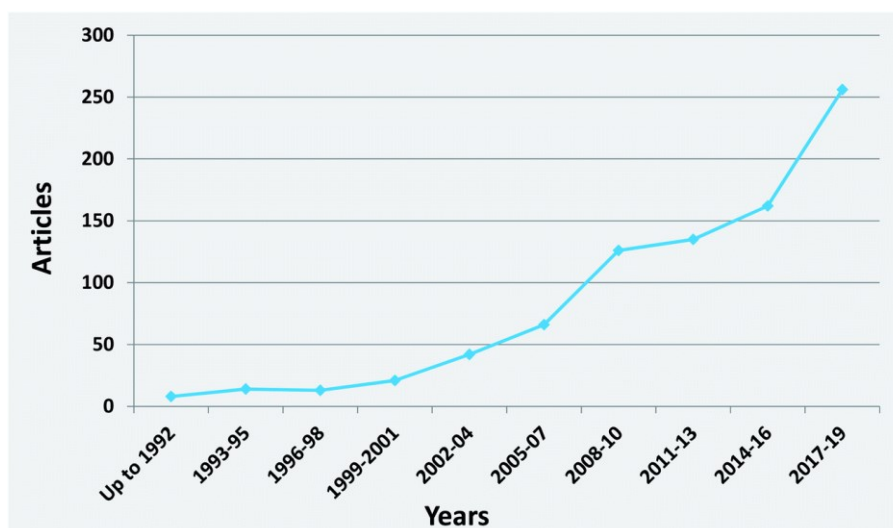
3.2 Metodologias de autenticação

Visando melhorar a qualidade dos alimentos é de extrema importância, desenvolver métodos analíticos capazes de discriminar com precisão a origem do mel (TSAGKARIS *et al.*, 2021).

Foi realizada uma pesquisa sobre as tendências de estudos de autenticidade do mel, sendo importante ressaltar que quase todos os artigos foram publicados após 2017, identificando questões de autenticidade novas e emergentes que serão investigadas no futuro (TSAGKARIS *et al.*, 2021).

A pesquisa foi realizada usando o banco de dados Scopus e a seguinte sequência de pesquisa, “autenticação” OU “origem geográfica” OU “origem botânica” OU “autenticidade” OU “fraude” OU “adulteração” E mel” e apenas artigos de pesquisa redigidos na língua inglesa foram incluídos no estudo. Os papéis restantes foram avaliados em termos de contexto para garantir que estavam relacionados à autenticidade do mel. Pode-se verificar que a autenticidade do mel é um tema em alta evolução (Figura 1).

Figura 1 - Evolução temporal dos artigos sobre autenticidade do mel (base de dados Scopus 12/2020)



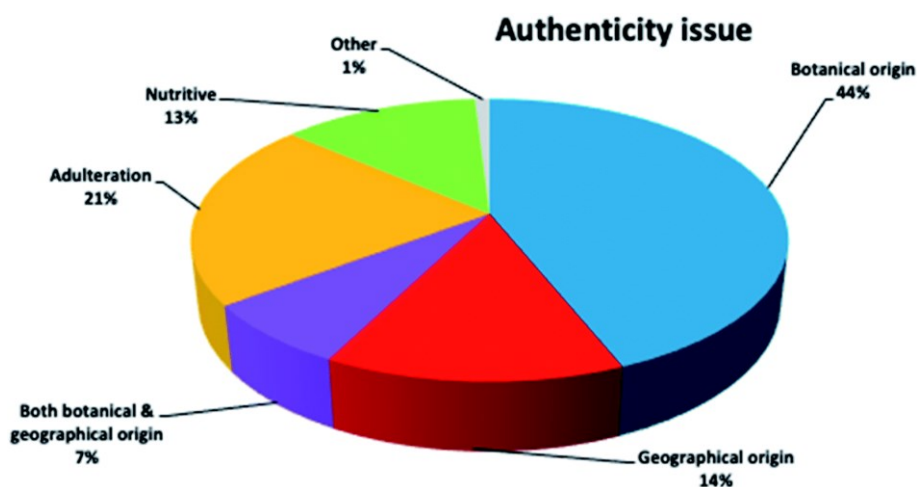
Fonte: Tsagkaris *et al.* (2021)

Embora haja uma estabilização dos artigos de pesquisa durante os anos de 2011-2013, um aumento significativo de artigos é claramente notado no

período de 2017-2019, indicando que o interesse da pesquisa ainda está crescendo na área. Segundo a base de dados Google Acadêmico, foram encontrados 56 resultados em artigos científicos em qualquer idioma, relacionados à voltametria cíclica em mel, a partir do ano de 2019.

Nesse mesmo estudo, foi investigado o conjunto de artigos relacionados com as várias questões de autenticidade, como a origem botânica, origem geográfica e adulteração (Figura 2) (TSAGKARIS *et al.*, 2021).

Figura 2 - Problemas de autenticidade do mel investigados em artigos de pesquisa



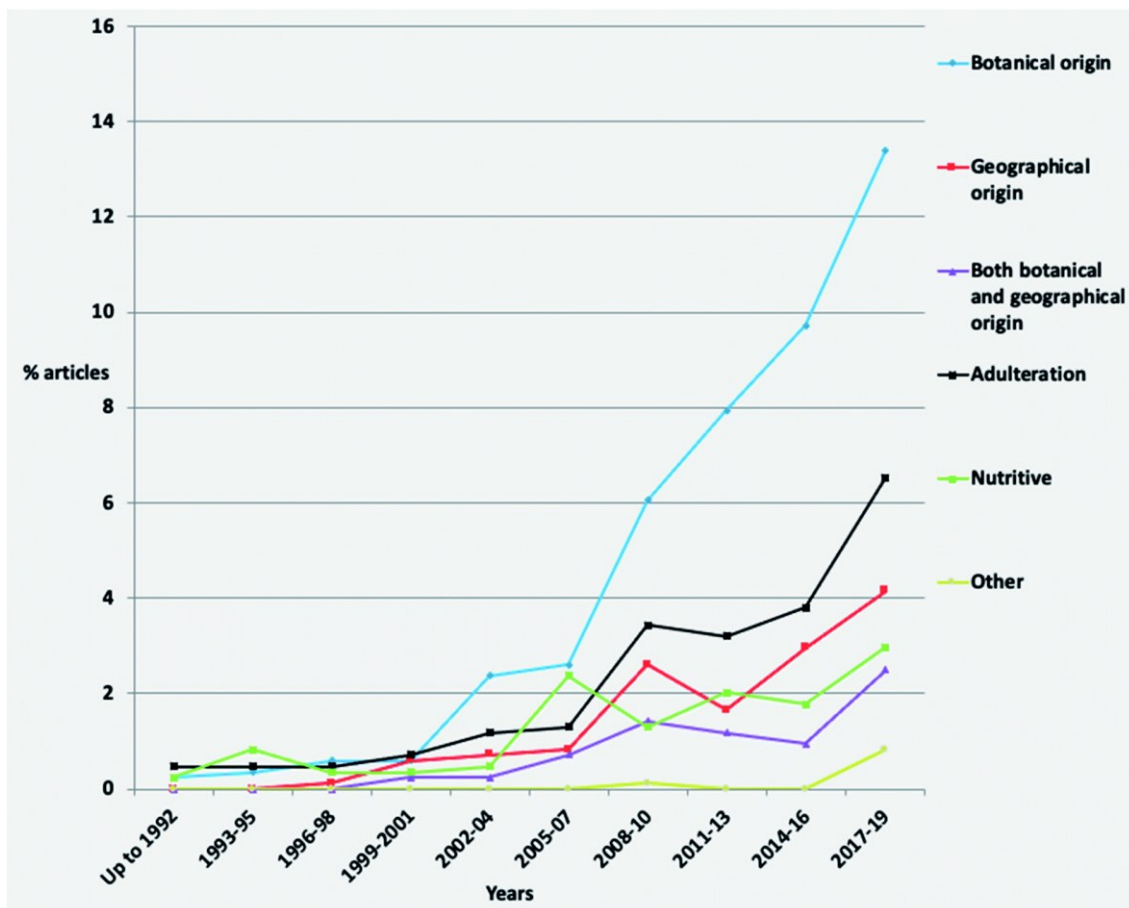
Fonte: Tsagkaris *et al.* (2021)

A discriminação de origem botânica foi o problema de autenticidade mais estudado (44%), seguido por adulteração (21%), discriminação de origem geográfica (14%) e artigos investigando a origem botânica e geográfica (7%). Além disso, o valor nutricional do mel de diferentes origens botânicas e geográficas foi abordados em 13% dos estudos. Há também uma porcentagem muito pequena (1%) de artigos sobre outras questões de autenticidade, como tipo de produção, discriminação entre mel e melato (produzido de secreções de árvores ou de insetos) e discriminação de méis de diferentes espécies de abelhas.

O preço do mel está diretamente ligado à sua origem botânica e geográfica (SOARES *et al.*, 2017) fato que explica por que a maioria dos trabalhos tem como foco esta origem do mel.

A Figura 3, diz respeito à evolução temporal dos artigos por questão de autenticidade.

Figura 3 - Avaliação temporal dos estudos por questão de autenticidade

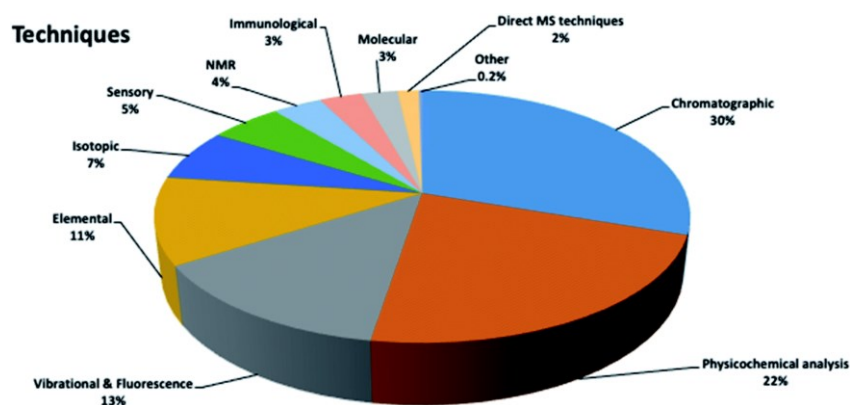


Fonte: Tsagkaris *et al.* (2021)

Os estudos que investigam a origem botânica apresentam um grande aumento, desde o período de 2008-2010. Artigos de adulteração e origem geográfica mostram um aumento quase estável, enquanto a porcentagem de estudos nutritivos tem sido a mesma desde 2005–2007.

A autenticidade do mel foi estudada usando uma variedade de técnicas analíticas (Figura 4).

Figura 4 - Porcentagens de artigos de autenticidade de mel por técnica analítica



Fonte: Tsagkaris *et al.* (2021)

Mais de 50% dos artigos utilizaram técnicas cromatográficas (30%) e análises físico-químicas (22%) para a determinação das propriedades físico-químicas do mel (pH, condutividade eletroquímica, cor, viscosidade).

No caso das técnicas cromatográficas, embora sejam caras, complicadas e demoradas, são consideradas ferramentas poderosas que são capazes de alcançar bons resultados quando combinadas com a quimiometria. Por outro lado, as análises físico-químicas com língua eletrônica e nariz eletrônico, são boas estratégias para monitorar a origem do mel, pois são de baixo custo, rápido e preciso e são muito úteis no monitoramento do processamento de alimentos e na detecção da qualidade do produto final (TAN; XU, 2020; TSAGKARIS *et al.*, 2021).

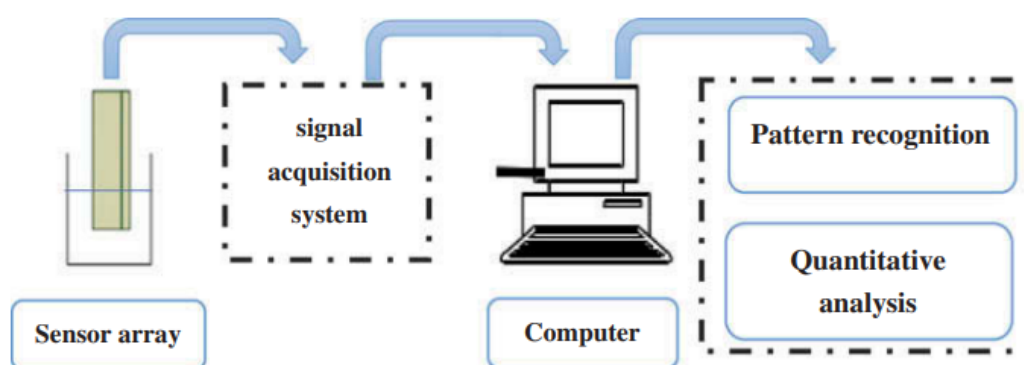
3.3 Língua eletrônica

O sentido do paladar humano consiste em cinco sabores básicos, incluindo: doce, ácido, amargo, salgado e umami. O perfil sensorial humano (treinado ou não) foi empregado para conduzir avaliações de sabor em muitos produtos alimentícios (JIANG *et al.*, 2018). No entanto, executar e treinar esse perfil é demorado e caro. Portanto, a língua eletrônica, uma alternativa de detecção rápida, imparcial e barata para a língua humana, foi empregada por muitos pesquisadores (SCHLOSSARECK; ROSS, 2019).

Os sensores químicos comumente empregados para uma língua eletrônica incluem sensores eletroquímicos, biossensores e sensores óticos de massa (JIANG *et al.*, 2018). Os sensores empregados na língua eletrônica reagem com analitos, criando mudanças reversíveis de propriedades elétricas. Sinais elétricos mensuráveis são usados para classificação, reconhecimento e identificação de amostras; e também para a previsão de concentrações de diferentes compostos (TAN; XU, 2020).

A língua eletrônica é um tipo de instrumento analítico para amostras líquidas que consiste em três partes, incluindo matriz de sensores, sistema de aquisição de sinal e sistema de reconhecimento de padrão (Figura 5) (JIANG *et al.*, 2018).

Figura 5 - Diagrama esquemático dos componentes estruturais básicos de uma língua eletrônica



Fonte: Jiang *et al.* (2018)

A língua eletrônica tem como características: baixa seletividade, alta seletividade cruzada e análise estatística das saídas de vários sensores. Os sensores de uma língua eletrônica são imersos em uma amostra para medir seus componentes solúveis e sinais de resposta gerando um perfil global das substâncias presentes. Os sinais correspondentes são enviados a um sistema de processamento de sinal para analisar através do reconhecimento de padrões (WADEHRA; PATIL, 2016).

A matriz de sensores é a parte central do sistema de língua eletrônica. De acordo com os diferentes princípios de funcionamento das matrizes de

sensores, as línguas eletrônicas comuns podem ser: potenciométrica, voltamétrica e espectroscopia de impedância (JIANG *et al.*, 2018).

3.3.1 Tipos de línguas eletrônicas

3.3.1.1 Potenciométrica

A língua eletrônica potenciométrica funciona medindo e analisando o potencial de eletrodo das amostras, entre o limite da membrana do sensor externo e o eletrodo de referência. As mudanças no potencial da membrana lipídica, resultantes de efeitos eletrostáticos e hidrofóbicos entre o filme do sensor as substâncias solubilizadas, são detectadas pelo terminal de saída do computador por meio do sinal de um dispositivo de aquisição (JIANG *et al.*, 2018).

A língua eletrônica equipada com sensores potenciométricos tem certas vantagens, como por exemplo: resposta rápida, reprodutibilidade, configuração de medição simples e possibilidade de obter sensores seletivos para várias espécies. Matrizes de sensores potenciométricos podem ser usadas para classificação e análise de alimentos complexos (JIANG *et al.*, 2018; JUAN-BORRÁS *et al.*, 2016).

A aplicação mais evidente da língua potenciométrica é o controle de qualidade na indústria de alimentos, incluindo avaliação do sabor, avaliação do efeito de mascaramento do sabor, discriminação de alimentos líquidos (cerveja, mel e chás) de diferentes marcas e tipos, e classificação de óleos. Além disso, também é aplicada na área ambiental e industrial, por exemplo, monitoramento da contaminação da água (JIANG *et al.*, 2018).

As línguas potenciométricas acopladas com diferentes ferramentas quimiométricas (por exemplo: PCA), têm sido aplicadas para a análise qualitativa do mel, principalmente como ferramentas práticas e de sucesso para classificação do mel de acordo com a cor, origem botânica ou geográfica, e também, para identificar adulteração do mel. Embora em alguns casos, sejam relatados desempenhos satisfatórios de dispositivos potenciométricos para a

determinação de parâmetros físico-químicos do mel ou avaliação do perfil de pólen do mel, pode-se confirmar uma ampla versatilidade e potencial das línguas potenciométricas para avaliação de mel. Alguns desses estudos, também apontaram algumas vantagens que permitem minimizar os efeitos de ruído (JUAN-BORRÁS *et al.*, 2016; VELOSO *et al.*, 2018).

3.3.2.2 Voltamétrica

Em contraste com as técnicas potenciométricas, o potencial do eletrodo em instrumentos voltamétricos é utilizado para conduzir uma reação de transferência de elétrons e a corrente resultante é medida. A configuração de medição mais simples emprega três eletrodos: eletrodo de referência, eletrodo de trabalho e eletrodo auxiliar. Como eletrodo de trabalho geralmente é usado um eletrodo de metal ou um eletrodo modificado composto de cobre, níquel, paládio, prata, estanho, titânio, platina e ródio (JIANG *et al.*, 2018).

A língua voltamétrica pode ser usada para medição de múltiplos componentes com alta sensibilidade e seletividade e alta relação sinal-ruído. No entanto, esta técnica só é aplicável a amostras onde ocorrem reações de oxidação-redução. Sujidades na superfície do eletrodo, (por exemplo, medições em meios complexos, incluindo leite e água) pode causar perda de sensibilidade e, eventualmente, causará danos aos sensores (JIANG *et al.*, 2018).

É necessário polir o eletrodo antes das medições e, frequentemente, os eletrodos precisam ser repolidos entre as medições ao longo de um experimento, porque alguns analitos são propensos à adsorção na superfície do eletrodo. Como os eletrodos são capazes de absorver espécies durante um experimento, é uma boa prática poli-los após cada experimento (ELGRISHI *et al.*, 2018).

A construção simples de uma língua eletrônica voltamétrica torna-se adequada em diferentes aplicações industriais, incluindo a indústria de celulose e papel, indústria de laticínios (por exemplo, discriminação de adulteração de leite e classificação de marcas de leite), e fermentação (por exemplo, monitoramento dos processos de fermentação, pós-maturação e

armazenamento de iogurte e detecção do tempo ideal de fermentação do chá preto) (JIANG *et al.*, 2018; WEI *et al.*, 2017).

De um ponto de vista qualitativo (classificação e discriminação), a maioria da literatura abordou a possibilidade de classificar as amostras de mel, de acordo com a origem botânica ou geográfica bem como para identificar adulterações de mel ou o nível de adulteração (SOBRINO-GREGORIO *et al.*, 2018). Muitos trabalhos relataram o desempenho quantitativo satisfatório das línguas voltamétricas utilizadas para prever a composição química e bioquímica do mel, bem como os níveis de adulterantes e/ou contaminantes (EL ALAMI EL HASSANI *et al.*, 2018; OLIVEIRA; BETTIO; PEREIRA, 2018; SOBRINO-GREGORIO *et al.*, 2018).

O uso de línguas eletrônicas voltamétricas para a análise de mel é uma prática mais recente (de 2011) em comparação com as abordagens potenciométricas (a partir de 2008) sendo amplamente utilizadas em conjunto com diferentes técnicas estatísticas multivariadas, como ferramentas analíticas quantitativas de sucesso. Apenas um trabalho relatou o uso de um dispositivo comercial convencional de três componentes (SOBRINO-GREGORIO *et al.*, 2018).

3.3.2. Aplicações das línguas eletrônicas

Cientistas de Portugal usaram uma língua potenciométrica eletrônica para identificar méis provenientes de: *Castanea sp.*, *Echium sp.*, *Erica sp.*, *Lavandula sp.*, *Prunus sp.*, *Rubus sp.*, atingindo 100% de conformidade de classificação (SOUSA *et al.*, 2014).

Uma pesquisa recente explorou a capacidade da língua eletrônica para caracterizar o sabor picante de vários compostos picantes e o instrumento discriminou sete principais compostos picantes (inclusive capsaicina) formadores deste sabor, em alta, média e baixa concentração. Os resultados da língua eletrônica foram comparados aos resultados de uma avaliação sensorial. Esses dois métodos funcionam bem em conjunto (PAUP *et al.*, 2019).

Um estudo demonstrou discriminar com sucesso entre queijos cheddar com diferentes proporções entre proteína e gordura em diferentes etapas do processo de envelhecimento. O objetivo deste estudo foi determinar a capacidade da língua eletrônica para discriminar entre os diferentes níveis de capsaicina no queijo em comparação com a capacidade do consumidor de discriminar o nível de especiarias. Foi observada uma discriminação de 93% entre todas as concentrações do queijo enriquecido com capsaicina, indicando que a língua eletrônica pode ser uma ferramenta útil para discriminar qualitativamente entre as amostras de queijo picante (LIPKOWITZ *et al.*, 2018).

Em um determinado estudo, métodos com língua eletrônica foram aplicados para detectar baixos níveis de adulteração de carnes usando misturas de carne bovina e suína e misturas de peru e frango, como estudos de caso. Neste estudo, a mistura de frango e peru teve precisão de análise discriminante linear (LDA) de 78,13% (reconhecimento) e 64,73% (validação). Precisoões de LDA ainda maiores de 89,62% (reconhecimento) e 68,77% (validação) foram obtidas para discriminar carne de porco em carne bovina. Modelos parciais de mínimos quadrados podem prever ambos os conjuntos de misturas de carne com boa precisão e pode ser aplicada para avaliações da qualidade da carne com a língua eletrônica (ZAUUU; GILLAY; KOVACS, 2021).

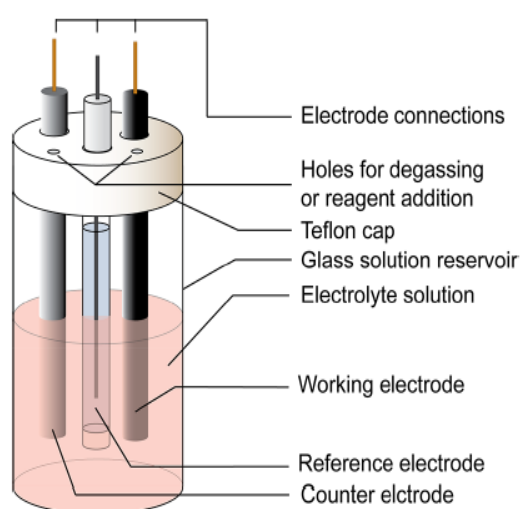
3.4 Voltametria

A voltametria é um método da qual se obtém informações qualitativas e quantitativas através das reações oxidação-redução de uma substância química na superfície de um eletrodo de trabalho cuja resposta origina curvas de corrente-potencial. Este tipo de análise é feito dentro de uma célula eletrolítica onde ocorre a eletrólise, constituída por três eletrodos chamados de eletrodos de trabalho, auxiliar e de referência. Enquanto o eletrodo de referência torna o potencial constante, o auxiliar ajuda no equilíbrio do sistema fazendo reações contrárias às feitas pelo eletrodo de trabalho, por isso chamado de contra eletrodo. Através de um potenciostato é feito a varredura do potencial e a leitura da intensidade de corrente da célula eletrolítica, com

velocidade constante no tempo. Essa varredura é registrada em um gráfico chamado de voltamograma (POSSEBON, 2019; SANCHEZ TROVO, 2017).

Esse sistema eletroanalítico usualmente é composto por três elementos: o potenciostato (para o varrimento do potencial no intervalo pré-definido e medir a intensidade de corrente); computador (armazenagem e processamento dos dados obtidos pelo potenciostato) e a célula eletroquímica (para medições analíticas) (ELGRISHI *et al.*, 2018) (Figura 6).

Figura 6 - Representação esquemática de uma célula eletroquímica para experimentos



Fonte: Elgrishi *et al.* (2018)

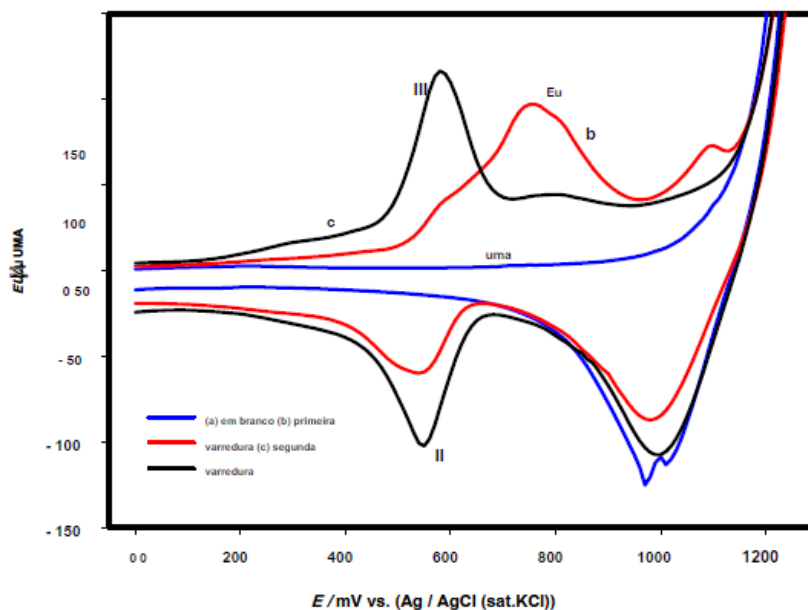
3.4.1 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica baseia-se no varrimento linear do potencial entre os eletrodos de trabalho e o de referência inserida na solução contendo o analito (composto que se deseja fazer a análise), medindo-se a intensidade de corrente elétrica devido às reações oxidação-redução que ocorrem. No varrimento linear do potencial no sentido positivo obtêm-se picos catódicos e no sentido negativo, picos anódicos. O conjunto dos dois varrimentos resulta no voltamograma cíclico (VERNASQUI, 2017; OROIAN; ROPCIUC, 2019).

A técnica de voltametria traz inúmeras vantagens, como alta sensibilidade, versatilidade, simplicidade, robustez e boa relação sinal-ruído. (OROIAN; ROPCIUC, 2019).

A Figura 7 representa uma varredura de voltametria cíclica realizada com eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubo de carbono de paredes múltiplas com sensor de curcumina (CITTAN; ALTUNTAŞ; ÇELIK, 2020).

Figura 7 - Varredura de voltametria cíclica realizada com eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubo de carbono de paredes múltiplas com sensor de curcumina



Fonte: Cittan; Altuntaş; Çelik (2020)

Um pico anódico foi observado em aproximadamente 760 mV marcado como pico I e, em seguida, o pico catódico marcado como pico II foi medido em aproximadamente 560 mV na primeira varredura (linha tracejada). No entanto, o pico anódico I não era mais observável nas varreduras subsequentes (linha sólida) e substituído pelo pico anódico III a aproximadamente 580 mV. O pico anódico III foi utilizado como sinal analítico no estudo citado.

3.5 Potenciostato

O sistema eletroanalítico usualmente é composto por três módulos: um potenciostato, que permite fazer um varrimento do potencial em um intervalo definido e efetuar medições da intensidade de corrente; um computador

peçoal, para armazenamento e processamento de dados da leitura do potenciostato; e uma célula eletroquímica, onde ocorrem as medições analíticas (VERNASQUI, 2017).

Durante o varrimento de potencial, o potenciostato mede a intensidade de corrente resultante em função do potencial aplicado, que é proporcional ao gradiente formado pela diferença de concentração na superfície do eletrodo e a solução, permitindo a quantificação de um composto eletroativo (VERNASQUI, 2017).

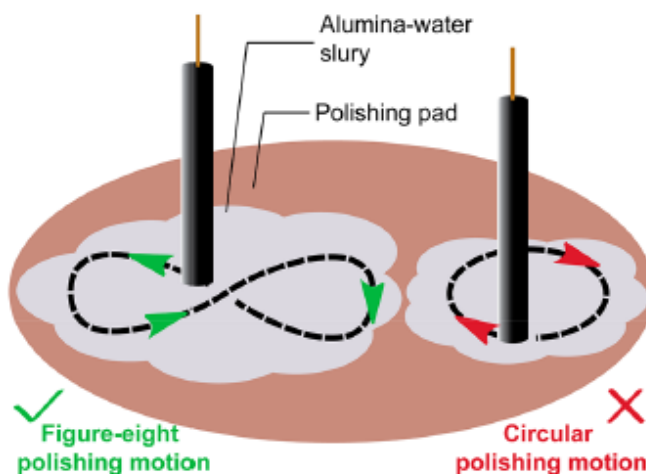
3.6 Eletrodos de trabalho

Em geral, usa-se uma célula de três eletrodos: um eletrodo de referência, um contra eletrodo e um eletrodo de trabalho (ELGRISHI *et al.*, 2018; POSSEBON, 2019; SANCHEZ TROVO, 2017).

No eletrodo de trabalho realiza o evento eletroquímico de interesse, ocorrem as reações de oxidação-redução e pode ser de metal (mercúrio, platina ou ouro), carbono vítreo ou pasta de carbono, ou qualquer um destes com superfícies modificadas. O tipo de eletrodo de trabalho pode ser variado de experimento para experimento. Um potenciostato é usado para controlar o potencial aplicado do eletrodo de trabalho como uma função do potencial do eletrodo de referência (ELGRISHI *et al.*, 2018; POSSEBON, 2019; SANCHEZ TROVO, 2017).

Como o evento eletroquímico de interesse ocorre na superfície do eletrodo de trabalho, é importante que a superfície do eletrodo esteja extremamente limpa e sua área de superfície bem definida. O procedimento para polir eletrodos varia de acordo com o tipo de eletrodo e pode variar de laboratório para laboratório. Ao utilizar os eletrodos, as superfícies devem estar limpas e ser preparadas por meio de polimento mecânico (Figura 8) (ELGRISHI *et al.*, 2018).

Figura 8 - Polimento mecânico dos eletrodos



Fonte: Elgrishi *et al.* (2018)

Para remover as partículas, o eletrodo é então higienizado em água ultrapura, é necessário polir o eletrodo antes das medições e, frequentemente, os eletrodos precisam ser repolidos entre as medições ao longo de um experimento, porque alguns analitos são propensos ficar acoplados na superfície do eletrodo (ELGRISHI *et al.*, 2018).

Quando as impurezas estão presentes no solvente, elas podem ser adsorvidas preferencialmente à superfície de carbono de o eletrodo, levando a modificações nos voltamogramas (ELGRISHI *et al.*, 2018).

Eletrodo de referência é um eletrodo de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl) e tem um potencial constante. É usado como um ponto de referência contra o qual o potencial de outros eletrodos pode ser medido em uma célula eletroquímica. É melhor minimizar os potenciais de junção combinando o solvente e o eletrólito no compartimento de referência com o usado no experimento (ELGRISHI *et al.*, 2018).

O contra eletrodo é feito normalmente de platina, que deve ser um bom condutor e não interferir com as reações que ocorrem na solução. Um potencial é então aplicado ao eletrodo de trabalho de tal forma que pode ocorrer a redução (ou oxidação) do analito. O objetivo do contra eletrodo é completar o circuito elétrico. Para garantir que a cinética da reação que ocorre no contra eletrodo não iniba aquelas que ocorrem no contra eletrodo, a área de superfície do contra eletrodo é maior do que a área de superfície do eletrodo de trabalho. Um fio ou disco de platina é normalmente usado como contra eletrodo, embora

contra eletrodo à base de carbono também estejam disponíveis (ELGRISHI *et al.*, 2018; POSSEBON, 2019; SANCHEZ TROVO, 2017).

3.7 Tratamento de dados

Para avaliar a similaridade entre as amostras e/ou classificá-las em grupos pré-estabelecidos, a língua eletrônica deve estar acoplada a técnicas estatísticas multivariadas. Para a análise exploratória destacam-se a análise de componentes principais (PCA, do inglês *principal component analysis*) e a análise de agrupamento hierárquico (HCA, do inglês *hierarchical cluster analysis*). Para a construção de modelos de classificação um dos métodos mais utilizados é o método dos mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS-DA, do inglês *partial least squares with discriminant analysis*).

3.7.1 Análise de componentes principais (PCA)

A PCA tem como principal objetivo ter uma descrição resumida do conjunto amostral identificando possíveis agrupamentos e a relação desses grupos com as variáveis avaliadas (SCHOLZ *et al.*, 2020).

A PCA é um método não supervisionado que reduz a dimensionalidade dos dados, agrupando as informações altamente correlacionadas em um novo sistema de eixos que consiste em uma combinação linear das variáveis originais formando componentes principais ortogonais. Esta técnica consiste em visualizar os possíveis agrupamentos de amostras e *outliers*. O método rejeita combinações lineares que têm pequenas variações e são responsáveis pela descrição do ruído instrumental, mantendo apenas os termos com variâncias mais importantes de modo que: a primeira componente principal explique a maior parte da variabilidade contida nos dados; a segunda componente principal seja a combinação linear com máxima variância em direção ortogonal à primeira componente e explique a maior parte da

variabilidade não explicada pela primeira componente; e assim por diante (POSSEBON, 2019).

O número de componentes principais (PC) possíveis de serem calculadas corresponde à dimensão comum das matrizes de *scores* e *loadings*, que não pode ser superior à menor dimensão da matriz original de dados. Cada matriz de *scores* consiste numa série de vetores coluna e representam as projeções das amostras no novo conjunto de eixos. Cada matriz de *loadings* é constituída por uma série de vetores linha que representam o peso de cada variável original na decomposição dos novos eixos (POSSEBON, 2019).

3.7.2 Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

HCA é uma ferramenta de classificação baseada nas semelhanças entre as amostras, e os indivíduos dentro do mesmo grupo são mais semelhantes entre si do que aqueles pertencentes a grupos diferentes, ou seja, é um método que agrupa por similaridade as amostras do estudo, procurando por padrões e tendências dentro dos agrupamentos (KAWASAKI *et al.*, 2014). O agrupamento das amostras é obtido calculando a distância euclidiana entre eles, seguido pelo agrupamento gradual das amostras mais semelhantes. O resultado dos grupos (clusters) é normalmente apresentado por meio de um dendrograma. A distância mais curta entre dois objetos nos dendrogramas significa maiores semelhanças entre eles (TIAN *et al.*, 2021).

3.7.3 Mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS-DA)

A PLS-DA permite obter um modelo multidimensional para previsão das características qualitativa e separação de grupos categóricos, relacionando o espaço associado à variável dependente *Y* (*separação das classes*) com o espaço definido para as variáveis independentes *X*. Para este método é necessário ter o conhecimento prévio da classe das amostras, para a relação direta entre a resposta instrumental e a propriedade de interesse (FERREIRA; JOÃO; LOPES, 2017; VIEIRA *et al.*, 2020).

É também feita uma validação geral dos modelos de previsão obtidos usando validação cruzada interna com “k-folds” e do melhor modelo selecionado através dos parâmetros sensibilidade (proporção de verdadeiros positivos que são corretamente identificados) e seletividade (proporção de verdadeiros negativos que são corretamente identificados) (POSSEBON, 2019). Para a visualização dos resultados do modelo de discriminação PLS-DA utiliza-se o gráfico de representação do espaço de representação XY combinado (gráficos de “seta”) que permite verificar a distribuição das amostras entre o espaço X e o espaço Y. A seta inicia-se na representação de X e a ponta, na localização da amostra no espaço de Y, representando uma boa concordância encontrada pelo modelo entre os dois conjuntos de dados. O gráfico da curva ROC (“Receiver Operating Characteristic”) permite visualizar a evolução dos resultados da sensibilidade e especificidade no modelo de discriminação, podendo-se obter valores de AUC (“Área Under the Curve”) para avaliar a capacidade de cada modelo na previsão de classificação das amostras nos respectivos grupos (POSSEBON, 2019).

A análise de PLS-DA é muito utilizada para se realizar a discriminação de grupos e para evidenciar variáveis decisivas nessa uma discriminação (CAMO ANALYTICS, 2020; FERREIRA, 2015).

No presente trabalho, a voltametria cíclica foi utilizada com o intuito de realizar a designação de origem de méis de Ortigueira- PR, analisados por meio de eletrodos de carbono.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostras

Cento e sete amostras de mel foram cedidas pelo IDR - Paraná (Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná) e eram originárias de vinte e três municípios distribuídos nas regiões norte, centro-leste e sul do estado do Paraná e de dois municípios do nordeste do estado de Santa Catarina, coletadas nos anos de 2010 e 2011.

As amostras foram mantidas congeladas para reduzir as reações de degradação (DA SILVA *et al.*, 2016).

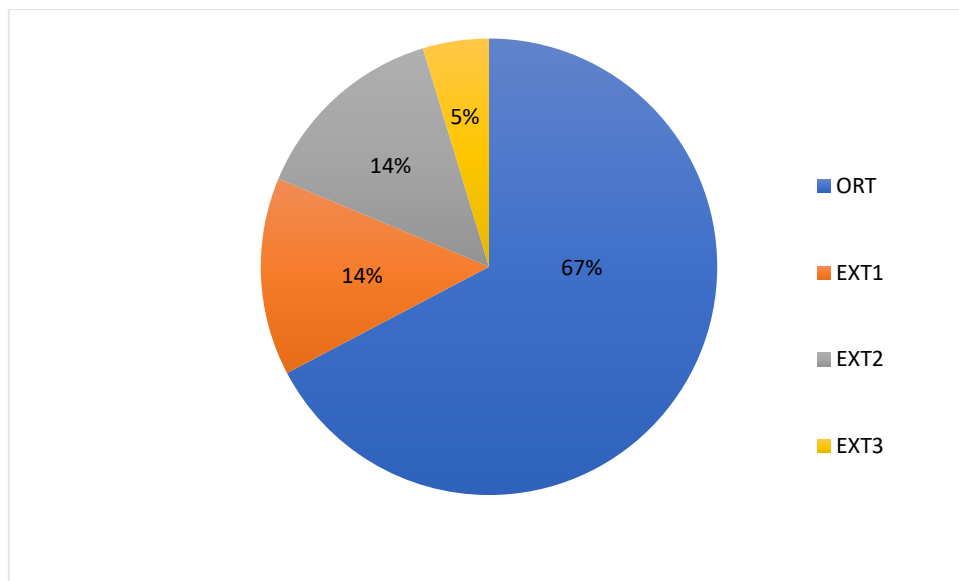
As amostras foram subdividas em quatro grupos: Ortigueira (ORT); Externo 1, próximos a região sul de Ortigueira (EXT1), Externo 2, próximos a região norte de Ortigueira (EXT2) e Externo 3, regiões mais distantes de Ortigueira (EXT3). As amostras foram armazenadas em frascos de polietileno e mantidas -18°C até a realização das análises (Figura 9).

Figura 9 - Amostras de mel



Fonte: autoria própria (2020)

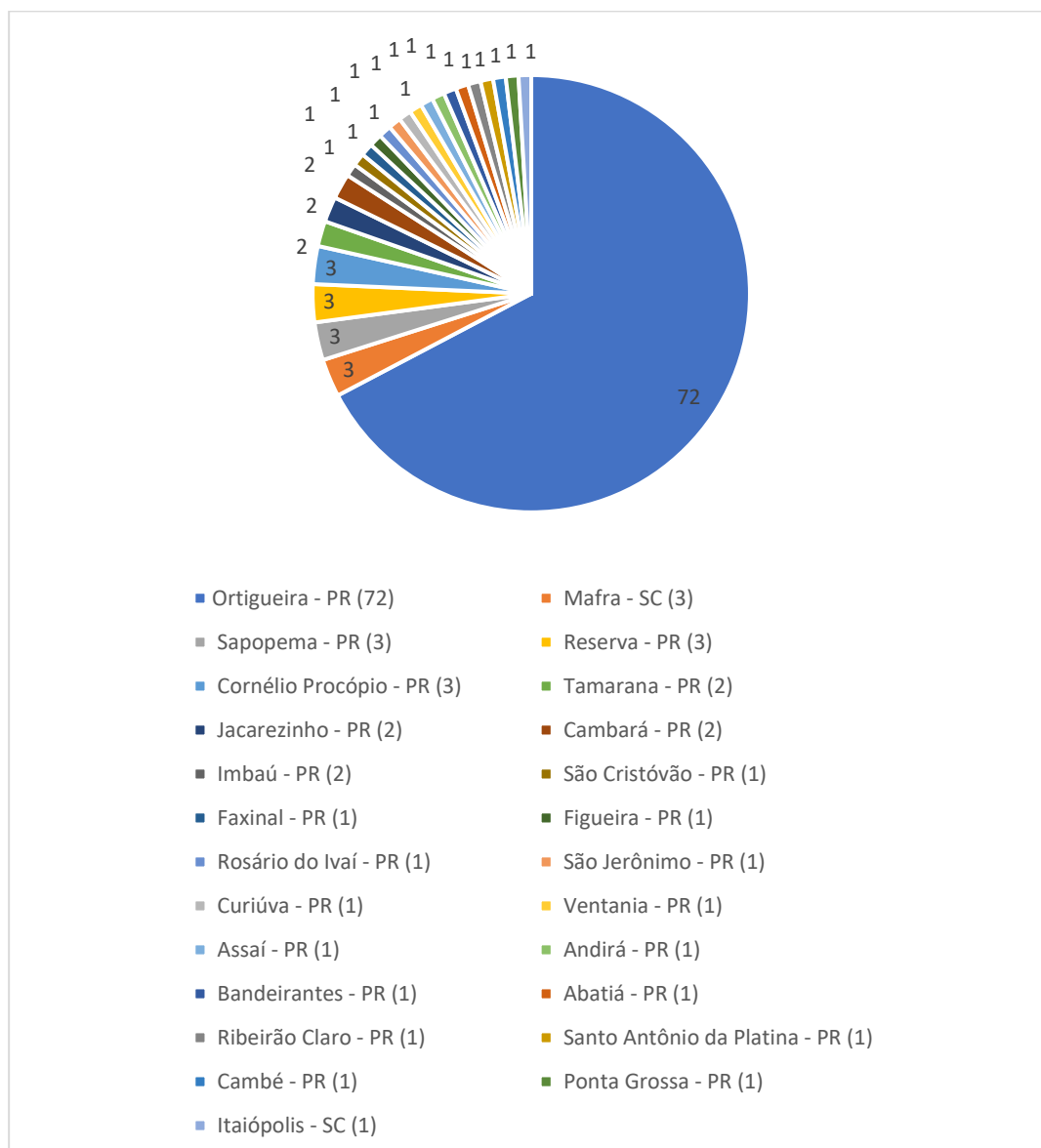
Figura 10 - Quantidade de amostras para cada grupo



Fonte: autoria própria (2022)

As amostras também foram subdividas pelo local do apiário (Figura 11).

Figura 11 - Local do apiário das amostras



Fonte: autoria própria (2022)

O IDR - Paraná disponibilizou dados de análises físico-químicas realizadas com as amostras de mel como umidade, atividade diastásica, hidroximetilfurfural, condutividade elétrica, açúcar redutor, açúcar total, acidez livre, acidez lactônica, acidez total, pH, prolina e cor (escala de Pfund).

Sacarose e açúcares redutores foram determinados separadamente. Inicialmente, 0,7 g de mel foram dissolvidos em 250 mL de água destilada (S1) e 2 mL dessa solução foram adicionados a 2 mL de HCl 0,7 N e 20 mL de água destilada. Após um período de repouso de 24 h, essa mistura foi transferida

para frasco volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com a adição de água destilada. Para a determinação do açúcar redutor, 2 mL de S1 foram diluídos em 100 mL de água destilada e deixados em repouso por 24 horas. Sacarose e açúcares redutores, foram determinados a partir dessas preparações de dois precedentes usando o método de Somogyi e Nelson. Os açúcares totais são a soma da sacarose e dos açúcares redutores (SCHOLZ *et al.*, 2020).

A umidade, acidez livre, lactônica e total foram determinadas pelos métodos descritos em AOAC 1990. A atividade de diástase (DA) foi medida de acordo com o método descrito pela International honey commission (2009). A solução tamponada de mel e amido foi incubada em banho-maria termostático, e a atividade da enzima foi monitorada pela diminuição das leituras de absorvância em 660 nm. A reação foi interrompida quando a absorvância atingiu 0,235 nm. Uma unidade de DA é definida como a quantidade de enzima, que converte 0,01 g de amido em uma hora a 40 °C nas condições do teste (SCHOLZ *et al.*, 2020).

O teor de hidroximetilfurfural (HMF) foi determinado após clarificação do mel com reagente de Carrez e adição de bissulfato de sódio. A absorvância foi lida a 284 nm e 336 nm. A condutividade elétrica (CE) foi determinada a 20 C em uma solução de mel a 20% e o resultado foi expresso em micro Siemens. O conteúdo de prolina foi determinado usando reagente de ninidrina e a absorvância foi lida a 517 nm. Foi medido o pH do mel 25 mL de solução de mel em água na proporção de 5 g de mel em 50 mL de água (INTERNATIONAL HONEY COMMISSION, 2009).

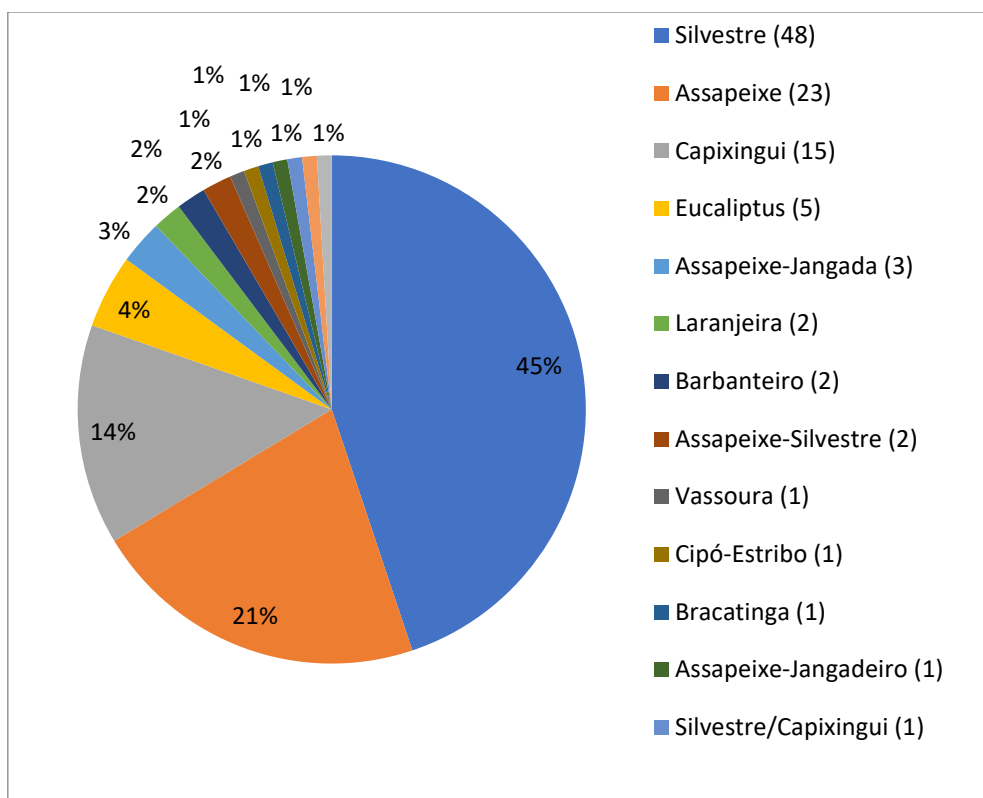
Os parâmetros de cor e luminosidade foram determinados usando o colorímetro Minolta modelo CR 400 (MONDRAGÓN-CORTEZ *et al.*, 2013; VIUDA-MARTOS *et al.*, 2010).

A cor do mel também foi determinada através de medição espectrofotométrica de solução de mel a 50% (m/v) com leitura de absorvância em 635 nm (FERREIRA *et al.*, 2009). Os resultados de C635 foram correlacionados com a escala de Pfund (SCHOLZ *et al.*, 2020).

Segundo declarações de apicultores as amostras de mel foram classificadas como, mel de assa-peixe, assa-peixe/silvestre, assa-peixe/jangadeiro, bracatinga, silvestre, silvestre/capixingui, silvestre/vassoura

branca, silvestre/pontão, eucaliptus, laranjeira, cipó-estribo, barbanteiro, capixingui e vassoura. Quando mais de uma flora está presente o mel foi denominado, por exemplo, de assa-peixe/silvestre. A porcentagem de cada classe de mel presente na amostragem está, descritas na figura 12.

Figura 12 - Distribuição da flora das amostras de mel



Fonte: autoria própria (2022)

Na região de Ortigueira prevalece o clima mesotérmico subtropical úmido com verões de temperatura moderada e no inverno com a ocorrência de geadas de intensidades variadas.

Com base na adaptação climática de cada espécie nessas microrregiões, diferentes famílias botânicas podem ser encontradas na região de Ortigueira, sendo que o assapeixe, capixingui, eucalipto e silvestre são as principais plantas melíferas citadas pelos apicultores. A indicação da origem botânica foi dada pelos apicultores, com base na experiência dos apicultores e na cor do mel (SCHOLZ *et al.*, 2020).

A Figura 13 representa a escala de cores padrão do mel e, de acordo com os respectivos intervalos de valores na escala Pfund, as amostras foram

consideradas de cor âmbar extra clara, âmbar extra branca,; âmbar clara, branca, extra clara, âmbar e escura, (Figura 14).

A cor do mel foi também determinada através do colorímetro Minolta (modelo CR 400), além da medição espectrofotométrica de solução de mel a 50% (m/v) com leitura de absorvância em 635 nm (FERREIRA et al., 2009). Os resultados de C635 foram ainda correlacionados com a escala de Pfund (Tabela 1).

Tabela 1 - Categoria de cor de mel de acordo com a leitura de absorvância em 635 nm (C635) e equivalência com a escala Pfund

Cor	C635 (U.A.)	Pfund (mm)
Âmbar extra branco	0,104-0,125	≤ 8
Extra branco	0,125-0,148	> 8 e ≤ 17
Branco	0,148-0,195	> 17 e ≤ 34
Âmbar extra claro	0,195-0,238	> 34 e ≤ 50
Âmbar claro	0,238-0,333	> 50 e ≤ 85
Âmbar	0,333-0,411	> 85 e ≤ 114
Âmbar escuro	≥0,411	>114

Fonte: Scholz et al. (2020)

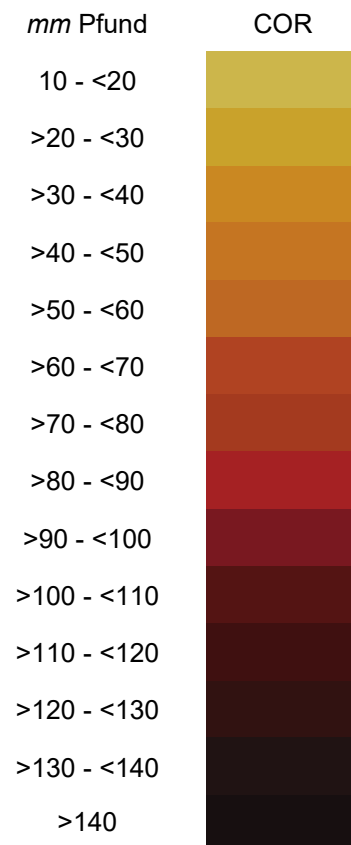
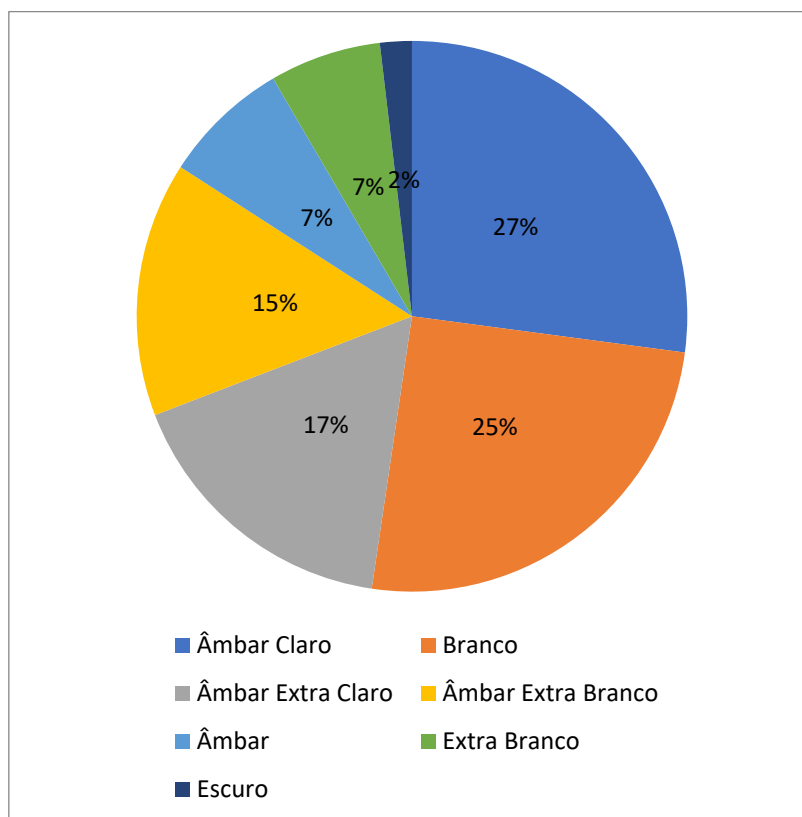
Figura 13 - Escala de cores padrão do mel e respectivos intervalos de valores *mm* PFund**Fonte: Dias (2013)**

Figura 14 - Distribuição da cor das amostras de mel, de acordo com a escala de Pfund



Fonte: autoria própria (2022)

4.2 Confeção dos eletrodos de trabalho e preparo das nanopartículas

Foram confeccionados eletrodos de grafite e resina epóxi com nanopartículas de óxido de níquel, óxido de ferro, óxido de cobre, nanotubos de carbono e grafeno. Além dos eletrodos confeccionados, foi utilizado um eletrodo de carbono vítreo comercial (Analion) para comparação com os eletrodos confeccionados.

No corpo dos eletrodos foi utilizado um tubo cilíndrico de acrílico (10 cm de comprimento e 0,6 cm de diâmetro interno) e na extremidade inferior foi colocada a pasta constituída por uma mistura manual de resina epoxí (Araldite), grafite (Dinâmica) e as nanopartículas. Pela outra extremidade do tubo introduziu-se um fio condutor de cobre, descascado nas duas pontas, de

maneira que uma das pontas do fio de cobre estava inserida na pasta, garantindo o contato, e a outra ponta estava na parte externa do tubo para estabelecer a ligação com potenciostato.

Tabela 2 - Composição dos eletrodos construídos (porcentagem massa)

Eletrodo	Grafite (%)	Resina Epóxi (%)	Aditivo (%)
Grafite (C60)	60,00	40,00	-
NanoCu (Cu)	59,75	39,75	0,50
NanoFe (Fe)	59,75	39,75	0,50
Nanotubo (NT)	59,75	39,75	0,50
NanoNi* (Ni)	52,50	47,00	0,50

* Esse eletrodo foi confeccionado no trabalho de Possebon (2019).

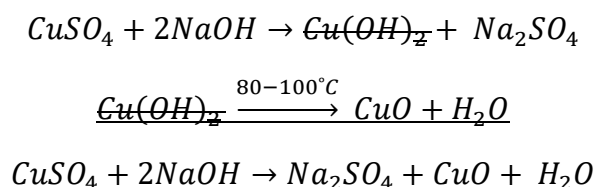
Fonte: autoria própria (2021).

A metodologia de confecção de eletrodos foi baseada em Possebon (2019) com modificações. Para a confecção dos eletrodos, com ou sem adição de nanopartículas, foi misturado grafite com resina epóxi e colocou-se em uma das extremidades de um tubo cilíndrico acrílico, com as composições já apresentadas na Tabela 2. Na extremidade oposta foi colocado um fio condutor de cobre, servindo como ponte entre a pasta e o potenciostato. Foi deixado em estufa em 50°C durante aproximadamente 12 horas para secagem completa. Após este período a superfície do eletrodo foi lixada primeiramente com uma lixa mais grossa (3M) para retirar as imperfeições e então lixada com uma , lixa de água fina 1200 (3M) para acabamento fino.

As nanopartículas de cobre e ferro, foram preparadas de acordo com Chokkareddy *et al.* (2019) e Souza (2011), respectivamente. As nanopartículas de óxido de cobre foram preparadas a partir de uma solução de sulfato de cobre 0,2 mol L⁻¹ pesando-se 2,5 g de CuSO₄ em 50 mL de água tipo 1 (Synergy Millipore) com 1 mL de ácido acético glacial. Em outro recipiente, foram dissolvidos 8 g de NaOH em 25 mL de água tipo 1 (NaOH 8 mol L⁻¹). Esta última solução foi gotejada à solução de CuSO₄ sob agitação contínua e aquecimento constante à 90°C. Deste modo, foi obtido um precipitado preto, de cobre resultante da reação (Figura 15). O precipitado foi centrifugado a 6000

rpm por 10 minutos, sendo repetidamente lavado com água tipo 1 e secado em estufa a 80 °C por duas horas.

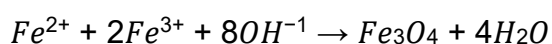
Figura 15 - Reações ocorridas entre o sulfato de cobre (CuSO₄) e o hidróxido de sódio (NaOH) com aquecimento entre 80 à 100 °C



Fonte: Chokkareddy et al. (2019)

Para as nanopartículas de óxido de ferro foi adicionado 100 mL de FeCl₃ 0,6 mol L⁻¹ e 100 mL de FeCl₂ 0,3 mol L⁻¹ a um reator sob atmosfera de N₂, agitação constante (acima de 800 rpm) e aquecimento a 40 °C. Para atingir-se pH em torno de 11 no meio reacional foi adicionado 100 mL de NaOH 2,4 mol L⁻¹. Durante uma hora foi mantido o abastecimento de N₂, agitação e aquecimento a 40 °C e as nanopartículas foram formadas conforme a reação apresentada na Figura 16 (WAN NOR et al., 2018). Foi então adicionado 3 mL de ácido cítrico 1,7 mol L⁻¹ para prevenir aglomeração das partículas. Após o resfriamento, o precipitado foi magneticamente decantado e o sobrenadante descartado. Lavou-se as nanopartículas diversas vezes com água tipo 1 e secou-se em estufa a 40 °C por 4 horas. As nanopartículas foram armazenadas para utilização na síntese dos eletrodos.

Figura 16 – Reação ocorrida na produção de nanopartículas de óxido de ferro



Fonte: WAN NOR et al. (2018)

4.3 Potenciostato e célula eletroquímica

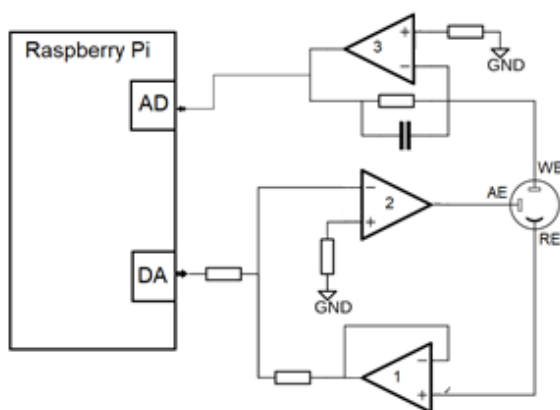
Para a análise voltamétrica foi utilizada uma célula eletroquímica constituída por três eletrodos: um eletrodo de trabalho modificado de carbono; um contra eletrodo de platina, com um fio de platina de 5 cm x 0,5 mm – 50 mm (Dinâmica) e um eletrodo de referência Ag/AgCl (Analion, Ribeirão Preto, Brasil). Os eletrodos de carbono foram modificados com a inclusão de nanopartículas (óxido de ferro, óxido de níquel ou óxido de cobre) ou nanotubos de carbono.

Cada um dos eletrodos de trabalho foi conectado em um potenciostato de baixo custo desenvolvido em laboratório da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Departamento de Química com o Professor Doutor Mário Henrique Montazzolli Killner. para ser acoplado em um computador de placa única do tipo RaspberryPi. O software *PotenciosPi*, é totalmente *open-source* e desenvolvido em linguagem Python para uso em conjunto com o potenciostato – e foi utilizado para o controle dos parâmetros da voltametria e para a aquisição de dados.

Com o auxílio do potenciostato foi realizada uma varredura do potencial e a leitura da intensidade de corrente da célula eletrolítica, com velocidade constante no tempo. Esta varredura será registrada em um gráfico chamado de voltamograma (PACHECO *et al.*, 2013; TEIXEIRA, 2018).

A Figura 17 traz um diagrama simplificado do circuito do potenciostato que foi acoplado na placa Raspberry Pi.

Figura 17 - Diagrama simplificado do potenciostato utilizado



Fonte: autoria própria (2022)

Por mais que o circuito da Figura 16 utilize três amplificadores operacionais (Op Amp) para construção do potenciostato, na realidade o terceiro Op Amp trata-se de um conversor de corrente-tensão de forma que na prática o circuito utiliza dois Op Amps em uma configuração conhecida como potenciostato do tipo DeFord. Ainda que o terceiro Op Amp não seja parte do circuito de controle do potenciostato ele desempenha o papel crucial de converter e amplificar a corrente consumida pelo eletrodo de trabalho em um valor de tensão mensurável para ser registrado pelo conversor analógico digital.

Utilizando alguns componentes eletrônicos e um computador de placa única (Raspberry Pi) esse potenciostato é capaz de realizar as principais técnicas voltamétricas e os resultados obtidos são satisfatórios

4.4 Preparação das amostras e voltametria

As amostras foram preparadas dissolvendo-se 1 g de mel em 25 mL de solução eletrolítica formada de H_2SO_4 (Sigma) 0,1 mol/L + KCl (marca Vetec) 0,1 mol/L preparada com água do tipo 1 (Millipore, Synergy) (POSSEBON, 2019). As amostras diluídas foram avaliadas por voltametria cíclica (VC) usando os parâmetros indicados na Tabela 3, os quais foram definidos em testes preliminares. Testes realizados antes das análises principais mostraram que a concentração de mel não interfere nos resultados.

Tabela 3 - Parâmetros utilizados para a análise das amostras de mel por voltametria cíclica

Parâmetro	Voltametria cíclica
Potencial inicial (mV)	-1000
Potencial final (mV)	1000
Passo (mV)	10
Velocidade de varredura (mV/s)	100
Número de ciclos	3

Fonte: autoria própria (2020)

Logo após a análise de cada amostra o eletrodo de trabalho foi polido com movimentos em formato de oito em uma lixa e logo depois foram enxaguado com água tipo 1 e secado em papel absorvente (ELGRISHI *et al.*, 2018). Testes realizados para verificar a repetibilidade após lixar o eletrodo mostraram que o polimento melhora a qualidade dos resultados.

4.5 Tratamento de dados

Para a análise dos dados coletados para aplicação de métodos quimiométricos exploratórios e de classificação foi utilizado o software MATLAB R2021a. Os resultados obtidos por voltametria cíclica foram comparados com os resultados obtidos nas análises físico-químicas do mel.

Primeiramente os sinais obtidos para cada eletrodo foram transferidos para o MATLAB e plotados para uma visualização geral do comportamento dos voltamogramas.

Como métodos exploratórios foram utilizados a análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamentos hierárquicos (HCA). Para a HCA foi utilizado o método de Ward e distâncias euclidianas normalizadas. Já para a PCA foi utilizada a matriz dos dados físico-químicos autoescalada (variáveis com diferentes escalas) e para a matriz dos voltamogramas os dados foram centrados na média (variáveis na mesma escala). Para definir a quantidade de

componentes principais (PCs) foi utilizado o critério do autovalor maior que a unidade (para os dados autoescalados) e o critério da variância acumulada maior que 95% para os dados centrados na média.

Como método supervisionado de classificação foi empregado o método de mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS-DA) (BRERETON, 2015).

Os dados das análises físico-químicas do mel (disponibilizados pelo IDR – Paraná) foram utilizados em um modelo PLS-DA a fim de discriminar as amostras de mel originárias da cidade de Ortigueira – PR das amostras de mel oriundas de outras cidades. Dois tipos de normalização foram testados para esses dados, autoescalamento e Pareto. A normalização centrada na média não foi utilizada em decorrência da heterogeneidade de escalas dos métodos físico-químicos de análise. Para a voltametria cíclica foram utilizados os seguintes tipos de normalização: centrado na média, autoescalamento e Pareto.

Tanto na voltametria cíclica quanto nas análises físico-químicas, foi utilizado o algoritmo Kennard-Stone buscando-se separar as amostras em um grupo de calibração (AC) e um grupo de previsão (AP) com amostras para a validação do modelo construído. O grupo de calibração foi composto por 2/3 das amostras (71) e o grupo de previsão com o 1/3 restante (36). Também foi utilizada a validação cruzada *5-fold* para estimar o número mais adequado de variáveis latentes (LVs) a serem utilizadas, ou seja, o número de LVs que apresentasse a menor raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração de validação cruzada (RMSECV) e maior percentagem de classificação correta de calibração de validação cruzada (PCCCV).

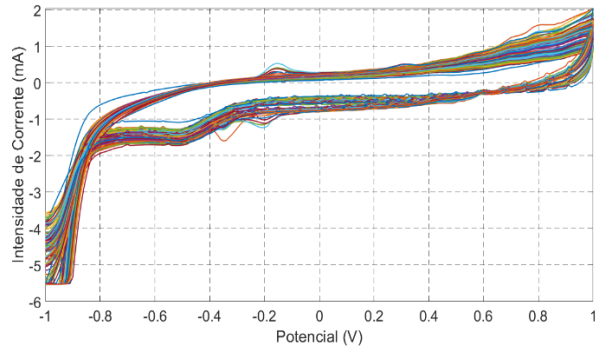
Nas análises físico-químicas e na voltametria cíclica, foram feitas as avaliações *outliers*, ou seja, de amostras anômalas, com a estatística Q (resíduos quadráticos da matriz X) e T^2 (Hotelling) no conjunto de amostras. Com esse método de análise de amostras anômalas, as amostras que apresentam, de forma simultânea, valores de Q e T^2 superiores aos valores críticos são consideradas *outliers* com 95% de precisão. Mais detalhes de como são calculados os valores críticos de Q e T^2 e explicações sobre o método são encontradas em Santana (2020).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

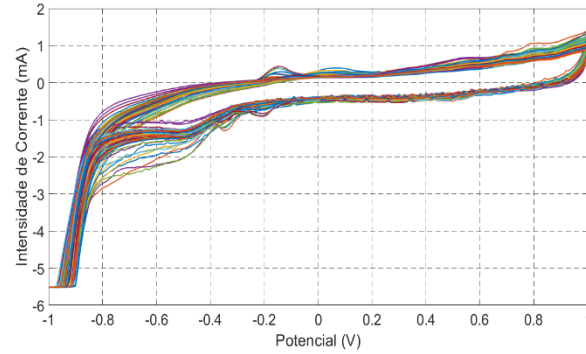
Os sinais das amostras obtidos com cada eletrodo na língua eletrônica, depois de plotados forneceu a Figura 18. Nessa Figura é possível observar a variação na forma do voltamograma em função do tipo do eletrodo utilizado (OROIAN; ROPCIUC, 2019).

O sinal médio das classes de mel denominadas como Ortigueira (O) e amostras de cidades externas (E) está apresentado na Figura 19. Nessa Figura é possível observar que os eletrodos C60, Fe e Ni apresentam maiores diferenças de intensidade no sinal médio associado a cada classe de mel. Em ambos os eletrodos, as amostras de Ortigueira apresentam menores intensidades de corrente.

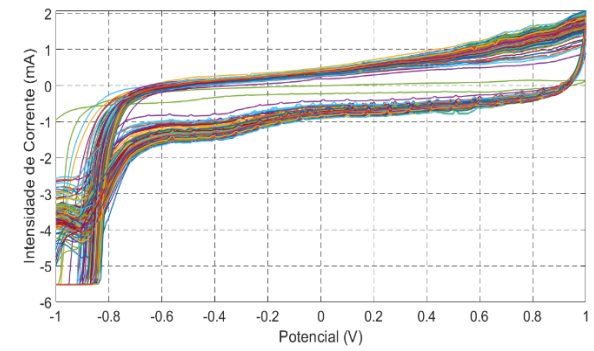
Figura 18 - Sinais das amostras de mel obtidos com o eletrodo C60 (A), Cu (B), CV (C), Fe (D), NT (E) e Ni (F)



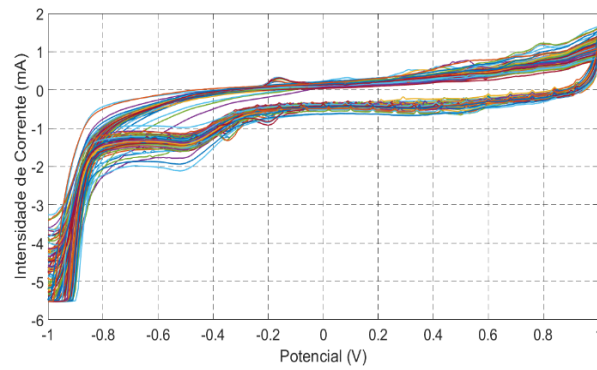
(A)



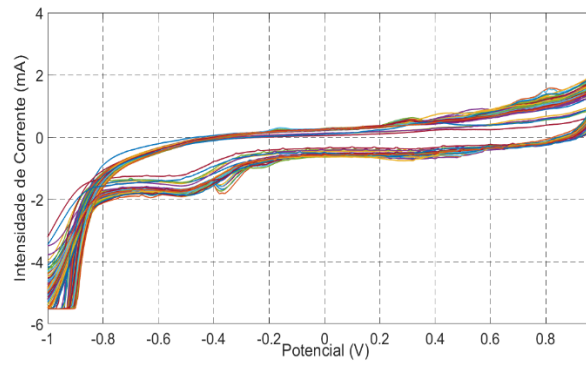
(B)



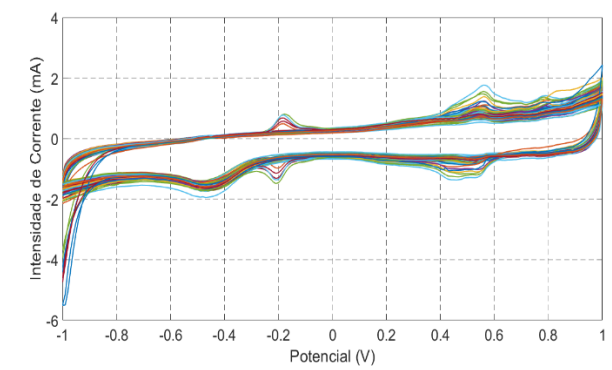
(C)



(D)



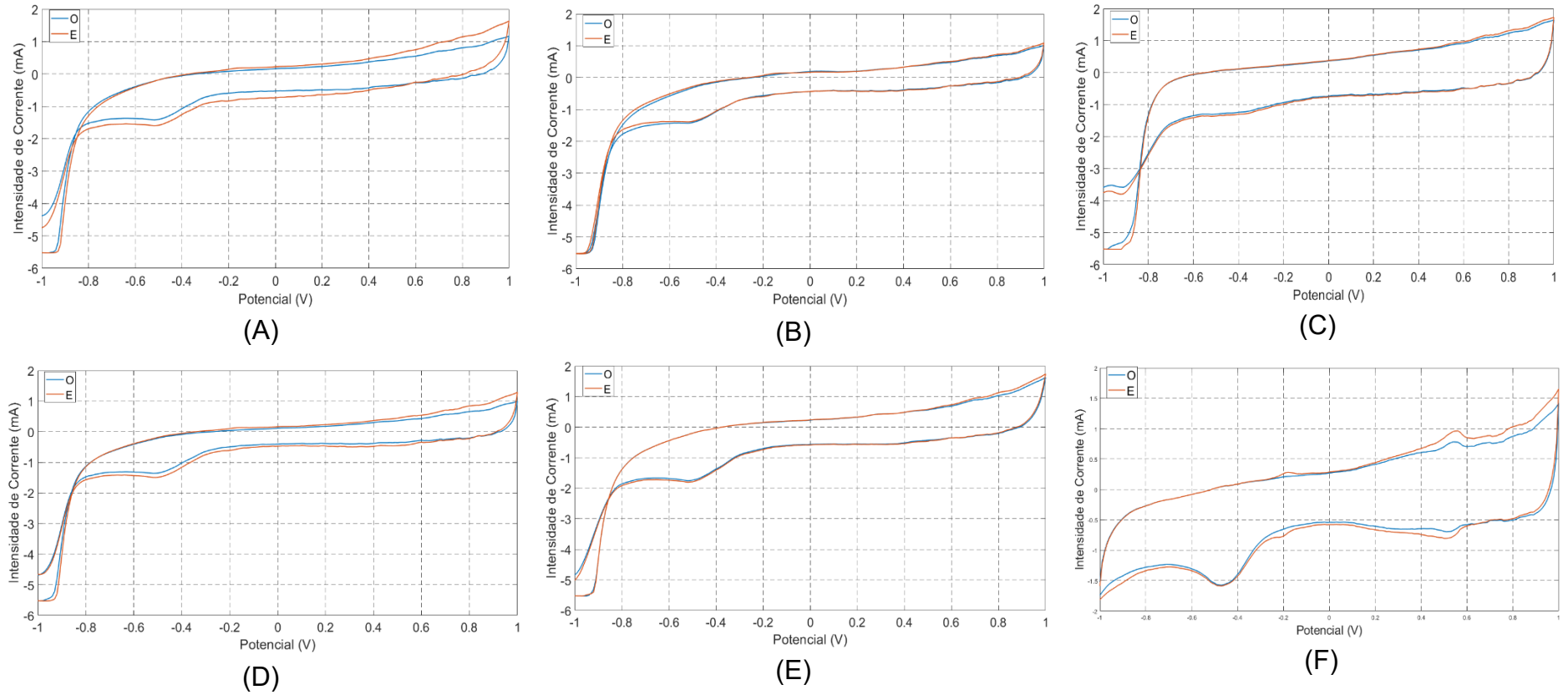
(E)



(F)

Fonte: autoria própria (2021)

Figura 19 - Média de diferença no sinal para cada tipo de mel (Ortigueira e Externo) com o eletrodo C60 (A), Cu (B), CV (C), Fe (D), NT (E) e Ni (F)



Fonte: autoria própria (2022)

Também foi realizada a análise de componentes principais, tanto das análises físico-químicas, quanto dos eletrodos. Na Tabela 4 está mostrada a variância representada nos PC para cada conjunto de dados analisado.

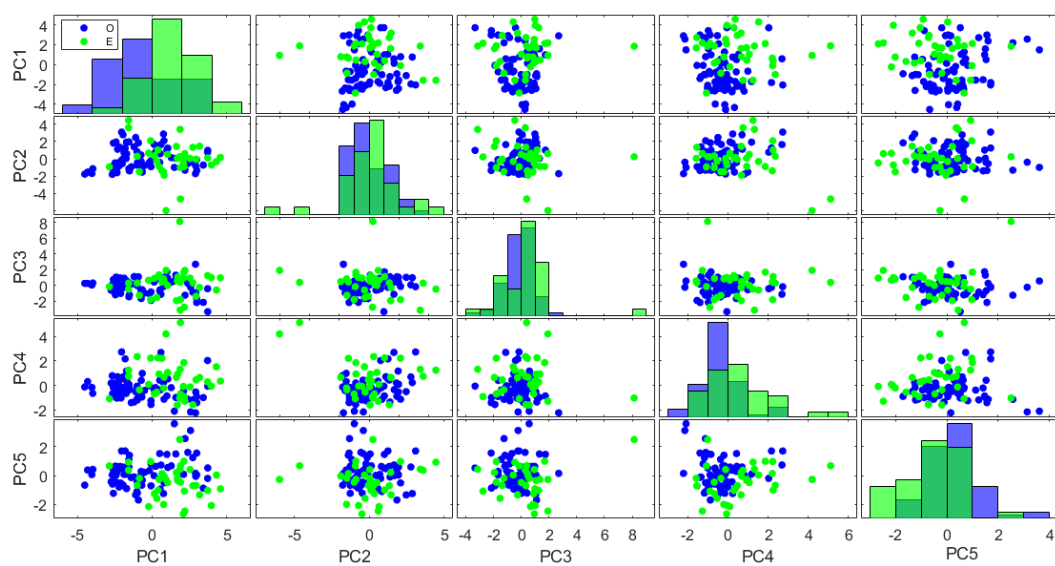
Tabela 4 – Variância representada em cada PC para cada conjunto de dados

Dados	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	Soma
Físico-Químicos	31,14	15,69	12,28	10,20	7,87	-	77,19
Carbono							
Vitreo	72,62	9,81	5,64	5,03	2,82	-	95,92
(CV)							
Grafite (C60)	78,38	12,87	3,04	1,62	-	-	95,91
NanoCu (Cu)	75,78	10,74	4,43	2,48	1,61	-	95,04
NanoFe (Fe)	65,26	12,67	8,64	5,73	1,82	1,30	95,42
Nanotubo (NT)	71,73	11,60	6,83	2,56	1,86	1,15	95,73
NanoNi (Ni)	56,63	27,61	5,78	4,13	2,26	-	96,41

Fonte: autoria própria (2021)

A quantidade PCs necessárias para acumular uma variância maior ou igual a 95% variou de 4 (eletrodo C60) até 6 PCs (eletrodos Fe e NT). Para todos os conjuntos duas PCs já foram suficientes para uma variância acumulada superior a 80%. Para os dados físico-químicos cinco PCs acumularam apenas 77,19% da variância, porém a partir da sexta PC os autovalores foram menores que a unidade. Como para dados autoescalados foi utilizado o critério do autovalor, só foram mantidas as cinco primeiras PCs.

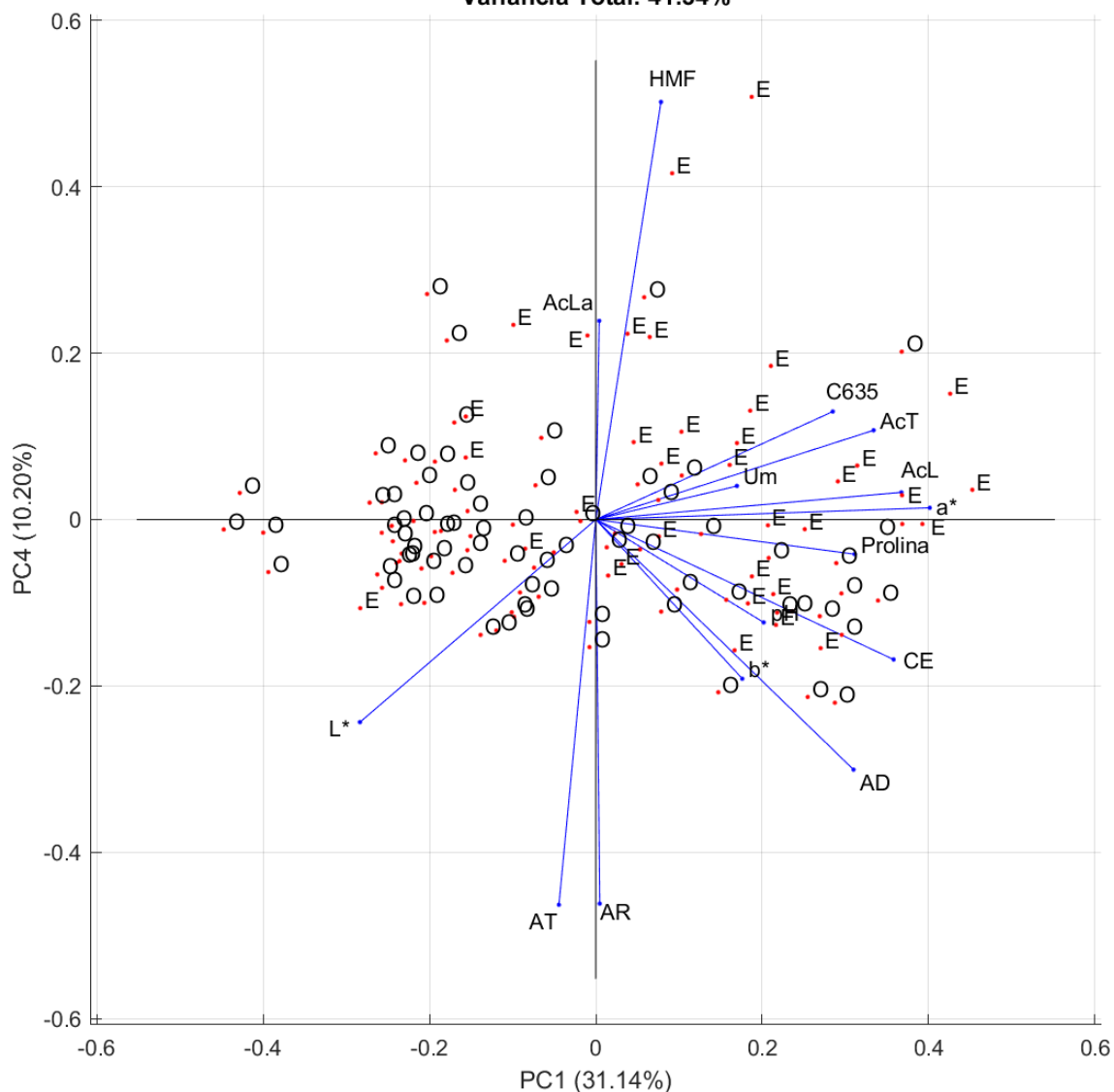
A Figura 20 apresenta o gráfico de *score* obtido para as análises físico-químicas. Pode-se observar uma grande sobreposição das classes Ortigueira (O) e Externo (E), visto que não é possível perceber uma nítida separação das amostras de Ortigueira, em relação às amostras das regiões externas. Na PC1 e PC4 é possível observar uma predominância das amostras O no quadrante negativo e das amostras E no quadrante positivo.

Figura 20 – Gráfico de score para as análises físico-químicas

Fonte: autoria própria (2021)

Na Figura 21 está representado o biplot das PC1 e PC4 onde é possível visualizar os scores e loadings em um único gráfico. As amostras externas apresentam maiores valores de teor de hidroximetilfurfural, absorvância em 635 nm, acidez total, acidez lactônica, acidez livre e parâmetros de cor. Já as amostras de Ortigueira apresentaram maiores valores de luminosidade, açúcar total, açúcar redutor, atividade diastase, condutividade elétrica e prolina.

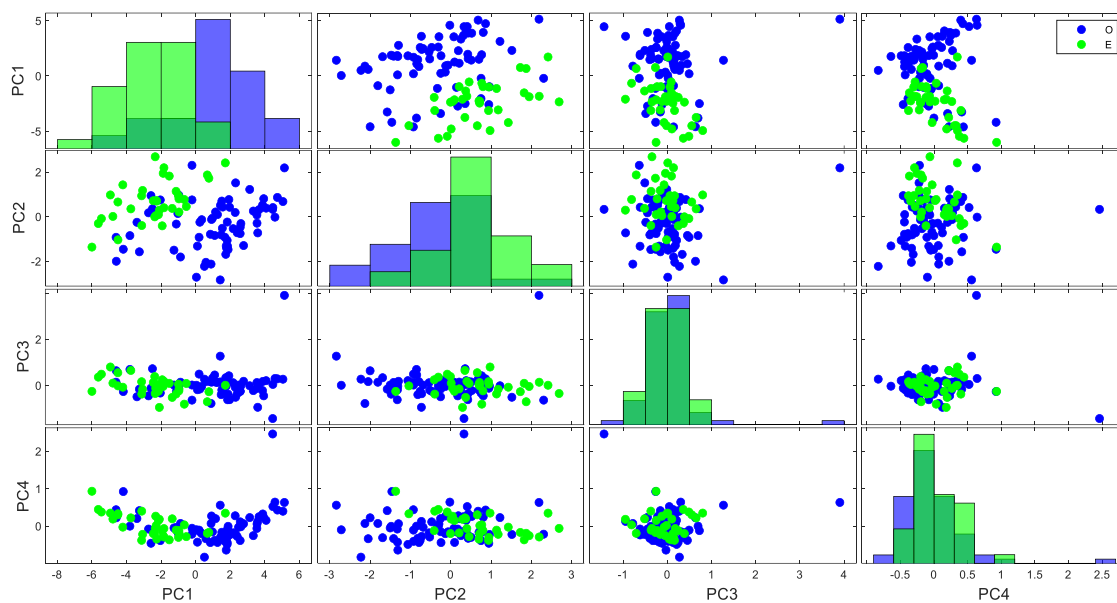
Figura 21 - Biplot para PC1 vs. PC4 para os dados físico-químicos
Variância Total: 41.34%



Fonte: autoria própria (2021)

Quando se analisa o gráfico de *scores* nas PC1 e PC2 para o eletrodo C60 é possível perceber uma separação das amostras de Ortigueira no quadrante positiva de PC1 e quadrante negativo de PC2 (Figura 22).

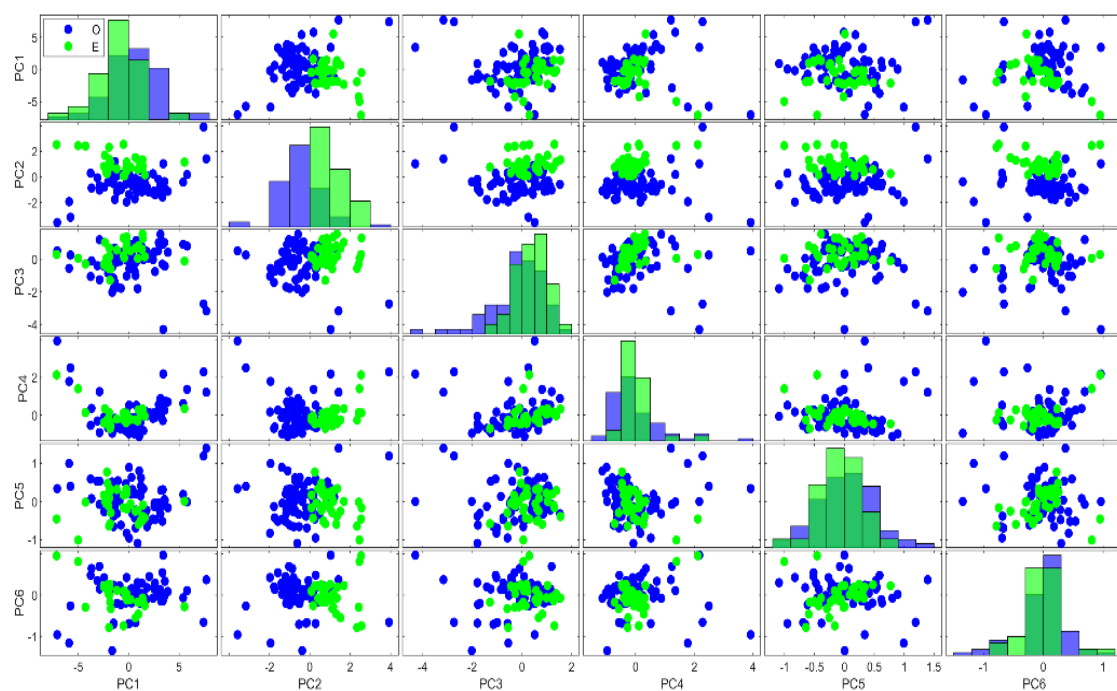
Figura 22 - Gráfico de score do eletrodo C60



Fonte: autoria própria (2021)

O gráfico de scores do eletrodo de Fe (Figura 23) também apresenta uma separação das amostras principalmente na PC2, com as amostras de Ortigueira no quadrante negativo e as amostras externas no quadrante positivo.

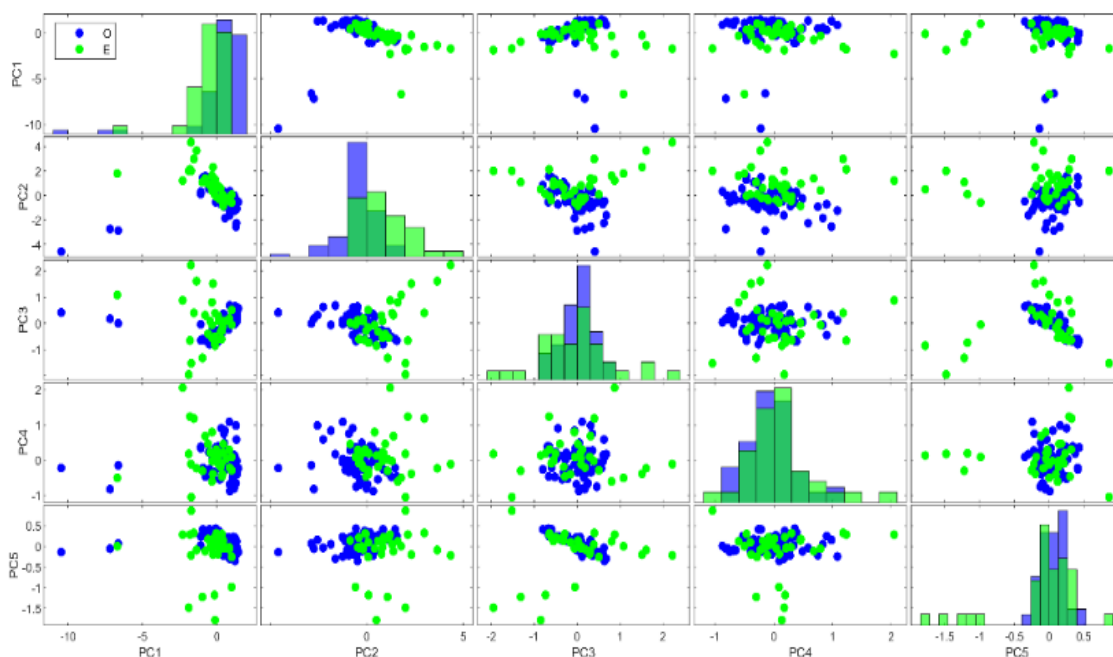
Figura 23 - Gráfico de score do eletrodo Fe



Fonte: autoria própria (2021)

O gráfico de scores do eletrodo de Ni (Figura 24) também apresenta uma tendência de separação das amostras principalmente na PC2, com as amostras de Ortigueira no quadrante negativo e as amostras externas no quadrante positivo.

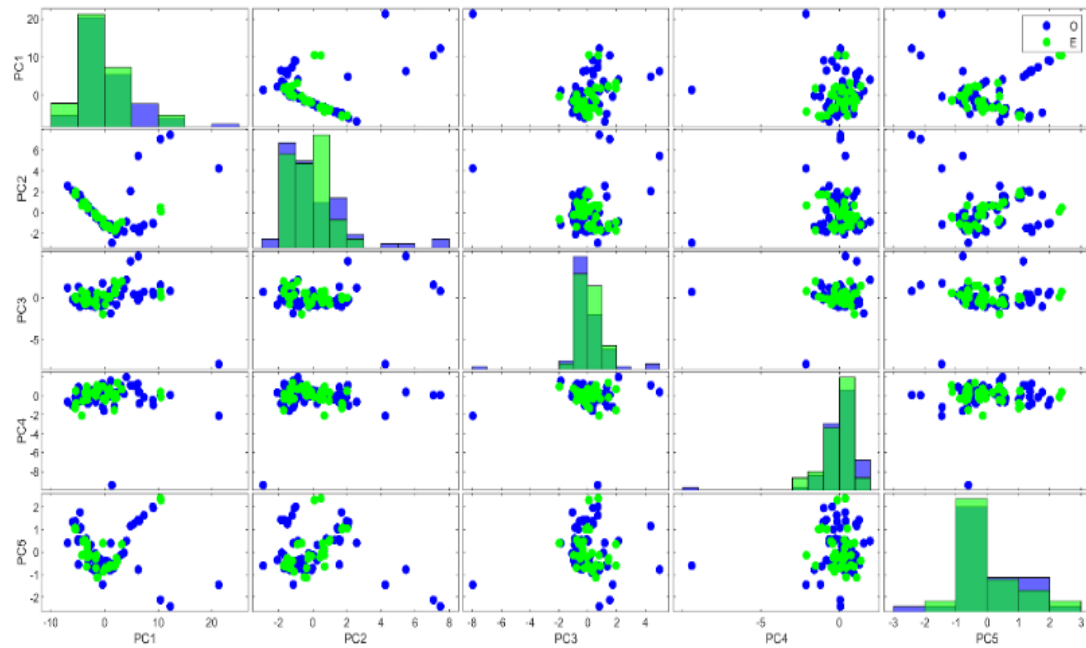
Figura 24 - Gráfico de score do eletrodo de Ni



Fonte: autoria própria (2021)

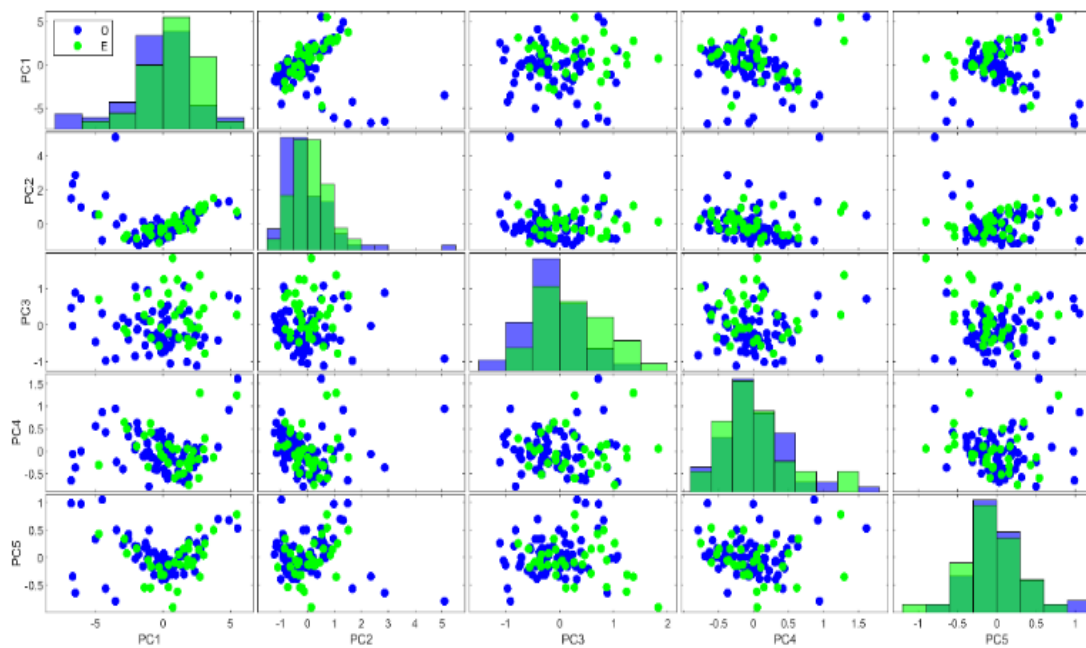
Nos demais gráficos de score (Figuras 25, 26 e 27) não foi possível visualizar uma separação. Cabe salientar que, de acordo com os resultados da PCA, o eletrodo comercial CV apresentou uma discriminação menor das amostras em relação aos eletrodos C60, Fe e Ni.

Figura 25 - Gráfico de score do eletrodo Cu



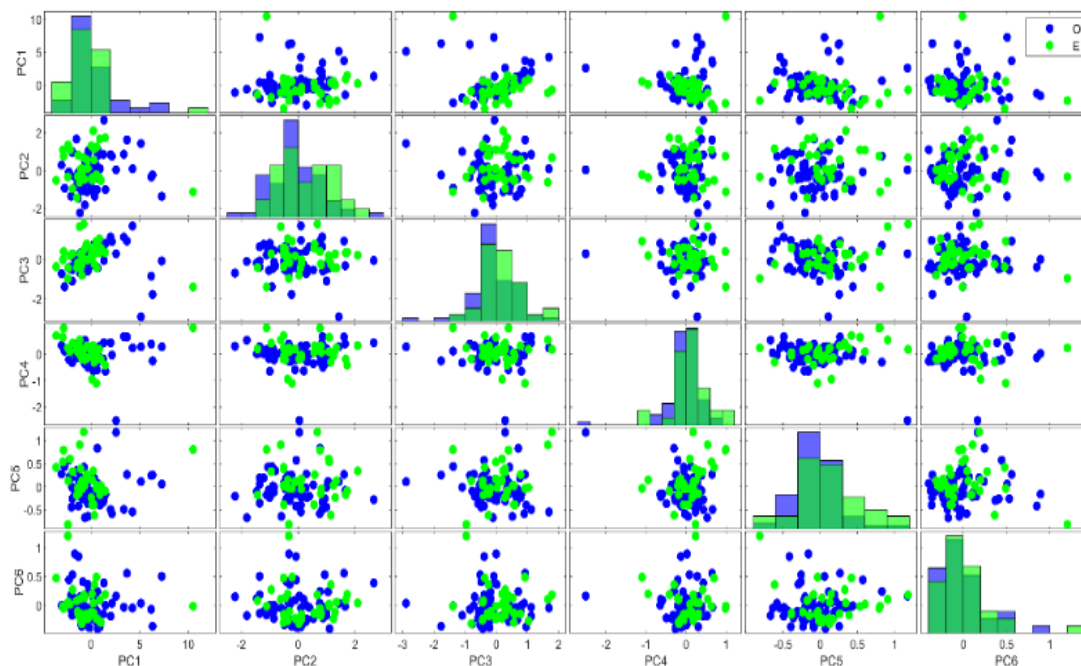
Fonte: autoria própria (2021)

Figura 26 - Gráfico de score do eletrodo CV



Fonte: autoria própria (2021)

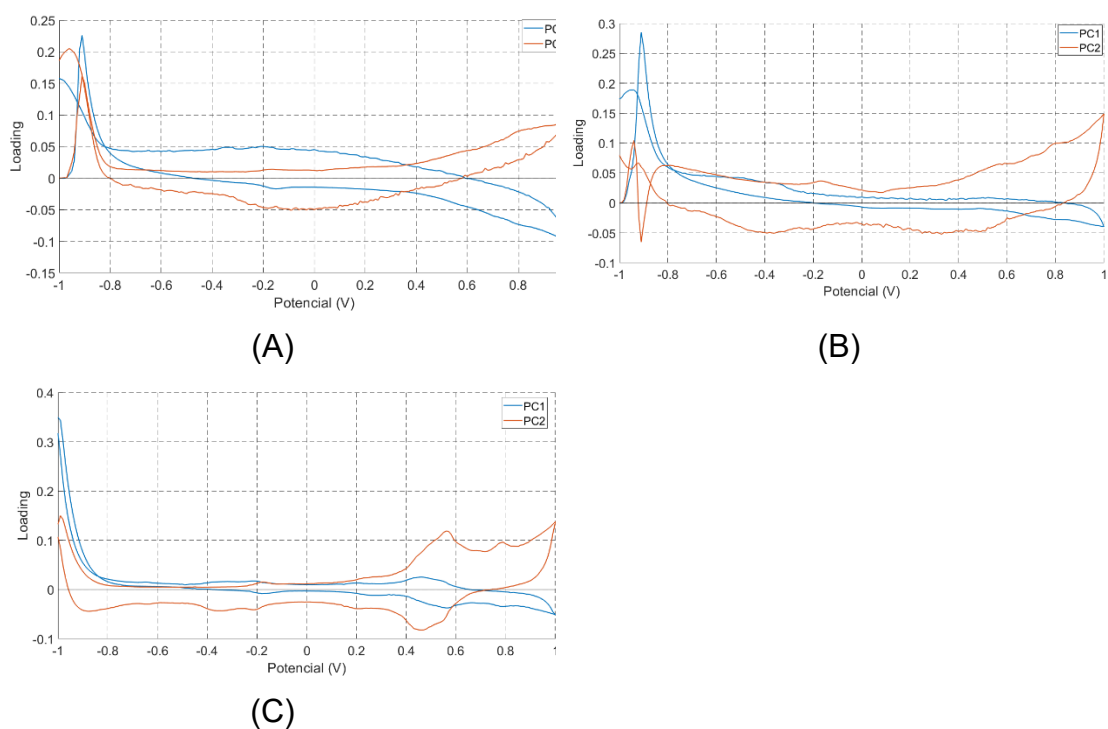
Figura 27 - Gráfico de score do eletrodo NT



Fonte: autoria própria (2021)

Os gráficos dos loadings para PC1 e PC2 para os dados dos eletrodos C60, Fe e Ni (Figura 28) confirmam que as amostras externas apresentam maior intensidade de corrente principalmente na região de 0,6 – 1,0 V. Esse resultado está de acordo com os gráficos do sinal médio dos eletrodos para cada classe de mel (Figura 19).

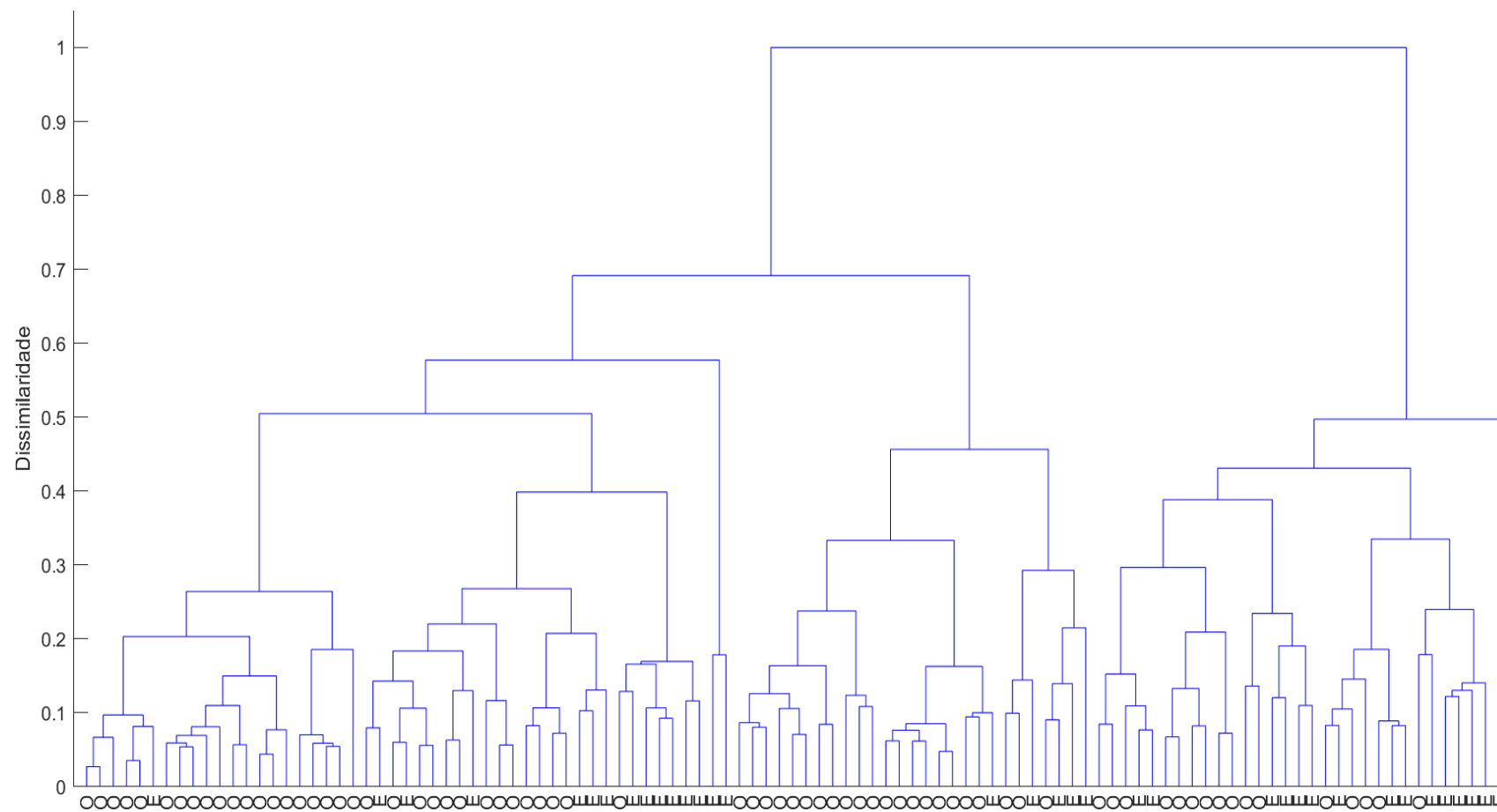
Já foi relatado que eletrodos contendo nanopartículas de cobre respondem à presença de carboidratos exibindo picos característicos devido à oxidação irreversível em aproximadamente 0,70 V. Foi sugerido que as nanopartículas de cobre desempenham o papel principal em relação à glicose e oxidação da frutose devido à sua propriedade eletrocatalítica (SANTOS *et al.*, 2016).

Figura 28 - Gráfico de loadings para os eletrodos C60 (A), Fe (B) e Ni (C)

Fonte: autoria própria (2021)

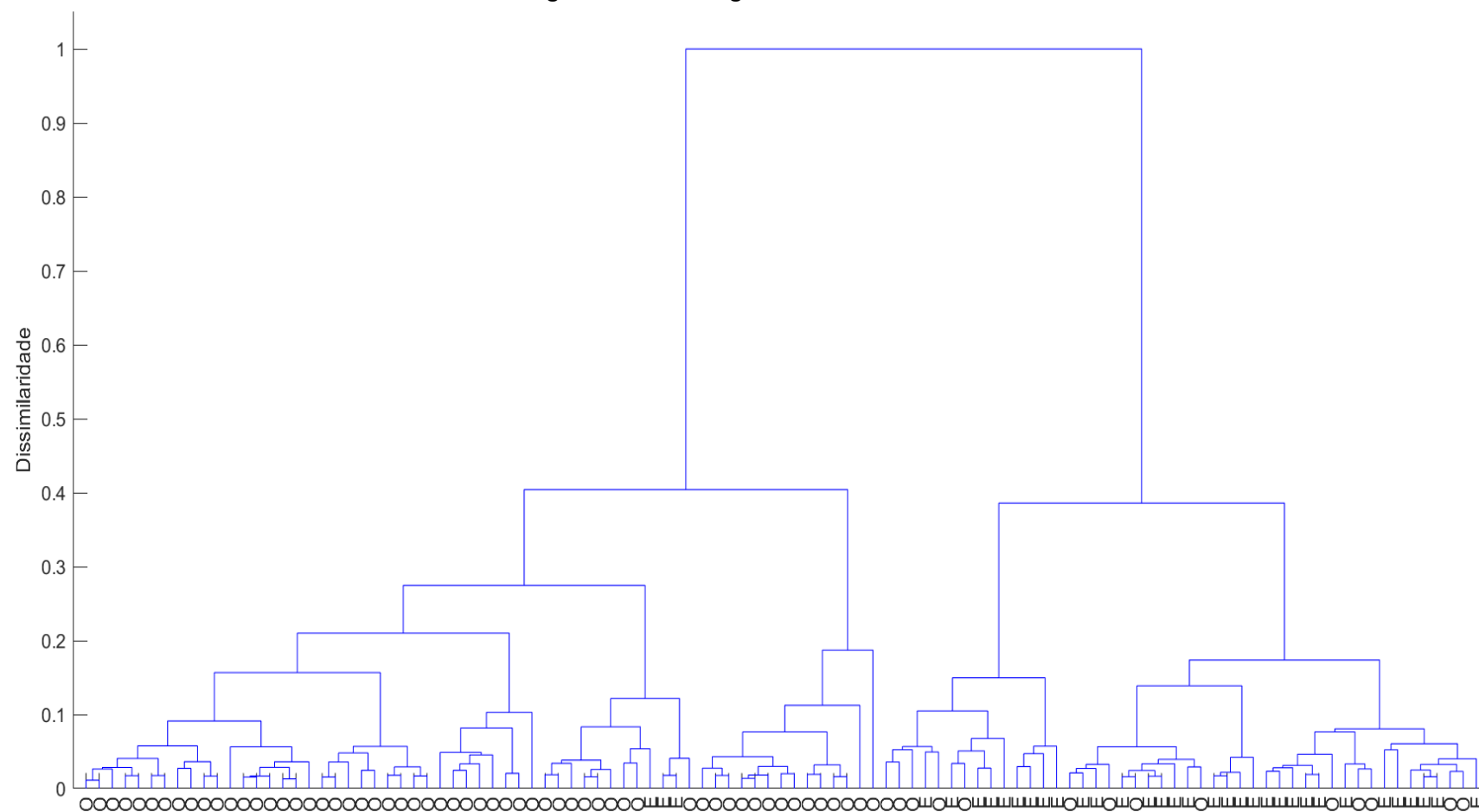
Para confirmar os agrupamentos visualizados na PCA foi também realizada uma análise exploratória dos dados usando o HCA. Os dendrogramas obtidos estão dispostos nas Figuras 29, 30, 31, 32, 33, 34 e 35.

Figura 29 – Dendrograma das análises físico-químicas



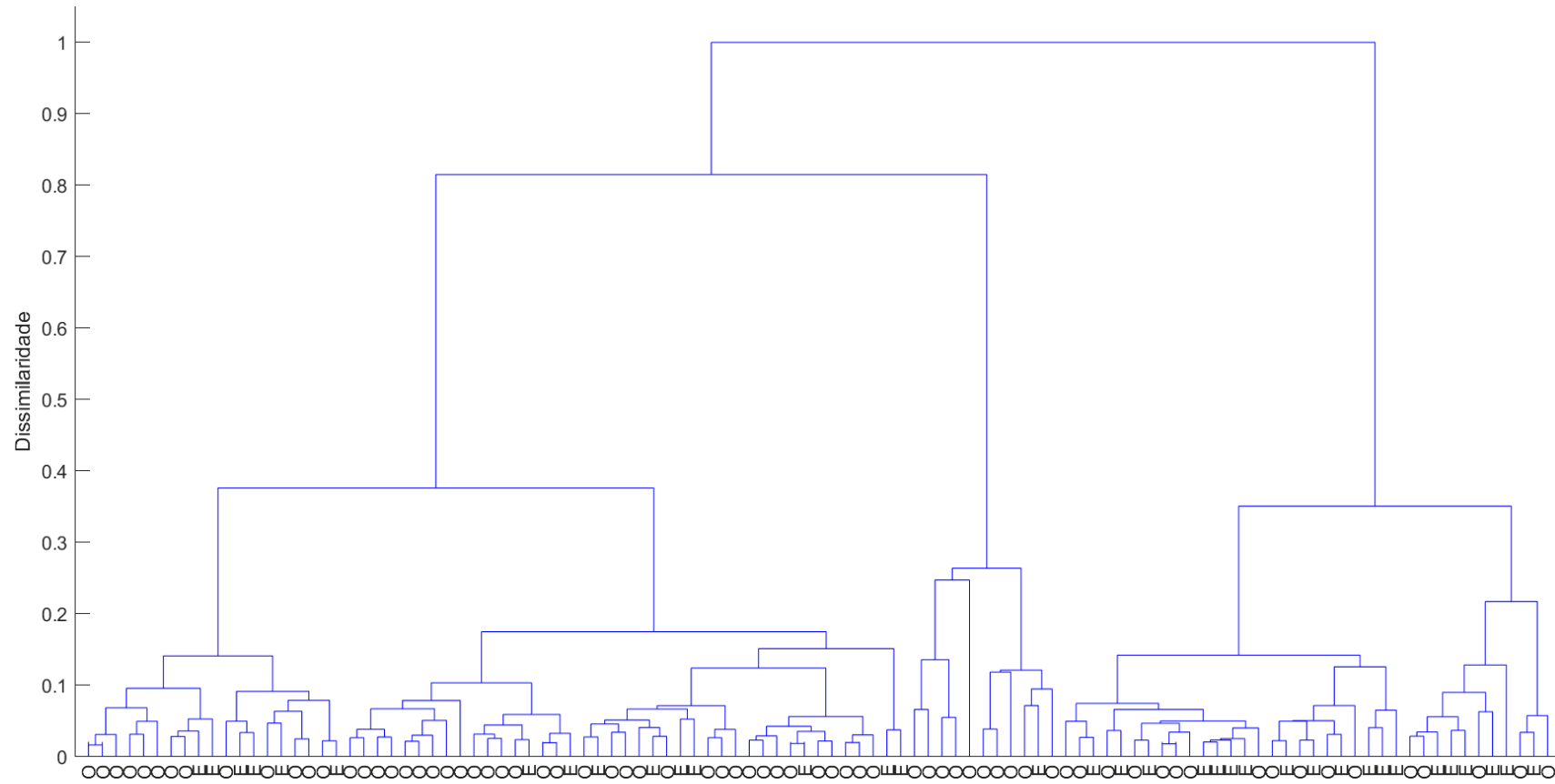
Fonte: autoria própria (2021)

Figura 30 - Dendrograma do eletrodo C60



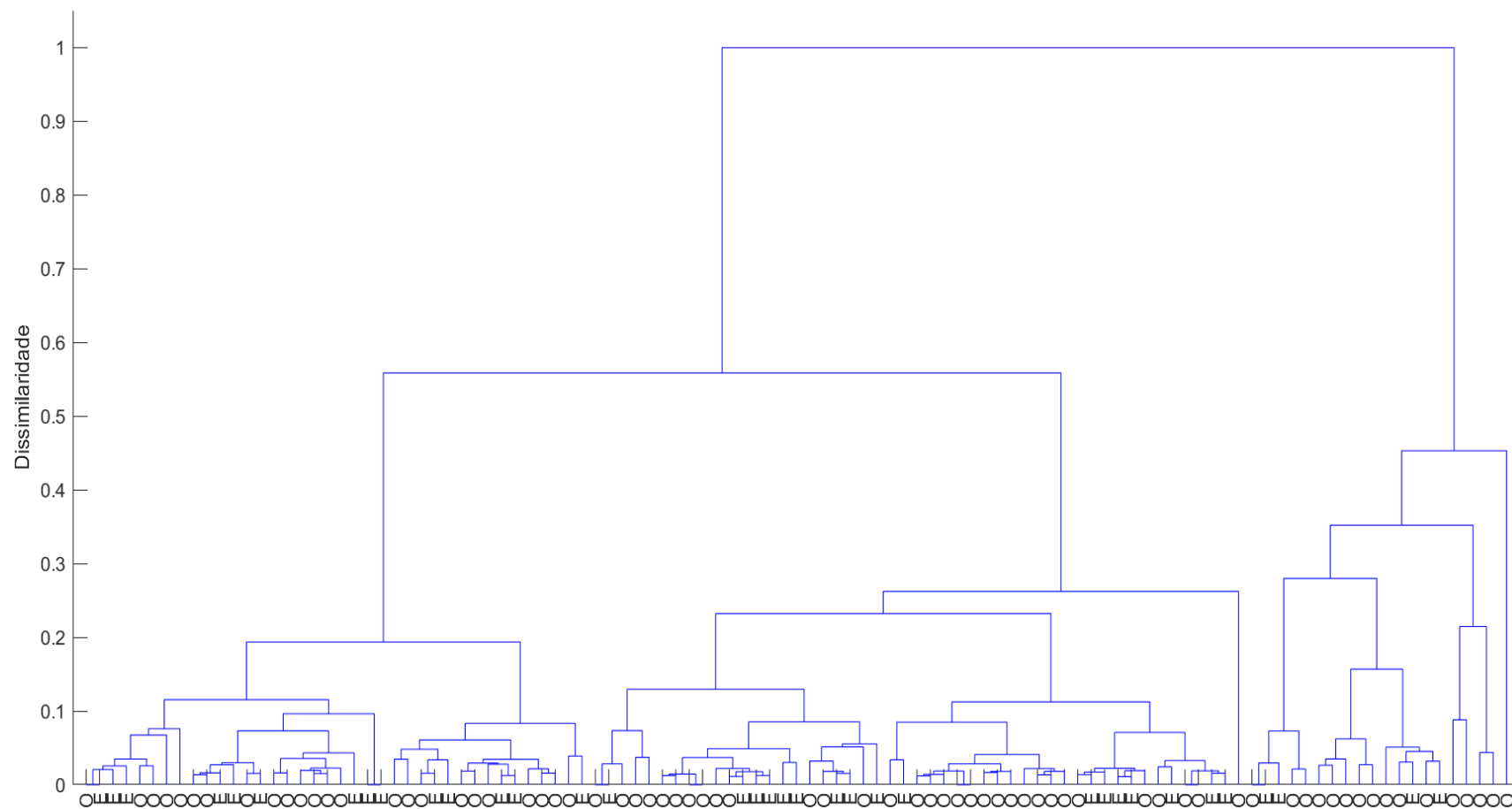
Fonte: autoria própria (2021)

Figura 31 - Dendrograma do eletrodo Cu



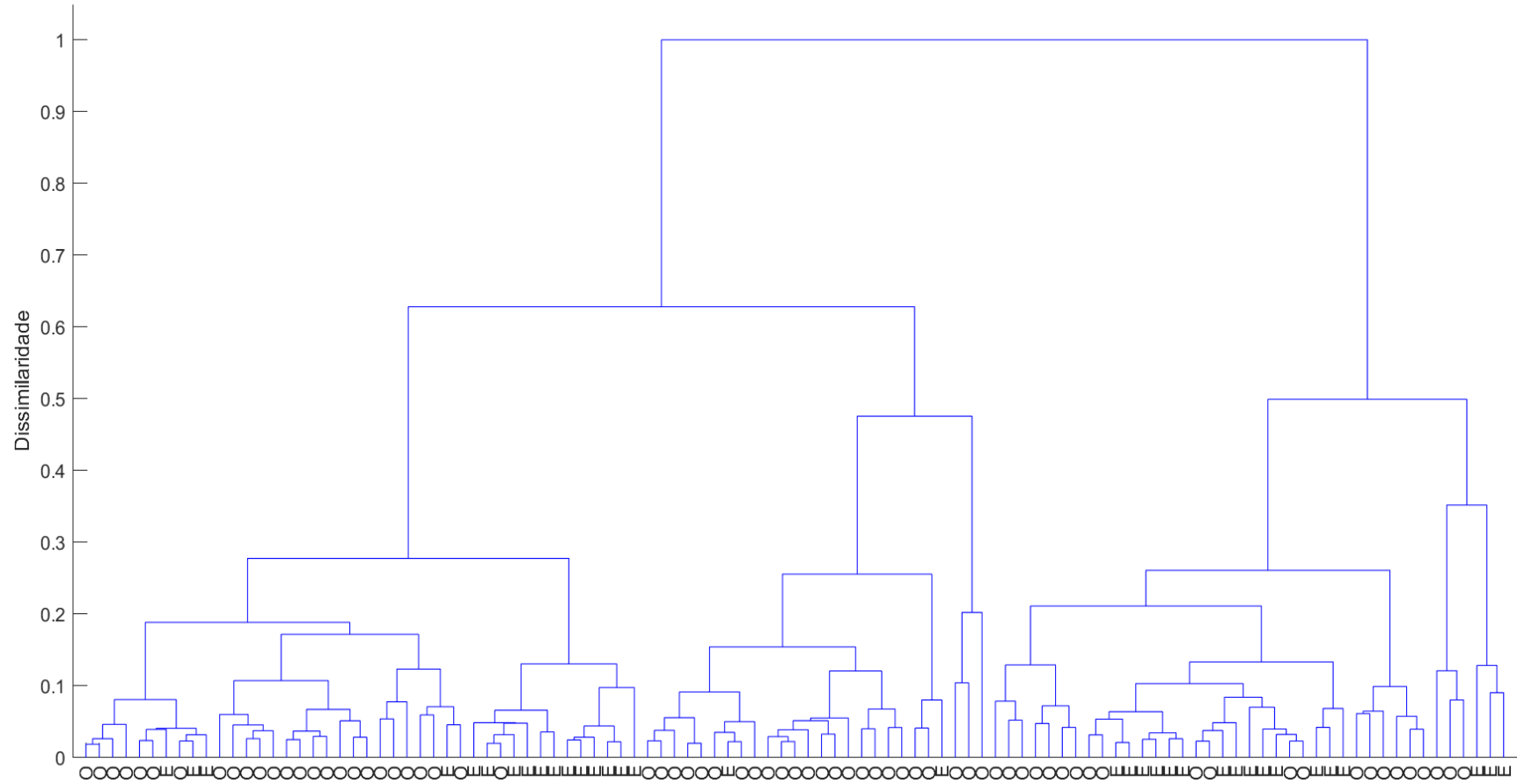
Fonte: autoria própria (2021)

Figura 32 - Dendrograma do eletrodo CV



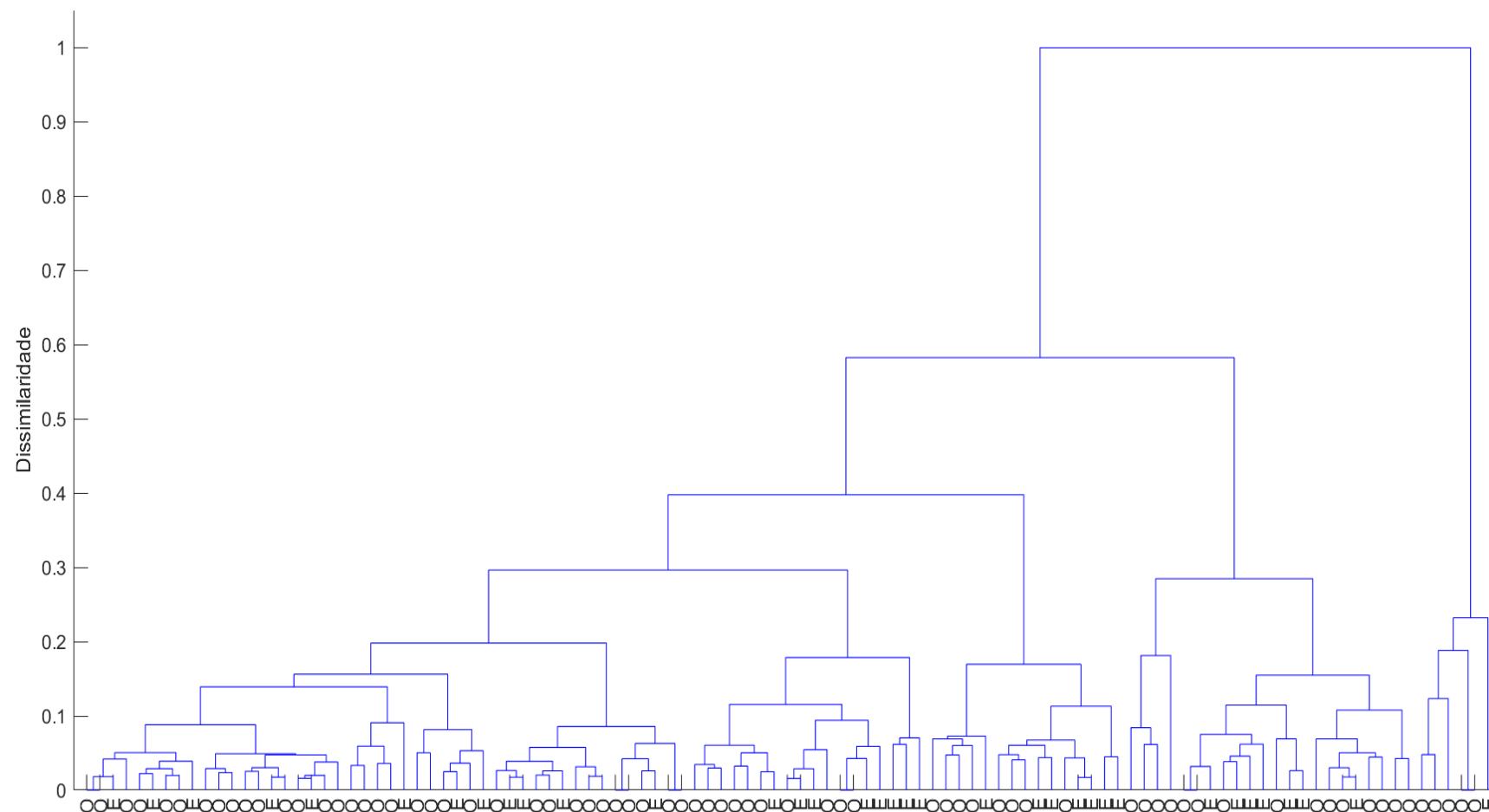
Fonte: autoria própria (2021)

Figura 33 - Dendrograma do eletrodo Fe



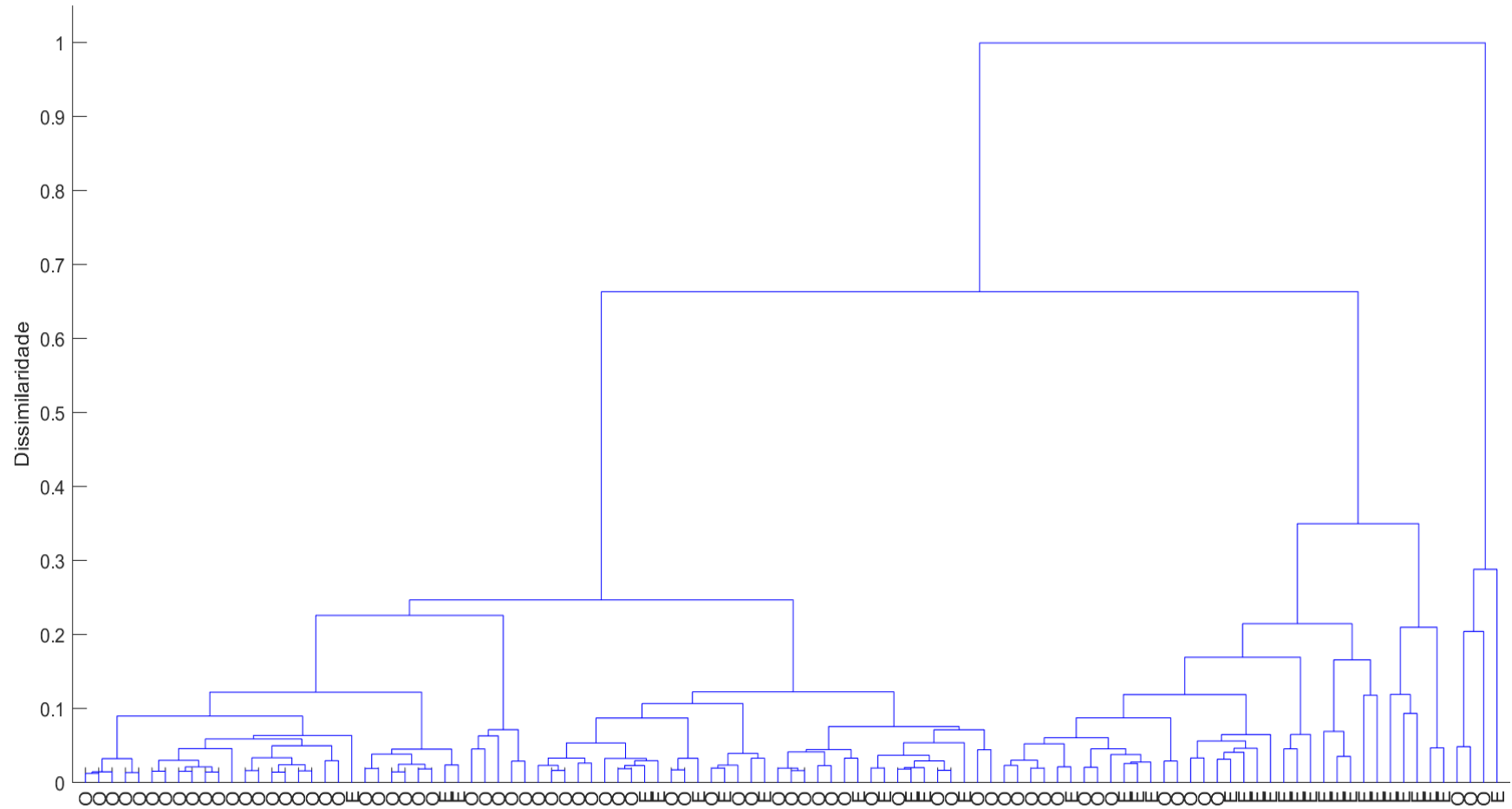
Fonte: autoria própria (2021)

Figura 34 - Dendrograma do eletrodo NT



Fonte: autoria própria (2021)

Figura 35 - Dendrograma do eletrodo Ni



Fonte: autoria própria (2021)

A análise de agrupamentos hierárquicos confirma os resultados obtidos nos gráficos de *scores* da PCA, com destaque para a melhor separação das amostras usando o eletrodo C60. Os dendrogramas demonstram que apenas para o eletrodo C60 existe a formação nítida de dois grupos separando a maior parte das amostras de Ortigueira (O) das amostras externas (E). Realizando uma comparação do dendrograma do eletrodo C60 com o das análises físico-químicas, pode-se perceber uma maior separação das amostras de Ortigueira (O) das amostras externas (E) no dendrograma do eletrodo C60. Além disso, o eletrodo comercial (CV) também não apresentou uma boa capacidade discriminatória.

Após a análise exploratória, foram construídos modelos de classificação usando o método PLS-DA. As figuras de mérito para o melhor modelo obtido para cada eletrodo e análises físico-químicas estão mostradas na Tabela 5.

Tabela 5 - Modelos PLS-DA para classificação dos méis usando dados físico-químicos (análises tradicionais) e dados obtidos pela língua eletrônica

Eletrodo	Normalização	LV	RMSEC	PCCC	AUCC	RMSEP	PCCP	AUCP	VARX	VARY	AC	AP
<i>Dados Físico-Químicos (Análises Tradicionais)</i>												
-	Pareto	3	0,3855	81,43	0,8059	0,3081	88,57	0,9394	0,7223	0,3103	70	35
<i>Língua Eletrônica - Análise Rápida</i>												
C60		2	0,3300	83,10	0,9257	0,2854	94,44	0,9722	0,9015	0,5026	71	36
Cu		2	0,4127	76,05	0,7717	0,4243	69,44	0,8229	0,8084	0,2222	71	36
CV	Centrar na média	6	0,3824	80,28	0,8641	0,3930	83,33	0,8542	0,9467	0,3324	71	36
Fe		3	0,3029	88,73	0,9746	0,3602	88,89	0,9028	0,9365	0,3742	71	36
NT		6	0,3598	83,09	0,8913	0,4057	75,00	0,8542	0,9518	0,4089	71	36
Ni	Pareto	8	0,2740	90,91	0,9783	0,3096	90,91	0,9130	0,9576	0,6445	66	33

*LV – Variáveis latentes; RMSEC – Raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração; PCCC – Porcentagem de classificação correta de calibração; AUCC – Área abaixo da curva ROC para a calibração; RMSEP – Raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão; PCCP – Porcentagem de classificação correta de previsão; AUCP – Área abaixo da curva ROC para a previsão; VARX – Variância acumulada para matriz X; VARY – Variância acumulada para matriz Y; AC – Amostras de calibração; AP – Amostras de previsão.

Fonte: autoria própria (2021)

Os dados das análises físico-químicas do mel resultaram em um modelo PLS-DA com normalização Pareto, 3 variáveis latentes, com um percentual de classificação correta de previsão de 88,57% e um RMSEP de 0,3081.

Para os voltamogramas, os eletrodos C60, Fe e Ni resultaram em modelos de classificação com desempenho similar ou superior ao modelo obtido usando os dados físico-químicos. Em contrapartida, os demais eletrodos não apresentaram bons resultados de classificação. Uma hipótese a ser confirmada em trabalhos futuros é se a concentração de nanopartículas teria sido insuficiente para aumentar a sensibilidade do eletrodo.

O melhor modelo de classificação das amostras com a língua eletrônica foi obtido com os dados do eletrodo C60 com 2 variáveis latentes, obtendo um percentual de classificação correta na previsão de 94,44% e RMSEP de 0,2854. Na Tabela 6 estão dispostas outras figuras de mérito para o modelo PLS-DA usando os dados do eletrodo C60 e modelo PLS-DA usando os dados físico-químicos.

Tabela 6 - Figuras de mérito para os modelos PLS-DA usando os voltamogramas obtidos com o eletrodo C60 e dados físico-químicos

Classe	Matriz de confusão		Exatidão (%)	Sensibilidade (%)	Seletividade (%)	Taxa de falso positivo (%)
	O	E				
Conjunto de calibração – Eletrodo C60						
O	39	2	84,51	81,25	91,30	8,70
E	9	21	84,51	91,30	81,25	18,75
Conjunto de previsão – Eletrodo C60						
O	23	1	94,44	95,83	91,67	8,33
E	1	11	94,44	91,67	95,83	4,17
Conjunto de calibração – Análises físico-químicas						
O	45	10	81,43	93,75	54,55	45,45
E	3	12	81,43	54,55	93,75	6,25
Conjunto de previsão – Análises físico-químicas						
O	24	4	88,57	100,00	63,64	36,36
E	0	7	88,57	63,64	100,00	0,00

Fonte: autoria própria (2021)

De acordo com a Tabela 6, o modelo PLS-DA usando os voltamogramas obtidos com o eletrodo C60 apresentou maior exatidão e principalmente maior seletividade. Os dados físico-químicos resultaram um modelo de alta sensibilidade, porém com baixa seletividade resultando em elevadas taxas de falso positivo.

A grande variabilidade das amostras quanto à cor e flora conduz a uma grande variabilidade de composição química. Mesmo nesse cenário, o desempenho de classificação para os dados obtidos através do eletrodo C60 foram aceitáveis/bons. Destaca-se ainda a rapidez (cerca de 5 minutos por amostra) da análise usando a língua eletrônica e o baixo custo para a produção dos eletrodos C60, quando comparado ao tempo de análise e custo para a execução dos testes físico-químicos. Portanto, a metodologia proposta demonstrou-se adequada para a discriminar os méis cidade de Ortigueira e de mel de outras localidades

7 CONCLUSÃO

Foi possível realizar a discriminação de méis de Ortigueira-PR aplicando a voltametria cíclica com eletrodos de carbono modificados. Os melhores resultados foram obtidos com o eletrodo C60.

Além disso, a porcentagem de classificação correta na previsão obtida com o eletrodo C60 foi maior que a obtida com as metodologias de análises físico-químicas. É importante ressaltar o curto tempo de preparo necessário para a construção do eletrodo C60 e seu baixo custo, em conjunto com a língua eletrônica que realiza análises muito rápidas e também possuiu baixo custo de construção.

As análises com PCA e HCA demonstraram a maior capacidade discriminatória para os dados de voltametria usando os eletrodos C60, Fe e Ni. Os modelos PLS-DA mostraram que a porcentagem de classificação correta obtida com o eletrodo CV foi muito próxima da obtida com as metodologias de análises físico-químicas, o que foi um resultado positivo provando o potencial de discriminação da língua eletrônica.

Além disso, os resultados de análise voltamétrica cíclica acoplada à modelação PLS-DA confirmaram as vantagens de ser uma técnica rápida, barata e simples na discriminação do mel de diferentes locais. Vale ressaltar que, mesmo sendo as localidades próximas, foi possível obter uma boa discriminação das amostras.

Conclui-se que, a partir dos resultados encontrados nas análises com a língua eletrônica, uma metodologia de baixo custo e rápida poderá ser implantada com uma maior frequência para discriminar méis da região de Ortigueira e áreas externas. Além disso, a metodologia proposta pode ser testada para outros produtos alimentares com valor de mercado associado à região de cultivo e/ou produção.

REFERÊNCIAS

AFRIN, Sadia et al. Therapeutic and preventive properties of honey and its bioactive compounds in cancer: An evidence-based review. **Nutrition research reviews**, v. 33, n. 1, p. 50-76, 2020.

AL-HATAMLEH, Mohammad Al et al. Antioxidant-based medicinal properties of stingless bee products: recent progress and future directions. **Biomolecules**, v. 10, n. 6, p. 923, 2020.

BRERETON, Richard G. Pattern recognition in chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 149, p. 90-96, 2015.

BUAINAIN, Antônio Márcio et al. **Cadeias produtivas de flores e mel**. Bib. Orton IICA/CATIE, 2007.

CAMO ANALYTICS. **PLS-DA**, 2020.

CHOKKAREDDY, Rajasekhar; REDHI, Gan G.; KARTHICK, T. A lignin polymer nanocomposite based electrochemical sensor for the sensitive detection of chlorogenic acid in coffee samples. **Heliyon**, v. 5, n. 3, p. e01457, 2019.

CIANCIOSI, Danila et al. Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. **Molecules**, v. 23, n. 9, p. 2322, 2018.

CIANCIOSI, Danila et al. Phenolic compounds from Mediterranean foods as nutraceutical tools for the prevention of cancer: The effect of honey polyphenols on colorectal cancer stem-like cells from spheroids. **Food chemistry**, v. 325, p. 126881, 2020.

CITTAN, Mustafa; ALTUNTAŞ, Esra; ÇELİK, Ali. Multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as curcumin sensor. **Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly**, v. 151, n. 6, p. 881-888, 2020.

DIAS, MEBCDS; DE SOUSA, B. C. Língua eletrônica potenciométrica: uma ferramenta para análise da qualidade do mel. **Mestrado em Química. Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências, Universidade do Porto**, 2013.

DIAS, Thiago Ferreira et al. Programa de Aquisição de Alimentos da Agricultura Familiar (PAA) como estratégia de inserção socioeconômica: o caso do Território da Cidadania Sertão do Apodi (RN). **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, v. 9, n. 3, 2013.

EL HASSANI, Nadia El Alami et al. Emerging approach for analytical characterization and geographical classification of Moroccan and French honeys by means of a voltammetric electronic tongue. **Food chemistry**, v. 243, p. 36-42, 2018.

ELGRISHI, Noémie et al. A practical beginner's guide to cyclic voltammetry. **Journal of chemical education**, v. 95, n. 2, p. 197-206, 2018.

FERREIRA, Isabel CFR et al. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1438-1443, 2009.

FERREIRA, J. A.; JOÃO, D.; LOPES, A. **Deteção e identificação rápidas dos principais contaminantes microbiológicos em fármacos por espectroscopia de infravermelho**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Farmacêutica) - Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia, 2017.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. Editora da Unicamp, 2015.

HASSOUN, Abdo et al. Fraud in animal origin food products: Advances in emerging spectroscopic detection methods over the past five years. **Foods**, v. 9, n. 8, p. 1069, 2020.

INTERNATIONAL HONEY COMMISSION et al. Harmonised methods of the international honey commission. **Retrieve from www. ihc-platform.net/ihcmethods2009. pdf**, 2009.

JIANG, Hongyao et al. Application of electronic tongue for fresh foods quality evaluation: A review. **Food Reviews International**, v. 34, n. 8, p. 746-769, 2018.

JUAN-BORRÁS, Marisol et al. Antioxidant activity and physico-chemical parameters for the differentiation of honey using a potentiometric electronic tongue. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 7, p. 2215-2222, 2017.

KAWASAKI, V. M. et al. Quimiometria aplicada à metabolômica de Aldama La Llave: Contribuições quimiotaxonômicas e fitoquímica direcionada baseada em inibição de cicloxigease-1 e 5-lipoxigease. **Heron**, v. 1, p. 89p., 2014.

LIPKOWITZ, Jackie B. et al. Discriminating aging and protein-to-fat ratio in Cheddar cheese using sensory analysis and a potentiometric electronic tongue. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 3, p. 1990-2004, 2018.

MAJOR, Nikola et al. Rapid honey characterization and botanical classification by an electronic tongue. **Talanta**, v. 85, n. 1, p. 569-574, 2011.

MINDEN-BIRKENMAIER, Benjamin A.; BOWLIN, Gary L. Honey-based templates in wound healing and tissue engineering. **Bioengineering**, v. 5, n. 2, p. 46, 2018.

MONDRAGÓN-CORTEZ, P. et al. Physicochemical characterization of honey from the West region of México. **CyTA-Journal of Food**, v. 11, n. 1, p. 7-13, 2013.

OLIVEIRA, Ana Elisa Ferreira; BETTIO, Guilherme Braga; PEREIRA, Arnaldo César. An electrochemical sensor based on electropolymerization of β -cyclodextrin and reduced graphene oxide on a glassy carbon electrode for determination of neonicotinoids. **Electroanalysis**, v. 30, n. 9, p. 1918-1928, 2018.

OROIAN, Mircea; ROPCIUC, Sorina. Romanian honey authentication using voltammetric electronic tongue. Correlation of voltammetric data with physico-chemical parameters and phenolic compounds. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 157, p. 371-379, 2019.

PAUP, Victoria D. et al. Detection of spicy compounds using the electronic tongue. **Journal of food science**, v. 84, n. 9, p. 2619-2627, 2019.

POSSEBON, G. **Análise Voltamétrica Cíclica : Uma Ferramenta para a Análise Qualitativa do Mel**. 2019. Dissertação (Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar), Instituto Politécnico de Bragança, 2019.

RISSATO, Sandra R. et al. Multiresidue determination of pesticides in honey samples by gas chromatography–mass spectrometry and application in environmental contamination. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1719-1726, 2007.

TROVO, Rafael Sanchez. **Análise de cafeína em café por voltametria cíclica e com eléctrodos compósitos de grafite, óxidos de metal e resina epoxilica**. 2017. Tese de Doutorado.

SANCHEZ TROVO, R. **Análise de cafeína em café por voltametria cíclica e com eléctrodos compósitos de grafite, óxidos de metal e resina epoxilica**. 2017. Tese (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) - Mestrado com dupla diplomação com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017.

SANTANA, Felipe Bachion de et al. Experimento Didático de Quimiometria Para Classificação de Óleos Vegetais Comestíveis Por Espectroscopia No Infravermelho Médio Combinado Com Análise Discriminante Por Mínimos Quadrados Parciais: Um Tutorial, Parte V. **Química Nova**, v. 43, p. 371-381, 2020.

SCHLOSSARECK, Courtney; ROSS, Carolyn F. Electronic tongue and consumer sensory evaluation of spicy paneer cheese. **Journal of food science**, v. 84, n. 6, p. 1563-1569, 2019.

SCHOLZ, Maria Brígida dos Santos et al. Indication of the geographical origin of honey using its physicochemical characteristics and multivariate analysis. **Journal of food science and technology**, v. 57, n. 5, p. 1896-1903, 2020.

SILVA, Irana Paim et al. Antioxidants activity and physicochemical properties of honey from social bees of the Brazilian semiarid region. **Journal of Apicultural Research**, v. 60, n. 5, p. 797-806, 2021.

- SOARES, Sónia et al. A comprehensive review on the main honey authentication issues: Production and origin. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 5, p. 1072-1100, 2017.
- SOBRINO-GREGORIO, Lara et al. Monitoring honey adulteration with sugar syrups using an automatic pulse voltammetric electronic tongue. **Food Control**, v. 91, p. 254-260, 2018.
- SOUSA, Mara EBC et al. Practical procedure for discriminating monofloral honey with a broad pollen profile variability using an electronic tongue. **Talanta**, v. 128, p. 284-292, 2014.
- TAN, Juzhong; XU, Jie. Applications of electronic nose (e-nose) and electronic tongue (e-tongue) in food quality-related properties determination: A review. **Artificial Intelligence in Agriculture**, v. 4, p. 104-115, 2020.
- TIAN, Li-Xia et al. Discrimination of five species of Panax genus and their geographical origin using electronic tongue combined with chemometrics. **World Journal of Traditional Chinese Medicine**, v. 7, n. 1, p. 104, 2021.
- TSAGKARIS, Aristeidis S. et al. Honey authenticity: analytical techniques, state of the art and challenges. **Rsc Advances**, v. 11, n. 19, p. 11273-11294, 2021.
- VELOSO, Ana CA et al. Honey evaluation using electronic tongues: An overview. **Chemosensors**, v. 6, n. 3, p. 28, 2018.
- VERNASQUI, Laís Gimenes. **Análise do fenol por voltametria cíclica: elétrodos compósitos de resina epoxídica, grafite e óxidos de metal**. Tese (Mestrado em Tecnologia Ambiental) - Mestrado com dupla diplomação com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Instituto Politécnico de Bragança, 2017.
- VIEIRA, Tatiane Francielli et al. Chemometric Approach Using ComDim and PLS-DA for Discrimination and Classification of Commercial Yerba Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 1, p. 97-107, 2020.
- VIUDA-MARTOS, Manuel et al. Aroma profile and physico-chemical properties of artisanal honey from Tabasco, Mexico. **International journal of food science & technology**, v. 45, n. 6, p. 1111-1118, 2010.
- VLASOV, Yu et al. Nonspecific sensor arrays ("electronic tongue") for chemical analysis of liquids (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 77, n. 11, p. 1965-1983, 2005.
- WADEHRA, Akanksha; PATIL, Prasad Subhash. Application of electronic tongues in food processing. **Analytical Methods**, v. 8, n. 3, p. 474-480, 2016.
- WAN NOR, Wan Fatimah Khairunisa et al. Synthesis and physicochemical properties of magnetite nanoparticles (Fe₃O₄) as potential solid support for homogeneous catalysts. **Malaysian Journal of Analytical Sciences**, v. 22, n. 5, p. 768 – 774, 2018.

WEI, Zhenbo et al. Monitoring the fermentation, post-ripeness and storage processes of set yogurt using voltammetric electronic tongue. **Journal of Food Engineering**, v. 203, p. 41-52, 2017.

WEI, Zhenbo; WANG, Jun; LIAO, Wenyan. Technique potential for classification of honey by electronic tongue. **Journal of Food Engineering**, v. 94, n. 3-4, p. 260-266, 2009.

WOODCOCK, Tony et al. Geographical classification of honey samples by near-infrared spectroscopy: A feasibility study. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 22, p. 9128-9134, 2007.

ZAUKUU, John-Lewis Zinia; GILLAY, Zoltan; KOVACS, Zoltan. Standardized extraction techniques for meat analysis with the electronic tongue: A case study of poultry and red meat adulteration. **Sensors**, v. 21, n. 2, p. 481, 2021.

ZHANG, Yan et al. Antibiotic residues in honey: A review on analytical methods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 110, p. 344-356, 2019.