

## Avaliação de amostras de mel utilizando um nariz eletrônico *lab-made*

## Evaluation of honey samples using a lab-made electronic nose

### RESUMO

Vítor Antônio Vitali Ribeiro  
[vitorribeiro@alunos.utfpr.edu.br](mailto:vitorribeiro@alunos.utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal  
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,  
Brasil.

Evandro Bona  
[ebona@utfpr.edu.br](mailto:ebona@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal  
do Paraná, Campo Mourão, Paraná,  
Brasil.

Maria Brígida dos Santos Scholz  
[mbscholz@iapar.br](mailto:mbscholz@iapar.br)  
Instituto Agrônomo do Paraná,  
Londrina, Paraná, Brasil.

A origem geográfica é fator intrínseco as características dos méis. Análises físico-químicas de umidade, atividade diástasica, hidroximetilfurfural, condutividade elétrica, açúcar redutor, açúcar total, acidez livre, acidez lactônica, acidez total, pH, prolina e cor são tradicionais para a discriminação de méis, mas exigem elevados tempo de análise e custo. O objetivo desse trabalho foi utilizar um nariz eletrônico associado a métodos quimiométricos para discriminação de méis da cidade de Ortigueira-PR. Os dados do nariz eletrônico foram pré-tratados e utilizados para construir modelos PLS-DA. Também foram construídos modelos PLS-DA com dados de análises tradicionais. Os melhores desempenhos do nariz eletrônico foram com o pré-tratamento fração e dados centrados na média, 80% de classificação correta, e pré-tratamento logaritmo e normalização pareto, 81,82% de classificação correta, respectivamente para sinal transiente dos sensores e características estáticas dos sensores. As análises tradicionais obtiveram 88,57% de classificação correta. Comparando as metodologias, os modelos obtidos com o nariz eletrônico apresentaram desempenho satisfatório considerando-se a rapidez e baixo custo das análises.

**PALAVRAS-CHAVE:** Quimiometria. Análise de voláteis. Designação de origem.

**Recebido:** 19 ago. 2020.

**Aprovado:** 01 out. 2020.

**Direito autoral:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



### ABSTRACT

The geographical origin is an intrinsic factor in the characteristics of the honeys. physico-chemical analyzes of moisture, diastatic activity, hydroxymethylfurfural, electrical conductivity, sugar reducer, total sugar, free acidity, lactonic acidity, total acidity, pH, proline and color are traditional for the discrimination of honeys, but enabled for analysis time and cost. The objective of this work was to use an electronic nose associated with chemometric methods to discriminate honeys from the city of Ortigueira-PR. Electronic nose data were pre-treated and used to build PLS-DA models. PLS-DA models were also built with data from traditional analyzes. The best performances of the electronic nose were with the fraction pre-treatment and data centered on the mean, 80% of correct classification, and pre-treatment of logarithm and pareto normalization, 81.82% of correct classification, respectively for the sensor's transient signal and static characteristics of the sensors. Traditional analyzes obtained 88.57% of correct classification. Comparing the methodologies, the models get with the electronic nose performed satisfactorily considering the speed and low cost of the analyzes.

**KEYWORDS:** Chemometrics. Volatile analysis. Designation of origin.

## INTRODUÇÃO

Os méis são substâncias definidas como fluídos viscosos, açucarados e naturais derivados de secreções e, principalmente, do néctar das plantas, os quais são processados por abelhas *Apis mellifera* (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007).

As características dos méis variam de acordo com diversos fatores biológicos como, por exemplo, a espécie das abelhas e o raio de abrangência destas. Além disso, existem muitos fatores ambientais regionais influentes como o clima, o solo, a umidade, as vegetações predominantes no raio de ação das abelhas e o armazenamento depois da colheita (SIDDIQUI et al., 2017). A concentração de compostos voláteis no mel, em geral, é considerável e determinada por diversos constituintes voláteis oriundos da planta ou do néctar, da transformação feita pelo metabolismo das abelhas, da temperatura durante o manuseio ou de contaminações microbianas ou ambientais. Desta forma, como o aroma de cada mel é determinado por diversos fatores particulares, ele se torna uma identidade particular e, assim, pode ser utilizado para determinar a sua origem geográfica e floral, por exemplo (COSTA, 2016).

A diferenciação de méis está intrinsecamente relacionada a compostos presentes em sua região originária. Um bom exemplo são os méis da região de Ortigueira-PR, a qual é classificada por Denominação de origem pelo INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial) por estar diretamente relacionada a um produto com características de um meio geográfico específico (SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO, 2020).

No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o responsável por regulamentar a qualidade do mel comercializado em território nacional fazendo uso da normativa 11, de 20 de outubro de 2000 - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Esta normativa estabelece exigências sobre as qualidades físico-químicas do produto através de análises tradicionais como a do teor de umidade, pH e acidez titulável, cor, cinzas e minerais, açúcar redutor, atividade diástica, hidroximetilfurfural (HMF), sólidos insolúveis, conteúdo de pólen e sacarose aparente (BRASIL, 2000).

Em contrapartida às análises tradicionais, as análises instrumentais rápidas são fundamentadas no desenvolvimento da microeletrônica e no avanço e popularização de novas tecnologias computacionais. As principais vantagens das metodologias de análise rápida são o baixo custo, intervalos de tempo de análise consideravelmente curtos, obtenção de grande número de informações com um número pequeno de amostras, entre outros (FERREIRA, 2015).

A definição de nariz eletrônico é dada como sendo um equipamento composto basicamente por diferentes sensores químicos, controlador de temperatura, gerador termoelétrico para aquecimentos e resfriamento do sistema e uma placa de desenvolvimento (hardware). Esse é capaz de examinar os voláteis e, assim, identificar e discriminar determinadas amostras (MAKIMORI, 2018).

Desde o início da crescente sofisticação das técnicas instrumentais de análises químicas, surgiu necessidade de metodologias de tratamento de dados mais eficientes. Nesse contexto, a quimiometria consiste na aplicação de métodos matemáticos e estatísticos visando o planejamento e seleção de condições formidáveis para experimentos e obtenção de medidas. Além disso, a

quimiometria tem por objetivo a extração da maior parte possível de informações químicas, otimizar processos/experimentos, realizar análises exploratórias dos dados, entre outros. Desta forma, houve expressiva melhoria no meio laboratorial, uma vez que a diminuição no uso de reagentes, tempo de análise e imperícia foram consideráveis (FERREIRA, 2015; FERREIRA et al., 1999; SENA et al., 2000).

O objetivo deste trabalho foi fazer uso conjunto do nariz eletrônico *lab-made*, desenvolvido em trabalhos anteriores, para realizar análises em amostras de mel originárias de diferentes cidades do estado Paraná e Santa Catarina, e de métodos quimiométricos a fim de discriminar as amostras da cidade de Ortigueira-PR.

## MATERIAL E MÉTODOS

As cento e sete amostras de mel foram cedidas pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) de Londrina – PR e são 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. O IAPAR também disponibilizou dados de análises tradicionais realizadas com as amostras de mel como umidade, atividade diástasica, hidroximetilfurfural, condutividade elétrica, açúcar redutor, açúcar total, acidez livre, acidez lactônica, acidez total, pH, prolina e cor.

O nariz eletrônico *lab-made* utilizado foi desenvolvido por Makimori (2018) e tem em sua composição sensores metal-óxido-semicondutor (MOS), uma placa de desenvolvimento Arduino Mega 2560 com um microcontrolador ATMEGA 2560, direcionada a obtenção de dados e controle de outros integrantes. Um sensor de temperatura LM 35 voltado a supervisão da temperatura na câmara onde são injetados os gases e um circuito eletrônico de acionamento e ponte H. Uma minibomba de vácuo (TYAP127) de 12V com capacidade máxima de bombeamento de 7L/min para injeção dos gases e duas válvulas solenoides de duas vias de ¼ de polegada de diâmetro, destinadas a injeção e purga da amostra, respectivamente. Uma câmara de injeção de gases feita em aço inox e uma fonte chaveada de 12V, 600W e 50A, destinada a converter a corrente alternada em contínua para alimentação de todo sistema.

Primeiramente a temperatura da câmara de análise do nariz eletrônico foi estabilizada a 25°C e a vazão escolhida para a bomba foi de 5L/min. Para a realização do aquecimento do sistema, optou-se por tempo de aquisição de 180 segundos e tempo de pausa entre as amostras de 30 segundos. Depois de alguns testes, preferiu-se utilizar 30 segundos de purga inicial a fim de remover algum volátil ainda preso ao sistema interno do equipamento. Tempo de amostragem de 80 segundos, com os primeiros 20 segundos para a formação da linha de base e por fim, 60 segundos de purga final voltados a remover os resíduos voláteis da amostra no sistema interno do nariz eletrônico.

Para a realização do *headspace* estático, foram pesados 10g de cada amostra e transferidos para *vials* de 40mL com tampa de rosca e septo de silicone, posteriormente levados a uma estufa sem circulação a 75°C. A metodologia utilizada para formação do *headspace* foi adaptada a partir do trabalho de Makimori (2018), o qual analisou amostras de cafés torrados comerciais. Após uma hora as amostras começaram a ser retiradas sucessivamente para serem

analisadas com o nariz eletrônico *lab-made* e a estufa foi mantida ligada na mesma temperatura.

A análise de PLS-DA foi utilizada para discriminação de grupos de amostras e para evidenciar quais variáveis são decisivas para a discriminação dos grupos em questão. A variante do modelo PLS-DA escolhida para a discriminação de amostras foi o PLS2-DA. Mais detalhes do PLS-DA e da escolha de suas variantes podem ser encontrados em Santana et al., (2020).

Os dados oriundos das análises tradicionais realizadas pelo IAPAR foram utilizados para obter um modelo PLS-DA para a discriminação das amostras da cidade de Ortigueira - PR das demais amostras provenientes de outras cidades. Para esses dados foram testados dois tipos de normalização, autoescalamento e pareto. Foi optado por não se utilizar apenas a centragem na média devido a heterogeneidade de escalas dos métodos tradicionais de análise.

Os dados das análises com o nariz eletrônico foram submetidos a um pré-tratamento visando a correção de linha base e alisamento do sinal. Foram testados quatro métodos de transformação do sinal: fração, diferença, relativo e logaritmo. Para o alisamento foi utilizado o método de Savitzky-Golay com um polinômio de primeiro grau e uma janela de 15 pontos, o objetivo do alisamento foi melhorar a razão sinal/ruído. Especificações da forma como operam as transformações de sinal e o alisamento citados podem ser encontrados em Ferreira, (2015).

Para a entrada de dados do nariz eletrônico nos modelos PLS-DA foram testadas duas abordagens: (i) as curvas transientes dos sensores foram concatenadas formando um único vetor linha de sinal para cada amostra e (ii) a variação máxima do sinal, a área total abaixo das curvas, a inclinação de adsorção e a inclinação de dessorção de cada sensor foram concatenadas para formar um vetor linha para cada amostra. A abordagem (i) considera o sinal transiente dos sensores e a abordagem (ii) as características estáticas das curvas de cada sensor.

O algoritmo Kennard-Stone foi utilizado com o objetivo de separar as amostras em um grupo de calibração (AC) com amostras que representassem toda a variabilidade dos dados para a construção dos modelos e um grupo com amostras para previsão (AP) para validar os modelos obtidos. O grupo das amostras de calibração (AC) foi composto por 2/3 das 107 amostras (71 amostras) e o grupo de previsão (AP) com as amostras restantes, 1/3 (36 amostras).

Foi utilizada a validação cruzada 5-fold para estimar o número mais adequado de variáveis latentes (LVs), ou seja, que apresentasse menor raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada (RMSECV) e maior percentagem de classificação correta de validação cruzada (PCCCV).

Também foi feita avaliação da existência de amostras anômalas (*outliers*) com a estatística Q (resíduos quadráticos da matriz X) e  $T^2$  (Hotelling) no conjunto das amostras. Com esse método de avaliação de *outliers* as amostras que apresentaram, simultaneamente, valores de Q e  $T^2$  de Hotelling superiores aos valores críticos são consideradas anômalas com 95% de confiança Santana et al., (2020).



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As figuras de mérito dos melhores modelos PLS-DA estão apresentadas na Tabela 1. O modelo PLS-DA com três variáveis latentes (LVs) usando os dados das análises tradicionais obteve 88,57% de classificação correta para o conjunto de previsão usando-se a normalização do tipo pareto. As amostras analisadas apresentam uma grande diferença de composição química devido à variabilidade de cor e de flora utilizada pelas abelhas. Assim, a porcentagem de classificação correta indica uma diferenciação importante nas amostras de Ortigueira levando-se em conta essa grande variabilidade intrínseca do conjunto amostral.

Tabela 1 – Melhores modelos PLS-DA para a classificação dos méis usando dados físico-químicos (análises tradicionais) e dados obtidos pelo nariz eletrônico *lab-made*.

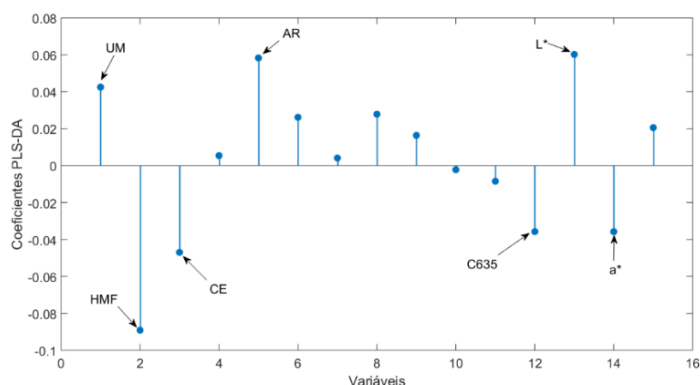
|                | Análises Tradicionais | Sinal Transiente dos sensores | Características estáticas dos sensores |
|----------------|-----------------------|-------------------------------|----------------------------------------|
| Pré-tratamento | -                     | Diferença                     | Logaritmo                              |
| Normalização   | Pareto                | Centrar na média              | Pareto                                 |
| LV             | 3                     | 7                             | 4                                      |
| RMSEC          | 0,3855                | 0,2602                        | 0,3888                                 |
| PCCC           | 81,43                 | 92,06                         | 82,61                                  |
| AUCC           | 0,8059                | 0,9809                        | 0,9159                                 |
| RMSEP          | 0,3081                | 0,3833                        | 0,3655                                 |
| PCCP           | 88,57                 | 80,00                         | 81,82                                  |
| AUCP           | 0,9394                | 0,9048                        | 0,9421                                 |
| VARX           | 0,7223                | 0,9837                        | 0,9592                                 |
| VARY           | 0,3103                | 0,6785                        | 0,3198                                 |
| AC             | 70                    | 63                            | 69                                     |
| AP             | 35                    | 30                            | 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 de calibração; RMSEP – Raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão; PCCP – Porcentagem de classificação correta de previsão; AUCP – Área abaixo da curva de previsão; VARX – Variância relacionada a variável X; VARY – Variância relacionada a variável Y; AC – Amostras de calibração; AP – amostras de previsão. Fonte: Autoria própria (2020).

Para compreender a classificação realizada pelo modelo PLS-DA é importante a análise dos coeficientes de regressão atribuídos para cada variável. Na construção do modelo, aos méis de Ortigueira é atribuído o valor 1 e aos méis de outras cidades o valor 0. Assim, os coeficientes positivos elevam as respostas de saída do PLS-DA, enquanto os coeficientes negativos reduzem as repostas.

Na Figura 1 é possível notar que os maiores coeficientes positivos foram das análises de umidade, açúcar redutor e luminosidade, ou seja, esses parâmetros, de acordo com o modelo, são mais elevados para as amostras de Ortigueira. Já o hidroximetilfurfural, condutividade elétrica, absorbância a 635 nm e a\* (verde-vermelho) apresentaram os maiores coeficientes negativos, logo, esses parâmetros são mais elevados para as amostras das outras cidades.

Figura 1: Coeficientes dos modelos PLS-DA para os dados físico-químicos. UM – umidade; AR – açúcar redutor; L\* - luminosidade; HMF – hidroximetilfurfural; CE – condutividade elétrica; C635 - absorbância a 635 nm; a\* - verde-vermelho.



Fonte: Autoria própria (2020).

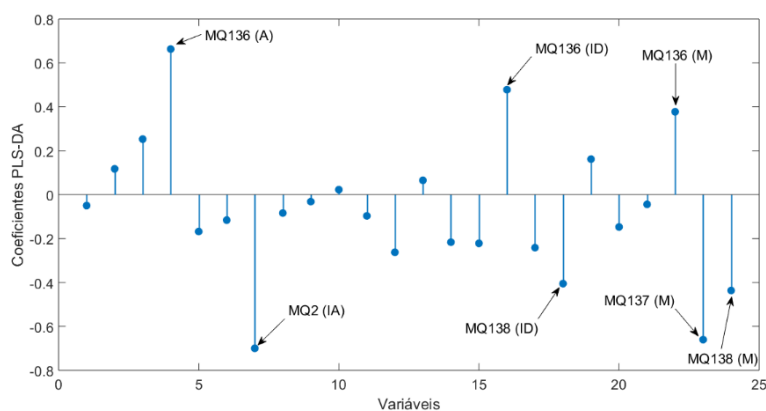
O resultado obtido através da análise dos coeficientes do modelo PLS-DA está de acordo com Scholz et al., (2020) que estudaram a indicação da origem geográfica dos méis de Ortigueira utilizando métodos físico-químicos e análise multivariada. Neste trabalho, também foi concluído que ao comparar os méis de Ortigueira com os méis de outras cidades, era possível observar uma diferença significativa em várias análises tradicionais, entre elas, L\*, a\*, HMF, C635, CE. Os mesmos autores indicam que a diferença nos teores de HMF são indicadores de manejos apícolas diferentes. Já os menores valores médios de C635 e altos valores de L\* estão associados a uma coloração mais clara dos méis de Ortigueira.

Com relação ao sinal transiente dos sensores do nariz eletrônico (Tabela 3) fica evidente que o método da diferença combinado com a normalização centrar na média obteve o maior percentual de classificação correta de previsão, 80,00%. Já para as características estáticas dos sensores, nota-se que o maior percentual de classificação correta foi obtido para o pré-tratamento logaritmo combinado com o método pareto de normalização, 81,82%.

Comparando as percentagens de classificação correta de previsão das análises feitas com o nariz eletrônico com a percentagem das análises tradicionais é possível notar um desempenho similar do nariz eletrônico. As análises tradicionais obtiveram um resultado ligeiramente melhor, entretanto, quando se leva em consideração o tempo de execução e o valor dessas análises o desempenho de classificação do nariz eletrônico *lab-made* se torna muito plausível por conta de suas vantagens, como um curto tempo de preparação de amostras, menor tempo análise, baixo custo de construção do equipamento e de preparação de amostras.

Foi feita a análise dos coeficientes do melhor modelo obtido para os dados do nariz eletrônico e os resultados estão representados na Figura 2. Pode-se notar que as amostras de Ortigueira foram mais diferenciadas, com as características estáticas do sensor MQ136 da área total abaixo da curva, inclinação de dessorção e variação máxima do sinal. Por outro lado, as amostras de outras cidades foram mais diferenciadas por conta da inclinação de adsorção no sensor MQ2, inclinação de dessorção no sensor MQ138 e variação máxima do sinal nos sensores MQ137 e MQ138.

Figura 2: Coeficientes dos modelos PLS-DA para os dados do nariz eletrônico (características estacionárias dos sensores). A – área total abaixo da curva; ID – inclinação de dessorção; M – variação máxima do sinal; IA – inclinação de adsorção.



Fonte: Autoria própria (2020).

## CONCLUSÃO

A discriminação das amostras de mel da cidade de Ortigueira com o nariz eletrônico *lab-made* apresentou um resultado satisfatório com percentagens de classificação correta de previsão, tanto para o sinal transiente quanto para as características estáticas dos sensores, próximas da percentagem de classificação correta das análises físico-químicas tradicionais.

Além da boa capacidade de discriminação geográfica outros dois fatores importantes nas análises com o nariz eletrônico são o baixo custo e curto tempo de análise. Enquanto a realização das análises tradicionais pode levar meses, aplicando o método de análise rápida o tempo é reduzido para dias.

A melhor combinação de pré-tratamento e modelo de normalização para os sinais transientes e as características estáticas dos sensores foram, respectivamente, método de diferença com centralização na média e método logaritmo normalizado com pareto.

O PLS-DA com o método pareto de normalização mostrou que a diferença entre as análises tradicionais do teor de umidade, açúcar redutor, luminosidade, hidroximetilfurfural, condutividade elétrica, absorbância a 635 nm (C635) e  $a^*$  (verde-vermelho) foram os parâmetros mais importantes para diferenciar os méis de Ortigueira dos méis de outras cidades.

Por outro lado, o PLS-DA com o mesmo método de normalização, porém utilizando as características estáticas dos sensores, mostrou que a diferença na área total abaixo da curva, inclinação de dessorção, variação máxima do sinal no sensor MQ136 foram importantes para a discriminação dos méis de Ortigueira.

## AGRADECIMENTO

Ao CNPq, por meio do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC, pela concessão da bolsa de estudos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa SDA nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel.** Brasília, 2000. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/IN-11-de-2000.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2020.

COSTA, F. M. B. **Caracterização físico-química, conteúdo em bioativos e perfil volátil de méis do Rio Grande do Sul.** 2016. Tese de doutorado (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

FERREIRA, M. M. C. et al. **Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial.** Química Nova, v. 22, n. 5, p. 724–731, set. 1999.

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

MAKIMORI, G. Y. F. **Desenvolvimento de nariz eletrônico de baixo custo: comparativo entre a discriminação instrumental e perfil descritivo quantitativo na análise de cafés torrados comerciais.** 2018. 148f. – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal Do Paraná. Campus De Campo Mourão, 2018.

SANTANA, F. 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, n.3, p.371-381, 2020.

SCHOLZ, M. B. DOS S. 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, 2 maio 2020.

SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Mel do Paraná se destaca pela qualidade na produção. Governo do Estado do Paraná.** Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/Noticia/Mel-do-Parana-se-destaca-pela-qualidade-na-producao%3E>. Acesso em: 1 abr. 2020.

SENA, M. M. DE et al. **Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos.** Química Nova, v. 23, n. 4, p. 547–556, ago. 2000.

SIDDIQUI, A. J. et al. **Application of analytical methods in authentication and**



**adulteration of honey.** Food Chemistry, v. 217, p. 687–698, fev. 2017.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. DA. **Características do Mel.** 2007. Boletim técnico. Programa Institucional de Extensão – Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Vitória – ES, 2007.