



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

## Aplicação de voltametria no estudo de amostras de mel

### *Application of voltammetry in the study of honey*

Vítor Antônio Vitali Ribeiro\*, Evandro Bona†,  
Maria Brígida dos Santos Scholz‡, Mário Henrique Montazzolli Killner§

### RESUMO

A origem geográfica é fator intrínseco as características dos méis. Teor de umidade, atividade diastásica, hidroximetilfurfural, condutividade elétrica, açúcar redutor, açúcar total, acidez livre, acidez lactônica, acidez total, pH, prolina e cor são análises físico-químicas tradicionais. O objetivo desse trabalho foi utilizar uma língua eletrônica voltamétrica, utilizando três eletrodos distintos como eletrodo de trabalho para discriminar/classificar méis da cidade de Ortigueira-PR. Os dados obtidos com a língua eletrônica e os eletrodos foram tratados com métodos quimiométricos utilizando-se o software MATLAB R2021a. Foi realizada a análise de componentes principais (PCA) dos dados centrados na média. Além disso foram construídos modelos PLS-DA com os dados da língua eletrônica e com os dados de análises tradicionais. O percentual de classificação correta dos méis de Ortigueira no conjunto de previsão foi de 88,57% para o modelo usando os dados de análises tradicionais. Com os dados da língua eletrônica e os eletrodos C60, nanoFe e CV obtiveram, respectivamente, os percentuais de classificação correta de, 94,44%, 88,89% e 83,33%. Considerando o baixo custo dos eletrodos construídos e da língua eletrônica e a rapidez das análises realizadas, o desempenho foi muito satisfatório.

**Palavras-chave:** Quimiometria, Voltametria, Designação de origem.

### ABSTRACT

The geographical origin is an intrinsic factor in the characteristics of the honeys. Moisture content, diastase activity, hydroxymethylfurfural, electrical conductivity, reducing sugar, total sugar, free acidity, lactone acidity, total acidity, pH, proline and color are traditional physicochemical analyses. The objective of this work was to use a voltammetric electronic tongue, using three different electrodes as a working electrode to discriminate/classify honeys from the city of Ortigueira-PR. The data obtained with the electronic tongue and the electrodes were treated with chemometric methods using the MATLAB R2021a software. Principal component analysis (PCA) of the data centered on the mean was performed. In addition, PLS-DA models were built using electronic language data and traditional analysis data. The percentage of correct classification of Ortigueira honeys in the forecast set was 88.57% for the model using traditional analysis data. With the electronic tongue data and the C60, nanoFe and CV electrodes, they obtained, respectively, the correct classification percentages of 94.44%, 88.89% and 83.33%. Considering the low cost of the constructed electrodes and the electronic tongue and the speed of the analyzes carried out, the performance was very satisfactory.

**Keywords:** Chemometrics, Voltametry, Designation of origin.

\* Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil; [vitorribeiro@alunos.utfpr.edu.br](mailto:vitorribeiro@alunos.utfpr.edu.br)

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão; [ebona@utfpr.edu.br](mailto:ebona@utfpr.edu.br)

‡ Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-PR), Londrina, Paraná, Brasil; [mbscholz@iapar.br](mailto:mbscholz@iapar.br)

§ Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil; [killner@uel.br](mailto:killner@uel.br)



## 1 INTRODUÇÃO

Definido como um fluido açucarado, natural, viscoso, com coloração variável e derivado de secreções e do néctar de vegetais, o mel é produzido por abelhas *Apis mellifera* (BERA; MURADIAN, 2007).

Existem dois grupos de fatores que influenciam diretamente nas características dos méis, os fatores biológicos, como espécie das abelhas, raio de abrangência de voo e número de abelhas na colmeia e os fatores ambientais, que são o clima, o solo, umidade, vegetações preponderantes, tempo e condições de armazenamento após a colheita (SIDDIQUI et al., 2017).

Compostos presentes na região originária influenciam diretamente no mel produzido, no estado do Paraná a cidade de Ortigueira produz um mel que retrata um bom exemplo do descrito. O município da região central do estado do Paraná possui uma certificação por Denominação de origem pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), por ser relacionado a um produto que apresenta características específicas do meio geográfico (SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO, 2021).

A qualidade do mel brasileiro é regulada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) com a normativa 11, de 20 de outubro de 2000 - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel, que estabelece padrões para análises físico-químicas realizadas nos méis como 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).

A língua eletrônica é definida como sendo um conjunto de sensores não específicos que não fornecem informações sobre a origem dos compostos presentes na amostra analisada, que pode ser um alimento líquido ou um alimento sólido dissolvido em um determinado líquido, mas determinam uma impressão digital do alimento analisado (GHASEMI-VARNAMKHASTI; MOHTASEBI; SIADAT, 2010; SIDDIQUI et al., 2017). A análise da matriz alimentar com uma língua eletrônica voltamétrica é realizada com um eletrodo de trabalho, um contra eletrodo e um eletrodo de referência (TIWARI et al., 2013). Normalmente se utilizam vários métodos de varredura de potencial (WEI; WANG, 2013).

Com a sofisticação dos métodos de análises químicas surgiu a necessidade de metodologias de tratamento de dados mais eficientes. Nesse contexto, a quimiometria é definida como sendo a utilização de métodos estatísticos e matemáticos visando o planejamento e condições adequadas para experimentos e obtenção de dados e tem por objetivo a otimização de extração de informações e de processos/experimentos, realização de análises exploratórias de dados, etc (FERREIRA, 2015).

Comumente, o eletrodo de trabalho utilizado é de carbono vítreo. Há diversos eletrodos destes disponíveis no mercado e com desempenhos muito interessantes. Entretanto, o custo desses é relativamente elevado quando se tem por objetivo uma análise instrumental de baixo custo. Tendo isso em vista, o objetivo desse trabalho foi a construção de eletrodos de carbono modificados com nanopartículas de ferro para a substituição do eletrodo de carbono vítreo na análise de amostras de mel com uma língua eletrônica de baixo custo, a fim de se conseguir a discriminação geográfica de amostras de mel de Ortigueira – PR.

## 2 MÉTODO (OU PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DA PESQUISA)

Para a língua eletrônica desse estudo foi utilizado um potenciostato de baixo custo desenvolvido para computador de placa única do tipo Raspberry Pi. O potenciostato foi desenvolvido em parceria com a Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Química com o Professor Doutor Mário Henrique Montazzolli Killner. Juntamente com o equipamento foi desenvolvido um software, PotenciosPi, utilizado para



realização das análises com os parâmetros desejados. Também foram utilizados três eletrodos, um de referência de prata/cloreto de prata (Analion), um contra eletrodo com fio de platina de 5 cm x 0,5mm – 50mm (Dinâmica). Como eletrodo de trabalho foram testados três eletrodos diferentes: eletrodo de carbono (C60) e modificado com nanopartículas de óxido de ferro (nanoFe), desenvolvidos em laboratório e com composição explicitada na Tab. 1, e carbono vítreo comercial (Analion) para comparação com os eletrodos desenvolvidos no laboratório.

**Tabela 1 - Eletrodos de trabalho testados.**

Eletrodo	Resina epóxi* (%)	Grafite** (%)	Nanopartículas de óxido de Ferro (%)
C60	40,00	60,00	0,00
nanoFe	39,75	59,75	0,50

\* Araldite

\*\* Dinâmica

**Fonte: Autoria própria (2021).**

A metodologia de síntese das nanopartículas de óxido de ferro é de Souza (2011) com algumas modificações. Primeiramente foram adicionados 100mL de  $\text{FeCl}_3$  0,6mol/L e 100mL de  $\text{FeCl}_2$  0,3mol/L a um recipiente fechado e com atmosfera de  $\text{N}_2$ , com agitação constante superior a 800rpm e 40°C, durante uma hora. Objetivando-se um pH próximo a 11, foram adicionados 100mL de NaOH 2,4mol/L. Posteriormente, foram adicionados 3mL de ácido cítrico 1,7mol/L com o intuito de evitar aglomeração das partículas. Depois de frio, o precipitado foi decantado magneticamente com o auxílio de ímãs e o sobrenadante foi eliminado, obtendo-se as nanopartículas. Depois de separadas, as nanopartículas foram enxaguadas com água ultrapura e levadas a estufa por cerca de 4h a 40°C. Após isso, as nanopartículas estavam prontas para serem utilizadas.

A metodologia de confecção de eletrodos foi baseada em Possebon (2019) com modificações. Para a confecção dos eletrodos, com ou sem nanopartículas, misturava-se grafite com resina epóxi e colocou-se em uma das extremidades de um tubo cilíndrico acrílico, com as composições já apresentadas. Na extremidade oposta foi colocado um fio condutor de cobre, servindo como ponte entre a pasta e o potenciostato.

A síntese do eletrodo modificado com nanopartículas de óxido de ferro diferencia-se somente da metodologia acima pela adição de 0,5% de nanopartículas ao grafite utilizado.

Cento e sete amostras de mel foram disponibilizadas pelo IAPAR (Instituto Agrônomo do Paraná) de Londrina – PR e são de municípios do estado do Paraná, sendo 72 de Ortigueira, e Santa Catarina, coletadas nos anos de 2010 e 2011. Juntamente com os dados de coloração, o IAPAR disponibilizou dados de análises tradicionais feitas com as cento e sete amostras de mel, como umidade, atividade diastásica, hidroximetilfurfural (HMF), condutividade elétrica, açúcar redutor, açúcar total, acidez livre, acidez lactônica, acidez total, pH e prolina.

As amostras foram preparadas dissolvendo-se 1g de mel em 25mL de solução tampão ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1 mol/L + KCl 0,1 mol/L) (POSSEBON, 2019). Estas foram analisadas com a língua eletrônica por voltametria cíclica (VC). Para a voltametria cíclica o melhor potencial inicial de varredura foi de -1,00 V e o final 1,00 V, intervalo de aquisição de dados de 10 mV, velocidade de varredura de 100 mV/s e realização de três ciclos de varredura. Após a leitura de cada amostra o eletrodo de trabalho era lixado e enxaguado com água ultrapura.

O tratamento dos dados coletados foi feito com métodos quimiométricos e intermediados pelo software MATLAB R2021a. Foram realizadas análises exploratórias dos dados com a análise de componentes principais (PCA) dos dados centrados na média.



A análise de PLS-DA foi utilizada para realizar a discriminação de grupos e para evidenciar variáveis decisivas nessa discriminação (FERREIRA, 2015). Foi escolhida a variante PLS2-DA do modelo de análise para a realização deste trabalho, isto pois, é mais utilizada para problemas multiclasse. É possível encontrar detalhes da análise de PLS-DA em Santana et al., (2020).

Os dados de análises tradicionais das amostras de mel disponibilizados pelo IAPAR 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.

Foi utilizado o algoritmo Kennard-Stone buscando-se separar as amostras em um grupo de calibração (AC) composto por amostras que representassem fielmente a variabilidade dos dados para a construção do modelo, 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).

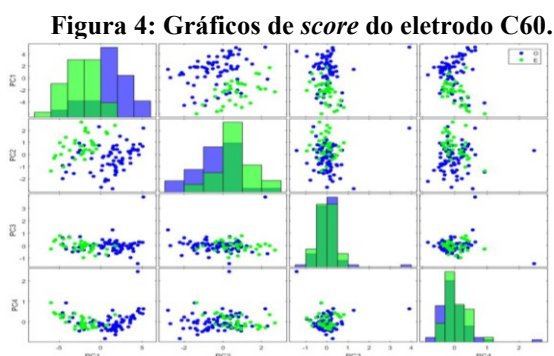
Também foi utilizada a validação cruzada por 5-fold para estimar o número mais adequado de variáveis (LVs) latentes a serem utilizadas, ou seja, o número de LVs que apresentasse a menor raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração de validação cruzada (RMSECV) e maior percentagem de classificação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

Além disso 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.

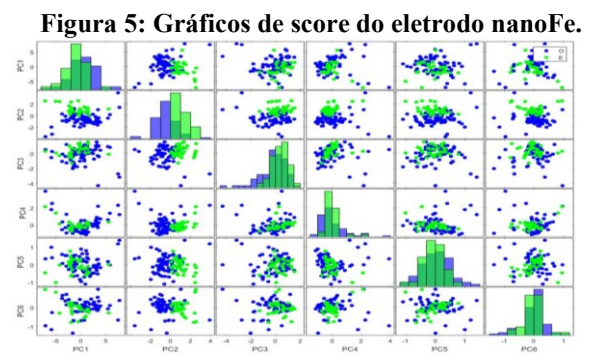
### 3 RESULTADOS

Foi realizada a análise de componentes principais para os dados obtidos com cada eletrodo. A análise de componentes principais conseguiu agrupar os dados do eletrodo C60 em 4 PCs enquanto os dados dos eletrodos nanoFe e o eletrodo CV foram agrupados em 6 e 5 PCs, respectivamente. As Figuras 4, 5 e 6 apresentam os gráficos de *score* obtidos.

Os gráficos de *scores* obtidos da análise de componentes principais demonstraram um desempenho superior do eletrodo C60 em comparação aos demais, nanoFe e CV. Quando se analisa o gráfico de *scores* nas PCs 1 e 2 para o eletrodo C60 é possível perceber uma separação das amostras de Ortigueira. Nos gráficos de *score* para o eletrodo nanoFe também é possível visualizar uma separação, porém também é observada uma maior sobreposição das duas classes de amostras. Já para o eletrodo CV não é possível observar separação clara das amostras de mel.

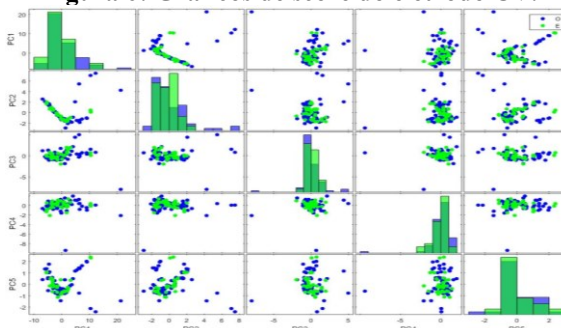


Fonte: A autoria própria (2021).



Fonte: A autoria própria (2021).

**Figura 6: Gráficos de score do eletrodo CV.**



Fonte: Autoria própria (2021).

**Tabela 2.** Modelos PLS-DA para classificação dos méis usando dados físico-químicos e dados da língua eletrônica.

Eletrodo	Análises Tradicionais		Língua eletrônica (análise rápida)		
	-		C60	nanoFe	CV
Normalização	Pareto		Centrar na média	Centrar na média	Centrar na média
LV	3		2	3	6
RMSEC	0,3855		0,3300	0,3029	0,3824
PCCC	81,43		83,10	82,73	80,28
AUCC	0,8059		0,9257	0,9746	0,8641
RMSEP	0,3081		0,2854	0,3602	0,3930
PCCP	88,57		94,44	88,89	83,33
AUCP	0,9394		0,9722	0,9028	0,8542
VARX	0,7223		0,9015	0,9365	0,9467
VARY	0,3103		0,5026	0,3742	0,3324
AC	70		71	71	71
AP	35		36	36	36

\* 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 (2021).

Após a análise exploratória, foram construídos modelos de classificação usando o método PLS-DA e suas figuras de mérito estão apresentadas na Tab. 2. Os dados de análises tradicionais do mel compuseram um modelo PLS-DA com um percentual de classificação correta de previsão de 88,57% e uma raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão de 0,3081. Em contraste, o melhor modelo de classificação das amostras com a língua eletrônica foi obtido com dados do eletrodo C60 com um percentual de classificação correta na previsão de 94,44% e raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão de 0,2854. Os resultados obtidos demonstram que o eletrodo C60 apresentou um resultado muito satisfatório, com capacidade discriminatória superior até mesmo aos das análises tradicionais. Destaca-se ainda a rapidez da análise usando a língua eletrônica e o baixo custo para a produção dos eletrodos C60. Em contrapartida ao resultado satisfatório do eletrodo C60, o eletrodo modificado com nanopartículas de óxido de ferro (nanoFe) não apresentou resultados superiores ao mesmo. Há suspeita de que a concentração de nanopartículas tenha sido insuficiente para aumentar a sensibilidade do eletrodo.



## 4 CONCLUSÃO

A discriminação das amostras de Ortigueira com a língua eletrônica e os eletrodos construídos em laboratório apresentou um resultado muito satisfatório. 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 tradicionais, o que foi um resultado positivo provando o potencial de discriminação da língua eletrônica, que é um equipamento de análise rápida e baixo custo.

Além disso, a porcentagem de classificação correta na previsão obtida com o eletrodo C60 foi maior que a obtida com as metodologias de análises tradicionais. 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.

O eletrodo nanoFe obteve porcentagem de classificação correta na previsão intermediária à do eletrodo CV e do eletrodo C60, não tendo aumentado a sensibilidade do eletrodo em questão. Acredita-se que a quantidade de nanopartículas tenha sido insuficiente para obter o resultado desejado.

## AGRADECIMENTOS

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

- BERA, A.; MURADIAN, L. B. DE A. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do estado de São Paulo. v. 27, n. 1, p. 49–52, 2007.
- 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.
- FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações.** [s.l.] Editora da Unicamp, 2015.
- GHASEMI-VARNAMKHAZI, M.; MOHTASEBI, S. S.; SIADAT, M. Biomimetic-based odor and taste sensing systems to food quality and safety characterization: An overview on basic principles and recent achievements. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 377–387, out. 2010.
- POSSEBON, G. Análise voltamétrica cíclica: Uma ferramenta para a análise qualitativa de mel. **Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) - Instituto Politécnico de Bragança**, 2019.
- 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.
- SIDDIQUI, A. J. et al. Application of analytical methods in authentication and adulteration of honey. **Food Chemistry**, v. 217, p. 687–698, fev. 2017.
- SOUZA, A. T. DE. Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro para aplicações biomédicas – um estudo citotóxico em linhagem celular de carcinoma cervical humano (células HeLa). **Repositório Institucional UNESP**, p. 131, 2011.
- TIWARI, K. et al. Identification of monofloral honey using voltammetric electronic tongue. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 2, p. 205–210, jul. 2013.
- WEI, Z.; WANG, J. The evaluation of sugar content and firmness of non-climacteric pears based on voltammetric electronic tongue. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 1, p. 158–164, jul. 2013.