

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Método *non-targeted* aplicado em méis de abelha sem ferrão:
combinação de análises físico-químicas e eletroanalítica com
quimiometria**

Victor Leonardo Rodrigues Pinheiro

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Método *non-targeted* aplicado em méis de abelha sem ferrão:
combinação de análises físico-químicas e eletroanalítica com
quimiometria**

Victor Leonardo Rodrigues Pinheiro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste/*Campus* Toledo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Cleber Antonio Lindino

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Leonardo Rodrigues Pinheiro, Victor

Método non-targeted aplicado em méis de abelha sem ferrão: combinação de análises físico-químicas e eletroanalítica com quimiometria / Victor Leonardo Rodrigues Pinheiro; orientador Cleber Antonio Lindino. -- Toledo, 2024.

67 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Toledo) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.

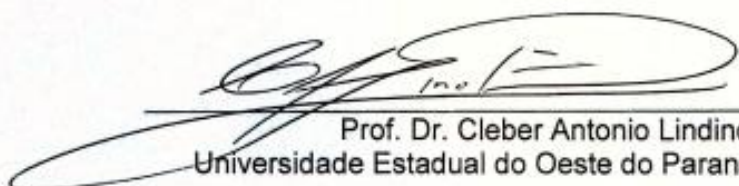
1. abelhas nativas. 2. eletrodo Cu/CuO. 3. qualidade de alimentos. 4. análise multivariada. I. Antonio Lindino, Cleber, orient. II. Título.

Victor Leonardo Rodrigues Pinheiro

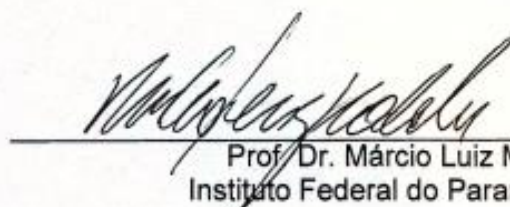
**MÉTODO *NON-TARGETED* APLICADO EM MÉIS DE ABELHA SEM
FERRÃO: COMBINAÇÃO DE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E
ELETROANALÍTICA COM QUIMIOMETRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química, linha de pesquisa Química Analítica e Ambiental (QAA) APROVADA pela seguinte banca examinadora

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Cleber Antonio Lindino
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste)



Prof. Dr. Márcio Luiz Módolo
Instituto Federal do Paraná (IFPR)



Prof. Dr. Renato Eising
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)

**Toledo – PR
2024**

“Viver é enfrentar um problema atrás do outro. O modo como você o encara é que faz a diferença.”

(Benjamin Franklin)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar forças e suporte em todos os momentos.

À minha esposa Tatiane, pelo apoio incondicional, sempre me apoiando em todas as decisões e até mesmo abdicando de suas vontades para ficar ao meu lado quando precisei.

À minha família, pelo suporte e motivação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cleber Antonio Lindino, pelos ensinamentos, orientações e amizade, sempre me motivando e acompanhando nas coletas de amostras.

A todos os meus amigos que me incentivaram para que eu chegasse até aqui.

Ao Nivaldo Marcos, ao professor Dr. Renato Eising e ao Fabiano por possibilitarem as coletas das amostras.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQUI), ao Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Fotoquímica e Eletroquímica Ambiental (GIPeFEA) e à Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste).

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

MÉTODO *NON-TARGETED* PARA APLICADO EM MÉIS DE ABELHA SEM FERRÃO: COMBINAÇÃO DE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E ELETROANALÍTICA COM QUIMIOMETRIA

Victor Leonardo Rodrigues Pinheiro

RESUMO

As abelhas denominadas nativas ou indígenas são abelhas que são incluídas em uma classe denominada Meliponini que abriga cerca de 400 espécies na região Neotropical. Devido à grande diversidade, origem geográfica e tipo de manejo, o mel produzido por estas abelhas pode apresentar variações em seu sabor e aroma e, consequentemente, em sua composição. A diversidade destes aromas e sabores deste mel amplia os usos culinários, mas dificulta a fiscalização e o controle de qualidade deles. Méis de 10 espécies de abelhas sem ferrão foram investigados por meio das análises de pH, condutividade, umidade, voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. Para a análise de voltametria, um eletrodo de Cu/CuO foi construído e os voltamogramas obtidos em NaOH 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte. Os resultados obtidos fizeram parte do banco de dados que foi utilizado no estudo quimiométrico utilizando os métodos de componentes principais (PCA), análise hierárquica de *cluster* (HCA) e análise de regressão multivariada. O PCA foi usado com o objetivo de reter o máximo de informação em termos de variação total contida nos dados, com menor perda possível da informação. O HCA para descobrir agrupamentos naturais das variáveis a partir dos dados observados, agrupando as amostras com base nas similaridades de espécies. A combinação dos métodos PCA, HCA e regressões multivariadas evidenciaram que fatores como a espécie de abelha, o local de coleta e o período de coleta desempenham um papel crucial na determinação dos parâmetros físico-químicos e eletroquímicos do mel. Foi observado que a localidade e o período de coleta foram determinantes para agrupar as amostras por suas similaridades. O período de coleta foi um fator determinante no perfil eletroquímico do mel, influenciando suas propriedades de forma significativa ao longo do ano. O mel de abelha jataí foi o que menos obteve variações das características analisadas e mesmo amostras coletadas em períodos diferentes foram agrupadas por suas características semelhantes.

Palavras-chave: abelhas nativas; eletrodo Cu/CuO; qualidade de alimentos; análise multivariada.

NON-TARGETED METHOD APPLIED TO STINGLESS BEE HONEYS: COMBINATION OF PHYSICOCHEMICAL AND ELECTROANALYTICAL ANALYSES WITH CHEMOMETRICS

Victor Leonardo Rodrigues Pinheiro

ABSTRACT

The so-called native or indigenous bees are included in a class called Meliponini, which includes around 400 species in the Neotropical region. Due to the great diversity, geographical origin and type of management, the honey produced by these bees can vary in taste and aroma and, consequently, in its composition. The diversity of the aromas and flavors of this honey broadens its culinary uses, but makes it difficult to monitor and control its quality. Honeys from 10 species of stingless bees were investigated by means of pH, conductivity, moisture, cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry analyses. For voltammetry analysis, a Cu/CuO electrode was constructed and voltammograms were obtained in 0.1 mol L⁻¹ NaOH as the supporting electrolyte. The results obtained were part of the database that was used in the chemometric study using the principal component analysis (PCA), hierarchical cluster analysis (HCA) and multivariate regression analysis methods. PCA was used to retain the maximum information in terms of total variation contained in the data, with the least possible loss of information. HCA was used to discover natural groupings of variables from the observed data, grouping the samples based on species similarities. The combination of PCA, HCA and multivariate regression methods showed that factors such as bee species, collection site and collection period play a crucial role in determining the physicochemical and electrochemical parameters of honey. It was observed that the location and collection period were decisive in grouping the samples by their similarities. The collection period was a determining factor in the electrochemical profile of honey, significantly influencing its properties throughout the year. Jataí bee honey showed the least variations in the analyzed characteristics and even samples collected at different times were grouped by their similar characteristics.

Keywords: native bees; Cu/CuO electrode; food quality; multivariate analysis.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	13
2 - OBJETIVOS	14
2.1 - Objetivo geral	14
2.2 - Objetivos específicos	14
3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 - Método <i>non-targeted</i> e a impressão digital	18
3.2 - Quimiometria	20
3.3 - Voltametria Cíclica e de Pulso Diferencial	23
3.4 - Hidroximetilfurfural (HMF) e Furfural (FF)	24
4 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	26
4.1 - Síntese do eletrodo de trabalho de Cu/CuO	26
4.2 - Caracterização do eletrodo de trabalho de Cu/CuO	26
4.3 - Coleta das amostras de méis	26
4.4 - Caracterização do mel	27
4.5 - Determinação de hidroximetilfurfural e furfural	28
4.6 - Análise de voltametria cíclica e pulso diferencial	29
4.7 - Análise estatística e estudo quimiométrico	29
4.7.1 PCA e HCA	29
4.7.2 Análise multivariada	30
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 - Síntese do eletrodo de trabalho	31
5.2 - Caracterização do eletrodo Cu/CuO	32
5.3 - Resultados físico-químicos e estatística descritiva	34
5.4 - Determinação de hidroximetilfurfural e furfural	43
5.5 - Voltametria	45
5.6 - Análise de PCA e HCA na estratificação de dados	49
5.7 - Análise multivariada	56
5.7.1 Variação dos resultados em função da espécie	56
5.7.2 Variação dos resultados em função do local	57
5.7.3 Variação dos resultados em função do período de coleta	59
6 - CONCLUSÃO	60
7 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
8 - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	62

LISTA DE ABREVISATURAS

ADAPAR - Agência de Defesa Agropecuária do Paraná

AOA - ácidos orgânicos alifáticos

ASF - abelha sem ferrão

C18 - Coluna cromatográfica de fase reversa com cadeia alquílica de 18 carbonos

CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência

CP - componente principal

DAD - detector de arranjo de diodos

DNA - ácido desoxirribonucleico

FDCA - ácido 2,5-furandicarboxílico

FF - furfural

HCA - análise hierárquica de *cluster*

HMF - hidroximetilfurfural

MEV - microscopia eletrônica de varredura

MRC - material de referência certificado

PCA - análise de componentes principais

PTFE - politetrafluoretileno

VC - voltametria cíclica

VE - variância explicada

VPD - voltametria de pulso diferencial

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Nomes populares e científicos, tamanho, distribuição geográfica e aparência das abelhas sem ferrão.	17
Tabela 2. Nomes, gênero e quantidade de amostras coletadas.	34
Tabela 3. Quantidade, data e local de coleta das amostras de méis.	35
Tabela 4. Resultados de umidade, pH e condutividade para as amostras de méis coletados.	36
Tabela 5. Dados médios dos parâmetros físico-químicos de umidade e pH de mel de meliponíneos do Brasil.	41
Tabela 6: Equação da reta, coeficiente de determinação (R^2), limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) obtidos para as curvas de HMF e FF.	43
Tabela 7: Concentração média de HMF e FF das amostras de méis coletadas nas duas regiões.	44
Tabela 8. Resultados de HMF em ASF em estudos brasileiros.	45
Tabela 9. Discriminação e contribuição das variáveis nas dimensões.	49
Tabela 10. Matriz de carga das variáveis para as primeiras dimensões do PCA.	50
Tabela 11. Resultados da análise multivariada dos parâmetros eletroquímicos do mel em função da espécie da abelha, local de coleta e período de coleta.	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Dendrograma representando discriminação de espécies hipotéticas A e B, construído por ligação de Ward e com a distância euclidiana.	21
Figura 2. Exemplo de gráfico de (a) escores e (b) loading.	22
Figura 3. Reação de formação do HMF [34].	24
Figura 4: Localização dos pontos de coletas marcadas com o <i>Google Maps</i>	27
Figura 5. Curva analítica do percentual de umidade utilizada na caracterização dos méis.	28
Figura 6: (a) Síntese da placa de cobre utilizada para raspagem da superfície para realização das caracterizações, (b) eletrodo de trabalho imerso em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ e (c) utilização do eletrodo nas análises de voltametria.	31
Figura 7: Microscopia Eletrônica de Varredura do eletrodo de trabalho Cu/CuO com ampliações de (a) 100x, (b) 1000x, (c) 5000x e (d) 30000x.	32
Figura 8: comparação da microscopia eletrônica de varredura obtidas por (a) e (b) este trabalho e (c) e (d) por Guellis <i>et al.</i> (2020), ambos utilizando mesmo processo de síntese.	33
Figura 9. Histogramas para (a) umidade, (b) pH e (c) condutividade das amostras.	38
Figura 10. Bloxpot dos valores de umidade dos méis.	38
Figura 11. Bloxpot dos valores de condutividade elétrica.	39
Figura 12. Bloxpot dos valores de pH.	40
Figura 13. Comparação dos voltamogramas de pulso diferencial entre diferentes amostras de mel de abelhas sem ferrão (a) para as 45 amostras e (b) para as amostras coletadas em abril/2023.	46
Figura 14. Comparação dos voltamogramas cíclicos entre diferentes amostras de mel de abelhas sem ferrão (a) para as 45 amostras e (b) para as amostras A1, A13, A14, A25 e A38.	47
Figura 15. Distribuição das variáveis nas primeiras dimensões do PCA (<i>loadings</i>).	51
Figura 16. Distribuição das amostras de mel por espécie de abelha nas dimensões principais da análise de componentes principais (escores).	52
Figura 17. Dendrograma de agrupamento hierárquico das amostras de mel com base nos parâmetros eletroquímicos.	53
Figura 18. Gráficos de (a) escores e (b) <i>loadings</i> obtidos com base no gênero das abelhas.	54
Figura 19. Dendrograma de agrupamento hierárquico das amostras de mel por gênero com base nos parâmetros físico-químicos.	55

1 - INTRODUÇÃO

Os méis das espécies de abelhas sem ferrão são altamente apreciados devido às suas características únicas, como a maior acidez, textura fluida e sabores mais complexos. Essas particularidades tornam o mel de abelha sem ferrão um produto diferenciado e de grande valor comercial.

Como os processos de produção estão relacionados às enzimas adicionadas pelas abelhas, presume-se que a composição do mel seja afetada pela abelha que o produz. Neste caso, a identificação do mel, conferindo-o uma impressão digital em decorrência da sua origem apícola ou geográfica, tem grande potencial como um marcador da originalidade do mel. Em muitos casos ocorrem adulterações do mel de abelhas nativas por meio da inserção de componentes exógenos (xarope de glicose ou mel de *Apis Mellifera*) ou comercialização do mel como sendo de uma espécie, mas na realidade foi produzido por outra. Neste caso, a utilização de métodos de análise não direcionada é de grande importância para investigar as diferenças ou propriedades comuns dentro de um conjunto de méis produzidos por diferentes espécies de abelhas sem ferrão.

O uso de abordagens não direcionadas para o estudo do perfil de méis tem crescido e ganhado destaque na literatura, devido à adoção de análises mais econômicas e simples, como as análises físico-químicas de pH, umidade e condutividade, e métodos eletroanalíticos, como voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. Essas abordagens são impulsionadas por questões altamente complexas, como a distinção da origem apícola, botânica ou geográfica, fornecendo informações valiosas, que funcionam como uma impressão digital essencial para garantir a autenticidade do produto.

Entre as técnicas utilizadas, as análises físico-químicas, em conjunto com a eletroanalítica, destacam-se por serem relativamente simples e robustas. Elas oferecem informações importantes para o estudo das características dos méis, com as respostas obtidas sendo utilizadas para verificar padrões e discriminar conjuntos de dados em diferentes classes, por meio da quimiometria.

Neste trabalho foram utilizadas medições de voltametria cíclica e de pulso diferencial, em conjunto com as análises de pH, condutividade e umidade, para estudar amostras de mel com base na origem apícola, geográfica e período de coleta.

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo geral

Estudar a influência da espécie de abelha, da localização geográfica das colmeias e do período de coleta nas características dos méis de abelhas sem ferrão, utilizando métodos de análise não direcionada.

2.2 - Objetivos específicos

Sintetizar eletrodo de Cu/CuO para análises de voltametria cíclica (VC) e de pulso diferencial (VPD), obtendo dados relativos aos méis produzidos por diferentes espécies de abelha.

Caracterizar os méis por meio de análises de umidade, pH e condutividade, visando à construção da matriz de dados do estudo quimiométrico e à comparação com os valores da literatura.

Utilizar métodos quimiométricos para a investigação dos méis produzidos por 10 espécies de abelha sem ferrão.

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O mel é um dos alimentos mais populares do mundo e seu consumo remonta ao início da civilização humana. Muito conceituado por seu poder nutricional e potenciais propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias e antioxidantes é usado na medicina tradicional há mais de mil anos [1].

O mel é produzido a partir da conversão de dissacarídeos de sacarose presentes no néctar ou secreções de plantas em monossacarídeos de glicose e frutose pelas abelhas [2]. A composição do mel também inclui componentes em menor teor como minerais, ceras, enzimas, proteínas, ácidos orgânicos e água. Além disso, fatores como a origem floral e geográfica, métodos de processamento e a espécie de abelha são determinantes nas propriedades físico-químicas e organolépticas [3].

A maior parte do mel produzido é oriundo da espécie *Apis mellifera*, conhecida como abelha europeia ou africanizada devido à sua alta produtividade [3], entretanto existem mais de 500 espécies identificadas em todo o mundo em 32 gêneros [4], conhecidas como nativas, indígenas ou abelhas sem ferrão (ASF) - (ordem *Hymenoptera*, família *Apidae*, subfamília *Meliponinae*). O mel dessas abelhas costuma ter maior valor agregado devido a maior escassez e maiores níveis de atividade antioxidante e biológica [5].

No Brasil, a quantidade de mel produzida pelos meliponíneos pode variar de 1 a 10 kg por ano, dependendo tanto da espécie quanto da região. Em comparação, uma colônia de *Apis mellifera* geralmente alcança uma produção média de 15 kg de mel anualmente. Apesar da menor produtividade, o mel das ASF tem um valor de mercado consideravelmente mais alto. Essa diferença de preço depende da espécie de abelha que produziu o mel, da região onde ele é vendido, da forma de apresentação do produto e da demanda do mercado [6].

Em 2021, o Brasil alcançou um recorde na produção de mel, conforme os dados da Pesquisa Pecuária Municipal do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). A produção totalizou 55,8 mil toneladas, representando um aumento de 6,4% em relação ao ano anterior [7]. Em 2022, este valor chegou a 60,966 toneladas (aumento de 9,3 %), sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor (15% do total) e o Paraná em segundo lugar (14% do total) [8].

Os açúcares redutores constituem a maior parte dos açúcares presentes no mel de flores [67], sendo a frutose e a glicose os principais componentes, encontrados em proporções variadas [9]. Para *Melipona quadrifasciata* (mandacari), foram reportados teores de açúcares variando de 60,60% [10] a 71,63% [11]. Para *Scaptotrigona bipunctata*

(tubuna), os valores registrados variam de 58,68% [10] a 67,73% [12]. Já para *Tetragonisca angustula* (jataí), os teores oscilam entre 55,46% e 66,75% [11]. No caso de *Melipona mondury* (bugia), os teores de açúcares variam entre 64,45% [13] e 67,77% [11].

Comparado ao mel de *Apis mellifera*, o mel de ASF geralmente apresenta menores teores de açúcares. Bana e colaboradores [14], ao compararem 18 amostras de méis de ASF e 16 amostras de *Apis*, encontraram teores de açúcares redutores variando entre 27,31% e 64,06% para os méis de ASF, com média de $53,24\% \pm 9,99$. Para os méis de *Apis* os teores variaram entre 62,95% e 72,15%, com média de $67,41\% \pm 3,14$.

A Tabela 1 mostra algumas informações para as 10 espécies coletadas neste trabalho, como os nomes popular e científico, tamanho, distribuição geográfica e aparência das abelhas.

Tabela 1: Nomes populares e científicos, tamanho, distribuição geográfica e aparência das abelhas sem ferrão.

Nome popular	Nome científico	Tamanho médio do corpo (mm)	Distribuição geográfica conhecida	Aparência
Mandaçaia	<i>Melipona quadrifasciata</i>	10		
Tubuna	<i>Scaptotrigona bipunctata</i>	5,5		
Jataí	<i>Tetragonisca angustula</i>	4		
Manduri Preta	<i>Melipona torrida</i>	7		
Manduri Amarela	<i>Melipona marginata</i>	7		
Bugia	<i>Melipona mondury</i>	10		
Borá	<i>Tetragona clavipes</i>	6,5		
Guaraipo Negra	<i>Melipona Bicolor</i>	9,5		
Mandaguari Preta	<i>Scaptotrigona depilis</i>	5,5		
Mandaguari Amarela	<i>Scaptotrigona xanthotricha</i>	6		

Fonte: Adaptado de [15].

É importante reconhecer que a distribuição geográfica das espécies apresenta algumas limitações, pois se baseia em informações obtidas de parte da comunidade de especialistas em abelhas sem ferrão, espécimes guardados em coleções biológicas e

estudos científicos disponíveis. Além disso, nem todos os dados das coleções biológicas estão digitalizados [16].

Devido às características intrínsecas do mel, um conceito que está ganhando destaque é a investigação das chamadas impressões digitais de alimentos, apresentando elevado potencial em relação a caracterização e verificação de identidade do produto. A concepção de impressão digital de alimentos está relacionada com a abordagem de método não direcionado de análise, do inglês *non-targeted method*, que não busca a identificação de um componente específico, mas estudar o perfil da matriz. Essa metodologia gera grandes conjuntos de dados que podem ser apresentados como previsão de separação de classes [17-18].

3.1 - Método *non-targeted* e a impressão digital

Ao longo da história, a maioria das abordagens analíticas para autenticação de alimentos concentrou-se em analitos individuais o que, frequentemente, apresenta limitações. Essa abordagem, ao detectar apenas um composto de cada vez, fornece informações restritas. Isso se torna evidente, por exemplo, na detecção de adulterações e na identificação de alimentos, situações que geralmente envolvem matrizes complexas, como no caso do mel [19].

A complexidade associada à autenticação de alimentos deu origem a um novo campo de pesquisa interdisciplinar, resultando em terminologias distintas: a abordagem direcionada e a abordagem não-direcionada de análise. Os termos "perfil", "assinatura" e "impressão digital" são os mais frequentemente empregados em publicações. Alguns autores utilizam expressões como "impressões digitais elementares" [20] e "perfil elementar" [21], os quais estão intimamente relacionados aos conceitos de "marcadores primários" e "marcadores secundários".

Um marcador analítico é um alvo predefinido relacionado direta ou indiretamente à questão de autenticação. O marcador primário fornece um resultado que está ligado diretamente a um problema específico de autenticidade. Pode ser um composto químico que depende dos limites legais estabelecidos, como melamina no leite em pó e o hidroximetilfurfural (HMF) no mel. Por outro lado, um marcador secundário fornece informações indiretas sobre a autenticidade de um produto, podendo ser elementos químicos, macromoléculas como DNA, açúcares etc. [19].

Os marcadores secundários são geralmente avaliados usando valores limiares ou fatores de conversão estabelecidos e internacionalmente reconhecidos, como, por exemplo, a determinação da presença de carne de cavalo em carne bovina, utilizando como

marcador o DNA, baseando-se em um material de referência certificado (MRC) contendo 1% de carne de cavalo em carne bovina. Assim, em um caso hipotético em que foi detectado DNA da carne de cavalo em carne bovina, isso representaria apenas uma informação indireta, ou seja, esses resultados qualitativos ou quantitativos dos métodos direcionados fornecem informações sobre a autenticidade com base em limites legais ou limiares estabelecidos [19].

Nesse sentido, a análise direcionada abrange a detecção ou quantificação de um ou mais alvos analíticos previamente definidos, podendo ser os marcadores primários e secundários. No lado oposto há a análise não direcionada, também conhecida como “impressão digital” e constitui uma abordagem que simultaneamente identifica múltiplos alvos ou pontos de dados não especificados. Essas análises tendem a ser qualitativas e são particularmente valiosas quando marcadores primários ou secundários não estão claramente definidos ou disponíveis.

No contexto da autenticação de alimentos, a analogia da “impressão digital” se refere à apresentação de vários parâmetros não-direcionados que englobam informações provenientes de um método analítico. Um exemplo claro dessa analogia é a aplicação da impressão digital em méis, na qual essa abordagem é empregada para determinar a origem botânica, geográfica ou diferenciar espécies de abelhas, com base nos dados obtidos das análises dos méis, no qual a impressão digital pode ser derivada de várias técnicas analíticas [19].

3.2 - Quimiometria

Na história, a primeira referência à quimiometria foi relatada na literatura na década de 1970 como uma tradução inglesa do termo sueco “*kemometri*”, proposto por Svante Wold [22]. A definição de que quimiometria [...] *é a disciplina química que utiliza método matemáticos, estatísticos e outros métodos que empregam lógica formal para projetar ou selecionar procedimentos de medição e experimentos, e para fornecer o máximo de informações químicas relevantes através da análise de dados químicos*” é uma das definições mais aceitas [23].

O avanço da quimiometria pode ser relacionado com a melhoria dos computadores e capacidade de processamento, visto que ela usa modelagem matemática nas abordagens multivariadas para interpretar a quantidade enorme de dados químicos em áreas como reconhecimento de padrões, análise fatorial, espectroscopia e até em cromatografia [24].

Técnicas quimiométricas auxiliam na extração dos dados. Os modelos quimiométricos extraem as informações mais relevantes e ignoram dados redundantes e simplificam o processo. A quimiometria usa modelagem matemática e estatística para reconhecer padrões e relações entre os dados altamente complexos, traduzindo-os em parâmetros utilizáveis [25].

Os métodos não direcionados geralmente empregados no campo de impressão digital de alimentos são a análise de componentes principais, PCA (do inglês “*Principal Component Analysis*”) e a análise hierárquica de *cluster*, HCA (do inglês “*Hierarchical Cluster Analysis*”). O PCA é uma poderosa ferramenta exploratória para reconhecimento de padrões, fornecendo um resumo de todos os dados que integram a análise estatística e busca encontrar correlação entre as variáveis para explicar a variância de um grande conjunto de variáveis [2, 18], enquanto o HCA é um método de agrupamento que verifica a similaridade entre amostras e gera um arranjo hierárquico [1].

A Figura 1 mostra um exemplo de dendrograma, em que amostras de mel de duas espécies hipotéticas de abelhas foram separadas em 3 grupos distintos (retângulos vermelhos de linhas tracejadas), ao nível de distância de 25,64 indicado pela flecha preta. Neste caso, amostras do grupo 1 são semelhantes entre si e diferem dos grupos 2 e 3. Isso vale para os 2 outros grupos, em que as amostras da espécie B no grupo 3 são semelhantes entre si, e mais diferentes entre as amostras das espécies A do grupo 2. As amostras da espécie A foram separadas em 2 grupos, podendo ser causada, por exemplo, pela localidade ou período de coleta das amostras.

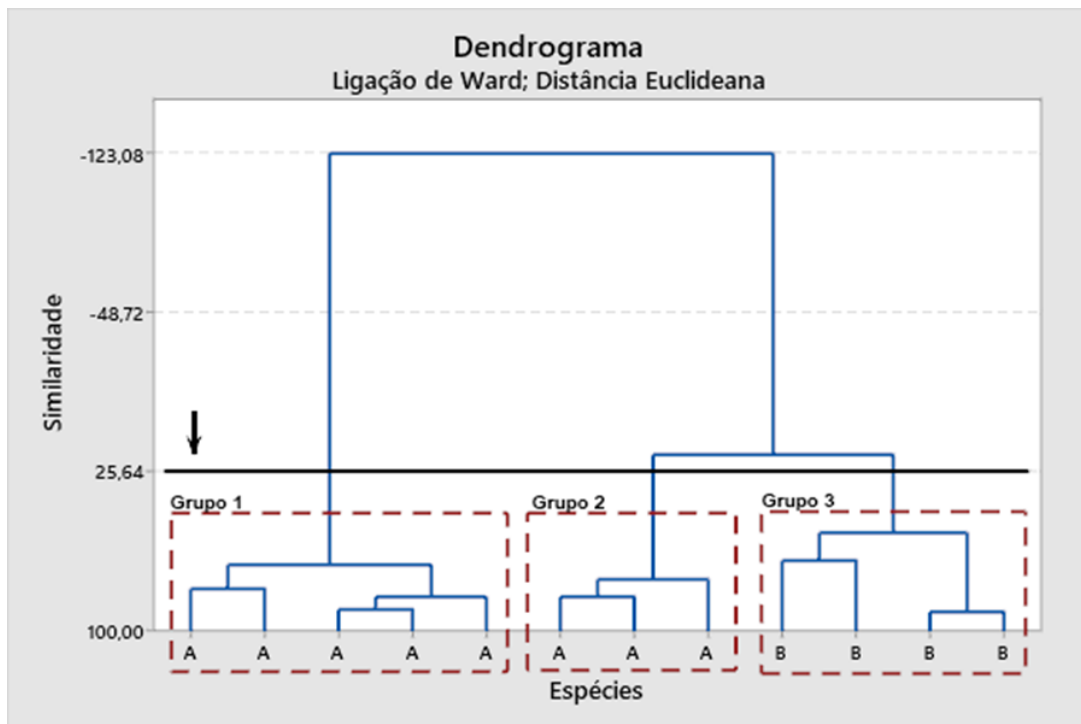


Figura 1. Dendrograma representando discriminação de espécies hipotéticas A e B, construído por ligação de Ward e com a distância euclidiana.

A PCA é uma das técnicas multivariadas mais comumente aplicadas na quimiometria [26], sendo especialmente útil na análise exploratória de conjuntos de dados. Ao combinar linearmente as variáveis originais, a PCA as converte em novas variáveis chamadas componentes principais (CPs) ou variáveis latentes, que são ortogonais entre si. A informação original é distribuída de forma decrescente entre os PCs: o primeiro componente principal preserva a maior parte da variância explicada (VE), enquanto o segundo capta a maior parte da VE residual, e assim por diante. Portanto, a PCA é usada para reduzir o número de variáveis necessárias para descrever o problema, eliminando redundâncias entre as dimensões. A técnica também é eficaz para analisar as relações entre amostras e variáveis, identificar padrões ou agrupamentos de amostras (*clusters*) que compartilham características similares e detectar *outliers*. Esses objetivos podem ser alcançados por meio da interpretação dos gráficos de cargas (*loadings plot*) e escores (*scores plot*) [27]. A Figura 2a mostra exemplo hipotético de gráfico de escores, enquanto a Figura 2b mostra gráfico de *loadings*. Neste exemplo, homens e mulheres foram categoricamente separados em função de algumas características físicas, como altura (cm), peso (kg) e número do sapato.

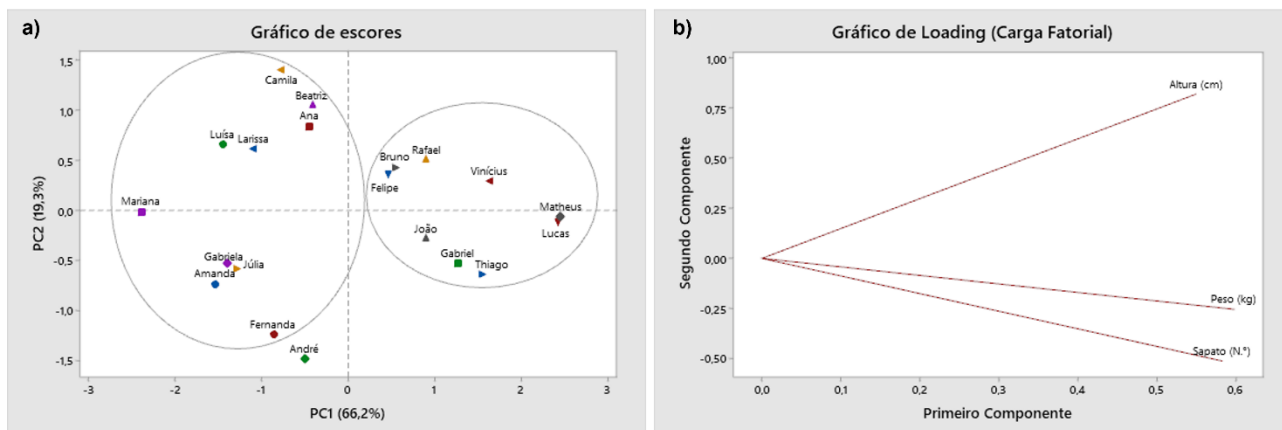


Figura 2. Exemplo de gráfico de (a) escores e (b) loading.

Os *scores plot* mostra os "escores" das amostras em relação aos componentes principais. Os escores são as coordenadas das amostras no novo espaço definido pelos componentes principais, nos quais cada ponto representa uma amostra e elas são posicionadas com base em como elas "carregam" em relação aos PCs. Amostras próximas no gráfico são semelhantes em termos das variáveis originais que contribuem para os componentes principais. Amostras distantes são diferentes em termos das variáveis originais. É útil para avaliar a similaridade ou dissimilaridade entre amostras, para detectar agrupamentos ou padrões naturais entre as amostras e identificar *outliers* ou amostras que se comportam de maneira atípica em relação ao conjunto de dados.

O *loadings plot* (gráfico de cargas) é um gráfico que mostra as "cargas" (*loadings*) das variáveis originais em relação aos componentes principais. As cargas são coeficientes que indicam o quanto cada variável contribui para cada componente principal. Cada ponto no gráfico representa uma variável original e cada posição indica sua contribuição para os CP's, geralmente os dois primeiros (CP1 e CP2). É útil para identificar quais variáveis são mais influentes em cada componente e entender a relação entre variáveis, como correlações positivas e negativas.

Sharin e colaboradores [28] empregaram as técnicas de HCA e PCA para distinguir amostras de méis de abelha sem ferrão de três espécies distintas (*Heterotrigona bakeri*, *Geniotrigona thoracica* e *Tetrigona binghami*), baseando-se nas propriedades físico-químicas e nos perfis de compostos voláteis.

Umaña e colaboradores [29] analisaram méis de abelha sem ferrão de duas espécies, *Tetragonisca angustula* e *Melipona beecheii*, produzidos na Costa Rica, com base em suas propriedades físico-químicas. Por meio da ferramenta PCA, identificaram as variáveis que melhor diferenciavam os méis de cada espécie. Um aspecto importante observado foi que o teor de água não foi eficaz para discriminar méis de *M. beecheii* e *T.*

angustula devido à alta influência geográfica, mas se mostrou um bom parâmetro para diferenciar méis do mesmo grupo de abelhas conforme a região ou localidade de produção.

3.3 - Voltametria Cíclica e de Pulso Diferencial

A análise de substâncias por meio das técnicas eletroquímicas de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial tem ganhado ampla utilização devido à sua sensibilidade e habilidade para oferecer informações detalhadas sobre as propriedades eletroquímicas dos compostos investigados. A voltametria é uma técnica eletroanalítica que se fundamenta nos fenômenos ocorrentes na interface entre o eletrodo de trabalho e a fina camada de solução adjacente à sua superfície. Classificada como dinâmica, a abordagem emprega uma cela eletroquímica operada com corrente elétrica presente ($i > 0$), sendo essa corrente medida em relação à aplicação controlada de potencial elétrico. Isso viabiliza o fluxo de corrente elétrica, gerando respostas eletroquímicas reversíveis ou irreversíveis e fornecendo informações cruciais acerca de processos redox, estados de oxidação e reversibilidade dos analitos [30].

A voltametria é uma técnica versátil para ser utilizada em meios líquidos complexos, como o mel, em virtude da alta sensibilidade, simplicidade, robustez e boa razão sinal/ruído [18]. Em virtude disso, pesquisas estão sendo feitas para assegurar a impressão digital de méis de acordo, por exemplo, com suas origens florais e apícolas. Giordano e colaboradores [31] desenvolveram uma plataforma eletroquímica portátil integrada a um *smartphone* para obter voltamogramas cíclicos e gerar as impressões digitais voltamétricas de inúmeras amostras de méis com posterior ensaio multivariado usando o PCA para determinar a origem botânica e geográfica das amostras.

No âmbito das análises voltamétricas aplicadas à caracterização de méis e a aplicação de quimiometria, a união dessas disciplinas oferece um campo promissor de investigação. A complexidade da composição dos méis, que engloba mistura de compostos, como açúcares, ácidos orgânicos, polifenóis e outros constituintes, é uma área na qual a voltametria se destaca. Por meio das respostas voltamétricas obtidas, é possível inferir não somente as concentrações desses componentes, mas também obter informações sobre suas interações eletroquímicas e características redox.

A quimiometria, por sua vez, vem oferecer ferramentas estatísticas e analíticas para o processamento dos dados obtidos nas análises voltamétricas. A combinação dessas disciplinas pode proporcionar a identificação de padrões, correlações e informações úteis que seriam difíceis de serem obtidas através de análises convencionais [37].

3.4 - Hidroximetilfurfural (HMF) e Furfural (FF)

Apesar das suas conhecidas propriedades nutricionais e medicinais, o mel pode conter compostos que levantam preocupações em termos de toxicidade ou que ainda carecem de avaliação completa quanto aos seus efeitos indesejados. Um exemplo é o 5-hidroximetilfurfural (5-HMF ou HMF), um aldeído aromático gerado por reações de desidratação ativadas por ácido e pelo processo de Maillard a partir de açúcares redutores, como a frutose [32].

O HMF possui uma estrutura de seis carbonos e inclui grupos funcionais aldeído e hidroximetil. Esta substância se apresenta como um sólido amarelo com baixo ponto de fusão, sendo altamente solúvel em água [33]. O HMF é amplamente reconhecido como um intermediário crucial em duas principais reações: (i) a degradação de hexoses catalisada por ácido e (ii) a decomposição da 3-desoxiosona durante a reação de Maillard (conforme ilustrado na Figura 3).

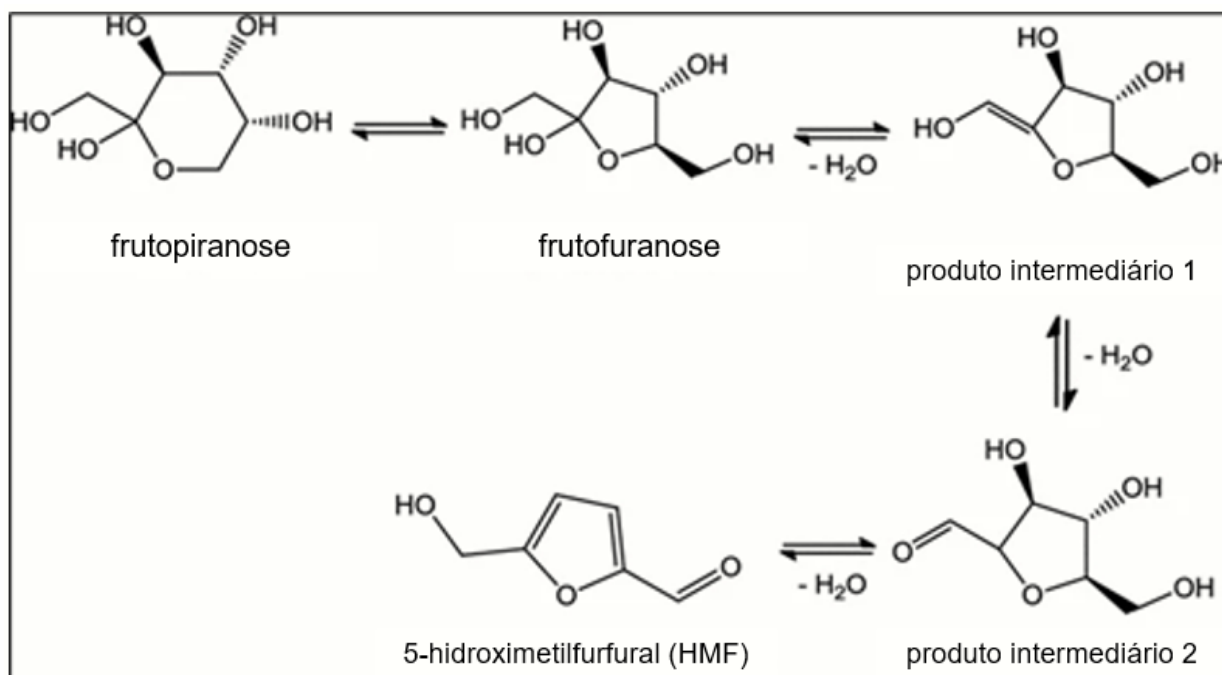


Figura 3. Reação de formação do HMF [34].

O furfural (FF) é um subproduto resultante da degradação do 5-HMF, e, embora presente no mel, não há regulamentações que definam limites para sua concentração no produto [35].

A quantidade de 5-HMF no mel aumenta durante etapas de processamento e com o envelhecimento, sendo influenciada pelo pH e pela temperatura. Por isso, esse composto se torna um indicador de situações como superaquecimento, condições inadequadas de armazenamento e consequente redução na qualidade do mel [37].

Segundo a legislação brasileira, o limite legal estabelecido para o teor de HMF é de 60 mg kg⁻¹ [38]. Entretanto, tanto a Comissão Europeia quanto o Codex Alimentarius da Organização Mundial da Saúde estipularam limites distintos: 40 mg kg⁻¹ para mel em geral e 80 mg kg⁻¹ para méis de origem tropical ou misturas correlatas [36].

Portanto, o mel é um alimento de grande relevância nutricional e medicinal, cuja complexidade composicional reflete sua origem botânica, geográfica e o tipo de abelha produtora. O avanço de metodologias analíticas, como a impressão digital de alimentos e a quimiometria, tem proporcionado novas possibilidades para a autenticação e caracterização do mel, contribuindo para assegurar sua qualidade e originalidade no mercado. O estudo dos méis de abelhas sem ferrão é especialmente importante, pois essas espécies desempenham um papel crucial na preservação da biodiversidade e na polinização de ecossistemas nativos, além de produzirem méis com características únicas e ainda pouco exploradas cientificamente. Assim, pesquisas nessa área ajudam a agregar valor ao produto e a fomentar a conservação dessas abelhas e de seus habitats.

4 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Todos os reagentes utilizados foram de pureza grau para análise (P.A.). A água utilizada no preparo de soluções foi purificada por troca iônica em deionizador (Lucadema) e sistema *Milli-Q* da *Millipore* (resistência da água de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ a $25,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$).

4.1 - Síntese do eletrodo de trabalho de Cu/CuO

Para a síntese do eletrodo de trabalho, um fio de cobre comercial foi pré-tratado mecanicamente com lixa de granulometria 240 e depois lavado em banho ultrassônico com água ultrapurificada. Posteriormente, o fio de cobre foi imerso em uma solução recém preparada pela mistura das soluções de hidróxido de sódio $10,0 \text{ mol L}^{-1}$ (NaOH, Êxodo Científica, pureza $\geq 97\%$), persulfato de amônio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ $((\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8)$, (Êxodo Científica, pureza $\geq 98\%$) e água purificada (Milli-Q®) na proporção 4:2:9, respectivamente. Após uma hora, o fio de cobre foi removido da solução, lavado com água ultrapurificada e secado durante três dias em dessecador com sílica gel.

O mesmo procedimento foi realizado com uma placa de cobre de dimensão $100 \text{ mm} \times 28 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ para obtenção de uma área superficial maior do óxido de cobre, que posteriormente foi removido para caracterização.

4.2 - Caracterização do eletrodo de trabalho de Cu/CuO

A estrutura morfológica da superfície do eletrodo de trabalho foi obtida por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), em microscópio eletrônico QUANTA 250 (Parque Tecnológico de Itaipu – PTI, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil). As imagens com ampliações de até 50.000 vezes foram obtidas raspando-se a superfície do eletrodo e revestindo a amostra com ouro pela técnica de *sputtering*.

4.3 - Coleta das amostras de méis

Quarenta e cinco amostras de méis de 10 espécies de abelhas sem ferrão foram coletadas ao longo de 15 meses em três regiões da cidade de Toledo, Paraná, Brasil ($24^{\circ}43'34'' \text{ S}$, $53^{\circ}44'52'' \text{ W}$), conforme ilustra a Figura 4.

As amostras foram coletadas diretamente dos potes na colmeias com o auxílio de seringa hipotérmica de plástico, e foram acondicionadas em tubos tipo *Falcon* fechados. A umidade de cada amostra foi determinada no mesmo dia da coleta, sendo posteriormente armazenadas sob refrigeração ($2 \text{ a } 8 \text{ }^{\circ}\text{C}$) até a conclusão de todas as análises.

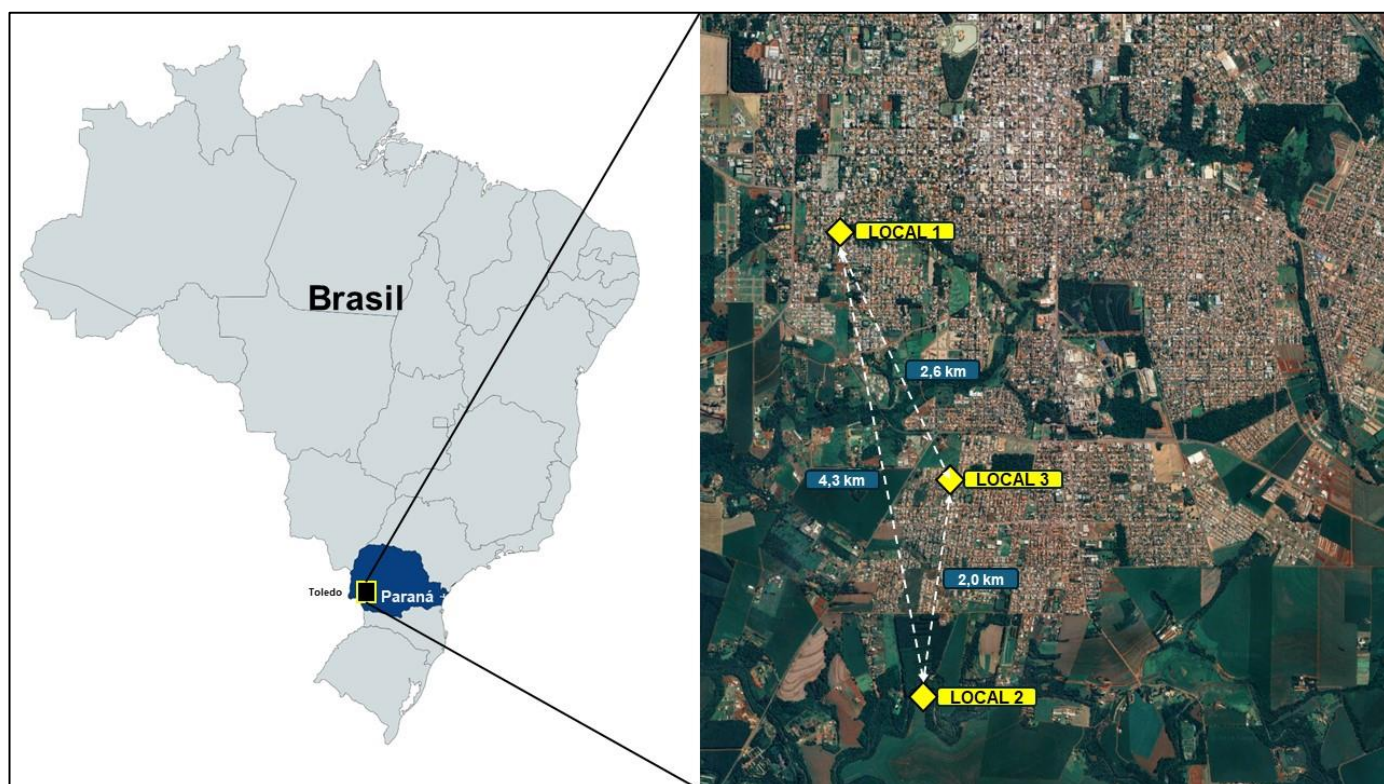


Figura 4: Localização dos pontos de coletas marcadas com o *Google Maps*.

4.4 - Caracterização do mel

Os parâmetros de umidade, pH e condutividade foram determinados para os méis de cada espécie de abelha, de acordo com metodologia brasileira [39] e os dados utilizados nos métodos estatísticos.

A determinação da umidade das amostras de mel foi realizada por refratometria utilizando-se Refratômetro Abbé (Formis, erro de $\pm 0,0005$), calibrado com água destilada ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$) e conectado ao banho termostatizado com controle de temperatura a $20,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$. As medições dos índices de refração foram realizadas em triplicata. Para converter esses valores em porcentagem de umidade, foram utilizados os índices de refração obtidos pelo método refratométrico de *Chataway*, associando-os aos percentuais correspondentes para a construção de uma curva analítica de umidade do mel, com coeficiente de determinação (R^2) 0,9999, coeficiente de Pearson (r) -0,99997 e equação $y = [(-396,14x) + (608,87)]$ (Figura 5).

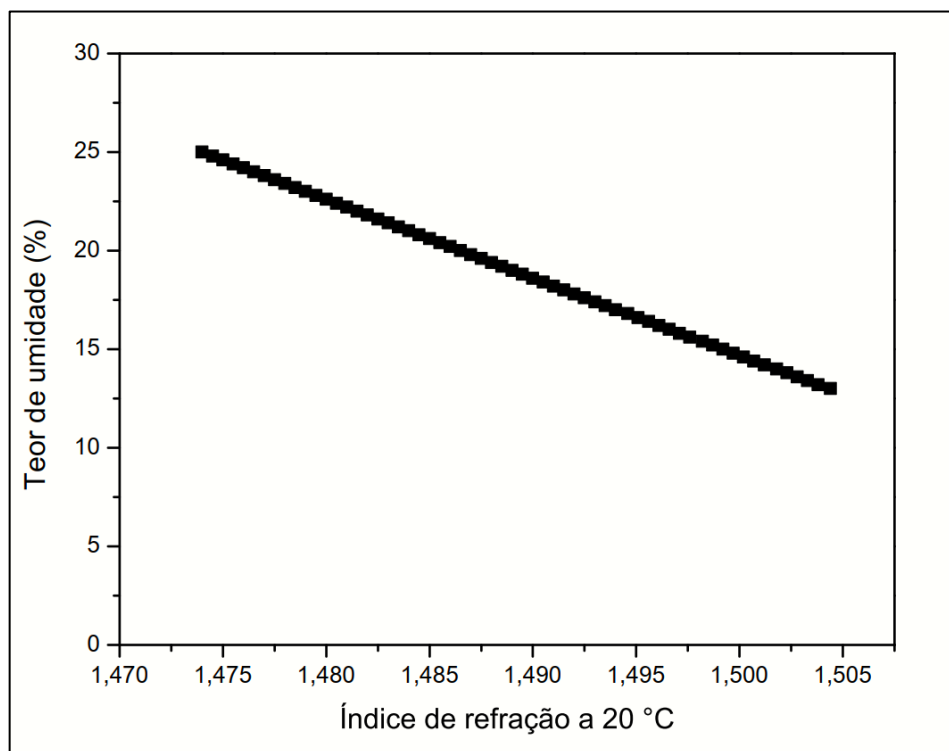


Figura 5. Curva analítica do percentual de umidade utilizada na caracterização dos méis.

A condutividade das amostras (20% m/v em base seca) foi medida em condutímetro LUTRON CD-4303, com constante de cela de 0,1 e calibrado com solução padrão de condutividade $1412 \mu\text{S cm}^{-1}$ (NEON). O pH (20% m/v em base seca) foi medido por um pHmetro Bel W3B (resolução $\pm 0,01$), calibrado com solução tampão pH $4,00 \pm 0,02$ e pH $7,00 \pm 0,02$ (DINÂMICA).

4.5 - Determinação de hidroximetilfurfural e furfural

A quantificação de hidroximetilfurfural (HMF) e furfural (FF) foi feita por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), (modelo Dionex Ultimate 3000 series, Thermo Fisher Scientific), combinado com um detector de arranjo de diodos (DAD). A separação dos componentes foi conduzida utilizando uma coluna C18 (*Discovery Supelco*) com dimensões de 250 mm x 4,6 mm x 5 μm e mantida a uma temperatura de 30 °C. Essa análise foi realizada com apenas seis amostras (três do local 1 e três do local 2) coletadas em abril de 2023, devido à disponibilidade do equipamento e ao objetivo de obter resultados que possam corroborar ou comparar com os valores presentes na literatura.

O método de eluição adotado foi isocrático e envolveu mistura de acetonitrila (Sigma-Aldrich, $\geq 99,9\%$) e água na proporção de 20:80, com um fluxo constante de 1,0 mL min^{-1} . Para detecção, realizou-se triagem espectral no intervalo de comprimento de onda de 200 a 400 nm. Os componentes HMF e FF foram quantificados a 285 nm e 277 nm, respectivamente. Um padrão interno, o ácido 2,5-furandicarboxílico (FDCA, pureza de

97,0%, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA) foi utilizado, sendo a absorbância máxima observada em 263 nm.

Durante o processo de análise, a injeção de 20 µL da amostra foi utilizada. Para a preparação das soluções padrão, HMF (pureza $\geq 99,0\%$, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA) e FF (pureza de 99,0%, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA) foram dissolvidos em água ultrapura. Para as 6 amostras analisadas, 2,00 g de mel foram dissolvidos em 10 mL de água ultrapura, resultando em solução de concentração 20% (m/v). Uma alíquota de 500 µL dessa solução foi adicionada a um frasco volumétrico e incorporados 100 µL da solução padrão interna FDCA. O espaço restante no frasco foi preenchido com 1 mL de água ultrapura, gerando solução final com teor de mel de 10% (m/v). Após a homogeneização, as amostras foram filtradas utilizando um filtro hidrofílico de PTFE de 0,22 µm e então submetidas à análise por CLAE.

4.6 - Análise de voltametria cíclica e pulso diferencial

Para obtenção das curvas de voltametria cíclica e de pulso diferencial foi utilizado um potenciostato Metrohn Autolab, com o *software* NOVA versão 2.1.2, utilizando mel a 1% (m/v) em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito de suporte), dispondo-se dos eletrodos de trabalho (Cu/CuO), referência (Ag/AgCl/KCl saturado) e auxiliar (placa de aço inoxidável). A VPD foi obtida com os parâmetros: *mod amp* 0,1 V; *mod time* = 0,05 s; *interval time* = 0,5 s; *step* = 0,005 V; faixa = 0 até 1,1 V. Para a voltametria cíclica, a velocidade de varredura empregada foi de 20 mV s⁻¹, na faixa de 0 até 0,9 V.

4.7 - Análise estatística e estudo quimiométrico

O teste de *Grubbs* ao nível de significância de 0,05 foi utilizado para verificar pontos *outliers* nos resultados das análises de pH, umidade e condutividade.

O *software Minitab 19* foi utilizado para criação dos gráficos Bloxpot, histogramas e obtenção das estatísticas descritivas básicas, como média, desvio padrão e coeficiente de variação.

4.7.1 PCA e HCA

Para compreender as relações subjacentes entre as amostras de mel coletadas de diferentes espécies de abelhas e em diferentes períodos, foi utilizada abordagem estatística multivariada composta pela Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de *Cluster* (HCA).

A PCA foi aplicada para reduzir a dimensionalidade dos dados, permitindo identificar os componentes principais que explicam a maior parte da variabilidade nos dados. As variáveis utilizadas incluíram os parâmetros físico-químicos (umidade, pH, condutividade) e as correntes medidas em diferentes potenciais de voltametria cíclica (VC 0,51 V, 0,59 V e 0,71 V) e de pulso diferencial (VPD 0,40 V). A análise foi realizada utilizando a matriz de correlação das variáveis, garantindo que as diferentes escalas das variáveis fossem devidamente consideradas.

Posteriormente, foi realizada a HCA para agrupar as amostras de mel com base na similaridade de seus perfis eletroquímicos e físico-químicos. Utilizou-se o método de agrupamento de *Ward* para minimizar a variância dentro de cada grupo, e a distância euclidiana foi utilizada como medida de similaridade entre as amostras.

4.7.2 Análise multivariada

A análise de regressão multivariada foi conduzida para investigar a influência das variáveis independentes, como espécie de abelha, local de coleta e período de coleta, nos parâmetros eletroquímicos do mel. Especificamente, a regressão foi utilizada para avaliar como essas variáveis afetam os valores de VPD e VC em diferentes potenciais. O modelo incluiu a espécie de abelha como uma variável categórica, considerando a espécie jataí como a referência, e as outras espécies foram comparadas em relação a ela. Da mesma forma, o local de coleta foi categorizado em três locais distintos, com o Local 3 (área intermediária) como referência, enquanto o período de coleta foi avaliado ao longo de diferentes meses e estações, com março de 2023 (verão) como referência.

A qualidade dos modelos de regressão foi avaliada por meio de estatísticas como o coeficiente de determinação (R^2), que indica a proporção da variabilidade explicada pelo modelo e o *p-value* para testar a significância de cada coeficiente de regressão. Além disso, os resíduos do modelo foram analisados para verificar a adequação das suposições do modelo, como a normalidade e a homoscedasticidade dos erros.

Todas as análises foram executadas utilizando o *software* estatístico R (versão 4.1.1) usando a interface RStudio [40]. O pacote ggplot2 R foi usado para desenvolver gráficos [41].

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Síntese do eletrodo de trabalho

A Figura 6(a) mostra a placa com dimensões de 100 mm x 28 mm x 2 mm submetida as mesmas condições de síntese do eletrodo de trabalho que foi utilizada para obter a camada de óxido de cobre formada para utilizar nas caracterizações do eletrodo. A Figura 6(b) mostra o eletrodo já sintetizado, recoberto com a camada de CuO na ponta e o restante do fio envolto por uma camada de Teflon® e a Figura 6(c) a utilização do material na cela eletroquímica.

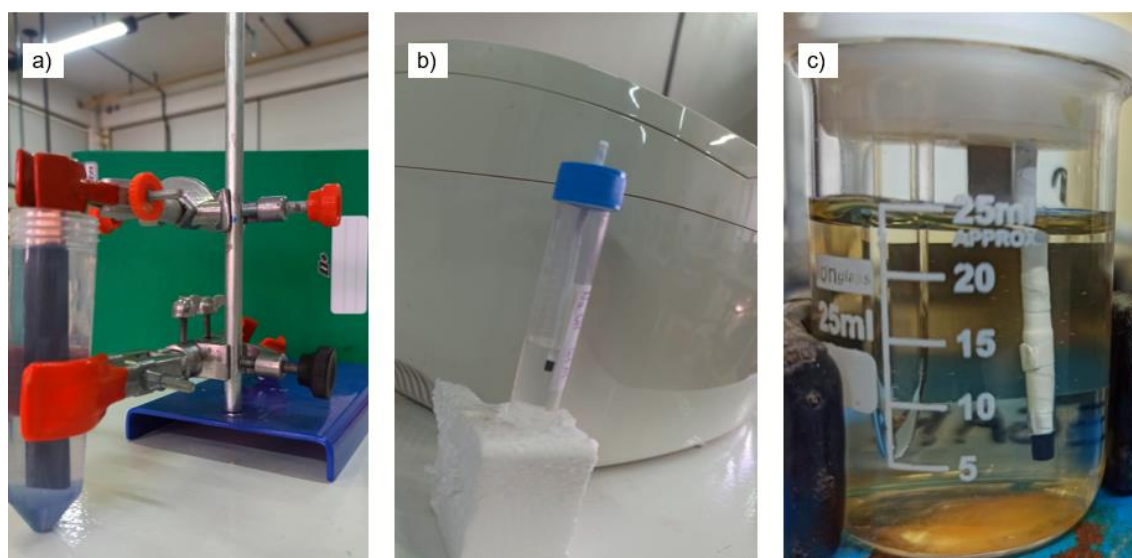
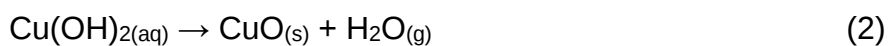
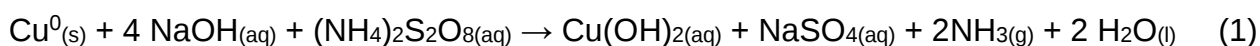


Figura 6: (a) Síntese da placa de cobre utilizada para raspagem da superfície para realização das caracterizações, (b) eletrodo de trabalho imerso em NaOH 0,1 mol L⁻¹ e (c) utilização do eletrodo nas análises de voltametria.

Durante a síntese foi observado a formação de filme azul (Figura 6a) na interface placa-solução devido a formação de Cu(OH)₂ com presença de bolhas, o que indica a formação de gás amônia (NH₃), conforme sugere a Equação 1. A ocorrência da reação do fio de cobre com a solução alcalina de hidróxido de sódio e persulfato de amônio é evidenciada pelo aparecimento do filme azul escuro. O hidróxido de cobre formado na superfície é uma fase metaestável e rapidamente é convertido em óxido de cobre, de cor preta. A fase metaestável é convertida em uma fase estável por desidratação após secagem, conforme Equação 2.



A placa e o eletrodo de trabalho foram deixados em dessecador com sílica gel por três dias. Posteriormente, o eletrodo de trabalho foi guardado imerso em solução NaOH 0,1 mol L⁻¹ para manter a superfície em contato com os íons OH⁻ e a superfície da placa foi raspada para realização das análises de caracterizações.

5.2 - Caracterização do eletrodo Cu/CuO

A Figura 7 mostra as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do eletrodo de Cu/CuO e indicam a obtenção de um filme homogêneo. Essa síntese já é consolidada e de fácil reprodução, obtida anteriormente e descrita como um tipo de flor monoclinica [42].

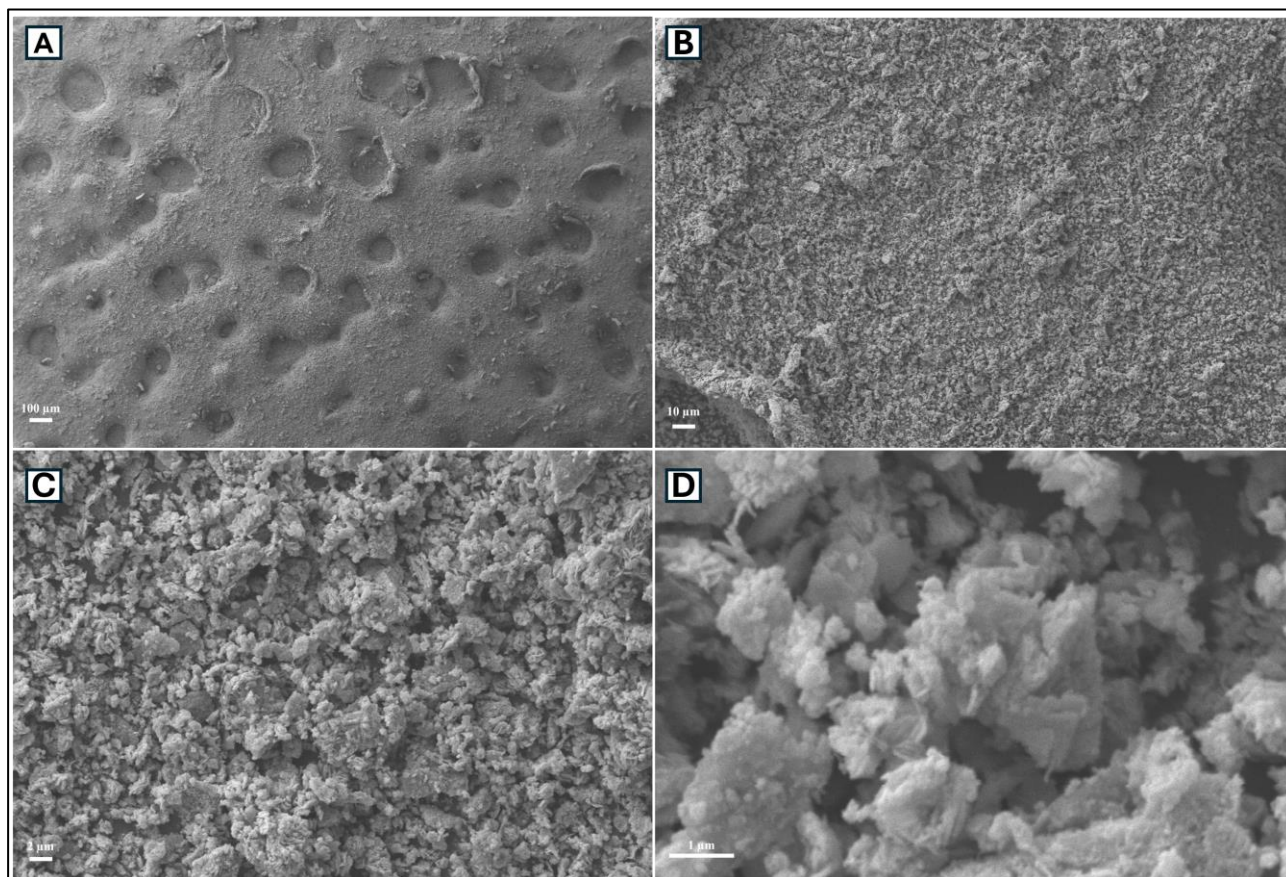


Figura 7: Microscopia Eletrônica de Varredura do eletrodo de trabalho Cu/CuO com ampliações de (a) 100x, (b) 1000x, (c) 5000x e (d) 30000x.

A Figura 8 (a) e (b) mostram as imagens de microscopia eletrônica de varredura do eletrodo com uma ampliação de 30 mil e 50 mil vezes, respectivamente, enquanto as imagens (c) e (d) mostra as imagens MEV obtidas em trabalho anterior de Guellis e colaboradores [43].

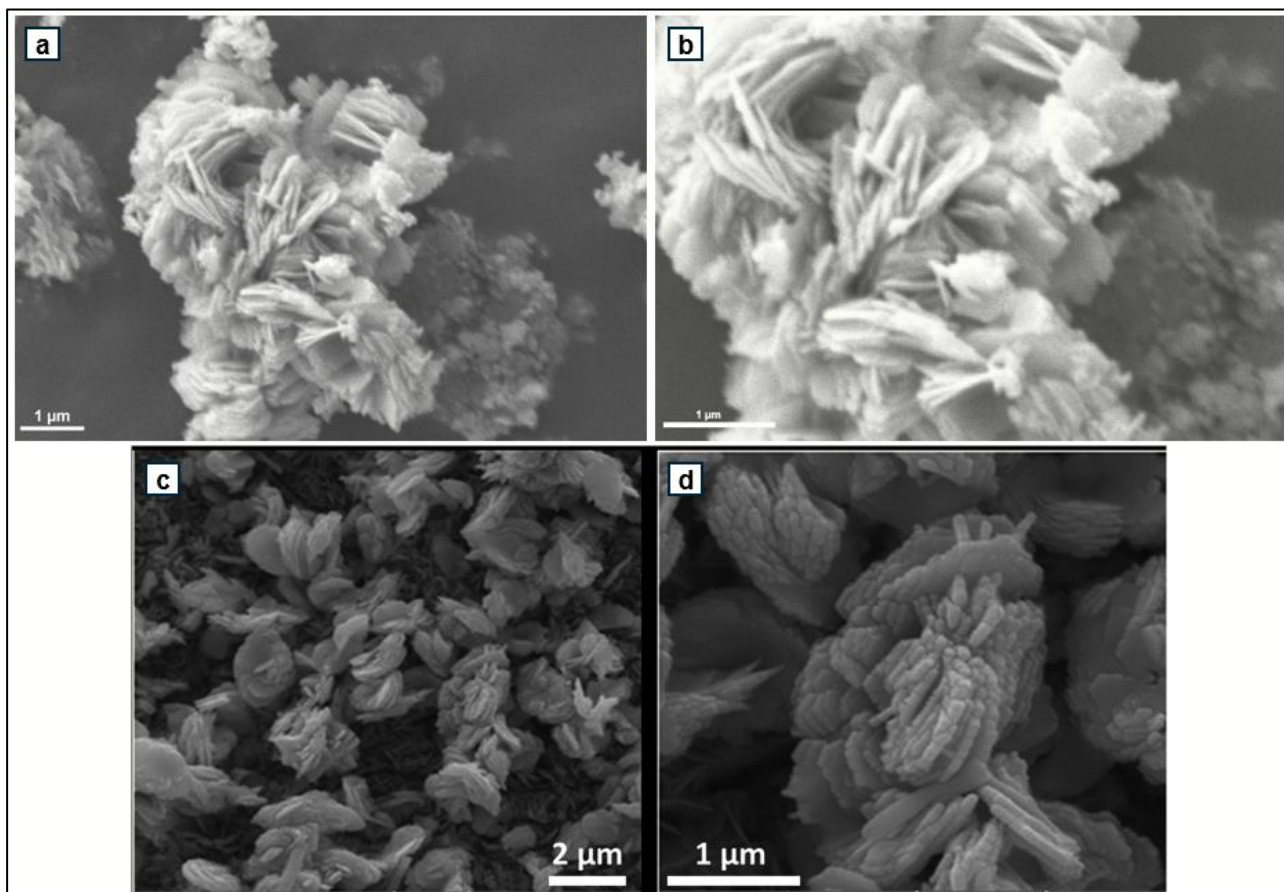


Figura 8: comparação da microscopia eletrônica de varredura obtidas por (a) e (b) este trabalho e (c) e (d) por Guellis *et al.* (2020), ambos utilizando mesmo processo de síntese.

5.3 - Resultados físico-químicos e estatística descritiva

As quarenta e cinco amostras de abelhas sem ferrão de 10 espécies diferentes foram coletadas ao longo de 15 meses (março de 2023 até junho de 2024). Os nomes científicos e populares das espécies estudadas e as quantidades estão dispostas na Tabela 2.

Tabela 2. Nomes, gênero e quantidade de amostras coletadas.

Nome Popular	Nome científico	Gênero	Quantidade
Mandaçaia	<i>Melipona quadrifasciata</i>	<i>Melipona</i>	13
Tubuna	<i>Scaptotrigona bipunctata</i>	<i>Scaptotrigona</i>	8
Jataí	<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Tetragonisca</i>	8
Bugia	<i>Melipona mondury</i>	<i>Melipona</i>	4
Mandaguari Preta	<i>Scaptotrigona depilis</i>	<i>Scaptotrigona</i>	4
Borá	<i>Tetragona clavipes</i>	<i>Tetragona</i>	3
Manduri Preta	<i>Melipona torrida</i>	<i>Melipona</i>	2
Manduri Amarela	<i>Melipona marginata</i>	<i>Melipona</i>	1
Guaraipo Negra	<i>Melipona bicolor</i>	<i>Melipona</i>	1
Mandaguari Amarela	<i>Scaptotrigona xanthotricha</i>	<i>Scaptotrigona</i>	1

Todas essas espécies pertencem à ordem *Hymenoptera* e fazem parte de diferentes gêneros dentro da subfamília *Meliponinae*, conhecida por abrigar abelhas sem ferrão. A Tabela 3 mostra de forma detalhada como foi feito a amostragem das coletas realizadas.

Tabela 3.Quantidade, data e local de coleta das amostras de méis.

Local	Data e quantidade de amostras coletadas						
	Março/2023	Abril/2023	Junho/2023	Dezembro/2023	Abril/2024	Junho/2024	
1	Jataí (x1) Mandaçaia (x1) Tubuna (x1)	Jataí (x1) Mandaçaia (x1) Tubuna (x1)	Jataí (x1) Mandaçaia (x1) Mandaçaia 2 (x1)* Tubuna (x1)	Jataí (x1) Jataí 2 (x1)* Mandaçaia (x1) Mandaçaia 2 (x1)* Tubuna (x1)	Jataí (x1) Jataí 2 (x1)* Mandaçaia (x1) Mandaçaia 2 (x1)* Tubuna (x1)	N.R.	20
2	N.R.	Bugia (x1) Mandaçaia (x1) Mandaguari Preta (x1)	Bugia (x1) Mandaguari Preta (x1) Mandaçaia (x1) Borá (x1) Manduri Preta (x1) Tubuna (x1)	Mandaguari Preta (x1) Mandaçaia (x1) Borá (x1) Manduri Amarela (x1) Tubuna (x1)	N.R.	Borá (x1) Mandaçaia (x1) Bugia (x1) Tubuna (x1) Mandaguari Amarela (x1)	19
3	N.R.	N.R.	N.R.	Bugia (x1) Guaraipo Negra (x1) Jataí (x1) Mandaçaia (x1) Manduri Preta (x1) Mandaguari Preta (x1)	N.R.	N.R.	6
Total	3	6	10	16	5	5	45

* Jataí 2 e Mandaçaia 2 referem-se às segundas colmeias disponibilizadas no local e data em questão; N.R.: não realizada.

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados de umidade, pH e condutividade de todas as amostras estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados de umidade, pH e condutividade para as amostras de méis coletados.

Nome da Amostra	Local da coleta	Datada coleta	Umidade (%)	pH	Condutividade (mS cm ⁻¹) ¹
A1_jatai	L1	03/2023	22,6 ± 0,0	4,47 ± 0,01	1,11
A2_mandaçaia	L1		26,7 ± 0,2	3,28 ± 0,01	0,26
A3_tubuna	L1		25,0 ± 0,0	4,26 ± 0,01	1,15
A4_jatai	L1	04/2023	22,7 ± 0,2	4,74 ± 0,04	1,93
A5_mandaçaia	L1		28,9 ± 0,0	4,53 ± 0,01	1,10
A6_tubuna	L1		28,9 ± 0,0	3,66 ± 0,01	1,31
A7_bugia	L2		27,3 ± 0,0	4,81 ± 0,01	1,42
A8_mandaguaripreta	L2		27,7 ± 0,0	4,22 ± 0,02	1,61
A9_mandaçaia	L2	06/2023	30,1 ± 0,0	4,58 ± 0,01	1,25
A10_jatai	L1		24,7 ± 0,2	4,35 ± 0,02	2,10
A11_mandaçaia	L1		27,9 ± 0,0	3,80 ± 0,02	0,71
A12_mandaçaia2	L1		30,9 ± 0,0	3,10 ± 0,02	0,26
A13_tubuna	L1		30,5 ± 0,0	3,51 ± 0,01	1,26
A14_mandaguaripreta	L2		25,8 ± 0,0	4,07 ± 0,01	1,36
A15_bora	L2		25,2 ± 0,2	4,23 ± 0,01	0,90
A16_manduripreta	L2		32,6 ± 0,2	3,33 ± 0,04	0,20
A17_mandaçaia	L2		38,4 ± 0,0	3,71 ± 0,02	1,00
A18_tubuna	L2		24,3 ± 0,2	4,25 ± 0,01	0,67
A19_bugia	L2	12/2023	25,9 ± 0,2	3,69 ± 0,01	0,16
A20_jatai	L1		23,4 ± 0,0	4,73 ± 0,02	1,19
A21_mandaçaia	L1		28,3 ± 0,2	3,33 ± 0,01	0,22
A22_mandaçaia2	L1		29,8 ± 0,8	3,51 ± 0,01	0,42
A23_tubuna	L1		29,6 ± 0,8	3,59 ± 0,02	1,29
A24_jatai2	L1		25,2 ± 0,2	4,11 ± 0,01	1,45
A25_bugia	L3		27,5 ± 0,2	3,56 ± 0,01	0,25
A26_guaraiponegra	L3		27,1 ± 0,2	3,43 ± 0,01	0,21
A27_jatai	L3		25,2 ± 1,1	4,58 ± 0,01	0,75
A28_mandaçaia	L3		34,9 ± 0,0	3,47 ± 0,02	0,19
A29_manduripreta	L3		27,9 ± 0,2	3,53 ± 0,01	0,18
A30_mandaguaripreta	L3		27,5 ± 0,2	3,77 ± 0,04	0,62
A31_mandaguaripreta	L2		25,8 ± 0,0	4,43 ± 0,01	1,10
A32_bora	L2		28,3 ± 0,2	3,69 ± 0,04	0,65
A33_mandaçaia	L2		33,1 ± 0,2	3,33 ± 0,01	0,55
A34_manduriamarela	L2		33,0 ± 0,2	3,55 ± 0,02	0,62
A35_tubuna	L2		27,7 ± 0,0	3,73 ± 0,01	1,12
A36_jatai	L1	04/2024	22,6 ± 0,0	4,21 ± 0,02	1,57
A37_jatai2	L1		23,8 ± 0,0	3,94 ± 0,01	1,73
A38_tubuna	L1		27,7 ± 0,0	3,41 ± 0,04	1,24
A39_mandaçaia	L1		25,0 ± 0,0	3,31 ± 0,05	0,35
A40_mandaçaia2	L1		26,5 ± 0,0	3,77 ± 0,01	0,49
A41_mandaguariamarela	L2	06/2024	25,0 ± 0,0	4,02 ± 0,02	1,10
A42_bora	L2		30,5 ± 0,0	3,77 ± 0,01	0,72
A43_mandaçaia	L2		28,1 ± 0,0	3,52 ± 0,02	0,53
A44_bugia	L2		26,2 ± 0,0	3,61 ± 0,04	0,52
A45_tubuna	L2		27,7 ± 0,0	3,71 ± 0,01	0,82

A diferença mais evidente do mel das abelhas sem ferrão em relação ao mel da *Apis Mellifera* é a umidade, com valores relativamente mais altos para as abelhas nativas.

A Instrução Normativa (IN) Nº 11, de 20 de outubro de 2000, emitida pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), do Ministério da Agricultura Secretaria de Defesa Agropecuária padroniza a comercialização do mel da *Apis Mellifera* com o valor máximo de umidade em 20g/100g e pH entre 3,3 a 4,6 [38].

Embora a Instrução Normativa especificada estabeleça parâmetros físico-químicos que apenas o mel da abelha *Apis mellifera* atende, a definição de mel pode ser ampliada para incluir também o produto feito pelos meliponíneos. Comparado ao mel de *Apis*, o mel das abelhas da tribo *Meliponini* é mais líquido, possui sabores mais ácidos e uma maior diversidade de aromas. Assim, é inadequado comparar esses diferentes produtos tentando estabelecer critérios únicos, pois cada tipo de mel deve ser tratado de forma específica. No Brasil, há mais de 200 espécies de abelhas nativas sem ferrão, presentes em todos os biomas e adaptadas a diferentes climas e composições botânicas [44].

Para o mel das ASF, o Estado do Paraná estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel de abelhas sem ferrão por meio da Portaria Nº 63, de 10 de março de 2017, no qual a umidade máxima refrigerada é de 35g/100g e o pH máximo de 4,7 [45].

A Figura 9 mostra os histogramas para os dados de pH, umidade e condutividade. Em relação a umidade, o valor médio foi de 27,6% e os valores observados estão entre 22,6% (A1_jatai e A36_jatai) e 38,4% (A17_mandaçaia). O teste de *Grubbs* indicou que apenas o valor da amostra A17 é um *outlier* e, nesse caso, o segundo maior valor de umidade observado foi de 34,9% para a amostra A28_mandaçaia. A Figura 10 mostra o gráfico de *bloxpot* dos resultados de umidade e exceto o resultado da amostra A17, todos atendem a especificação da Portaria Nº 63 da ADAPAR, no qual estabelece o limite máximo de umidade para comercialização das abelhas sem ferrão em 35%.

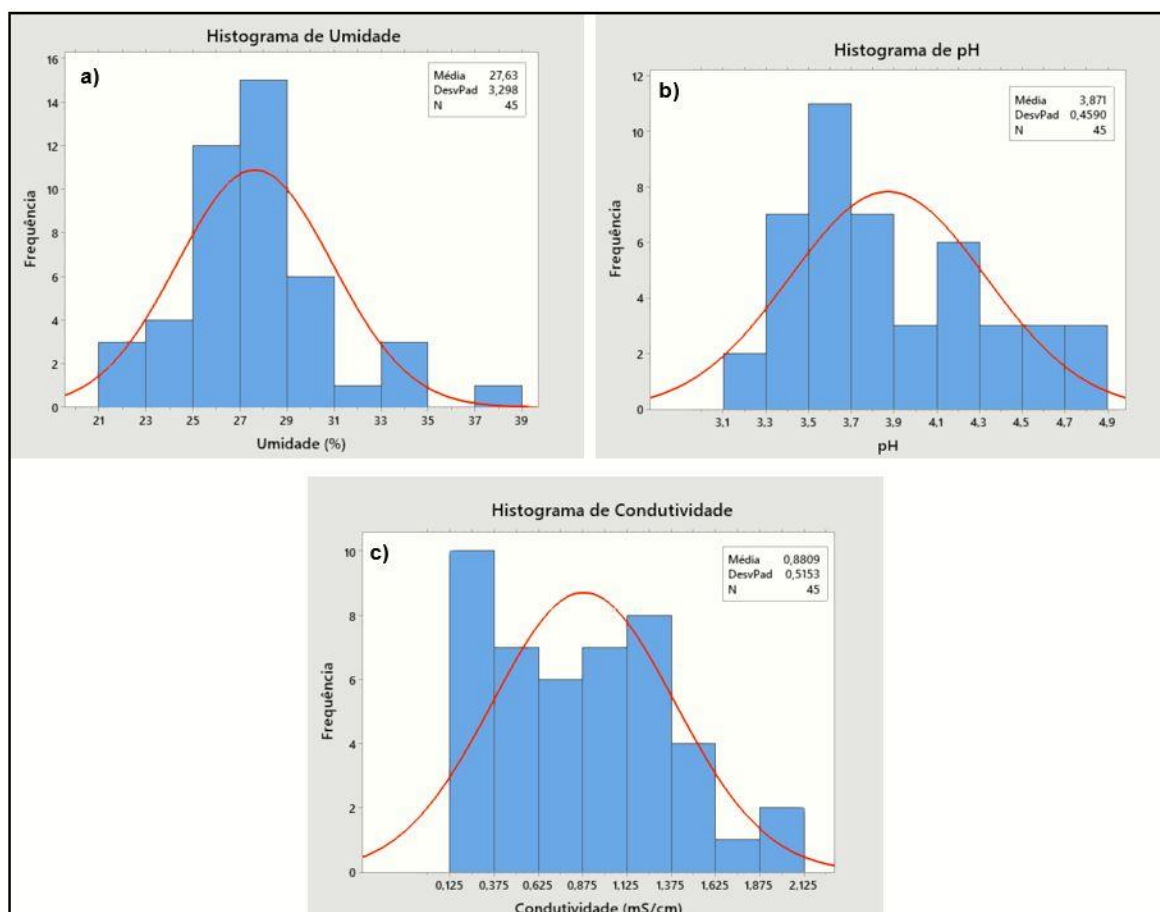


Figura 9. Histogramas para (a) umidade, (b) pH e (c) condutividade das amostras.

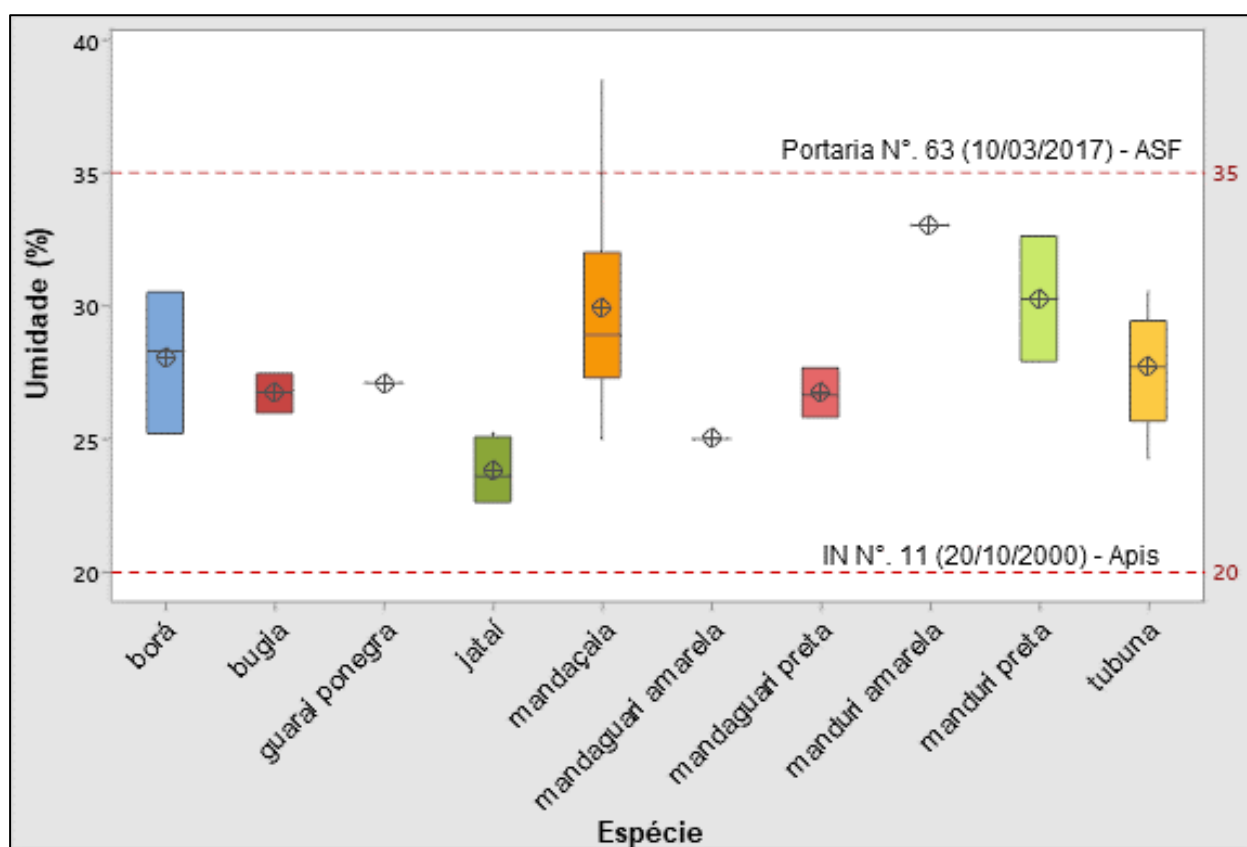


Figura 10. Bloxpot dos valores de umidade dos méis.

Os resultados de condutividade foram os que obtiveram a maior amplitude (Figura 11), com valores entre 0,16 mS cm⁻¹ (A19_bugia) e 2,10 mS cm⁻¹ (A10_jatai).

Duarte e colaboradores [46] ao analisarem três amostras de *T. clavipes* (borá) do estado do Alagoas, Brasil, obtiveram valor médio de $1,4 \pm 0,0$ mS cm⁻¹. Santos e colaboradores [47] obtiveram valores entre 0,57 e 0,70 mS cm⁻¹ para *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia), 0,46 a 0,71 mS cm⁻¹ para *Scaptotrigona bipunctata* (tubuna), 0,20 a 0,55 mS cm⁻¹ para *Melipona bicolor* (guaraipo negra) e 0,67 mS cm⁻¹ para uma amostra de *Melipona marginata* (manduri amarela).

Para o mel de *Apis*, foram relatados valores entre 0,21 e 0,63 mS cm⁻¹ para 8 amostras coletadas no Estado de Santa Catarina, Brasil [14], já Silva e colaboradores [48] coletaram 10 amostras de mel de *Apis* em mercados pelo Brasil, de fontes botânicas e localidades diferentes, obtendo valores de condutividade elétrica entre 0,182 e 1,670 mS cm⁻¹, com média de 0,555 mS cm⁻¹.

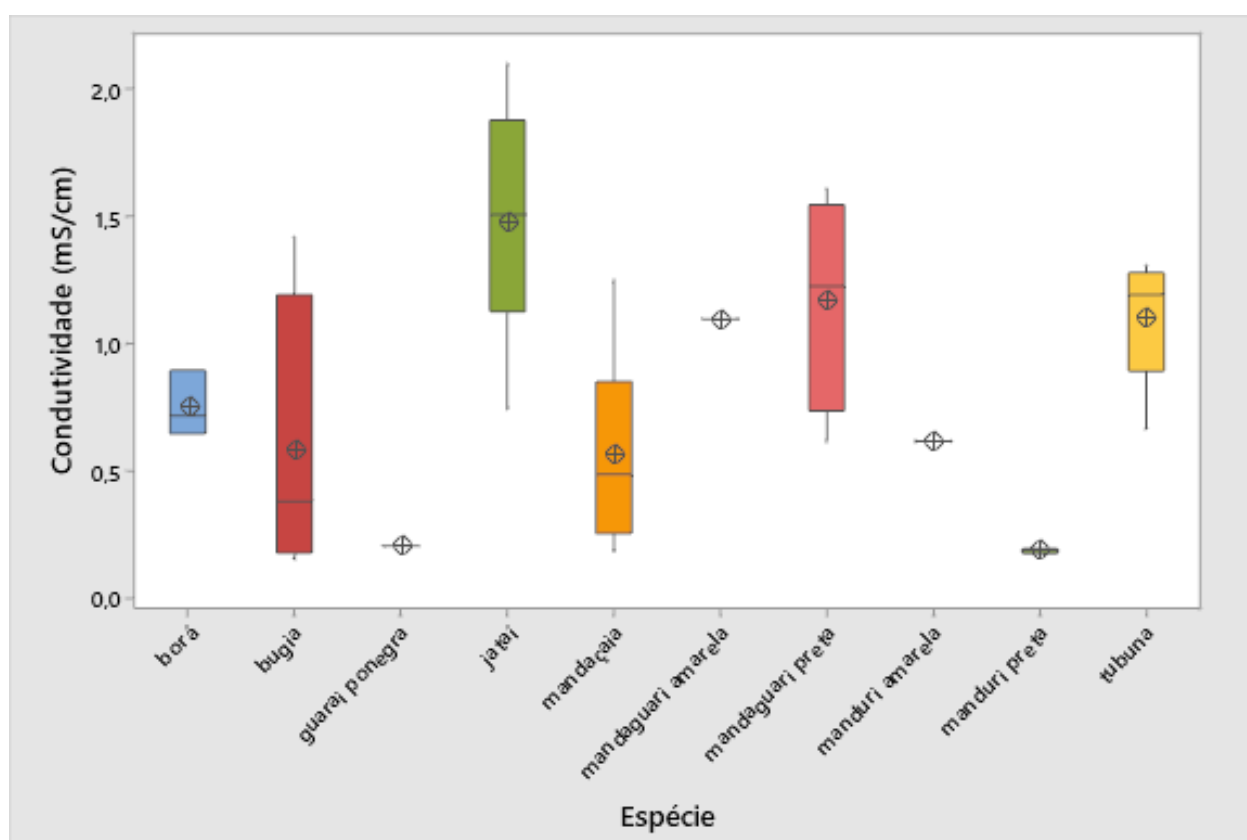


Figura 11. Bloxpot dos valores de condutividade elétrica.

Essa variação pode ser atribuída à maior presença de ácidos orgânicos, o que resulta em uma condutividade elétrica mais elevada. Os ácidos orgânicos desempenham um papel essencial nesse contexto, pois contribuem para a ionização dos compostos no mel, aumentando a condutividade elétrica. Além disso, a presença de certos minerais e

sais, conhecidos como bons condutores, pode intensificar ainda mais as diferenças nos valores de condutividade elétrica entre os tipos de mel de abelhas sem ferrão e de *Apis* [49], como por exemplo sais de sódio, magnésio, cálcio, potássio e ferro [50].

Para os valores de pH, os resultados encontrados estão entre 3,10 (A12_mandaçaia2) e 4,81 (A7_bugia). A Figura 12 mostra o gráfico de *bloxpot* para os resultados e entre as 45 amostras analisadas, três amostras (A4_jatai, A7_bugia e A20_jatai) obtiveram valores acima do limite especificado para os padrões de qualidade da abelha *Apis*, com valores de pH acima de 4,6 (Instrução Normativa (IN) N° 11, de 20 de outubro de 2000). Ao considerar os padrões de qualidade para as AFS no Estado do Paraná, de acordo com a Portaria N° 63, de 10 de março de 2017, apenas uma amostra (A7_bugia) obteve resultado (pH = 4,81) acima de 4,7.

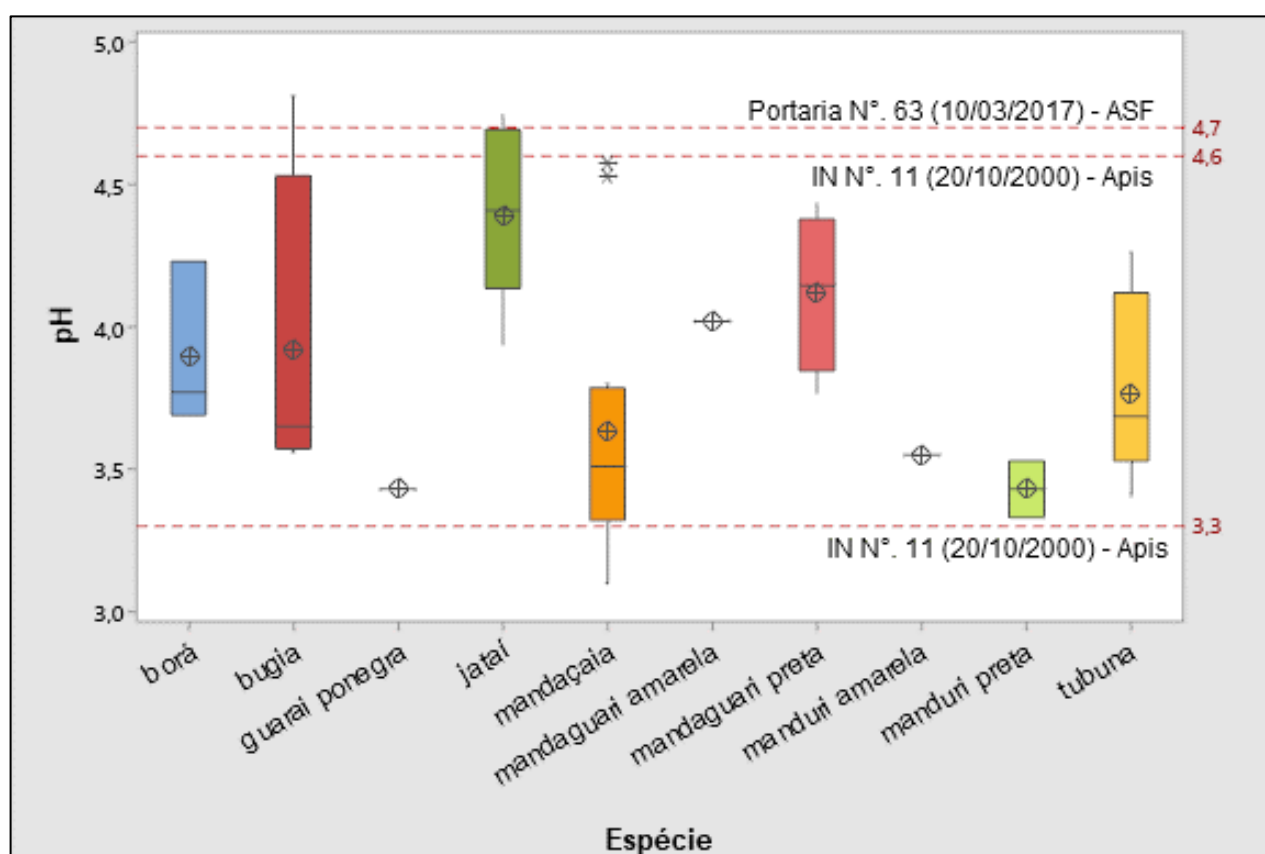


Figura 12. Bloxpot dos valores de pH.

Os resultados de umidade e pH corroboram com resultados de outros trabalhos reportados na literatura. Em 2023, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) realizou um levantamento das características físico-químicas dos principais produtos meliponícolas de diversos trabalhos realizados em várias regiões do Brasil, com

um total de 409 amostras de méis de ASF [51]. Os resultados dos parâmetros de umidade e pH das mesmas espécies estudadas neste trabalho foram compilados na Tabela 5.

Tabela 5. Dados médios dos parâmetros físico-químicos de umidade e pH de mel de meliponíneos do Brasil.

Espécie	Amostras	Umidade média (%)	pH	Estado/Região	Fonte
Mandaçaia (<i>Melipona quadrifasciata</i>)	8	35,75	3,15	PR/S	[10]
	6	31,23	3,37	SC/S	[55]
	12	32,46	3,71	SC/S	[13]
	4	30,71	3,59	PR/S	[12]
	2	29,87	3,3	PR/S	[56]
	4	36,89	3,18	PR/S	[11]
	13	29,9	3,63	PR/S	Este trabalho
Média geral	-	32,7	3,4	-	-
Tubuna (<i>Scaptotrigona bipunctata</i>)	8	27,65	3,88	PR/S	[10]
	1	29,77	3,45	SC/S	[55]
	2	23,95	4,48	SC/S	[13]
	1	24,6	4,17	PR/S	[12]
	8	27,7	3,77	PR/S	Este trabalho
Média geral	-	26,7	3,95	-	-
Jataí (<i>Tetragonisca angustula</i>)	1	21,2	4,13	AC/N	[57]
	20	24,37	4,1	SP/SE	[58]
	6	26,98	3,89	SC/S	[55]
	2	23,75	4,77	SC/S	[13]
	2	25,9	4,25	PR/S	[12]
	4	21,8	3,69	PR/S	[56]
	8	25,74	3,87	PR/S	[59]
	4	25,99	4,08	PR/S	[11]
	8	23,8	4,39	PR/S	Este trabalho
Média geral	-	24,4	4,1	-	-
Bugia (<i>Melipona mondury</i>)	20	29,18	4,06	BA/NE	[62]
	2	29,75	5,18	SC/S	[13]
	11	-	4,19	ES/SE	[59]
	3	29,97	3,5	PR/S	[11]
	4	26,7	3,92	PR/S	Este trabalho
Média geral	-	28,9	4,2	-	-
Mandaguari Preta (<i>Scaptotrigona depilis</i>)	1	24,35	-	SP/SE	[60]
	3	-	3,4	MT/CO	[61]
	4	26,7	4,12	PR/S	Este trabalho
Média geral	-	25,5	3,8	-	-
Borá (<i>Tetragona clavipes</i>)	1	30,37	3,93	SC/S	[55]
	1	25,2	4,28	SC/S	[55]
	4	26,8	3,78	PR/S	[12]
	3	19	5,6	AL/NE	[46]
	3	28,0	3,90	PR/S	Este trabalho
Média geral	-	26	4,3	-	-
Manduri Amarela (<i>Melipona marginata</i>)	3	32,44	2,93	PR/S	[11]
	1	33,0	3,55	PR/S	Este trabalho
Média geral	-	32,7	3,24	-	-

Guaraipo Negra (<i>Melipona bicolor</i>)	8	34,46	3,31	PR/S	[10]
	4	30,08	3,38	SC/S	[55]
	5	34,68	3,76	SC/S	[13]
	4	32,44	3,35	PR/S	[12]
	4	30,18	3,32	PR/S	[11]
	1	27,1	3,43	PR/S	Este trabalho
Média geral	-	31,5	3,43	-	-
Mandaguari Amarela (<i>Scaptotrigona xanthotricha</i>)	1	24,4	3,93	PR/S	[12]
	3	29,84	3,58	PR/S	[11]
	1	25,0	4,02	PR/S	Este trabalho
	Média geral	-	26,4	-	-

Fonte: adaptado de [15].

Os valores de pH podem ser influenciados de diversas maneiras, a depender da composição da amostra coletada. Em geral, as amostras de mel de ASF são ácidas, com valores de pH abaixo de 5. O pH médio das 45 amostras analisadas foi de 3,87. O pH do mel é influenciado pela origem botânica, sendo geralmente inferior a 4,0 para mel de origem floral e superior a 4,5 para o mel de melato. Melato é um termo usado na biologia para descrever as excreções líquidas açucaradas de várias espécies de homópteros que parasitam plantas, sugando a seiva elaborada do floema. Essas excreções são coletadas pelas abelhas, que as tratam como néctar, submetendo-as a processos enzimáticos similares. Contudo, o produto final, conhecido como mel de melato, apresenta propriedades físico-químicas diferentes do mel convencional [52]. O pH pode também ser influenciado pela presença de diferentes ácidos, bem como pela concentração de íons cálcio, sódio, potássio e outros componentes das cinzas [53].

Em geral, o alto teor de água e acidez, juntamente com sua microbiota, favorecem a fermentação do mel, que é uma característica natural do mel de ASF [54]. Entretanto, a fermentação é vista como uma característica indesejada no mel. Conforme especificado no *Codex Alimentarius*, o mel não deve apresentar sinais de início de fermentação ou já estar fermentado.

A acidez característica dos méis de ASF é oriunda principalmente em razão da presença de diversos ácidos orgânicos. Um estudo pioneiro no Brasil na determinação de ácidos orgânicos alifáticos (AOA) foi realizado por Santos e colaboradores [47] em méis produzidos por diferentes espécies de abelhas sem ferrão (*Melipona bicolor*, *Scaptotrigona bipunctata*, *Melipona quadrifasciata* e *Melipona marginata*) e os ácidos acético, glucônico e láctico foram os ácidos orgânicos alifáticos predominantes em todas as amostras analisadas.

Esses resultados reforçam a importância da construção de um regulamento federal para as abelhas sem ferrão, visto que as características intrínsecas dos parâmetros físico-químicos dos meliponíneos divergem dos requisitos propostos pela instrução normativa aplicada aos méis da abelha *Apis*.

5.4 - Determinação de hidroximetilfurfural e furfural

A quantificação de hidroximetilfurfural (HMF) e de furfural (FF) foi realizada apenas para 6 amostras como um indicativo de qualidade de armazenamento e qualidade do mel.

A Tabela 6 mostra as equações das curvas de calibrações obtidas para os dois compostos, com utilização do padrão interno FDCA, que foi usado para minimizar oscilações do detector e do volume de injeção.

O FDCA é um produto derivado da oxidação do HMF e se forma apenas em condições específicas [63], logo ele não é encontrado naturalmente no mel e tais características o fazem um componente adequado para ser usado como padrão interno na determinação de HMF e FF em mel. O método analítico foi validado previamente por Godoy e colaboradores [36].

Tabela 6: Equação da reta, coeficiente de determinação (R^2), limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) obtidos para as curvas de HMF e FF.

Composto	Equação da reta	R^2	LQ (mg kg ⁻¹)	LD (mg kg ⁻¹)
HMF	$y = 60623x + 0,0027$	0,9997	0,63	0,25
FF	$y = 69504x + 0,0077$	0,9996	0,87	0,19

Como pode ser observado na Tabela 7, apenas para a amostra A4_jatai foi identificada a presença de HMF, embora abaixo do limite de quantificação e não foi detectado nenhum dos dois compostos nas demais amostras. Isso significa que as colmeias provavelmente estão fixadas em locais adequados, não sofrendo superaquecimento ou degradação e evidencia méis frescos.

Tabela 7: Concentração média de HMF e FF das amostras de méis coletadas nas duas regiões.

Amostra	Local de coleta	HMF (mg kg⁻¹)	FF (mg kg⁻¹)
A4_jatai	1	0,35 ± 0,02	≤ LD
A5_mandaçaia		≤ LD	≤ LD
A6_tubuna		≤ LD	≤ LD
A7_bugia	2	≤ LD	≤ LD
A8_mandaguaripreta		≤ LD	≤ LD
A9_mandaçaia		≤ LD	≤ LD

A formação de HMF está associada a características químicas como pH, teor de ácido livre, acidez total, teor de lactona e teor de minerais. Também é formado devido à degradação de hexoses, como glicose, frutose e galactose, sob condições ácidas em altas temperaturas [69]. Ele também pode ser gerado a partir de oligo e polissacarídeos, que liberam hexoses após hidrólise. Entretanto, a produção de HMF ocorre de maneira mais seletiva a partir de ceto-hexoses, como a frutose [70].

A taxa de formação de HMF é influenciada pela proporção entre frutose e glicose e pelo tipo de açúcares presentes. Estudos indicam que, em pH 4,6, a frutose é cinco vezes mais reativa que a glicose. Dessa forma, uma alta proporção de frutose em relação à glicose acelera a formação de HMF [71].

No levantamento feito pelo MAPA [51] com cerca de 44 estudos realizados em 13 estados diferentes do país, os valores de HMF oscilaram entre 0,21 e 72 mg kg⁻¹ e em algumas amostras foram indetectáveis. Mesmo com uma amplitude grande nos resultados, mais de 80% das médias de HMF ficaram abaixo do limite de 40 mg kg⁻¹ estipulado pelos Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade (RTIQs) no Amazonas [72] Santa Catarina [73] e Paraná [45]. A

Tabela **8** mostra os resultados obtidos neste mesmo levantamento para as espécies estudadas neste trabalho, no qual os valores variaram entre 0,21 e 58,3 mg kg⁻¹.

A alta variabilidade nos resultados, com algumas amostras apresentando valores elevados de HMF, pode ser atribuída à exposição extrema à luz após a coleta e o processamento do mel, pois o mel dentro das colmeias geralmente não estão expostos diretamente à luz por longos períodos [74]. Além disso, a origem botânica [75] e a localização da colmeia [76] também podem influenciar os níveis de concentração de HMF.

Tabela 8. Resultados de HMF em ASF em estudos brasileiros.

Espécie	n	HMF (mg kg ⁻¹)	Estado/Região	Fonte
Mandaçaia (<i>Melipona quadrifasciata</i>)	8	0,55	PR/S	[10]
	12	< LQ	SC/S	[13]
	4	7,65	PR/S	[12]
	4	42,63	PR/S	[11]
Tubuna (<i>Scaptotrigona bipunctata</i>)	8	1,44	PR/S	[10]
	2	< LQ	SC/S	[13]
	1	2,5	PR/S	[12]
Jataí (<i>Tetragonisca angustula</i>)	1	21,52	AC/N	[57]
	20	9,39	SP/SE	[58]
	2	< LQ	SC/S	[13]
	2	7,76	PR/S	[12]
	4	27,99	PR/S	[11]
Bugia (<i>Melipona mondury</i>)	20	1,6	BA/NE	[62]
	2	< LQ	SC/S	[13]
	3	51,38	PR/S	[11]
Mandaguari Preta (<i>Scaptotrigona depilis</i>)	1	1,2	SP/SE	[60]
Borá (<i>Tetragona clavipes</i>)	1	< LQ	SC/S	[55]
	4	3,3	PR/S	[12]
	3	18	AL/NE	[46]
Manduri Amarela (<i>Melipona marginata</i>)	3	48,09	PR/S	[11]
Guaraipo Negra (<i>Melipona bicolor</i>)	8	0,21	PR/S	[10]
	5	< LQ	SC/S	[13]
	4	5,88	PR/S	[12]
	4	31,58	PR/S	[11]
Mandaguari Amarela (<i>Scaptotrigona xanthotricha</i>)	1	1,2	PR/S	[12]
	3	58,3	PR/S	[11]

n: número amostral; LQ: limite de quantificação; S: sul; N: norte; SE: sudeste; NE: nordeste;

Fonte: adaptado de [15].

5.5 - Voltametria

Este estudo se concentra na caracterização eletroquímica de amostras de mel utilizando duas técnicas principais: a voltametria cíclica e a voltametria de pulso diferencial. A voltametria cíclica é amplamente utilizada para investigar as propriedades redox de compostos químicos, fornecendo informações detalhadas sobre os processos de oxidação e redução das amostras ao longo de múltiplos ciclos de potencial. Já a voltametria de pulso diferencial permite uma análise mais precisa dos potenciais de oxidação e redução em um único ciclo, destacando características específicas que podem não ser evidentes na voltametria cíclica. Ambas as técnicas são essenciais para compreender a complexidade

das reações eletroquímicas nas amostras de mel, contribuindo para a identificação e quantificação dos seus componentes.

A Figura 13a destaca os voltamogramas de pulso diferencial para várias amostras de mel, sendo que as amostras de mel produzidas pela abelha Jataí, como "A1_jatai" e "A10_jatai", exibem características distintas em comparação com outras espécies.

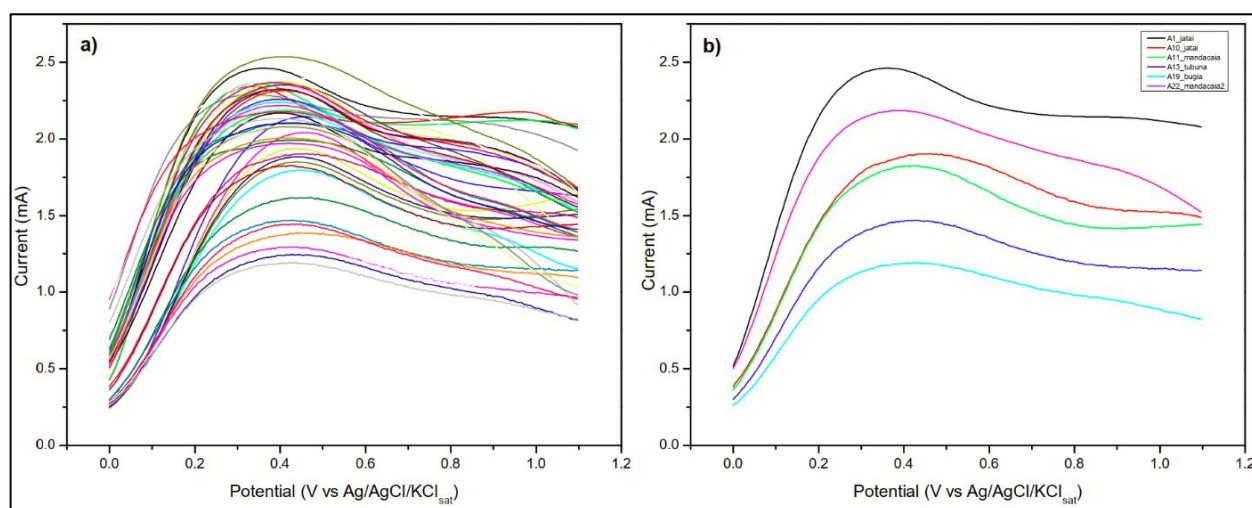


Figura 13. Comparação dos voltamogramas de pulso diferencial entre diferentes amostras de mel de abelhas sem ferrão (a) para as 45 amostras e (b) para as amostras coletadas em abril/2023.

Observa-se que o voltamograma da amostra "A1_jatai" atinge um pico de corrente em torno de 2,5 mA, que é relativamente elevado quando comparado a outras amostras, como "A11_mandaçaiá", cujo pico de corrente está próximo de 1,8 mA. Essa diferença sugere que o mel da Jataí pode conter uma maior concentração de compostos eletroativos ou diferentes compostos em comparação com o mel da Mandaçaiá, no potencial 0,40 V.

Além disso, ao comparar a amostra "A1_jatai" com "A13_tubuna", nota-se que a curva da Jataí não só atinge um pico de corrente mais alto, mas também mantém uma estabilidade relativa em um intervalo maior de potencial, indicando uma resposta mais uniforme dos componentes presentes no mel da Jataí. Por outro lado, a amostra "A13_tubuna" apresenta pico de corrente mais baixo, em torno de 1,5 mA, com uma variação mais abrupta na corrente conforme o potencial aumenta, sugerindo uma composição química diferente e possivelmente uma menor diversidade de compostos eletroativos, conforme mostra a Figura 13b.

Além das amostras de Jataí, outro resultado relevante é o das amostras "A22_mandaçaiá2" e "A19_bugia". O voltamograma da amostra "A22_mandaçaiá2" mostra

um pico de corrente em torno de 2,2 mA, que apesar de ser inferior ao das amostras de Jataí, é comparável ao de outras amostras da mesma espécie, como "A11_mandaçaia". No entanto, ao comparar com a amostra "A19_bugia", nota-se uma diferença significativa, pois esta apresenta um pico de corrente mais baixo, próximo de 1,2 mA (Figura 13b).

Dessa forma, ao comparar os resultados de "A22_mandaçaia2" e "A19_bugia" com outros voltamogramas, fica evidente que as características eletroquímicas do mel podem variar não apenas entre espécies de abelhas diferentes, mas também entre amostras da mesma espécie, como observado nas diferentes respostas das amostras de Mandaçaia e Bugia.

Isso reforça a complexidade e a diversidade química presente nos diferentes tipos de mel, refletindo as variações no ambiente e nas fontes florais acessadas por essas abelhas, reforçando a necessidade da utilização da análise multivariada.

O voltamograma cíclico das amostras de mel apresenta uma clara distinção nos padrões de corrente entre as diferentes amostras analisadas. Notam-se variações significativas nos picos de corrente conforme a variação no potencial, indicando diferenças na composição eletroquímica das amostras, conforme mostra a Figura 14.

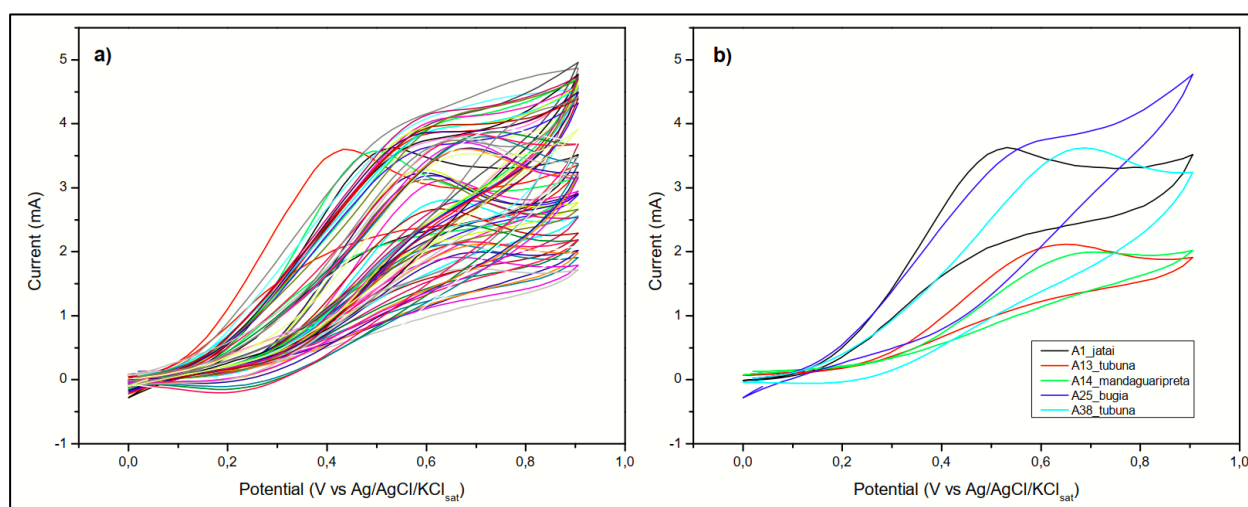


Figura 14. Comparação dos voltamogramas cíclicos entre diferentes amostras de mel de abelhas sem ferrão (a) para as 45 amostras e (b) para as amostras A1, A13, A14, A25 e A38.

Nestes voltamogramas também é observado aumento exponencial da corrente em potenciais maiores que 0,6 V em relação a Ag/AgCl, o que provavelmente está relacionado à oxidação dos íons OH^- na superfície do eletrodo, formando oxigênio (O_2) [64].

O perfil voltamétrico apresenta um processo anódico irreversível devido à oxidação dos açúcares redutores (principalmente glicose e frutose) presentes na composição das amostras de mel. A representação da reação é descrita pelas Equações 3

e 4. Há interação das hidroxilas presentes na solução com a camada de óxido de cobre (CuO). As características semicondutoras do CuO sugerem a formação de lacunas de elétrons (do inglês “*Electron holes*”, h^+), e a formação de espécies reativas, como os radicais livres (Equação 3).



O radical hidroxila tende a desorver da superfície com maior facilidade [65], criando um local que pode ser preenchido por outro íon OH^- . A energia resultante da interação entre a vacância h^+ e os íons OH^- adsorvidos pode ser suficientemente elevada para desencadear reações de oxidação. Consequentemente, carboidratos podem interagir com essas superfícies, sofrendo oxidação por meio da remoção de um átomo de hidrogênio lábil, um mecanismo semelhante ao proposto para carboidratos [66] e metanol [67].

Estas espécies reagem com os carboidratos formando produtos (como glucolactona no caso da oxidação da glicose) na interface do eletrodo na presença de hidroxilas e dos *electrons holes*, conforme representa a Equação 4 [64].



O perfil voltamétrico observado é diferente dependendo da espécie de abelhas, indicando diferentes concentrações de açúcares redutores em sua composição.

Em particular, a amostra de Jataí (A1_jatai) exibe comportamento eletroquímico distinto, com picos de corrente relativamente elevados em comparação a outras amostras, especialmente em relação à amostra de bugia (A25_bugia), que apresenta picos de menor intensidade e menos pronunciados ao longo do potencial. Essa diferenciação sugere variações nos componentes ativos, como compostos fenólicos e açúcares, que influenciam diretamente a resposta eletroquímica.

De maneira geral, as amostras de Tubuna (A13_tubuna e A38_tubuna) também se destacam com perfil de corrente mais elevado, evidenciando a riqueza em compostos redox ativos, comparativamente a outras amostras como Mandaguari (A14_mandaguari) que mostram uma menor atividade eletroquímica.

Esses resultados reforçam a diversidade composicional entre as amostras de mel das diferentes espécies de abelhas sem ferrão, evidenciando como a variabilidade na composição eletroquímica pode estar diretamente relacionada às características

intrínsecas de cada tipo de mel, como o perfil de compostos bioativos e antioxidantes. Essa diversidade é crucial não apenas para a determinação da qualidade do mel, mas também para a identificação de suas propriedades específicas, como potencial terapêutico, valor nutricional e capacidade antioxidante.

A compreensão dessas diferenças pode contribuir significativamente para a valorização comercial do mel produzido por abelhas sem ferrão, além de abrir novas perspectivas para pesquisas sobre as aplicações medicinais e funcionais desses produtos naturais.

5.6 - Análise de PCA e HCA na Estratificação de Dados

Após a análise de voltametria foi aplicado a análise de componentes principais (PCA) para reduzir a dimensionalidade dos dados e identificar os fatores que mais contribuem para a variabilidade entre as amostras, permitindo interpretação mais clara das diferenças observadas. A Tabela 9 apresenta a discriminação e contribuição das variáveis nas diferentes dimensões, indicando a importância relativa de cada componente principal na explicação da variância total dos dados. A quantidade de componentes gerada é igual a quantidade de variáveis coletadas (pH, umidade, condutividade, DPV 0,40 V, VC 0,51, 0,59 e 0,71 V).

Tabela 9. Discriminação e contribuição das variáveis nas dimensões.

Componente	Autovalor	Variância (%)	Variância acumulada (%)
CP1	3,7654	53,79	53,79
CP2	2,0446	29,21	83,00
CP3	0,6327	9,04	92,04
CP4	0,3301	4,72	96,75
CP5	0,1431	2,04	98,80
CP6	0,0732	1,05	99,84
CP7	0,0109	0,16	100,00

Observa-se que o primeiro componente principal (CP1) possui autovalor de 3,7654, explicando 53,79% da variância total, o que indica que este componente captura a maior parte da variabilidade presente nas amostras. O segundo componente principal (CP2) possui autovalor de 2,0446, explicando 29,21% da variância e, somado ao primeiro componente, abrange 83,00% da variância total dos dados. Isso sugere que as duas primeiras dimensões são suficientes para explicar a maior parte da variabilidade nas amostras de mel.

Os componentes adicionais, como CP3 e CP4, explicam 9,04% e 4,72% da variância, respectivamente, com contribuição cumulativa de 92,04% e 96,75%. Esses componentes capturam variações mais sutis, que podem ser importantes para distinguir características menos pronunciadas nas amostras. Os últimos componentes (CP5, CP6 e CP7) têm contribuições significativamente menores, indicando baixa explicação dos dados. Esses resultados mostram que os dois primeiros componentes principais são os mais relevantes para a análise, permitindo descrição eficaz da variabilidade nas características físico-químicas e eletroquímicas das amostras de mel analisadas.

A Tabela 10 apresenta a matriz de carga (*loadings*) obtida a partir dessa análise, sendo que cada valor representa a correlação entre as variáveis originais e os componentes principais. Observa-se que as variáveis "VPD 0,40V", "VC 0,51V", "VC 0,59V" e "VC 0,71V" apresentam altas cargas positivas no primeiro componente (CP1), indicando que essas variáveis têm uma forte correlação com este componente, sendo as principais responsáveis pela variabilidade capturada nesta dimensão. Em contrapartida, a variável "Umidade (%)" apresenta uma carga negativa baixa em CP1 e uma carga negativa mais pronunciada em CP2, sugerindo uma menor influência no primeiro componente e maior correlação com o segundo componente.

Tabela 10. Matriz de carga das variáveis para as primeiras dimensões do PCA.

Variável	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Umidade (%)	-0,13377242	-0,73620430	0,64795060	0,13979587	0,02329009
pH	-0,02128913	0,89767765	0,12562537	0,41564979	0,04489945
Condutividade (mS cm ⁻¹)	-0,07956124	0,83364093	0,43460052	-0,32761627	-0,01094197
VPD 0,40 V	0,95967569	0,01323506	0,06992407	-0,08791974	-0,16725439
VC 0,51 V	0,96434644	0,00703579	0,02114122	0,12489550	-0,17628930
VC 0,59 V	0,98846505	0,00541734	0,05146461	0,03793966	0,07039711
VC 0,71 V	0,95535580	-0,03965925	-0,01510759	-0,07545463	0,27647264

O pH e a condutividade também se destacam com altas cargas em CP2, indicando que estas variáveis são mais relevantes na explicação da variabilidade capturada pelo segundo componente. A análise das cargas nos componentes adicionais (CP3, CP4, CP5) mostra que estas dimensões representam pequenas variações nos dados, com menor influência das variáveis, como evidenciado pelas cargas mais baixas e próximas de zero.

Esses resultados da matriz de carga revelam quais variáveis possuem maior influência nos principais componentes, fornecendo achados importantes sobre as características físico-químicas e eletroquímicas do mel que mais contribuem para a

distinção entre as amostras analisadas. Os resultados das duas principais dimensões estão representados na Figura 15.

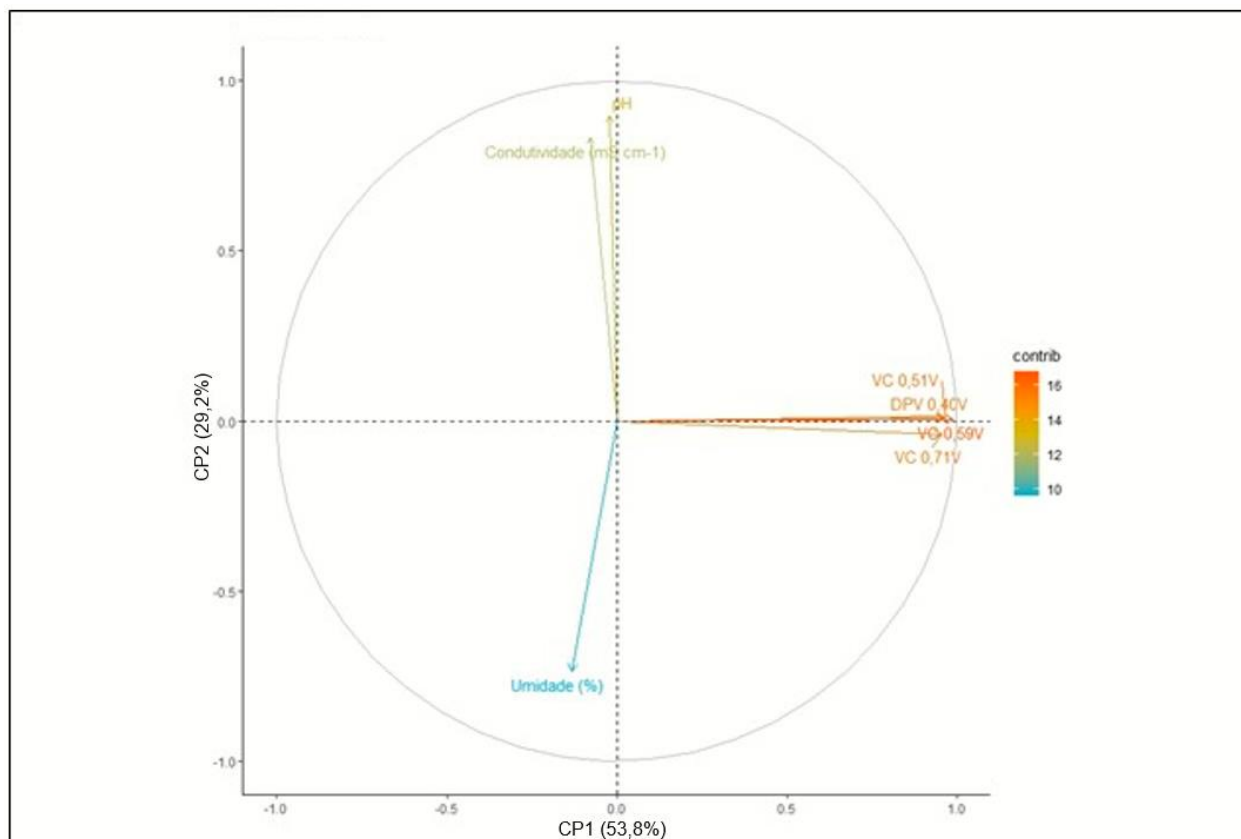


Figura 15. Distribuição das variáveis nas primeiras dimensões do PCA (*loadings*).

A Figura 15 apresenta a distribuição das amostras de acordo com CP1 e CP2, que explicam, respectivamente, 53,8% e 29,2% da variância total dos dados. As amostras estão representadas por suas designações específicas, permitindo observar a separação das diferentes espécies de abelhas com base nas variáveis físico-químicas e eletroquímicas.

A análise das duas dimensões principais revela padrões distintos de distribuição das amostras de mel produzidas por diferentes espécies de abelhas, conforme mostra a Figura 16. As amostras de Jataí (A1, A4, A10, A20, entre outras) tendem a se concentrar nas regiões com valores positivos ao longo de CP1, indicando forte correlação com as variáveis voltamétricas, como "diferença de pulso diferencial a 0,40 V" (VPD 0,40 V) e "voltametria cíclica a 0,51 V" (VC 0,51 V). Esses resultados sugerem que o mel produzido pela espécie jataí possui características eletroquímicas marcantes que o distinguem das demais amostras.

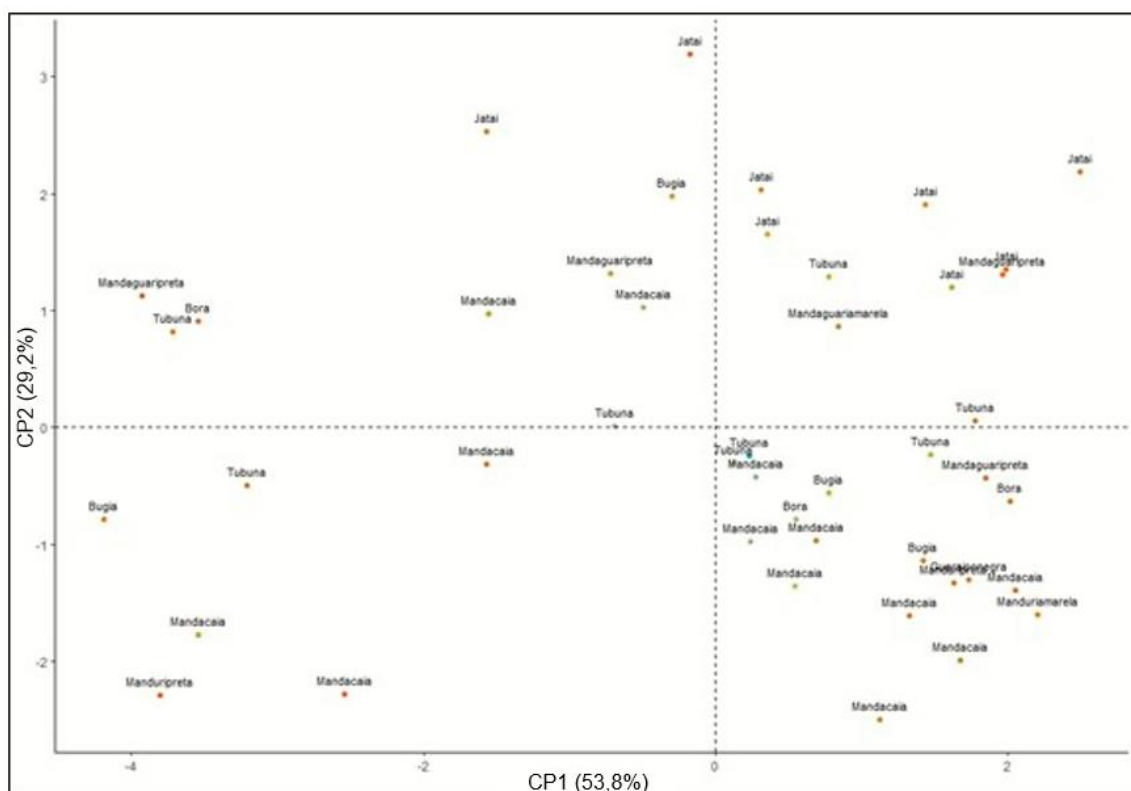


Figura 16. Distribuição das amostras de mel por espécie de abelha nas dimensões principais da análise de componentes principais (escores).

Por outro lado, as amostras de mandaçaia (A2, A5, A9, A12, A17, entre outras) mostram distribuição mais ampla ao longo das duas dimensões, com algumas amostras localizadas em regiões positivas de CP1 e outras em áreas negativas. Isso reflete maior variabilidade nas características das amostras de mel desta espécie, com influências tanto das variáveis voltamétricas quanto de pH e condutividade elétrica.

As amostras de tubuna (A3, A6, A13, A18, entre outras) também apresentam distribuição dispersa, mas se destacam pela presença em regiões mais próximas ao centro das duas dimensões, sugerindo contribuição equilibrada das variáveis analisadas. A proximidade de algumas amostras de tubuna com as de jataí em CP1 indica possíveis similaridades nas características voltamétricas, embora com variações menores em relação ao pH e à condutividade.

Por fim, as amostras de mandaguari e bugia (A8, A14, A19, entre outras) se distribuem predominantemente ao longo de CP2, sugerindo que essas espécies de abelhas produzem mel com características mais influenciadas pelo pH e pela condutividade, diferenciando-se claramente das amostras de jataí e mandaçaia em CP1.

ntre as amostras com base no gênero da espécie da abelha, utilizando como base os resultados físico químicos de pH, umidade e condutividade.

O gênero pode impactar nos parâmetros do mel, pois cada gênero de abelha possui um comportamento distinto na forma de produzir o mel, pois diferentes gêneros tendem a visitar diferentes tipos de flores. Além disso, possuem enzimas únicas que atuam na transformação do néctar em mel. Essas enzimas podem variar em quantidade e tipo, resultando em méis com diferentes teores de açúcares, ácidos e outros compostos. A forma como o mel é armazenado dentro da colmeia também pode variar entre os gêneros. Algumas espécies constroem potes de mel maiores e mais isolados, enquanto outras armazenam o mel em células menores e mais próximas. Essas diferenças podem influenciar a maturação do mel e sua qualidade [44].

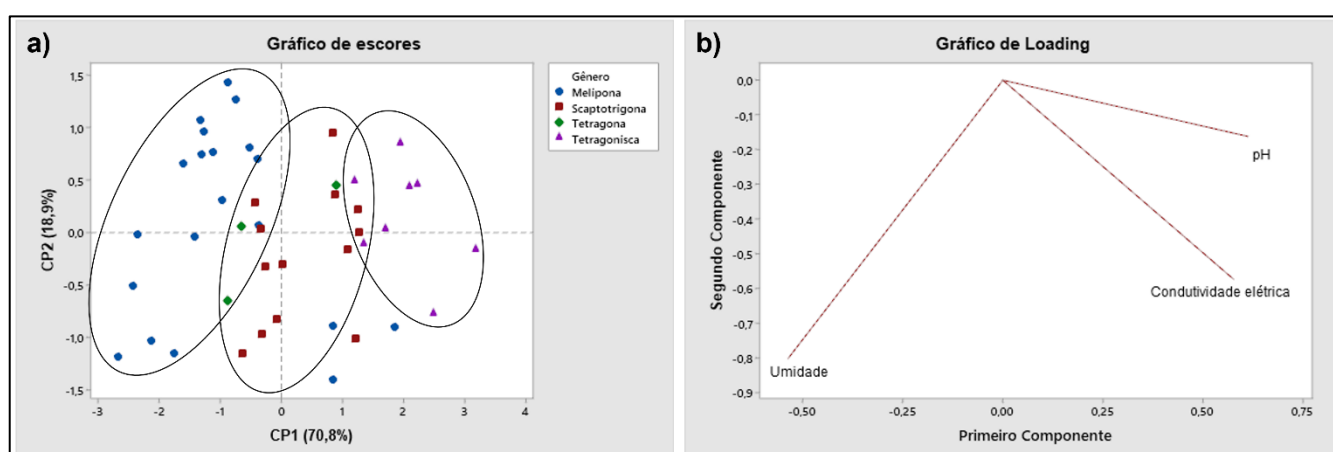


Figura 18. Gráficos de (a) escores e (b) *loadings* obtidos com base no gênero das abelhas.

O gráfico de escores mostra a distribuição dos dados em um novo espaço dimensional, criado pelos componentes principais. Cada ponto no gráfico representa uma amostra de mel, e sua posição indica como ela se relaciona com as outras amostras em termos dos componentes principais (CP1 e CP2). As elipses ao redor dos pontos indicam a distribuição dos dados para cada gênero de abelha (*Melipona*, *Scaptotrigona*, *Tetragona* e *Tetragonisca*). Por outro lado, o gráfico de *loading* mostra como as variáveis originais (umidade, pH e condutividade elétrica) contribuem para a formação dos componentes principais.

As direções e os comprimentos das setas indicam a influência de cada variável nos componentes principais. Variáveis que têm os segmentos de retas apontando na mesma direção estão correlacionadas positivamente, enquanto as retas em direções opostas indicam correlações negativas. O gráfico de *loading* mostra que a condutividade

elétrica tem maior influência em CP2, enquanto a umidade contribui negativamente para CP2. Neste caso, as amostras do gênero *Tetragonisca* (jataí) foram separadas em função da condutividade e do pH, pois os vetores no gráfico de *loadings* estão positivamente contribuindo no CP1, enquanto é observado que a umidade contribui negativamente para CP2, logo as amostras do gênero *melipona* (mandaçaia, manduri preta e amarela, guaraipe negra e bugia) foram separadas principalmente em virtude de maiores valores de umidade.

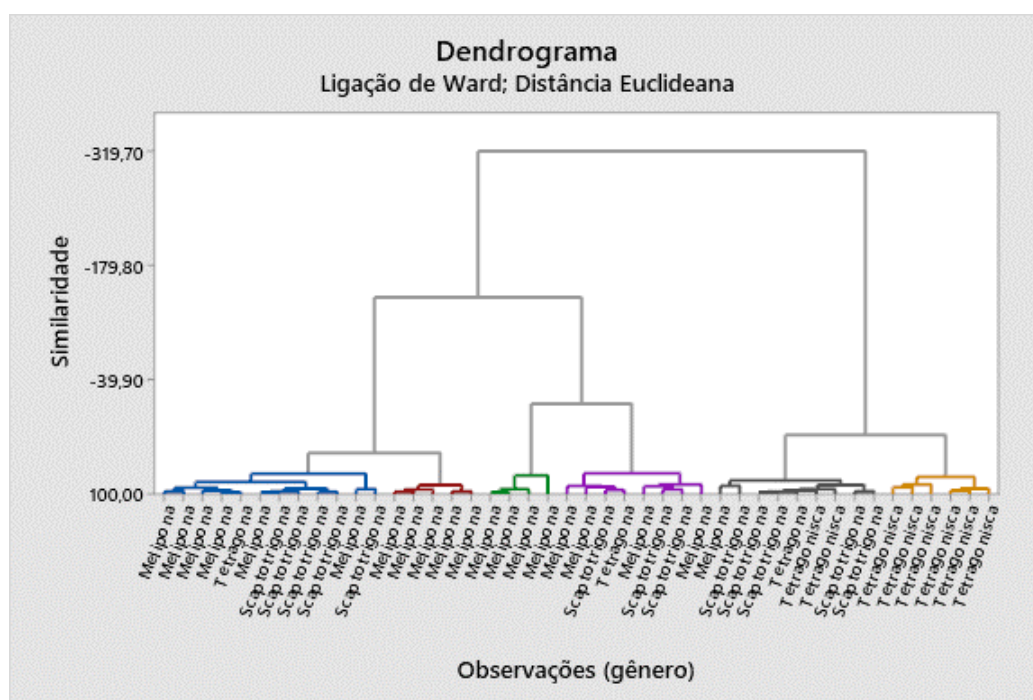


Figura 19. Dendrograma de agrupamento hierárquico das amostras de mel por gênero com base nos parâmetros físico-químicos.

O teor de umidade do mel é um fator crucial para sua qualidade e conservação que varia de acordo com o gênero da abelha sem ferrão. *Meliponas*, por exemplo, produzem méis com maior teor de água, enquanto as *Tetragoniscas* produzem méis com menor teor de umidade, resultando em um sabor mais suave e características sensoriais distintas [15]. Os resultados deste estudo corroboram essa informação, com teor de umidade médio de 29,3% para as amostras de *Melipona* e 23,8% para *Tetragonisca*.

5.7 - Análise multivariada

Para analisar o impacto das diferentes variáveis eletroquímicas em função da espécie de abelha, local de coleta e data de coleta, foi conduzida análise de regressão linear, cujos resultados são apresentados na Tabela 11. Os coeficientes estimados indicam a magnitude e direção da influência dessas variáveis sobre os valores de VPD e VC em diferentes potenciais.

5.7.1 Variação dos resultados em função da espécie

Os resultados da análise de regressão multivariada revelam diferenças eletroquímicas significativas entre as espécies de abelhas sem ferrão quando comparadas à espécie jataí. Especificamente, a espécie Bugia demonstrou redução significativa nos valores de VC 0,71 V ($p = 0,02$). Isso sugere que o mel produzido por bugia possui uma menor atividade eletroquímica em comparação ao mel da jataí, potencialmente devido a diferenças na concentração de compostos redox ativos. Similarmente, a Mandaçaia também apresentou impacto negativo significativo em VC 0,71 V ($p = 0,01$), indicando que o mel dessa espécie pode ter características eletroquímicas únicas que influenciam o comportamento em diferentes voltagens.

A espécie tubuna destacou-se por apresentar influência negativa significativa em múltiplos potenciais, com uma redução acentuada tanto em VC 0,71 V ($p = 0,002$) quanto em VC 0,59 V ($p = 0,07$). Estes resultados sugerem que o mel da tubuna possui propriedades eletroquímicas que se distinguem significativamente das demais espécies analisadas. Isso pode estar relacionado à flora específica disponível para essa espécie de abelha ou a condições ambientais particulares das regiões nas quais o mel foi coletado. A variação nos potenciais sugere que o mel da tubuna pode ter menor concentração de compostos antioxidantes ou outros componentes eletroativos em comparação com o mel de jataí.

Essas variações entre as espécies não apenas destacam a complexidade da composição química do mel de abelhas sem ferrão, mas também mostram a importância de levar em consideração as diferenças biológicas e ecológicas ao estudar os parâmetros eletroquímicos do mel. O R^2 ajustado para esse modelo foi de 0,96, indicando excelente capacidade do modelo em explicar a variabilidade nos dados eletroquímicos com base nas espécies de abelhas.

5.7.2 Variação dos resultados em função do local

Os resultados da análise de regressão revelam diferenças importantes nos parâmetros eletroquímicos do mel coletado em diferentes locais. Quando comparado ao Local 3 (área intermediária), o Local 1 (área urbana) apresentou aumento nos valores dos parâmetros eletroquímicos, como indicado por coeficiente positivo, embora sem significância estatística nos diferentes potenciais de voltagem analisados (VC 0,51 V $p = 0,13$; VC 0,71 V $p = 0,26$). Isso sugere que o mel das colmeias situadas em áreas urbanas pode apresentar variações eletroquímicas que, apesar de não serem estatisticamente significativas, ainda indicam uma tendência de maior atividade eletroquímica em comparação ao mel das áreas intermediárias.

Por outro lado, o mel coletado no Local 2 (área de mata), que está situado em meio a plantações de eucalipto, não mostrou diferenças estatisticamente significativas em relação ao Local 3, com coeficientes próximos de zero (VC 0,51 V ($p = 0,34$); VC 0,71 V ($p = 0,84$)). Esses resultados sugerem que, apesar das diferenças ambientais entre uma área de mata e uma área urbana próxima a matas, as características eletroquímicas do mel não variaram significativamente. Essa falta de variação pode estar relacionada à homogeneidade das fontes de néctar disponíveis para as abelhas nessas áreas, especialmente considerando a presença predominante de eucaliptos no Local 2.

Esse resultado pode estar relacionado com o raio de voo das abelhas, pois cada espécie possui uma distância máxima na qual as abelhas forrageiras da colmeia se deslocam para a obtenção de alimentos, o que impacta na composição do mel. Algumas distâncias relatadas para jataí, manduri amarela, mandaçaia e guaraipo negra são de 0,6, 0,8, 2 e 2,3 quilômetros, respectivamente [15]. Contudo, essa informação ainda é escassa na literatura. Assim, a depender da proximidade entre as espécies, ambas podem compartilhar as mesmas fontes de alimentação, influenciando diretamente na similaridade ou diversidade das características do mel produzido.

Em resumo, a análise sugere que a localização das colmeias, seja em áreas urbanas, de mata, ou intermediárias, pode ter algum impacto nos parâmetros eletroquímicos do mel, mas essas diferenças nem sempre são estatisticamente significativas. O R^2 ajustado para o modelo foi de 0,96, indicando que a localização das colmeias explica uma boa parte da variação observada nos parâmetros eletroquímicos.

Tabela 11. Resultados da análise multivariada dos parâmetros eletroquímicos do mel em função da espécie da abelha, local de coleta e período de coleta.

Predictor	Parâmetros eletroquímicos em diferentes potenciais de voltagem							
	VPD 0,40 V (R ² ajustado= 0,90)		VC 0,51 V (R ² ajustado= 0,97)		VC 0,59 V (R ² ajustado= 0,94)		VC 0,71 V (R ² ajustado= 0,96)	
	Coefficiente estimado	p-valor	Coefficiente estimado	p-valor	Coefficiente estimado	p-valor	Coefficiente estimado	p-valor
Intercept ^a	2,27	<0,001	3,34	<0,001	<0,001	<0,001	3,13	<0,001
Espécie de abelha:								
Bora – Jatai	0,11	0,33	-0,33	0,07	-0,29	0,12	-0,08	0,57
Bugia – Jatai	-0,14	0,18	0,02	0,91	-0,14	0,40	-0,31	0,02*
Guaraipo negra – Jatai	0,02	0,91	0,04	0,86	-0,09	0,74	-0,29	0,17
Mandaçaia – Jatai	-0,07	0,28	-0,05	0,59	-0,13	0,24	-0,24	0,01*
Mandaguari amarela – Jatai	-0,04	0,82	0,03	0,90	-0,07	0,80	-0,11	0,62
Mandaguari preta – Jatai	-0,08	0,44	-0,02	0,90	-0,09	0,59	-0,19	0,16
Manduri amarela – Jatai	0,07	0,66	0,11	0,67	0,15	0,57	0,08	0,71
Manduri preta – Jatai	-0,12	0,35	-0,10	0,62	-0,19	0,34	-0,32	0,06
Tubuna – Jatai	-0,08	0,30	-0,17	0,16	-0,22	0,07	-0,32	0,002*
Local da coleta:								
Local 1 (área urbana) – Local 3 (área intermediária)	0,13	0,17	0,23	0,13	0,15	0,32	0,14	0,26
Local 2 (área de mata) – Local 3 (área intermediária)	0,00	1,00	0,14	0,34	0,04	0,77	-0,02	0,84
Período da coleta:								
Abr/2023(outono) – Mar/2023 (Verão)	-0,34	0,002*	-0,85	<0,001*	-0,12	0,47	-0,11	0,43
Jun/2023 (Inverno) – Mar/2023 (Verão)	-0,80	<0,001*	-1,82	<0,001*	-1,16	<0,001*	-0,78	<0,001*
Dez/2023 (Primavera) – Mar/2023 (Verão)	0,02	0,81	0,03	0,86	0,68	<0,001*	1,06	<0,001*
Mar/2024 (Verão) – Mar/2023 (Verão)	-0,32	0,003*	-0,88	<0,001*	0,01	0,97	0,59	<0,001*
Jun/2024 (Inverno) – Mar/2023 (Verão)	-0,06	0,65	-0,65	0,002*	0,28	0,17	0,83	<0,001*

5.7.3 Variação dos resultados em função do período de coleta

Os resultados da análise de regressão destacam a influência significativa do período de coleta nos parâmetros eletroquímicos do mel. Em particular, observou-se que o mel coletado durante o inverno de 2023 (junho) apresentou redução significativa em todos os potenciais analisados em comparação ao mel coletado no verão de 2023 (março), como a queda foi mais acentuada em VC 0,51V (coeficiente = -1,82, $p < 0,001$) e em VC 0,59V (coeficiente = -1,16, $p < 0,001$). Esses resultados indicam que as condições ambientais durante o inverno podem ter um impacto negativo significativo na atividade eletroquímica do mel, possivelmente refletindo mudanças na flora disponível ou no comportamento das abelhas durante essa estação.

Além disso, o mel coletado no outono de 2023 (abril) também mostrou uma redução significativa, especialmente em VPD 0,40V (coeficiente = -0,34, $p = 0,002$) e em VC 0,51V (coeficiente = -0,85, $p < 0,001$), embora a magnitude dessa redução seja menor do que a observada no inverno. Por outro lado, as coletas realizadas na primavera de 2023 (dezembro) e no verão de 2024 (março) mostraram uma tendência oposta, com aumentos significativos nos valores eletroquímicos, particularmente em VC 0,71V durante a primavera (coeficiente = 1,06, $p < 0,001$) e no verão de 2024 (coeficiente = 0,59, $p < 0,001$). Isso sugere que as condições ambientais mais favoráveis durante essas estações podem promover maior atividade eletroquímica no mel, possivelmente associada a maior diversidade e disponibilidade de fontes de néctar.

Esses achados ressaltam a importância do período de coleta como um fator determinante na composição eletroquímica do mel, influenciando suas propriedades de forma significativa ao longo do ano. O R^2 ajustado para esses modelos variou de 0,90 a 0,97, indicando uma alta capacidade preditiva do período de coleta sobre os parâmetros eletroquímicos do mel.

6 - CONCLUSÃO

Este estudo demonstra que a voltametria cíclica e a voltametria de pulso diferencial permitiu identificar variações significativas nas características do mel produzido por diferentes espécies de abelhas sem ferrão. As análises realizadas, incluindo PCA, HCA e regressões multivariadas, evidenciaram que fatores como a espécie de abelha, o local de coleta e o período de coleta desempenham um papel crucial na determinação dos parâmetros físico-químicos e eletroquímicos do mel.

Os resultados da voltametria cíclica e de pulso diferencial revelaram que o mel produzido pela abelha Jataí apresenta características eletroquímicas distintas, com picos de corrente mais elevados, o que sugere maior concentração de compostos eletroativos.

As análises de PCA permitiram identificar os principais componentes que explicam a maior parte da variabilidade nos dados. As variáveis relacionadas à voltametria, como VPD e VC em diferentes potenciais, foram os principais contribuintes para a primeira dimensão, indicando que estas variáveis são cruciais para distinguir entre as diferentes amostras de mel. A umidade e o pH, embora importantes, tiveram maior influência nas dimensões secundárias, sugerindo que as características eletroquímicas são os principais fatores de discriminação entre as amostras.

Esses resultados, quando combinados, fornecem uma visão abrangente das diferenças entre as amostras de mel e demonstram a eficácia das análises multivariadas em capturar a complexidade desses produtos naturais. A integração dos métodos de PCA e HCA permitiu não apenas identificar as variáveis mais importantes, mas também como elas se relacionam para formar perfis distintos de mel, o que pode ter implicações diretas na qualidade e autenticidade do mel de abelhas sem ferrão.

Por fim, a análise multivariada mostrou que as espécies de abelhas e o período de coleta influenciam significativamente os parâmetros eletroquímicos do mel, com variações notáveis durante o inverno e a primavera, indicando a importância das condições ambientais na composição final do mel.

7 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desse estudo evidenciam a relevância da abordagem multidisciplinar para a análise da qualidade do mel produzido por diferentes espécies de abelhas. Ao integrar métodos eletroquímicos, como a voltametria cíclica e a voltametria de pulso diferencial com métodos quimiométricos, foi possível identificar padrões significativos que distinguem as amostras de mel quanto à sua origem e condições de coleta.

A análise de componentes principais (PCA) demonstrou ser uma ferramenta eficaz para reduzir a dimensionalidade dos dados, preservando a variabilidade essencial que explica as diferenças entre as amostras.

Além disso, a análise multivariada confirmou a influência significativa das espécies de abelhas e do período de coleta nos parâmetros eletroquímicos do mel. As variações sazonais, especialmente entre o inverno e a primavera, reforçam a necessidade de considerar as condições ambientais ao avaliar a qualidade do mel. Esses achados têm implicações práticas tanto para a apicultura quanto para a indústria alimentícia, sugerindo que o monitoramento cuidadoso das variáveis ambientais pode otimizar a produção de mel com características desejáveis e consistentes.

Assim, este estudo contribui para o conhecimento sobre a complexa interação entre fatores biológicos e ambientais na determinação das propriedades do mel, oferecendo informações valiosas para futuras pesquisas e aplicações práticas no campo da apicultura e da ciência dos alimentos.

8 - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Raypah, M. E., Zhi, L. J., Loon, L. Z., et al. (2022). Near-infrared spectroscopy with chemometrics for identification and quantification of adulteration in high-quality stingless bee honey. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 224, 104540.
- [2] Kek, S. P., Chin, N. L., Tan, S. W., et al. (2017). Classification of honey from its bee origin via chemical profiles and mineral content. **Food Analytical Methods**, 10, 19-30.
- [3] da Silva, P. D. L. M., de Lima, L. S., Caetano, Í. K., et al. (2017). Comparative analysis of the volatile composition of honeys from Brazilian stingless bees by static headspace GC–MS. **Food research international**, 102, 536-543.
- [4] Michener, C. D. (2012). The meliponini. In *Pot-honey: a legacy of stingless bees* (pp. 3-17). New York, NY: Springer New York.
- [5] Ávila, S., Beux, M. R., Ribani, R. H., et al. (2018). Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies. **Trends in Food Science & Technology**, 81, 37-50.
- [6] Pereira, F. M.; Souza, B. A; Lopes, M. T. R. (2021) **Criação de abelhas sem ferrão**. Embrapa Meio Ambiente. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/166288/1/CriacaoAbelhaSemFerroao.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2024.
- [7] **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE)**. Mel de abelha. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/mel-de-abelha/br>. Acesso em: 7 ago. 2024.
- [8] ABELHA. Atlas da apicultura no Brasil (2023). Associação Brasileira de Estudos das Abelhas - ABELHA. Disponível em: <<https://abelha.org.br/atlas-da-apicultura-no-brasil/>>. Acesso em 20 de agosto de 2024.
- [9] Kamal, M. A., & Klein, P. (2011). Determination of sugars in honey by liquid chromatography. **Saudi journal of biological sciences**, 18(1), 17-21.
- [10] Ávila, S., Hornung, P. S., Teixeira, G. L., et al. (2019). Bioactive compounds and biological properties of Brazilian stingless bee honey have a strong relationship with the pollen floral origin. **Food Research International**, 123, 1-10.
- [11] do Nascimento, A. S., Marchini, L. C., de Carvalho, C. A. L., et al. (2015). Physical-chemical parameters of honey of stingless bee (Hymenoptera: Apidae). **American Chemical Science Journal**, 7(3), 139-149.
- [12] Borsato, D. M. (2013). Composição química, caracterização polínica e avaliação de atividades biológicas de méis produzidos por meliponíneos do Paraná (Brasil).
- [13] Biluca, F. C., Braghini, F., Gonzaga, L. V., et al. (2016). Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, 50, 61-69.

- [14] Bana, F. C. H., Mocelim, M., Ressutte, J. B., et al. (2024). Honey produced by apini and meliponini in Brazil: multivariate analysis of physicochemical parameters, sugar and metabolite profiles. **Journal of Apicultural Research**, 1-9.
- [15] Menezes, C., Alves, D. D. A., Lucena, D. A., et al. (2023). Abelhas sem ferrão relevantes para a meliponicultura no Brasil.
- [16] ABELHA. **Atlas da meliponicultura no Brasil**. Abelhas.org.br. Disponível em: <https://abelha.org.br/atlas-da-meliponicultura-no-brasil/>. Acesso em: 07 ago. 2024.
- [17] Esslinger, S., Riedl, J., & Fauhl-Hassek, C. (2014). Potential and limitations of non-targeted fingerprinting for authentication of food in official control. **Food Research International**, 60, 189-204.
- [18] Naz, S., Vallejo, M., García, A., et al. (2014). Method validation strategies involved in non-targeted metabolomics. **Journal of Chromatography A**, 1353, 99-105.
- [19] Ballin, N. Z., & Laursen, K. H. (2019). To target or not to target? Definitions and nomenclature for targeted versus non-targeted analytical food authentication. **Trends in Food Science & Technology**, 86, 537-543.
- [20] Laursen, K. H., Mihailova, A., Kelly, S. D., et al. (2013). Is it really organic?—Multi-isotopic analysis as a tool to discriminate between organic and conventional plants. **Food chemistry**, 141(3), 2812-2820.
- [21] Li, S., Shan, Y., Zhu, X., Zhang, X., et al. (2012). Detection of honey adulteration by high fructose corn syrup and maltose syrup using Raman spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, 28(1), 69-74.
- [22] Brereton, R. G. (2013). The evolution of chemometrics. **Analytical Methods**, 5(16), 3785-3789.
- [23] Rodionova, O. Y., & Pomerantsev, A. L. (2020). Chemometric tools for food fraud detection: The role of target class in non-targeted analysis. **Food chemistry**, 317, 126448.
- [24] Aleixandre-Tudó, J. L., Castelló-Cogollos, L., Aleixandre, J. L., et al. (2022). Chemometrics in food science and technology: A bibliometric study. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 222, 104514.
- [25] McGrath, T. F., Haughey, S. A., Patterson, J., et al. (2018). What are the scientific challenges in moving from targeted to non-targeted methods for food fraud testing and how can they be addressed?—Spectroscopy case study. **Trends in Food Science & Technology**, 76, 38-55.
- [26] Kumar, K. (2017). Principal component analysis: Most favourite tool in chemometrics. **Resonance**, 22(8), 747-759.
- [27] Zappi, A., Marassi, V., Giordani, S., et al. (2023). Extracting information and enhancing the quality of separation data: a review on chemometrics-assisted analysis of volatile, soluble and colloidal samples. **Chemosensors**, 11(1), 45.

- [28] Sharin, S. N., Sani, M. S. A., Jaafar, M. A., et al. (2021). Discrimination of Malaysian stingless bee honey from different entomological origins based on physicochemical properties and volatile compound profiles using chemometrics and machine learning. **Food chemistry**, 346, 128654.
- [29] Umaña, E., Zamora, G., Aguilar, I., et al. (2023). Physicochemical differentiation of stingless bee honeys from Costa Rica. **Journal of Apicultural Research**, 62(4), 873-882.
- [30] Pacheco, W. F., Semaan, F. S., de Almeida, V. G., et al. (2013). Voltametrias: Uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, 5(4), 516-537.
- [31] Giordano, G. F., Vicentini, M. B., Murer, R. C., et al. (2016). Point-of-use electroanalytical platform based on homemade potentiostat and smartphone for multivariate data processing. **Electrochimica Acta**, 219, 170-177.
- [32] Fallico, B., Arena, E., & Zappala, M. (2008). Degradation of 5-hydroxymethylfurfural in honey. **Journal of Food Science**, 73(9), C625-C631.
- [33] Salis, S., Spano, N., Ciulu, M., Floris, I., Pilo, M. I., & Sanna, G. (2021). Electrochemical determination of the “Furanic Index” in honey. *Molecules*, 26(14), 4115.
- [34] Shapla, U. M., Solayman, M., Alam, N., et al. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. **Chemistry central journal**, 12, 1-18.
- [35] Godoy, C. A., Valderrama, P., Boroski, M. (2022). HMF Monitoring: Storage Condition and Honey Quality. **Food Analytical Methods**, 15(11), 3162-3176.
- [36] Sena, M. M. D., Poppi, R. J., Frighetto, R. T., et al. (2000). Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. *Química nova*, 23, 547-556.
- [37] Kasiotis, K. M., & Machera, K. (2017). Improved liquid chromatographic photo diode array mass spectrometric determination of 5-hydroxymethylfurfural and related furfurals in honey. **Toxicological & Environmental Chemistry**, 99(4), 578-589.
- [38] BRASIL (2000). Ministério da Agricultura, Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. [On-line]. Ministro da Agricultura. Disponível: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/copy_of_suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/IN11de2000.pdf. Acessado em 20 de agosto de 2023.
- [39] LUTZ, Instituto Adolfo. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: **ANVISA**, 2008.
- [40] R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. 2021. Retrieved from <https://www.R-project.org/>
- [41] WICKHAM, H. Programming with ggplot2. In ggplot2. Springer, Cham, 241-253, Dec. 2014. Disponível em: <https://cran.microsoft.com/snapshot/2015-01-06/web/packages/ggplot2/ggplot2.pdf>. Acesso em 06. dezembro. 2023.

- [42] Momeni, M. M., Mirhosseini, M., & Mohammadi, N. (2016). Efficient photo catalytic degradation of methyl orange over Ag–CuO nanostructures grown on copper foil under visible light irradiation. **Journal of Materials Science: Materials in Electronics**, 27, 6542-6551.
- [43] Guellis, C., Valério, D. C., Bessegato, G. G., et al. (2020). Non-targeted method to detect honey adulteration: Combination of electrochemical and spectrophotometric responses with principal component analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, 89, 103466.
- [44] VILLAS-BÔAS, J. (2018). Manual tecnológico de aproveitamento integral dos produtos das abelhas nativas sem ferrão. *Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN)*, 2.
- [45] ADAPAR - AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ. Portaria Nº 63, de 10 de março de 2017. Curitiba, PR, 10 mar. 2017
- [46] Duarte, A. W. F., Vasconcelos, M. R. D. S., Oda-Souza, M., et al. (2018). Honey and bee pollen produced by Meliponini (Apidae) in Alagoas, Brazil: multivariate analysis of physicochemical and antioxidant profiles. **Food Science and Technology**, 38(3), 493-503.
- [47] Dos Santos, A. C., Biluca, F. C., Brugnerotto, P., et al. (2022). Brazilian stingless bee honey: Physicochemical properties and aliphatic organic acids content. **Food Research International**, 158, 111516.
- [48] Silva, B., Antunes, A. C. N., Gomes, V. V., et al. (2024). Brazilian floral honeys: physicochemical, phenolic compounds, organic acids, and mineral characterization. **European Food Research and Technology**, 1-15.
- [49] Gadge, A. S., Shirsat, D. V., Soumia, P. S., et al. (2024). Physiochemical, biological, and therapeutic uses of stingless bee honey. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 7, 1324385.
- [50] Muhammad, N. I. I., & Sarbon, N. M. (2023). Physicochemical profile, antioxidant activity and mineral contents of honey from stingless bee and honey bee species. **Journal of Apicultural Research**, 62(2), 394-401.
- [51] BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Características Físico-Químicas dos Principais Produtos Meliponícolas e Legislações e Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade (RTIQs) na Meliponicultura. Brasília: MAPA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/selo-arte-selo-queijo-artesanal/publicacoes-1/p2-2-caract-fisico-quimicas-e-lesgilacoes-tr-1.pdf>. Acesso em: 10 de agosto de 2024.
- [52] Barth, O. M. (1989). *O pólen no mel brasileiro* (p. 150). Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz.
- [53] SEEMANN, P.; NEIRA, M. (1988). Tecnología de la producción apícola. Valdivia: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 202p.
- [54] de Paula, G. T., Menezes, C., Pupo, M. T., et al. (2021). Stingless bees and microbial interactions. **Current Opinion in Insect Science**, 44, 41-47.

[55] Batiston, T. F. T. P., Frigo, A., Stefani, L. M., et al. (2020). Physicochemical composition and antimicrobial potential of stingless honey: a food of differentiated quality. **Research, Society and Development**, 9(10), e7099108223-e7099108223.

[56] GRANDO, R.C.; RODRIGUES, C.S.; TORMEN, L.; et al. (2018). Avaliação da qualidade de méis de abelhas sem ferrão provenientes da região centro-sul do estado do Paraná. Anais. 6º Simpósio de Segurança Alimentar. Universidade Federal do Rio Grande do Sul-FURG. Gramado-RS.

[57] Aguiar, L., Marques, D., Sartori, R. A., et al. (2016). Parâmetros físico-químicos do mel de abelhas sem ferrão do estado do Acre. **Enciclopédia Biosfera**, 13(23).

[58] Anacleto, D. D. A., Souza, B. D. A., Marchini, L. C., et al. (2009). Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* latreille, 1811). **Food Science and Technology**, 29, 535-541.

[59] Lopes, A. E. P. (2019). Caracterização físico-química e atividade antioxidante do mel da abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) proveniente de diferentes regiões do estado do Paraná.

[60] Souza, E. C. A, Cavalcante S. C, D., Costa, L. A. M. A., et al. (2024). Effect of pasteurization, dehumidification, refrigeration and maturation on the composition, quality and acceptability of *Scaptotrigona depilis* honey. **Journal of Apicultural Research**, 1-9.

[61] Oliveira, M. K. A., Ribeiro, L. S., de Oliveira, G. V. (2013). Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas canudo (*Scaptotrigona depilis*) e jataí (*Tetragonisca angustula*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, 15(3), 239-248.

[62] Alves, R. M. D. O., Viana, J. L., Sousa, H. D. A. C., et al. (2018). Physico-chemical parameters of honey from *Melipona mondury* Smith, 1863 (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Journal of Agricultural Science**, 10(7), 196.

[63] Rout, P. K., Nannaware, A. D., Prakash, O., et al. (2016). Synthesis of hydroxymethylfurfural from cellulose using green processes: A promising biochemical and biofuel feedstock. **Chemical Engineering Science**, 142, 318-346.

[64] Barragan, J. T., Kogikoski Jr, S., da Silva, E. T., et al. (2018). Insight into the electro-oxidation mechanism of glucose and other carbohydrates by CuO-based electrodes. **Analytical chemistry**, 90(5), 3357-3365.

[65] Park, H. S., Leonard, K. C., & Bard, A. J. (2013). Surface interrogation scanning electrochemical microscopy (SI-SECM) of photoelectrochemistry at a W/Mo-BiVO₄ semiconductor electrode: quantification of hydroxyl radicals during water oxidation. **The Journal of Physical Chemistry C**, 117(23), 12093-12102.

[66] Marioli, J. M., & Kuwana, T. (1992). Electrochemical characterization of carbohydrate oxidation at copper electrodes. **Electrochimica Acta**, 37(7), 1187-1197.

[67] Sonntag, C. (1999). The OH radical-induced chain reactions of methanol with hydrogen peroxide and with peroxodisulfate. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, (2), 165-168.

- [68] Kek, S. P., Chin, N. L., Yusof, Y. A., et al. (2014). Total phenolic contents and colour intensity of Malaysian honeys from the *Apis* spp. and *Trigona* spp. bees. ***Agriculture and Agricultural Science Procedia***, 2, 150-155.
- [69] Arribas-Lorenzo, G., & Morales, F. J. (2010). Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population. ***Food and Chemical Toxicology***, 48(2), 644-649.
- [70] Román-Leshkov, Y., Chheda, J. N., & Dumesic, J. A. (2006). Phase modifiers promote efficient production of hydroxymethylfurfural from fructose. ***Science***, 312(5782), 1933-1937.
- [71] LEE, H. S., & NAGY, S. (1990). Relative reactivities of sugars in the formation of 5-hydroxymethylfurfural in sugar-catalyst model systems 1. ***Journal of Food Processing and Preservation***, 14(3), 171-178.
- [72] AMAZONAS. Portaria ADAF nº 253, de 31 de outubro de 2016. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel de Abelha Social Sem Ferrão. Diário Oficial do Estado do Amazonas: Poder Executivo, Manaus, AM, 31 out. 2016. Agência de Defesa Agropecuária e Florestal do Estado do Amazonas – ADAF.
- [73] SANTA CATARINA. Lei Estadual nº 10.610, de 01 de dezembro de 1997. Dispõe sobre as normas sanitárias para a elaboração e comercialização de produtos artesanais comestíveis de origem animal e vegetal no Estado de Santa Catarina e adota outras providências. Diário Oficial do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 01 dez. 1997. Governo do Estado de Santa Catarina.
- [74] Boonchiangma, S., Chanthai, S., Srijaranai, S., et al. (2011). Chemical compositions and non-enzymatic browning compounds of thai honey: a kinetic study. ***Journal of food process engineering***, 34(5), 1584-1596.
- [75] Apriceno, A., Girelli, A. M., Scuto, F. R., et al. (2018). Determination of furanic compounds and acidity for Italian honey quality. ***Flavour and Fragrance Journal***, 33(6), 411-419.
- [76] Czipa, N., Phillips, C. J., & Kovács, B. (2019). Composition of acacia honeys following processing, storage and adulteration. ***Journal of food science and technology***, 56, 1245-1255.