



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Dissertação de Mestrado

Aplicação de Imagens Digitais para a Discriminação de Mel de Abelha.

Carlos Alberto da Silva Júnior

João Pessoa - PB - Brasil

Agosto/2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Dissertação de Mestrado

Aplicação de Imagens Digitais para a Discriminação de Mel de Abelha.

Carlos Alberto da Silva Júnior*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo

* Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

João Pessoa - PB - Brasil

Agosto/2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

J95a Junior, Carlos Alberto da Silva.

Aplicação de Imagens Digitais para a Discriminação de
Mel de Abelha. / Carlos Alberto da Silva Junior. - João
Pessoa, 2019.

70 f.

Orientação: Mário César Ugulino de Araújo.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Abelha sem ferrão. 2. Processamento Digital de
Imagens. 3. Mel. 4. Jandaíra. 5. Reconhecimento de
Padrões. I. Mário César Ugulino de Araújo. II. Título.

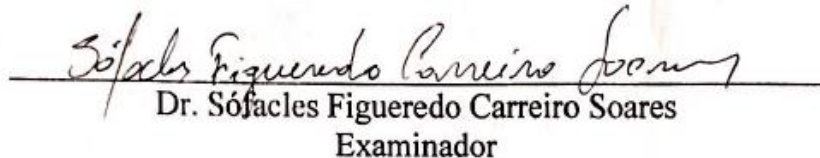
UFPB/BC

Aplicação de imagens digitais para a discriminação de mel de abelha.

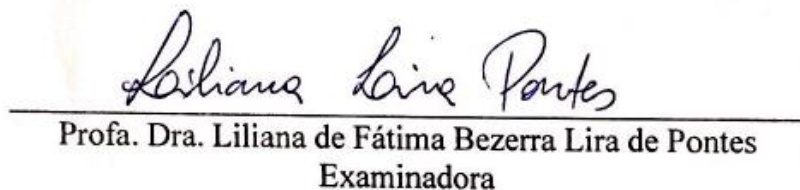
Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Carlos Alberto da Silva Júnior e aprovada pela banca examinadora em 26 de agosto de 2019.



Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo
Orientador/Presidente



Dr. Sófacles Figueredo Carreiro Soares
Examinador



Profa. Dra. Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes
Examinadora

Melhor é o fim das coisas que o início delas.
(Eclesiastes 7.8)

Agradecimentos

Agradeço ao meu Deus e meu Senhor Jesus Cristo por tudo que Ele fez. Ele prometeu e cumpriu ao dizer que guardaria a minha entrada e saída (Salmos 121). Ele é o real sentido e a motivação única de nossa existência. Não teria de forma alguma concluído essa dissertação sem Sua divina proteção, orientação e Seu infinito amor. Sempre disse e continuo a dizer: **Deus é meu Orientador**. Porque Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas. A Ele seja a glória para sempre. Amém!

Aos meus queridos pais, Carlos Alberto da Silva e Edinalva Venâncio da Silva, por terem me ensinado tudo o que sei de bom e nunca terem me deixado faltar nada, material e espiritualmente. Todas as vezes que procuro fazer escolhas na vida, sei que vocês são o maior referencial humano que tenho. Muito obrigado por seu amor, seus conselhos e nunca desistirem de mim, mas sempre acreditarem e investirem na minha formação. É impossível esquecer as viagens que fizemos para coletar as amostras de mel e todo amor que vocês sempre demonstram por mim. Amo vocês.

Às minhas queridas irmãs: Edya Blayne, Eryka Quesnay e Someanny Quesnay por todo amor, toda paciência e real amizade, vocês são minhas verdadeiras amigas. Durante esses dois anos, nossa amizade só fez crescer e Deus nos mostrou mais uma vez que Ele é fiel sempre. Eu amo todas vocês de todo o meu coração.

À minha grande família, espalhada por todo esse país, que, de modo geral, sempre me ajudou em oração e nunca permitiu que de alguma maneira eu desistisse desse sonho. Em especial, agradeço aos meus avôs Alaíde Venâncio, Benedita Vieira e José Ramos. Amo vocês.

Ao professor Dr. Mário César Ugulino de Araújo pelo apoio no LAQA e orientação CAPES. Desde o primeiro período no mestrado sempre soube que trabalharia com imagens digitais e apesar de tantas dificuldades Deus nos ajudou a finalizar essa dissertação. Foi um prazer conhecer a sua esposa, professora Dra. Regiane de C. M. Ugulino de Araújo. Espero que nunca esqueçamos que Deus é maior que todas as dificuldades que possam surgir, afinal, Ele é Deus.

Aos professores Dr. Sófacles Figueredo Carreiro Soares, Dra. Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes e Dr. Márcio José Coelho de Pontes por terem gentilmente aceitado participar da banca de pré-defesa e/ou defesa. As sugestões e correções foram significativas para o término desta dissertação. Que Deus vos abençoe.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB) pela oportunidade de fazer esse curso e pelo ambiente que me proporcionou. Em especial, às professoras Dra. Julice Dutra Lopes e Dra. Sharline Florentino de Melo Santos que gentilmente cederam seus laboratórios para os parâmetros analisados. Muito obrigado Ruth, Zildo, Débora, Alan, Emerson, Daniel e Aline. Deus vos abençoe.

Aos amigos da reunião de oração na UFPB que foram tão importantes nessa caminhada. Louvado seja Deus por vossas vidas. Nunca se esqueçam que Deus é galardoador daqueles que o buscam. A presença de vocês na UFPB foi um refrigério e uma certeza que não devemos deixar de pregar que Jesus Cristo é o mesmo ontem, hoje e eternamente.

Aos colegas do LAQA e tantos outros cujos nomes prometi escrever nesses agradecimentos, mas infelizmente não pude fazê-lo. Sabe o porquê? Porque são mais numerosos que as páginas que me foram concedidas, pois, incluem amigos da igreja, do IFPB, da UNICAMP e até de outros países. No entanto, se você estiver lendo esses agradecimentos e sabe que me ajudou a chegar onde estou, tenha uma certeza: a sua ajuda não foi em vão e agradeço a Deus por sua vida em oração. Muito obrigado.

Por fim, agradeço a todos que direta e indiretamente fizeram parte da minha formação, se eu fosse citar os nomes de todos os que contribuíram nessa formação não caberiam em todas as páginas dessa dissertação, pois seria uma lista quase sem fim, todavia, a todos o meu *Merci beaucoup*.

SUMÁRIO

Resumo	ix
Abstract	x
Lista de Figuras	xi
Lista de Tabelas	xiii
Lista de Gráficos	xiv
Lista de Abreviaturas	xv
1. INTRODUÇÃO	2
1.1 Caracterização da problemática.....	2
1.2 Objetivos.....	4
1.2.1 Geral	4
1.2.2 Específicos.....	4
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	5
2.1 Mel de abelha.....	6
2.1.1 Legislação	7
2.1.2 Composição química	8
2.1.3 Diversidade de espécies de abelhas	11
2.2 Processamento Digital de Imagens.....	15
2.2.1 Modelos de cores	16
2.3 Técnicas de reconhecimento de padrões	18
2.3.1 Análise não supervisionada	18
2.3.2 Análise supervisionada	20
2.4 Revisão da literatura	21
3. METODOLOGIA	24
3.1 Materiais	24
3.2 Parâmetros analisados	25
3.2.1 Umidade	26
3.2.1 Sólidos solúveis	26
3.2.3 pH	27

3.2.4 Açúcares redutores (AR)	27
3.3 Discriminação por Processamento Digital de Imagens	28
3.3.1 Aquisição de imagens	28
3.3.2. Análise multivariada de dados.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1 Parâmetros estudados	31
4.2 Análise de Componentes Principais (PCA).....	41
4.2 Discriminação com a aplicação de imagens digitais	44
4.2.1 Histogramas	44
4.2.2 Análise de Componentes Principais (PCA).....	47
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	53
5.1 Perspectivas	54
REFERÊNCIAS.....	55
ANEXOS.....	65
Anexo 1: Tabela dos locais onde as amostras de mel foram coletadas	66

Resumo

Título: Aplicação de Imagens Digitais para a Discriminação de Mel de Abelha.

O mel de abelha é o terceiro produto alimentício mais adulterado no mundo. No Brasil, essa especiaria abundante e diversificada tem sido muitas vezes alvo de fraude ou adulteração. Sendo assim, é necessária sua análise para determinação de qualidade. Em vista deste cenário, 100 amostras de mel de diferentes espécies de abelhas (*Apis mellifera ligustica* = 40, *Melipona scutellaris* = 40 e *Melipona subnitida* = 20) foram analisadas dos municípios Alagoa Nova, Cabedelo, Itatuba e João Pessoa, no estado da Paraíba, assim como dos municípios Passa e Fica e Macaíba no estado do Rio Grande do Norte. Os parâmetros avaliados foram: pH, teor de umidade, sólidos solúveis totais (° BRIX) e açúcares redutores (A.R). Para o gênero *Apis*, foram utilizadas as legislações nacional e internacional regulamentadas, respectivamente, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pela Comissão Internacional de Mel (IHC). Por outro lado, optou-se pela legislação do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Agrícola da Malásia para o gênero *Melipona*. Para o mel da espécie *A. mellifera ligustica* os resultados médios foram $18,1 \pm 0,4\%$ de umidade, $80,5 \pm 0,3\%$ de ° BRIX, $68,4 \pm 2,0\%$ de A.R e pH igual a $4,10 \pm 0,07$. Por outro lado, as amostras da *M. scutellaris* e da *M. subnitida* apresentam, respectivamente, valores médios de $24,4 \pm 1,9\%$ e $26,3 \pm 1,6\%$ para teor de umidade, $74,2 \pm 1,9\%$ e $72,6 \pm 1,7\%$ para ° BRIX, $68,6 \pm 0,9\%$ e $67,7 \pm 1,7\%$ para A.R e $4,13 \pm 0,27$ e $3,80 \pm 0,49$ para pH. Corroborando com os princípios da Química Verde (QV), realizou-se também o Processamento Digital de Imagens (PDI) dessas amostras, a qual permitiu a discriminação do mel em função das diferentes espécies de abelha, a partir da aplicação de métodos de análise exploratória de dados (Análise de Componentes Principais - PCA). Os resultados indicaram a efetividade da metodologia aplicada no PDI e no reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados e que, em geral, todas as amostras obedecem aos limites estabelecidos para os parâmetros estudados.

Palavras-chave: abelha sem ferrão; processamento digital de imagens; mel; jandaíra; reconhecimento de padrões.

Abstract

Title: Application Of Digital Image Processing For Honeybee Discrimination.

The honeybee is the third most adulterated food product in the world. In Brazil, this abundant and diversified spice has often been frauded or adulterated. Therefore, it is necessary the analysis for quality determination of this product. In this work, 100 honey samples of different bee species (*Apis mellifera ligustica* = 40, *Melipona scutellaris* = 40 and *Melipona subnitida* = 20) were analyzed from the municipalities of Alagoa Nova, Cabedelo, Itatuba and João Pessoa in the state of Paraíba (Brazil), as well as of the municipalities Passa e Fica and Macaíba in the state of Rio Grande do Norte (Brazil). The parameters evaluated were pH, moisture content, total soluble solids (BRIX) and reducing sugars (A.R). For the *Apis*, national and international legislations were regulated, respectively, by the Ministry of Agriculture from Brazil (MAPA) and the International Honey Commission (IHC). On the other hand, we opted for the legislation of the Malaysian Institute of Agricultural Research and Development for the *Melipona*. For honey of the species *A. mellifera ligustica* the average results were $18.1 \pm 0.4\%$ for moisture, $80.5 \pm 0.3\%$ for BRIX, $68.4 \pm 2.0\%$ for R.S and pH equal to 4.10 ± 0.07 . On the other hand, the samples of *M. scutellaris* and *M. subnitida* presented, respectively, average values of $24.4 \pm 1.9\%$ and $26.3 \pm 1.6\%$ for moisture content, $74.2 \pm 1.9\%$ and $72.6 \pm 1.7\%$ for BRIX, $68.6 \pm 0.9\%$ and $67.7 \pm 1.7\%$ for R.S and 4.13 ± 0.27 and 3.80 ± 0.49 to pH. In accordance with the principles of Green Chemistry (GC), the Digital Image Processing (DIP) of these samples was also carried out, which allowed the discrimination of honey among the different species of bee, applying the methods of exploratory analysis (Principal Component Analysis - PCA). The results indicated the effectiveness of the methodology applied in DIP and pattern recognition and that, in general, the samples obey the limits established for the studied parameters.

Keywords: stingless bee; digital image processing; honey; jandaíra; pattern recognition.

Lista de figuras

Figura 2.1: A coleta de mel na Idade Média.

Figura 2.2: Estrutura química da molécula de (a) D-glicose ($C_6H_{12}O_6$) e de (b) D-frutose ($C_6H_{12}O_6$).

Figura 2.3: Estrutura química da molécula de sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$).

Figura 2.4: Abelhas nativas do Brasil.

Figura 2.5: Abelha italiana - *Apis mellifera ligustica*.

Figura 2.6: Abelha urucu-nordestina - *Melipona scutellaris*.

Figura 2.7: Abelha jandaíra - *Melipona subnitida*

Figura 2.8: Cores primárias e secundárias de luz.

Figura 2.9: Esquema do cubo de cores RGB.

Figura 2.10: Sistema de cores HLS para interpretação de seus componentes.

Figura 3.1: Mapa com a distribuição dos locais onde as amostras foram coletadas: Macaíba (n = 16), Passa e Fica (n = 6), Sousa (n = 18), Cabedelo (n = 25), João Pessoa (n = 12), Alagoa Nova (n = 3) e Itatuba (n = 20).

Figura 3.2: Diferença nas cores das amostras de mel das abelhas (a) italiana; (b) jandaíra e (c) urucu.

Figura 3.3: Determinação do teor de umidade pelo método refratométrico: (a) aguardou-se a estabilização do aparelho de Abbe e o calibrou; (b) colocou-se três gotas de mel sobre a superfície do prisma de refração, fechou-se o compartimento que veda este prisma; (c) observou-se a linha que divide o campo claro do campo escuro para a leitura.

Figura 3.4: Determinação de açúcares redutores: (a) adicionou-se a solução com indicador; (b) titulou-se até ebulição por tempo total de 3 min; (c) observou-se a descoloração do indicador e formação do precipitado.

Figura 3.5: Aparato para a aquisição de imagens: (a) placas de Petri de poliestireno contendo as amostras; (b) escâner; (c) computador notebook.

Figura 3.6: Interface do programa *Quimagem* apresentando as opções para aquisição dos dados.

Figura 4.1: Gráfico de escores obtidos pela PCA aplicada aos parâmetros físico-químicos de todas as classes, isto é, **classe A - italiana**, **classe U - urucu** e **classe J - jandaíra**: (a) PC1 versus PC2; (b) PC1 versus PC3 e (c) PC2 versus PC3.

Figura 4.2: Gráfico da proporção de **variância explicada acumulada** por cada componente principal (PC).

Figura 4.3: Gráfico dos pesos das variáveis dos parâmetros físico-químicos para as três primeiras PCs. Variáveis: 1-umidade; 2- ° BRIX; 3-A.R; 4-pH.

Figura 4.4: Gráfico dos seguintes parâmetros avaliados de todas as classes, isto é, classe A - italiana, classe U - uruçú e classe J - jandaíra: (a) A.R *versus* BRIX; (b) pH *versus* BRIX; (c) pH *versus* A.R.

Figura 4.5: Histogramas sem as variáveis não informativas para todas classes (classe A - italiana, classe U - uruçú e classe J - jandaíra) nos canais: (a) R (*red*), G (*green*), B (*blue*) e (b) H (*hue*), L (*lightness*) e S (*saturation*).

Figura 4.6: Histogramas médio de todas as amostras de mel (classe A - italiana, classe U - uruçú e classe J - jandaíra) nos canais: (a) R (*red*), G (*green*), B (*blue*) e (b) H (*hue*), L (*lightness*) e S (*saturation*).

Figura 4.7: Gráfico de escores obtidos pela PCA aplicada aos histogramas de todas as classes (A - italiana, U - uruçú e classe J - jandaíra): (a) PC1 *versus* PC2, (b) PC1 *versus* PC3 e (c) PC2 *versus* PC3 para o sistema RGB.

Figura 4.8: Gráfico da proporção de **variância explicada acumulada** por cada componente principal (PC) – Sistema RGB.

Figura 4.9: Gráfico dos pesos das variáveis para as três primeiras PCs no sistema RGB.

Figura 4.10: Gráfico de escores obtidos pela PCA aplicada aos histogramas de todas as classes (A - italiana, U - uruçú e classe J): (a) PC1 *versus* PC2, (b) PC1 *versus* PC3 e (c) PC2 *versus* PC3 para o sistema HLS.

Figura 4.11: Gráfico da proporção de **variância explicada acumulada** por cada componente principal (PC) – Sistema HLS.

Figura 4.12: Gráfico dos pesos das variáveis para as três primeiras PCs no sistema HLS.

Lista de tabelas

Tabela 2.1: Parâmetros de qualidade para o mel.

Tabela 4.1: Resultados para as análises físico-químicas da classe A (italiana).

Tabela 4.2: Resultados para as análises físico-químicas da classe U (uruçu).

Tabela 4.3: Resultados para as análises físico-químicas da classe J (jandaíra).

Lista de gráficos

Gráfico 4.1: Valores médios de teor de umidade (%) para as classes A (♦ Italiana), U (♦ Uruçu) e J (♦ Jandaíra).

Gráfico 4.2: Valores médios de °BRIX (25 °C) para as classes A (♦ Italiana), U (♦ Uruçu) e J (♦ Jandaíra).

Gráfico 4.3: Valores médios de A.R (%) para as classes A (♦ Italiana), U (♦ Uruçu) e J (♦ Jandaíra).

Gráfico 4.4: Valores médios de pH (25 °C) para as classes A (♦ Italiana), U (♦ Uruçu) e J (♦ Jandaíra).

Lista de abreviaturas

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AR – Açúcares Redutores

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

ASF – Abelha Sem Ferrão

CODEX Alimentarius – Código Alimentar

HLS – Hue Lightness Saturation

HP – Hewlett-Packard

HPLC-PDA - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - Detector de Matriz de Fotodiodos

IHC – Comissão Internacional de Mel

KNN – K-ésimo Vizinho mais Próximo

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NBR – Norma Brasileira

PDI – Processamento Digital de Imagens

PC – Componente Principal

PCA – Análise por Componentes Principais

PIXEL – Elemento pictórico

PLS-DA – Análise Discriminante pelos Mínimos Quadrados

QV – Química Verde

RGB – Red Green Blue

SIMCA – Modelagem Independente por Analogia de Classes

VC – Visão Computacional

Capítulo 1
INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Caracterização da problemática

O mel de abelha é o produto alimentício produzido por esse inseto a partir do néctar das flores (BRASIL, 2000). Possui sabor doce, alto valor nutritivo, medicinal e comercial. Na literatura, evidências indicam sua atuação como anti-inflamatório (KHALIL *et al.*, 2012), antibacteriano (ATTIA *et al.*, 2008), antioxidante (AHMED; OTHMAN, 2013), antidiabético (ESTEVINHO *et al.*, 2008) e gastrointestinal (ABDULRHMAN *et al.*, 2011). Por ser de fácil manuseio, a sua produção e comercialização são realizadas em todo território nacional, sendo o estado Rio Grande do Sul seu maior exportador (VIDAL, 2018). No Nordeste, os estados da Paraíba e do Rio Grande do Norte vêm se destacando, principalmente, na meliponicultura, isto é, na criação artesanal de abelhas da subfamília dos meliponíneos, conhecidas como abelhas sem ferrão (ASF) ou nativas. Ao contrário de outras abelhas, seu ferrão é atrofiado e, portanto, sem função defensiva (IMPERATRIZ-FONSECA, KOEDAM, HRNCIR; 2017), a exemplo da abelha urucu-nordestina ou simplesmente urucu (*Melipona scutellaris*) e da jandaíra (*Melipona subnitida*). Além disso, essas espécies produzem um mel, geralmente, com diferenças sensoriais e físicas em relação ao mel da italiana ou europeia (*Apis mellifera ligustica*).

Pesquisas recentes revelaram que o mel de abelha é o terceiro produto alimentício mais adulterado no mundo (ANDREEVA, 2017). No Brasil, essa especiaria abundante e diversificada tem sido muitas vezes alvo de adulteração, principalmente, por se tratar de um alimento de grande consumo e, no caso, das abelhas nativas, de alto valor comercial. Sendo assim, é necessária sua análise para determinação de qualidade e sua discriminação quanto o tipo.

Quimicamente, esse produto alimentício pode ser definido como uma solução saturada de carboidratos, no qual destacam-se em maior concentração (>60g/100g) os monossacarídeos frutose e glicose. De acordo com Camargo e colaboradores (2006), a composição química do mel, em geral, pode ser resumida em carboidratos, água e diversos, todavia, atrás dessa aparente simplicidade, esconde-se um dos produtos naturais mais complexos do planeta com, aproximadamente, 200 substâncias diferentes (STAGOS *et al.*; 2018), incluindo: proteínas, vitaminas (ex.: C e E), minerais, ácidos orgânicos, enzimas (ex.: catalase), compostos fenólicos, dentre outros (AL-FARSI *et al.*, 2018; ROLIM *et al.*, 2018). Além disso, a quantidade e a variedade desses compostos dependem, principalmente, da espécie da abelha, do tipo de vegetação que ela coleta o néctar, do tempo de armazenamento e do solo.

Nesse trabalho, os quatro parâmetros físico-químicos analisados para todas as

amostras foram: pH, sólidos solúveis totais (° BRIX), teor de umidade e açúcares redutores (A.R). Para o gênero *Apis*, tais padrões foram embasados, em geral, na metodologia da legislação apícola em vigor (AOAC, 1995; CODEX, 2001; IHC, 2002; BRASIL, 2017). Entretanto, como o mel das abelhas nativas, geralmente, não atende aos padrões de qualidade estabelecidos por esses órgãos, pesquisadores do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Agrícola da Malásia (MALAYSIAN STANDARDS, 2017) propuseram padrões únicos de qualidade para o gênero *Melipona*, os quais são adotados nesta pesquisa. Atualmente, esses padrões regulamentam a venda e a distribuição do mel das ASFs na Malásia. Tanto a legislação brasileira quanto à internacional, isto é, Comissão Internacional de Mel (IHC) e *Codex Alimentarius*, não apresentam padrões específicos para as ASFs, o que tende a inviabilizar a ampliação e o desenvolvimento da meliponicultura.

Corroborando com os princípios da Química Verde (QV), que consiste na utilização de um conjunto de princípios que reduzem ou eliminam o uso ou a geração de substâncias perigosas em análises químicas (ANASTAS; WARNER, 1998; ANASTAS; EGHBALI, 2010), realizou-se também o Processamento Digital de Imagens registradas (PDI) dessas amostras. Esse permitiu a discriminação entre as diferentes espécies de abelha provenientes desses estados, avaliando-se apenas os histogramas gerados e também através do reconhecimento de padrões com a aplicação do seguinte método de análise multivariada: Análise de Componentes Principais (PCA). Na literatura, são variadas as aplicações de PCA com imagens digitais (OLIVEIRA *et al.*, 2013; MILHOMEM *et al.*, 2018; SANTOS, GUSMÃO, COELHO; 2019; SILVA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2019)

Atualmente, embora a discriminação de mel quanto ao tipo da espécie possa ser feita amplamente através da percepção visual - que é subjetiva, emotiva e ambígua - ou por métodos de análise sensorial, os quais podem ser morosos e subjetivos, optou-se pela utilização de PDI combinada à quimiometria por ser uma técnica de baixo custo, rápida, simples e não-destrutiva.

É importante destacar que sistemas de discriminação ou classificação no controle de qualidade empregando métodos estatísticos multivariados têm sido propostos na literatura nos últimos anos (SOUSA, 2006; DE OLIVEIRA COSTA, 2014; COSTA *et al.*, 2015; NAWROCKA *et al.*, 2018). A aplicação de imagens digitais em alimentos também vem se destacando na literatura. Diniz (2013) usando imagens digitais classificou simultaneamente o tipo e a origem geográfica de chás, enquanto Milanez (2013) classificou amostras de óleos vegetais comestíveis e Gonçalves (2015) de plumas de algodão. Recentemente, Silva e colegas (2019) também usando PDI classificaram diferentes espécies de pimentas e Herrero-Latorre com outros autores (2019) detectaram e quantificaram adulterações em amostras de vinho.

Sendo assim, diversificadas propostas podem ser empregadas para se obter a informação analítica desejada em experimentos dessa natureza. Nesta pesquisa, a maior contribuição é verificar a possibilidade de discriminação de amostras de mel das espécies italiana, urucu-nordestina e jandaíra através de uma metodologia empregando PDI, o que não foi encontrado na literatura.

1.2 Objetivos

1.2.1 Geral

- ✓ Analisar quatro parâmetros físico-químicos, a saber, pH, teor de umidade, de sólidos solúveis e açúcares redutores (A.R), para o mel de abelha italiana (*Apis mellifera ligustica*), urucu-nordestina (*Melipona scutellaris*) e jandaíra (*Melipona subnitida*), bem como discriminar, quanto ao tipo da espécie, suas amostras provenientes de sete localidades através da aplicação de imagens digitais e análise de componentes principais (PCA);

1.2.2 Específicos

- ✓ Coletar as amostras de mel das espécies de abelha italiana (*A. mellifera ligustica*), urucu (*M. scutellaris*) e jandaíra (*M. subnitida*) diretamente dos apiários e meliponários;
- ✓ Determinar e avaliar quatro parâmetros físico-químicos, a saber, pH, teor de umidade, de sólidos solúveis e açúcares redutores (A.R)
- ✓ Realizar um estudo exploratório dos dados com base na aplicação da análise de componentes principais (PCA) aos parâmetros físico-químicos analisados;
- ✓ Obter e avaliar os histogramas de cor para os sistemas RGB e HLS em todas as amostras para discriminação do mel quanto ao tipo de espécie;
- ✓ Realizar um estudo exploratório dos dados, aplicando PCA, quanto aos histogramas de cor dos sistemas RGB e HLS.

Capítulo 2

**FUNDAMENTAÇÃO
TEÓRICA**

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Mel de abelha

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2000), mel é:

o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia. (BRASIL, 2000).

Essa normativa estabelece a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deve cumprir o mel destinado ao consumo humano direto, podendo ele ser classificado quanto a sua origem (mel unifloral e mel multifloral), ao seu procedimento de obtenção (mel escorrido, prensado ou centrifugado) e, por fim, quanto a sua apresentação (mel em favos, com pedaços de favo, cristalizado ou granulado, cremoso e filtrado).

Historicamente, os egípcios são considerados os pais da apicultura, que é a arte de criar abelhas e seu desenvolvimento se tornou popular na Idade Média (**Figura 2.1**). No Brasil, os povos indígenas já criavam abelhas nativas, quando em 1839 os colonizadores portugueses importaram 100 colônias de abelhas da espécie *Apis mellifera* (APACAME, 2017). Como esses insetos recém-chegados apresentavam alta capacidade de adaptação e resistência a doenças, a apicultura se espalhou rapidamente por todo território e se tornou um negócio lucrativo e de boa produtividade.



Figura 2.1: A coleta de mel na Idade Média (Fonte: MEL, 2017)

Pesquisas recentes, apontam o Brasil como tendo o maior potencial de produção de mel orgânico do mundo (MARQUELE-OLIVEIRA *et al.*; 2017), devido a sua extensão territorial, quinta maior do planeta, o seu clima tropical e a sua biodiversidade na composição das floradas,

com milhões de hectares de reservas. Em 2017, o país tinha cerca de 3 milhões de colônias de abelhas e ocupava a nona posição mundial na exportação de mel, segundo dados da Associação Brasileira de Exportadores de Mel (ABEMEL, 2018). Na liderança do ranking estava a China, seguida por Nova Zelândia, Argentina, Alemanha, Serra Leoa, Espanha, Ucrânia e México.

Em geral, o setor apícola brasileiro vem desenvolvendo técnicas de aprimoramento em estudos das propriedades do mel, da melhoria das técnicas de manejo, do fortalecimento da cadeia produtiva e na comercialização nacional e internacional dos produtos derivados das abelhas (VIDAL, 2018).

2.1.1 Legislação

A legislação nacional para a apicultura está bem definida, com diferentes parâmetros físico-químicos estabelecidos como padrões de qualidade (ABNT, 2016; BRASIL, 2017), embasados, geralmente, em normas internacionais (AOAC, 1995; CODEX, 2001; IHC, 2002;). Sendo assim, torna-se necessário avaliar alguns desses parâmetros. Entretanto, o Brasil ainda carece de lei ordinária que regulamente a meliponicultura. Segundo Camargo, Oliveira e Berto (2017), o estabelecimento de parâmetros específicos tanto para controle de qualidade como a comercialização desse mel é necessário em virtude das diferenças existentes, como, por exemplo, maior teor de umidade e menor tempo de prateleira para o mel das abelhas nativas.

Em 2017, a Malásia se tornou o primeiro país no mundo a estabelecer uma legislação internacional de qualidade para o mel produzido por abelhas sem ferrão (MALAYSIAN STANDARDS, 2017). Desse modo, utilizamos nesta pesquisa os padrões malaios para avaliar os parâmetros para o gênero *Melipona*. É interessante observar que nos padrões da Malásia foi estabelecido um limite máximo de A.R (frutose e glicose), o qual é de 85g/100 g. A legislação brasileira (BRASIL, 2000), por sua vez, limita a quantidade de A.R e sacarose, respectivamente, em 65g/100g e 6g/100g para a espécie italiana. Por sua vez, a *Codex Alimentarius* (2001) estabelece como limite mínimo de açúcares redutores 60g/100g de mel. Uma vantagem da regulamentação malaia (MALAYSIAN STANDARDS, 2017) é o limite máximo de teor de umidade no mel de 35g/100g para as ASFs, enquanto a legislação da ABNT, do MAPA e da *Codex Alimentarius* limitam de 20g/100g, o que acaba por vezes inviabilizando a comercialização do mel das ASFs por ele não atender a esse limite máximo. A **Tabela 2.1** compara os valores estabelecidos em alguns desses parâmetros para ambos os gêneros:

Tabela 2.1 Parâmetros de qualidade para o mel.

Parâmetros	Gênero da espécie da abelha		
	<i>Apis</i>		<i>Melipona</i>
	MAPA (nacional)	IHC (internacional)	MALÁSIA (internacional)
Umidade (g/100g)	Máximo 20	Máximo de 20	Máximo de 35
Açúcares Redutores (g/100g)	Mínimo de 65	Mínimo 65	Máximo de 85
Sacarose (g/100g)	Máximo de 6	Máximo de 5	Máximo de 7,5
Maltose (g/100g)	-	-	Máximo de 9,5
Atividade Diastásica (DN)	Mínimo de 8	Mínimo de 8	-
pH	-	-	-

Embora não haja especificação para valores de pH, nesta pesquisa avaliou-se esse parâmetro, bem como os teores de umidade, A.R e sólidos solúveis.

2.1.2 Composição química

O mel de abelha é principalmente constituído de carboidratos, embora na sua composição química possam ser encontrados também diferentes minerais, vitaminas, enzimas, dentro outros compostos (CAMARGO, *et al.*, 2006; STAGOS *et al.*; 2018; AL-FARSI *et al.*, 2018; ROLIM *et al.*, 2018).

2.1.2.1 Carboidratos

Os carboidratos, também conhecidos como glicídios ou açúcares, são a fonte de energia mais abundante e econômica para o homem e podem ser definidos como “os

polihidroxiáldeídos, as polihidroxicetonas, os polihidroxiálcoois, os polihidroxiácidos, seus derivados e, polímeros desses compostos unidos por ligações hemiacetálicas” (RIBEIRO; SERAVALLI, p. 85, 2007).

A síntese de carboidratos ocorre nas plantas através do processo de fotossíntese. Embora essa produção seja uma reação termodinamicamente desfavorável, a planta recebe energia necessária da luz solar e através do pigmento clorofila catalisa a biossíntese desses açúcares a partir de dióxido de carbono e água.

Os carboidratos glicose e frutose são os componentes em maior concentração no mel (SILVA *et al*, 2006; CAMARGO, 2006; BOGO; SANTIN; FRIGHETTO *et al*, 2017; VIDAL, 2018; ROLIM, *et al.*; 2018), podendo representar mais de 60% da massa total, segundo Rolim e colaboradores (2018). Esses monossacarídeos são os principais responsáveis pelo seu sabor doce (CAMARGO, 2006).

2.1.2.1.1 Frutose e glicose

Os monossacarídeos correspondem a menor unidade estrutural de um carboidrato, logo, se forem hidrolisados a compostos de menor peso molecular, não podem ser considerados mais carboidratos (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007). Os principais monossacarídeos no mel são a D-glicose ($C_6H_{12}O_6$) e a D-frutose ($C_6H_{12}O_6$), cujas estruturas químicas são mostradas na **Figura 2.2**. A relação entre esses monossacarídeos está perto de uma unidade no mel, com a D-frutose sendo o açúcar predominante (SILVA *et al.*, 2006).

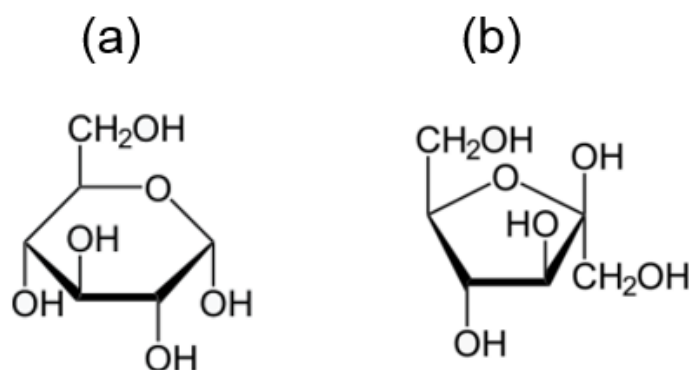


Figura 2.2: Estrutura química da molécula de (a) D-glicose ($C_6H_{12}O_6$) e de (b) D-frutose ($C_6H_{12}O_6$).

Os açúcares redutores (A.R.) são monossacarídeos que possuem grupo carbonílico e cetônico livres, capazes de se oxidarem na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas. A viscosidade, a higroscopicidade, a cristalização do mel e os valores calóricos podem variar

dependendo do teor de A.R. (SILVA *et al.*, 2003; CAMARGO *et al.*, 2006; ROLIM *et al.*, 2018).

A importância biológica dessas substâncias está relacionada com a integridade da célula e dos processos metabólicos e fisiológicos dos organismos vivos, sendo a glicose o principal carboidrato utilizado nas células como fonte de energia.

2.1.2.1.2 Sacarose

Ao contrário dos A.R., o dissacarídeo sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) é um açúcar não redutor, pois não sofre hidrólise da ligação glicosídica. O percentual desse dissacarídeo se torna um significativo critério de qualidade do mel porque sinaliza a imaturidade do produto: teor elevado geralmente remete a uma colheita prematura, antes de uma maior ação da invertase sobre a sacarose (ROLIM *et al.*, 2018). A hidrólise enzimática de sacarose produz frutose e glicose. A

Figura 2.3 apresenta a estrutura química da sacarose:

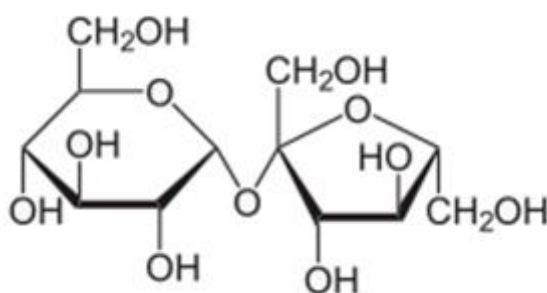


Figura 2.3: Estrutura química da molécula de sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$).

2.1.2.2 Umidade

Segundo a norma NBR 15714-2 (ABNT, 2009):

a umidade é um dos mais importantes critérios de qualidade do mel e está diretamente relacionada com diferentes condições climáticas, geográficas, origem botânica e práticas de manejo e beneficiamento. O seu conteúdo pode influenciar o grau de maturação, conservação e estabilidade (vida de prateleira), propriedades físicas (viscosidade e cristalização) e sensoriais (sabor e textura do mel). Além disso, elevados conteúdos de umidade podem favorecer a proliferação de leveduras osmofílicas (tolerantes aos açúcares) responsáveis pela fermentação do mel (ABNT, p. 2, 2009).

A refratrometria é a principal técnica utilizada na determinação do teor de umidade. Em sua pesquisa, Cano, Felsner e Bruns (2007) avaliaram a precisão dos métodos refratométricos para análise de umidade em mel. No caso do gênero *Apis*, tanto as normas nacionais (BRASIL, 2000; IAL, 2008; ABNT, 2009;) quanto as internacionais (AOAC, 1995a; CODEX, 2001) estabelecem limite máximo de 20g/100g para esse parâmetro. No entanto, para o gênero

Melipona o valor estabelecido é de 35g/100g, conforme legislação internacional proposta pelo governo da Malásia, pioneiro nessa standardização.

2.1.3 Diversidade de espécies de abelhas

Atualmente existem mais de 20.000 espécies de abelhas no mundo (FAO, 2018), das quais milhares são nativas e sociais. O Brasil apresenta grande diversidade desses insetos, existindo apenas no Estado de São Paulo mais de 250 espécies distintas (IMPERATRIZ-FONSECA; NUNES-SILVA, 2010). Toda essa diversidade implica em grande variabilidade de mel, que não está regulamentada na legislação nacional. A **Figura 2.4** ilustra algumas dessas polinizadoras, as quais se diferenciam por cor, tamanho, *habitat*, dentre outras características:



Figura 2.4: Abelhas nativas do Brasil. (Fonte: A.B.E.L.H.A, <https://abelha.org.br/>)

No continente americano, a meliponicultura - criação de ASF - vem sendo desenvolvida há milênios (CRANE, 1999; IMPERATRIZ-FONSECA; KOEDAM, HRNCIR, 2017), tendo o Brasil centenas de espécies nativas endêmicas (PEDRO, 2014; COSTA *et al.*, 2018). Embora a produção de mel dos meliponíneos alcance apenas alguns litros/colmeia/ano, ainda assim, seu alto valor de mercado torna sua criação uma atividade rentável, pelo menos em pequena escala. Sendo assim, embora a produção do gênero *Apis* lidere o *ranking* de produção e exportação no setor apícola, espécies nativas como urucu-nordestina e jandaíra vêm ganhando espaço no agronegócio familiar. Nos subtópicos seguintes, cada uma delas é analisada separadamente.

2.1.3.1 Italiana - *Apis mellifera ligustica*

A espécie *Apis mellifera ligustica*, conhecida como abelha italiana ou europeia (**Figura 2.5**), é a mais criada e famosa no mundo, devido a sua fácil adaptação, o que facilita o manejo por parte do apicultor. Em geral, apresenta tamanho entre 2,1-2,5 cm, pelos amarelos sobre o corpo e ferrão como defesa contra predadores (IBAMA, 2012).



Figura 2.5: Abelha italiana - *Apis mellifera ligustica* (Fonte: IBAMA, 2012)

2.1.3.2 Uruçu - *Melipona scutellaris*

A abelha urucu ou urucu-nordestina, como é popularmente conhecida a espécie *M. scutellaris*, é uma das maiores entre as nativas (Meliponinae), podendo a rainha chegar ao tamanho de 3,75 cm (**Figura 2.6**) e o seu mel é o segundo mais produzido pelos meliponicultores paraibanos (INCRA, 2016). Dentre as vantagens do seu manejo estão a lucratividade e o baixo custo de investimento.



Figura 2.6: Abelha urucu-nordestina - *Melipona scutellaris* (Fonte: IBAMA, 2012)

Esse inseto é holometabólico, isto é, apresenta, segundo Camargo e colaboradores (2015):

as fases de ovo, larva, pupa e adulto. O ovo leva três dias para se desenvolver e, em seguida, eclode em larva. A realeira é fechada no máximo no quinto dia após a eclosão do ovo, quando a larva tece um casulo e se desenvolve em uma pré-pupa e, em seguida, pupa. A fase de realeira fechada dura oito dias e meio, sendo que a abelha rainha emerge como um adulto após 16 dias (CAMARGO *et al.*, 2015).

A sua sociedade, assim como no gênero *Apis*, se divide em: rainha, operárias e zangões. Cada *Melipona* vive em média 40 dias. Geograficamente, as uruçus nordestinas podem ser encontradas nos estados mais quentes do país, como Paraíba, Ceará e Rio Grande do Norte (IBAMA, 2012).

2.1.3.3 Jandaíra - *Melipona subnitida*

A abelha jandaíra, como é popularmente conhecida a espécie *Melipona subnitida*, é uma das mais famosas entre as nativas, podendo a rainha chegar ao tamanho de 3,2 cm (**Figura 2.7**). Segundo Imperatriz-Fonseca, Koedam e Hrncir, ela é “endêmica da Caatinga, ou seja, uma espécie de abelha que ocorre exclusivamente neste bioma” (IMPERATRIZ-FONSECA, KOEDAM, HRNCIR; p. 17, 2017).



Figura 2.7: Abelha jandaíra - *Melipona subnitida* (Fonte: A.B.E.L.H.A, <https://abelha.org.br/>)

Além dessas particularidades, essa espécie apresenta uma menor distribuição na região Nordeste (SILVA *et al.*; 2013) que a *M. scutellaris* e, obviamente, a *A. mellifera ligustica*. Esse fator acarreta maior dificuldade de encontrá-las e em menor número de trabalhos na literatura. Por essa razão, nesta pesquisa esse grupo apresentou uma quantidade inferior de amostras.

Em suma, as abelhas sem ferrão (ASF) também são ótimas produtoras de mel e têm a sua importância econômica em âmbito regional e nacional. Além disso, a diversidade de espécies e de flora, como já mencionado, aumentam o potencial para o mercado como produto

de grande valor agregado, apesar de ainda não estarem devidamente regulamentados pelo Ministério da Agricultura.

Segundo estudos feitos na região Nordeste, o mel da espécie jandaíra é comercialmente muito valorizado pela população local por causa das suas propriedades medicinais (SILVA *et al.*; 2013). Essa especiaria se torna alvo fácil de fraude e adulteração devido ao valor de mercado até dez vezes superior ao mel da *Apis* e quatro vezes ao da urucu. Conforme reportagens nos últimos anos (GAZETA, 2017; GAZETA, 2018), o mel das abelhas nativas é mais caro em todo país.

Como já mencionado, pesquisas recentes mostram que o mel é considerado o terceiro alimento mais adulterado no mundo (ANDREEVA, 2017). É importante ratificar que embora ocorram falsificações no mercado pela adição de açúcar de cana ou xarope de milho (Wu *et al.*, 2017), é possível também verificar a seguinte fraude: venda de mel de uma espécie mais barata, por exemplo, urucu, como sendo outra, a exemplo da jandaíra, cujo preço no mercado é consideravelmente superior. Essa discrepância no valor pode influenciar nessa ilegalidade no mundo apícola, no qual mistura-se amostras de ASFs entre si ou com o mel de abelha italiana (SOUZA, 2008), além é claro de outros adulterantes.

Neste cenário, diversas metodologias em técnicas analíticas foram desenvolvidas para o controle de sua qualidade, tais como cromatografia líquida de alta eficiência (SILVA *et al.*; 2013), espectrometria de massa, cromatografia gasosa (RAZALI *et al.*, 2018), análise da relação estável de isótopos de carbono (Wu *et al.*, 2017) e análise sensorial (VIT *et al.*, 2011), dentre outras. No entanto, algumas dessas técnicas podem ser morosas, caras, longas e destrutivas. Tendo em vista o aspecto qualitativo desta pesquisa ao discriminar os diferentes tipos de méis no controle de qualidade, o desenvolvimento de uma metodologia simples, econômica, rápida e não destrutiva é apresentada através do processamento de imagens digitais (PDI) para superar estas desvantagens.

O número de trabalhos e pesquisas sobre discriminação e classificação deste produto alimentício tão diversificado utilizando imagens digitais ainda é pequeno na literatura. Sob esse viés, faz-se necessário a implementação, por parte dos órgãos de controle, de uma técnica que seja capaz de discriminar o mel - aspecto qualitativo - quanto ao tipo de espécie de abelha. Corroborando com essa necessidade e aliado ao que prevê o conjunto de princípios elencados pela Química Verde (QV), surge a proposta da utilização de PDI, que é discutido no tópico seguinte.

2.2 Processamento Digital de Imagens

Etimologicamente, a palavra imagem, do latim *imago*, é a representação visual de um objeto sobre uma superfície bidimensional, isto é, uma representação plana. Segundo Solomon e Breckon (2016), essa definição pode ser ampliada para uma representação discreta de dados que processam informação espacial ou de intensidade.

Matematicamente, uma imagem digital pode ser definida como uma matriz bidimensional ou uma função bidimensional, onde cada ponto é um valor discreto e as variáveis x e y são as coordenadas espaciais que identificam qualquer localização na imagem. O valor da função f é representado como uma cor ou um brilho no ponto (x, y) (GONZALEZ, WOODS; 2014). A matriz bidimensional da imagem digital é constituída por um número específico de linhas e de colunas e representa uma matriz de números. Desse modo, cada célula da matriz tem coordenadas espaciais discretas ou um endereço específico que descreve a sua localização na imagem. O endereço de cada ponto pode ser definido usando um sistema de coordenadas cartesianas, que é formado por duas linhas perpendiculares que se intersectam na origem.

Uma imagem analógica ao ser digitalizada (quantização e amostragem) para ser processada no computador é, na verdade, convertida em uma matriz do tipo $M \times N$ pontos, no qual cada ponto denomina-se de *pixel*, que é uma aglutinação das palavras inglesas *picture element* e representa a menor unidade de uma imagem digital (SOLOMON, BRECKON, 2016).

Quanto maior for a matriz, isto é, maior o número de linhas e de colunas, maior será o número de *pixels* na imagem, o que define a resolução espacial. A resolução da imagem digital e o tamanho da matriz são diretamente proporcionais. Desse modo, o aumento do tamanho da matriz irá diminuir o tamanho de cada pixel. O menor objeto representado na imagem digital ocupa o espaço de 1 *pixel* e, portanto, a capacidade de resolver esses pequenos objetos depende do tamanho da matriz da imagem digital (GONZALEZ, WOODS; 2014). Cada localização do pixel na imagem contém apenas um único valor numérico que representa o nível de sinal naquele ponto, podendo ter 256 níveis de cores que variam de 0 a 255 apenas para profundidades de cor (*color depth*) de 8 bits por pixel.

Existem diferentes modelos ou espaços de cores, sendo assim, uma imagem colorida pode ter mais do que um canal e, quando estes canais são combinados, eles são capazes de fornecer uma grande variedade de cores, isto é, de variáveis. Através de métodos estatísticos multivariados, no Processamento Digital de Imagens (PDI), informações analíticas complementares podem ser extraídas dessas variáveis, que não são possíveis de se obter de forma univariada. Segundo Panero e colegas “um dos objetivos na utilização da análise

multivariada é reduzir a representação dimensional dos dados, organizando-os em uma estrutura que facilita a visualização de todo o conjunto de dados” (PANERO *et al.*, p. 34, 2009). Por isso, neste projeto aliou-se o PDI a tais métodos.

Os modelos de cores mais comuns em PDI e que foram escolhidos para esta pesquisa são discutidos nos subtópicos seguintes.

2.2.1 Modelos de cores

Segundo Gonzalez e Woods, “o objetivo de um modelo de cores é facilitar a especificação das cores em alguma forma padronizada, amplamente aceita.” (p. 264, 2014). Essencialmente, os principais modelos ou sistemas de cores são: RGB (*red, green, blue* - vermelho, verde, azul) e HLS (*hue, lightness, saturation*- matiz, luminescência, saturação).

2.2.1.1 Modelo RGB

No modelo RGB, cada cor aparece em seus componentes espectrais primários de vermelho, verde e azul (GONZALEZ, WOODS, 2014; SOLOMON, BRECKON, 2016). Para fins de padronização, a Comissão Internacional de Iluminação (CIE) determinou valores específicos de comprimento de onda para as três cores primárias: azul = 435,8 nm, verde = 546,1 nm e vermelho = 700 nm (CIE, 1978). A combinação de duas dessas cores, em intensidades iguais, resulta na formação das cores secundárias: ciano (azul + verde), magenta (azul + vermelho) ou amarelo (verde + vermelho), conforme ilustra a **Figura 2.8**:

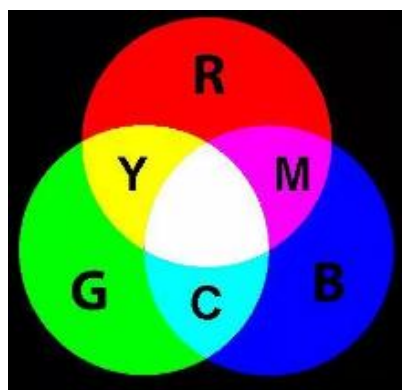


Figura 2.8: Cores primárias e secundárias de luz. (Fonte: Adaptado de GONZALEZ, WOODS; 2014, p. 261).

Como observado, a cor branca é a combinação, em igual proporção, de todas as cores primárias. A cor preta indica que não há contribuição dessas cores. Na percepção humana, a cor observada nos objetos resulta da interação desses com a luz branca. Quando há reflexão total, a cor branca é visualizada, enquanto o preto, teoricamente, representa a ausência de cor.

Segundo Gonzalez e Woods, no espaço ou sistema de cores RGB:

o subespaço de cores de interesse é o cubo, no qual os valores de RGB primários estão em três vértices; as cores secundárias ciano, magenta e amarelo estão em outros vértices; o preto está na origem; e o branco está no vértice mais distante da origem. Nesse modelo, a escala de cinza (pontos de valores RGB iguais) estende-se do preto até o branco ao longo do segmento de reta que une esses dois pontos. (GONZALEZ, WOODS, 2014, p. 265).

Sob esse viés, pode-se inferir que as diferentes cores em RGB são, matematicamente, pontos no cubo e podem ser definidas por vetores que se estendem da origem (GONZALEZ, WOODS; 2014).

A **Figura 2.9** mostra esse esquema do cubo de cores RGB.

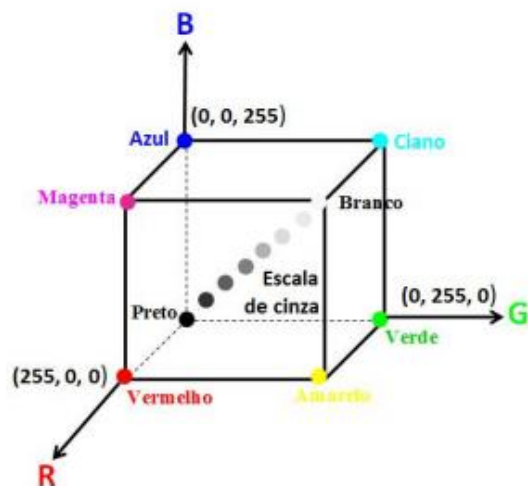


Figura 2.9: Esquema do cubo de cores RGB. (Fonte: Adaptado de GONZALEZ, WOODS; 2014, p. 265).

Em geral, esse sistema é utilizado em televisores, computadores e aparelhos eletrônicos, e há aplicações até para reconhecimento de ação humana (ARIVAZHAGAN *et al.*, 2019). No entanto, ele pode apresentar algumas desvantagens, como o não fornecimento de informações do brilho de uma imagem (TSAI; TSENG, 2012). Por isso, criou-se um sistema capaz de superar essa desvantagem, o qual é apresentado no subtópico a seguir.

2.2.1.2 Modelo HLS

O sistema HLS envolve a ideia de matiz (H), luminescência (L) e saturação (S). Esses estão, respectivamente, associados ao comprimento de onda dominante da cor, ao grau de pureza relativa da cor (adição de branco) e ao brilho ou luminescência. Segundo Batista (2005) “quando dizemos que um objeto é verde ou amarelo, estamos especificando a matiz.” (BATISTA, p. 19, 2005).

A **Figura 2.10** ilustra a interpretação do sistema HLS, que apresenta forma cônica:

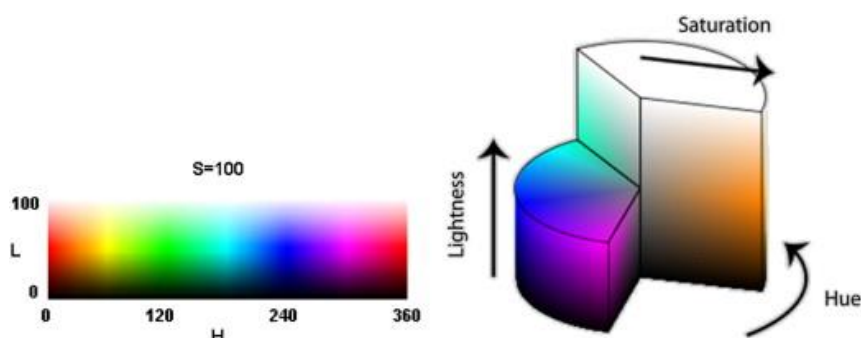


Figura 2.10: Sistema de cores HLS para interpretação de seus componentes. (Fonte: TSAI; TSENG, 2012)

Conforme Gonzalez e Woods (2014), neste modelo “os componentes importantes do espaço são o eixo de intensidade, o comprimento do vetor até um ponto de cor e o ângulo desse vetor.” (GONZALEZ; WOODS, p. 270, 2014). Desse modo, observa-se na **Figura 2.10** que enquanto a matiz (H) define a cor predominante em uma região escalada de 0 a 360°, a saturação (S) determinará o quanto a cor é pura, em valores que variam de 0 a 100%. Quanto maior o valor de *S* mais pura é a cor, isto é, quanto mais branco houver em uma cor, menos saturada é ela. As cores espectrais puras são completamente saturadas (BATISTA, 2005). O *L* determina a luminescência, que varia de 0 a 100%.

2.3 Técnicas de reconhecimento de padrões

Um constante desafio na química analítica é a grande quantidade de problemas que envolvem a análise de dados relacionada com o crescente número de amostras e variáveis. Isso leva a procurar por regularidades e padrões para extrair o máximo de informação útil. Desse modo, tais padrões obtidos podem levar a melhor interpretação dos resultados alcançados e, conseqüentemente, a tomada de decisão (FERREIRA, 2016). Em geral, as técnicas de reconhecimento de padrões podem ser agrupadas em dois tipos principais: supervisionadas e não supervisionadas.

2.3.1 Análise não supervisionada

A análise não-supervisionada não se baseia em exemplos existentes de um padrão conhecido, por isso, as amostras ou os objetos não são rotulados e busca-se identificar grupos diretamente a partir do conjunto total de dados (SOLOMON; BRECKON, 2015). Segundo Ferreira (2016), destaca-se a análise de componentes principais (PCA) como principal ferramenta não supervisionada.

2.3.1.1 Análise de Componentes Principais (PCA)

Historicamente, a Análise de Componentes Principais (PCA) foi introduzida pelo cientista britânico Karl Pearson no início do século XX (FERREIRA, 2016). Em suma, esse método quimiométrico de variadas aplicações é baseado na projeção dos dados multivariados em um espaço de menor dimensão. Segundo Ferreira: “o método PCA efetua a compressão dos dados ao projetá-los em um espaço de dimensão menor.” (FERREIRA, p. 111, 2016). Essa dimensão reduzida leva em conta que a maior variância possível está nas primeiras componentes principais (PCs).

Matematicamente, o procedimento da PCA se resume em decompor a matriz pré-tratada dos dados (X) em outras matrizes, a saber, a matriz T de escores, a matriz transposta L^T de pesos e a matriz E dos resíduos (relacionada ao modelo matemático), conforme a **Equação 2.1**:

$$X = TL^T + E \quad \text{Equação 2.1}$$

Essa operação é feita por meio de algoritmos matemáticos, os quais não são descritos nesta pesquisa. Em linhas gerais, uma PC é construída a partir das combinações das medidas originais das variáveis. A extensão com que cada variável contribui para uma PC depende da orientação relativa dos eixos. A contribuição de cada eixo variável a PC é o cosseno do ângulo entre o eixo variável e o eixo PC. Este cosseno é conhecido como *loadings* e varia de -1 a 1. Sendo assim, as principais ferramentas de diagnóstico deste método são: gráficos de escores, pesos, resíduos - erros na modelagem – e da variância explicada acumulada por número de PCs.

Graficamente, na PCA, os escores (*scores*) fornecem a informação das componentes principais (PCs) em relação as amostras do conjunto de dados, enquanto os pesos (*loadings*) fornecem informação das PCs em relação às variáveis (PANERO *et al.*, p. 34, 2009; FERREIRA, 2016). É possível estimar a influência de cada variável em cada amostra ao se analisar esses gráficos. Afinal, torna-se importante saber quais as variáveis que mais contribuem para uma PC, pois são elas as que mais discriminam as amostras.

Em geral, os métodos quimiométricos se baseiam nas “suposições de que as amostras do mesmo tipo são semelhantes, existem diferenças significativas entre diferentes tipos de amostras e o conjunto de medidas disponíveis é capaz de detectar essas semelhanças e diferenças” (FERREIRA, p. 108, 2016). Sendo assim, através da avaliação do gráfico de escores é possível determinar a formação de determinado agrupamento (*cluster*) ou não. Neste caso, as distâncias dos pontos – que representam as amostras estudadas – podem ser utilizadas para estimar se uma amostra pertence a um grupo ou não. A distância Euclidiana é a mais utilizada

nesses casos. Por sua vez, o gráfico dos pesos auxilia no diagnóstico de quais variáveis têm mais influenciam nesse agrupamento.

Diversos autores empregaram PCA em Química Analítica. Granatto e colegas (2018), ao analisarem o desenvolvimento de *softwares* estatísticos, concluíram que a PCA é uma das ferramentas mais usadas para explorar semelhanças entre amostras de alimentos, onde a relação de dados e agrupamento pode ser incerta. Alves e colaboradores (2017) utilizaram essa técnica para interpretar os resultados de microencapsulamento de pequi, vegetal utilizado na culinária sertaneja e produção de óleo de azeite. Škrbić, Đurišić-Mladenović e Cvejanov (2005) analisaram quantitativamente o teor de Cu, Fe, Pb, Cd e conseguiram indicar a origem geográfica de grãos de trigo de diferentes partes da Sérvia. De igual modo, Samek e outros autores (2016) avaliaram diferenças nas propriedades físico-químicas de cultivares de morango utilizando análise de componentes principais. Eles concluíram que o cultivar teve um efeito mais significativo nos parâmetros estudados.

Além disso, a PCA pode ser aplicada a cada imagem em uma matriz de *pixels* desconstruída, permitindo que elas sejam representadas em PCs. Na literatura, essa técnica já foi utilizada como ferramenta estatística para reconhecimento de padrões em imagens digitais utilizadas na medicina (SOUTO; 2012), na identificação de metais em amostras de solos (OLIVEIRA *et al.*, 2013; MILHOMEM *et al.*, 2018) no reconhecimento de congestionamento de veículos (SANTOS, GUSMÃO, COELHO; 2019). Há trabalhos também na classificação de refrigerantes (GODINHO *et al.*; 2008), de espécies de pimentas (SILVA *et al.*, 2019), de algodão (GONÇALVES, 2015), de óleo (MILANEZ, 2013) e de imagens obtidas das palmas de mãos e punhos (OLIVEIRA *et al.*, 2019), além de reconhecimento facial (MEDEIROS, 2012).

Neste trabalho, tanto os parâmetros avaliados quanto do PDI para os histogramas de cor gerados foram, separadamente, avaliados na PCA para a discriminação entre as diferentes espécies de abelha (italiana, urucu e jandaíra) dos municípios dos estados da Paraíba e do Rio Grande do Norte.

2.3.2 Análise supervisionada

Segundo Solomon e Breckon (2015), em uma análise supervisionada:

“a associação de classe das amostras para um determinado grupo se baseia na existência de padrões de características já alocados a uma classe definida. O objetivo é usar exemplos de treinamento para projetar um modelo que possa ser generalizado para novas amostras.” (SOLOMON, BRECKON; p. 262, 2016)

Neste contexto, as seguintes análises destacam-se: K-ésimo vizinho mais próximo (KNN), Regressão por Quadrados Mínimos Parciais através do método de Análise Discriminante (PLS-DA) e Modelagem Independente por Analogia de Classes (SIMCA).

Segundo Ferreira (2016): “todos esses métodos são baseados na suposição de que quanto mais as amostras se assemelham entre si em relação às variáveis medidas, mais próximas elas estarão no espaço multidimensional gerado por tais variáveis.” (FERREIRA, p. 407, 2016). Na literatura, existem aplicações do método SIMCA para atividade biológica (FREITAS, 2017) e classificação de alimentos (MILANEZ, 2013). Nesta pesquisa, optou-se por trabalhar com técnicas de reconhecimento de padrões não supervisionadas.

2.4 Revisão da literatura

Nas últimas décadas, embora existam inúmeros estudos e pesquisas envolvendo o mel de abelha *Apis*, são ainda poucos aqueles que envolvem o gênero *Melipona*, em especial, a espécie jandaíra.

Sousa e colegas (2016) realizaram o estudo físico-químico e sensorial de 24 amostras de mel das espécies jandaíra e urucu e concluíram que elas apresentaram características únicas relacionadas à fonte floral. Raoa e companheiros (2016) encontram diferenças únicas entre abelhas do gênero *Apis* e abelhas sem ferrão (ASF) ao analisaram compostos fenólicos, os quais “são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante.” (ANGELO; JORGE, p. 1, 2017).

Costa e outros pesquisadores (2018) realizariam análises sensoriais em amostras de urucu e jandaíra. Eles conseguiram caracterizar diferentes descritores sensoriais e compostos voláteis, os quais podem ser usados como marcadores químicos específicos para a origem botânica do mel. A metodologia empregada além de custosa e morosa, envolve certa subjetividade, principalmente, no aspecto envolvendo a análise sensorial.

Ávila e colegas (2019) conseguiram comprovar que certas amostras de mel provenientes de abelhas nativas possuem atividade antibacteriana mais efetiva que outras. Esses autores, através de PCA, agruparam diferentes tipos de mel de acordo com o pólen predominante. Neste caso, a técnica utilizada para obtenção dos dados foi a cromatografia líquida de alta eficiência equipada com um detector de matriz de fotodiodos (HPLC-PDA). Apesar de ser uma técnica de alta sensibilidade, a aquisição desses equipamentos é cara e são poucos os laboratórios que dispõem de tais instrumentos analíticos.

Em sua pesquisa, Ávila e colegas (2018) buscaram em um estado da arte elencar os resultados de parâmetros físico-químicos e de propriedades biológicas listados em artigos publicados com amostras de mel provenientes de mais de 60 diferentes espécies de ASF produzidas em todo o mundo. Esses autores concluíram que se faz necessário uma legislação específica, oficial e internacional desse produto milenar para servir como referência para controle e assim evitar a sua adulteração.

Nordin e outros autores (2018) buscando analisar a legislação proposta pela Malásia para o mel das ASFs realizou um estudo com 40 artigos publicados, os quais vieram de 12 diferentes países, como o Brasil e a Argentina. Esses pesquisadores concluíram que além de favorecer o desenvolvimento da meliponicultura malaia, essa regulamentação serve de inspiração para que a Comissão Internacional de Mel (IHC) ou outros órgãos internacionais passem a normatizar padrões específicos para o gênero *Melipona*, o qual ainda não é feito.

Quanto à aplicação da PDI no controle de qualidade de alimentos ou para classificação, existem trabalhos envolvendo chás (DINIZ *et al.*, 2012) óleos vegetais (MILANEZ, 2013), sementes de mamona (VILAR *et al.*, 2015), café (SOUTO *et al.*, 2015), leite (SANTOS; WENTZELL; PEREIRA FILHO, 2012), açúcar e pimenta (DIRAVIAM; ANGEL; RAJAPPAN, 2017). Na literatura, encontramos apenas dois trabalhos envolvendo imagens digitais e mel de abelha (DOMINGUEZ, M. A. *et al.*, 2014; DOMINGUEZ; CENTURIÓN, 2015), os quais foram empregados apenas para o gênero *Apis*. Um desses trabalhos objetivou a medição de forma rápida e simples da cor do mel, que, segundo esses autores, é o primeiro atributo de qualidade avaliado pelos consumidores (DOMINGUEZ; CENTURIÓN, 2015). O outro buscou classificar essa especiaria milenar quanto a sua origem geográfica na Argentina (DOMINGUEZ, M. A. *et al.*, 2014.)

Por fim, é importante destacar que além de não haver tantas pesquisas envolvendo o gênero *Melipona* como acontece com o *Apis*, não foram encontradas pesquisas científicas envolvendo a PDI para a discriminação das espécies jandaíra e urucu.

Capítulo 3

METODOLOGIA

3. METODOLOGIA

3.1 Materiais

Neste trabalho, com amostras de mel puro das espécies italiana - *A. mellifera ligustica* - (n = 40), urucu - *M. scutellaris* - (n = 40) e jandaíra - *M. subnitida* - (n = 20) foram analisadas. Elas foram adquiridas, diretamente, com os apicultores e os meliponicultores dos estados da Paraíba (Cabedelo, João Pessoa, Sousa, Alagoa Nova e Itatuba) e do Rio Grande do Norte (Macaíba e Passa e Fica), conforme **Figura 3.1**. Todas as amostras foram armazenadas em vidro âmbar e conservadas à temperatura ambiente (20-25°C) em local protegido da luz.

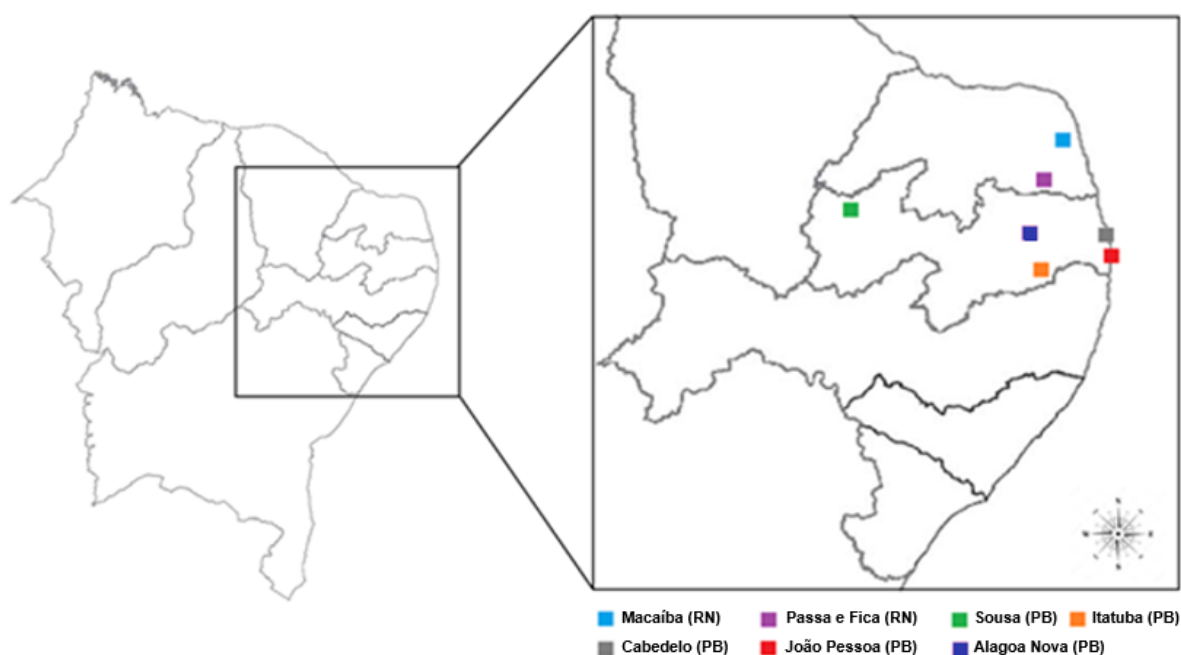


Figura 3.1: Mapa com a distribuição dos locais onde as amostras foram coletadas: Macaíba (n = 16), Passa e Fica (n = 6), Sousa (n = 18), Cabedelo (n = 28), João Pessoa (n = 12), Alagoa Nova (n = 3) e Itatuba (n = 17).

Por simplificação, usaremos a seguinte terminologia: classe A para as amostras de mel de abelha italiana, classe U para as de urucu e classe J para as de jandaíra. Essas amostras são multiflorais ou de florada silvestre e foram obtidas durante os meses de agosto de 2018 a junho de 2019 para cobrir a maior variabilidade. Buscou-se coletar os três tipos de mel em diferentes regiões nos estados da Paraíba e do Rio Grande de Norte, conforme o **Anexo 1**, que especifica o local de coleta para cada amostra:

A **Figura 3.2** mostra as principais diferenças de cor encontradas nesses méis. Em geral, observa-se como as amostras das nativas - jandaíra (**Fig. 3.2b**) e urucu (**Fig. 3.2c**) - podem ser semelhantes neste aspecto. Elas tendem a ser mais claras que as amostras da italiana (**Fig. 3.2a**).

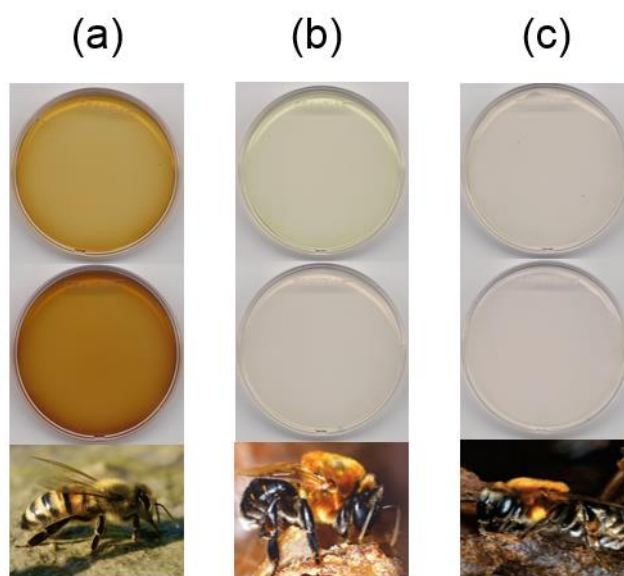


Figura 3.2: Diferença nas cores das amostras de mel das abelhas (a) italiana; (b) jandaíra e (c) uruçú.

Na caracterização físico-química, todos os reagentes utilizados foram de pureza analítica: ácido clorídrico (HCl) concentrado (Merck); sulfato de cobre penta-hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (Merck); tartarato de sódio e potássio tetrahidratado ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Merck); solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 20 % m/V e azul de metileno ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a 1%. As soluções A e B de *Fehling*, utilizadas na determinação de açúcares redutores (A.R), foram preparadas e padronizadas conforme a NBR 15714-10 (ABNTb, 2016).

Em suma, para a solução de *Fehling* A, dissolveu-se 69,28 g de sulfato de cobre penta-hidratado com água destilada em um béquer. Transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se com água destilada. Antes do uso, armazenou-se por um dia. Para a solução de *Fehling* B, dissolveu-se 346 g de tartarato de sódio e potássio tetrahidratado em água destilada em um béquer. Dissolveu-se 100 g de hidróxido de sódio em água destilada em um béquer. Verteu-se o conteúdo dos dois béqueres para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se com água destilada. Filtrou-se com papel de filtro qualitativo.

3.2 Parâmetros analisados

Nesta pesquisa, os parâmetros analisados foram: umidade (%), açúcares redutores (%), sólidos solúveis totais (%) e pH. As determinações foram baseadas, em geral, nos métodos recomendados pela AOAC (1995), pelo BRASIL (2017) e pelo Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Agrícola da Malásia (MALAYSIAN STANDARDS, 2017) e os procedimentos analíticos empregados e/ou adaptados são descritos a seguir.

3.2.1 Umidade

Na determinação do teor de umidade do mel, utilizou-se o método da norma AOAC 969.38 B, recomendado oficialmente (AOAC, 1995a; IAL, 2008; ABNT, 2009; BRASIL, 2017), o qual verifica a determinação do índice de refração (nD) do mel a 20°C, que é convertido para o teor de umidade através de uma tabela de referência (CHATAWAY, 1932). Apesar dessa técnica ser considerada como um método físico e indireto de medida do conteúdo de umidade (CANO, FELSNER, BRUNS; 2007), ainda é a mais empregada.

Inicialmente, o refratômetro Abbe digital de bancada ($\pm 0,0002$ nD), marca *Nova Instruments* e modelo WYS-2S, foi calibrado com água destilada, que apresenta índice de refração igual a 1,3330, a 20°C (IAL, 2008). Em seguida, cada amostra (três gotas) foi aplicada diretamente, sem qualquer pré-processamento, no aparelho, para então fazer-se às leituras, conforme ilustra a **Figura 3.3**:

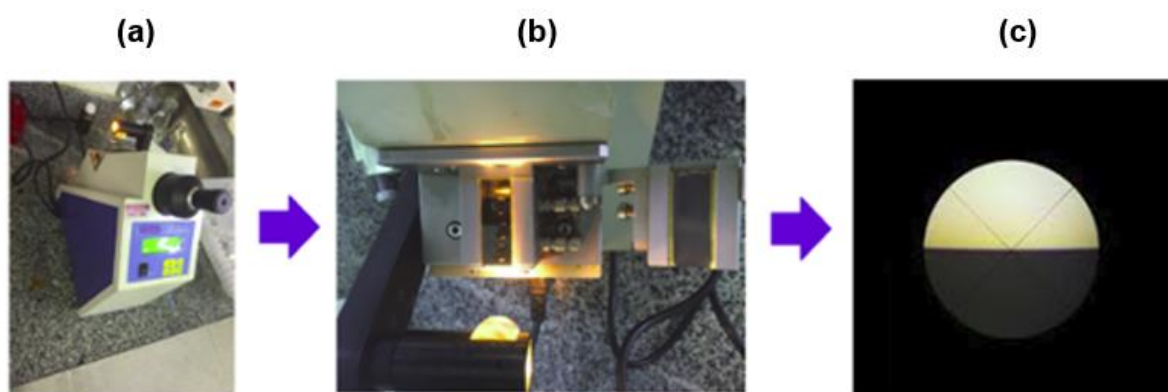


Figura 3.3: Determinação do teor de umidade pelo método refratométrico: (a) aguardou-se a estabilização do aparelho de Abbe e o calibrou; (b) colocou-se três gotas de mel sobre a superfície do prisma de refração, fechou-se o compartimento que veda este prisma; (c) observou-se a linha que divide o campo claro do campo escuro para a leitura.

3.2.1 Sólidos solúveis

Para a determinação de sólidos solúveis o método refratométrico foi utilizado, conforme metodologia disponível na literatura (SPENCER; MEADE, 1945 *apud* SILVA *et al.*, 2003; IAL; 2008). Embora ele não seja seletivo, pois determina a concentração de sólidos solúveis totais sem fazer nenhuma distinção entre os tipos de açúcares presentes e suas concentrações, trata-se do método mais utilizado, barato e prático (DORNEMANN, 2016). Esse parâmetro foi obtido concomitantemente com o teor de umidade, seguindo assim, o mesmo procedimento descrito no item anterior.

3.2.3 pH

Conforme a NBR 15714-6 (ABNT 2016a), a determinação do pH foi realizada diretamente em uma solução de mel 10 % (m/V), empregando-se um peagômetro ($\pm 0,01$ pH), marca *Tecnopon* e modelo MPA-210. Para calibração do instrumento foram utilizadas soluções tampão pH 4,00 e 7,00.

3.2.4 Açúcares redutores (AR)

Na determinação de açúcares redutores (A.R) - soma dos teores de frutose e glicose em g/100g conforme norma AOAC 958.06 - empregou-se o método titulométrico modificado de *Lane-Eynon* (AOAC, 1995b; IAL, 2008; ABNT, 2016b; BRASIL, 2017) com a redução das soluções de *Fehling*.

No preparo das amostras, pesou-se cerca de 1 g de mel homogeneizado em um béquer de 50 mL. Dilui-se com água e transferiu-se para um balão volumétrico de 200 mL, completando, posteriormente, o volume com água destilada. Durante a titulação, aqueceu-se a solução até a ebulição, adicionando, em seguida, três gotas da solução de azul de metileno. Completou-se a titulação, dentro de um tempo total de ebulição de 3 min, até a descoloração do indicador, conforme observado na **Figura 3.4**.

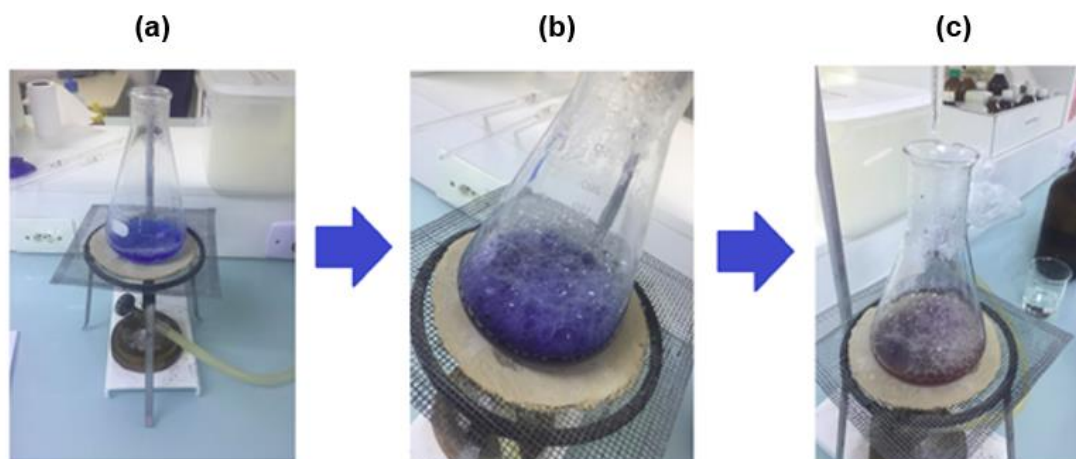


Figura 3.4: Determinação de açúcares redutores: (a) adicionou-se a solução com indicador; (b) titulou-se até ebulição por tempo total de 3 min; (c) observou-se a descoloração do indicador e formação do precipitado.

O teor de A.R, em gramas por litro da amostra, é dado pela **Equação 3.1**:

$$AR (\%) = \frac{F \times C \times 100}{M \times V} \quad \text{Equação 3.1}$$

Onde,

AR = açúcares redutores (%);

F = fator de *Fehling* (F/2 quando se usa 5mL);
C = capacidade volumétrica do balão utilizado (mL);
M = massa da amostra (g);
V = volume gasto na titulação (mL).

Após a avaliação desses quatro parâmetros, empregou-se a PCA para a análise exploratória dos dados obtidos. Neste caso, o autoescalamento foi utilizado como pré-processamento, pois, as propriedades monitoradas apresentam escalas distintas (FERREIRA, 2016). Os dados foram processados no *software* Unscrambler ® e MatLab ® para que os gráficos dos escores (*scores*), pesos (*loadings*) e variância explicada fossem gerados.

3.3 Discriminação por Processamento Digital de Imagens

3.3.1 Aquisição de imagens

A aquisição das imagens das amostras foi realizada pelo escâner de uma impressora multifuncional Hewlett-Packard (HP), modelo F4280 e resolução 300 dpi, com o auxílio de placas de Petri em poliestireno (49x13mm) lisa estéril. Para alcançar uma padronização das imagens, 2 mL de cada amostra foram pipetados e analisados por placa de Petri, em triplicata. A **Figura 3.5** ilustra o aparato necessário para a captura dessas imagens, a saber: um computador notebook, uma impressora multifuncional e 15 placas de Petri.

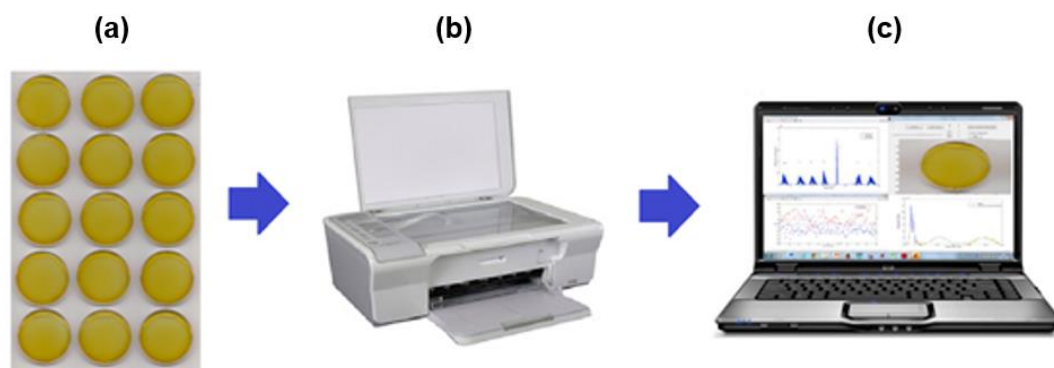


Figura 3.5: Aparato para a aquisição de imagens: (a) placas de Petri de poliestireno contendo as amostras; (b) escâner; (c) computador notebook.

3.3.2. Análise multivariada de dados

Após a aquisição das imagens, estas foram exportadas para o *software* *Quimagem*, disponibilizado gratuitamente para download no link: <http://www.laqa.quimica.ufpb.br/index.php>, para gerar os histogramas e, em seguida, tais dados foram processados no *software* Unscrambler ® e MatLab ® para que os gráficos dos escores

(scores), pesos (*loadings*) e da variância explicada acumulada fossem gerados e a análise dos componentes principais das imagens efetuada.

A **Figura 3.6** ilustra a interface do *Quimagem*, no qual, inicialmente, o analista escolhe a região mais homogênea da imagem para que as coordenadas da região selecionada sejam armazenadas e usadas posteriormente. Todos os pixels, coluna por coluna, são verificados para a decomposição de imagem nos modelos RGB e HLS. Automaticamente, os dados gerados são armazenados em documento *Microsoft Excel*.

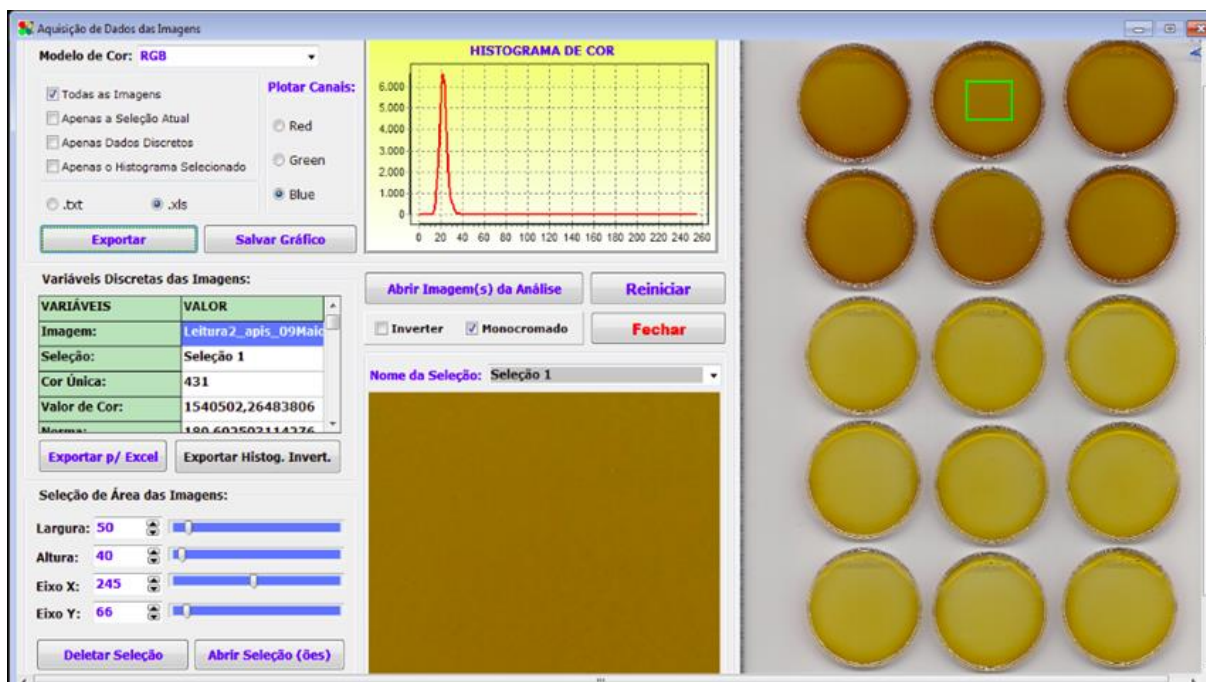


Figura 3.6: Interface do programa *Quimagem* apresentando as opções para aquisição dos dados.

Por fim, empregou-se a PCA aos histogramas gerados nos sistemas RGB e HLS, os quais receberam apenas como pré-tratamento a remoção das variáveis nulas ou não informativas. Os resultados alcançados com as ferramentas de diagnósticos foram avaliados para a correta discriminação do mel quanto ao tipo da espécie de abelha estudada nesta pesquisa.

Capítulo 4

**RESULTADOS E
DISCUSSÃO**

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira parte da pesquisa, realizou-se o estudo dos seguintes parâmetros: teor de umidade, de sólidos solúveis totais, de açúcares redutores e o pH. Em seguida, realizou-se um estudo exploratório com base na aplicação da análise de componentes principais (PCA). Na segunda parte, foi realizado o estudo com PDI para discriminação de mel e um novo estudo exploratório dos dados foi feito, aplicando PCA. Nesta feita, analisou-se os histogramas de cor obtidos dos sistemas RGB e HLS.

4.1 Parâmetros estudados

Quanto aos parâmetros avaliados, os valores médios, o desvio padrão e os valores mínimo e máximo para as classes A, U e J estão elencados, respectivamente, nas **Tabelas 4.1, 4.2 e 4.3**:

Tabela 4.1: Resultados para as análises físico-químicas da classe A (italiana).

Parâmetros	Legislação brasileira	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Umidade (g/100g)	Máximo de 20	18,1	0,4	17,7	19,2
° BRIX (g/100g)	-	80,5	0,3	79,4	80,8
A.R (g/100g)	Mínimo de 65	68,4	2,0	65,1	73,6
pH	-	4,10	0,07	3,98	4,20

Tabela 4.2: Resultados para as análises físico-químicas da classe U (uruçu).

Parâmetros	Legislação da Malásia	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Umidade (g/100g)	Máximo de 35	24,4	1,9	22,3	29,2
° BRIX (g/100g)	-	74,2	1,9	69,4	76,3
A.R (g/100g)	Máximo de 85	68,6	0,9	66,2	71,5
pH	-	4,13	0,27	3,29	4,45

Tabela 4.3: Resultados para as análises físico-químicas da classe J (jandaíra).

Parâmetros	Legislação da Malásia	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Umidade (g/100g)	Máximo de 35	26,3	1,6	24,1	28,6
° BRIX (g/100g)	-	72,6	1,7	70,2	74,8
A.R (g/100g)	Máximo de 85	67,7	1,7	65,1	70,4
pH	-	3,80	0,49	2,88	4,47

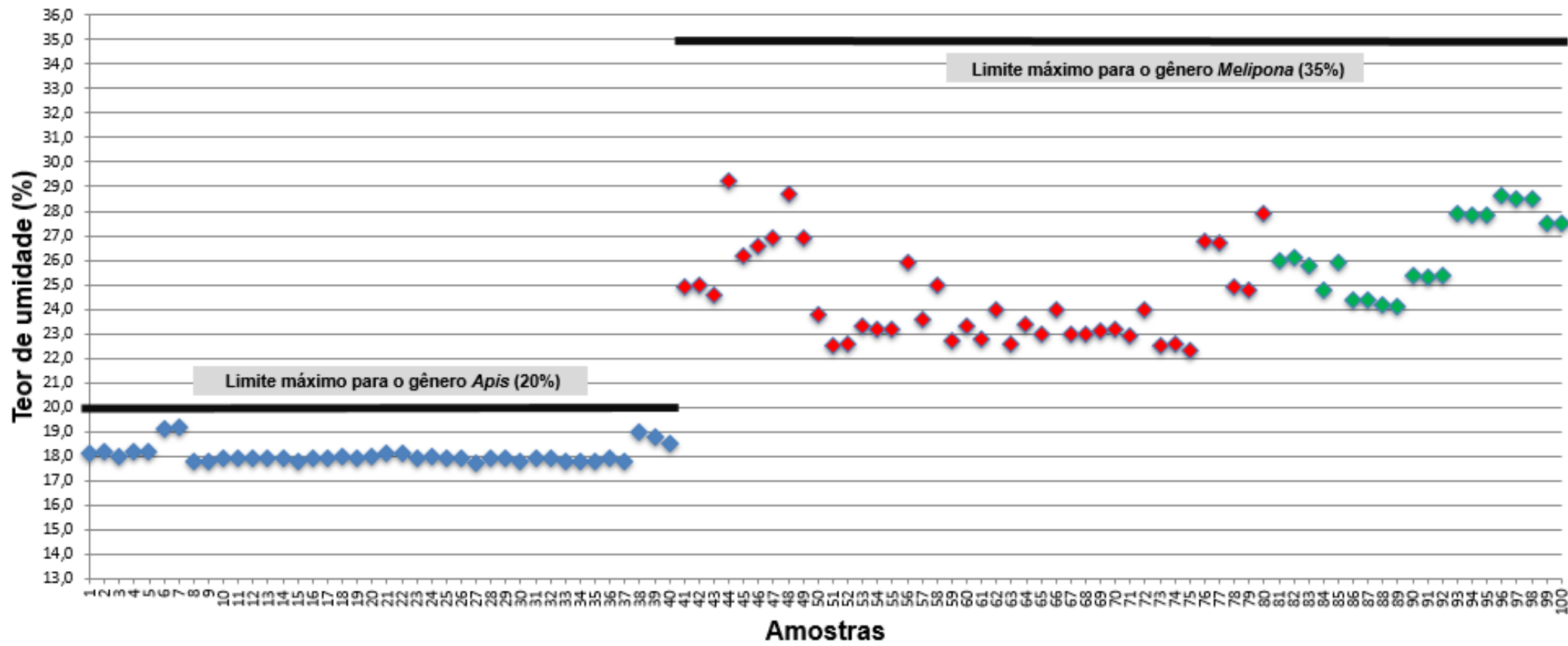
Nos subtópicos seguintes, cada um desses parâmetros é analisado separadamente.

4.1.1 Umidade

A determinação do teor de umidade é um dos parâmetros físicos em mel previstos na legislação (IAL, 2008; ABNT, 2009; BRASIL, 2017) pelo fato de estar relacionado com o tempo de prateleira do produto. Em geral, pode-se inferir que quanto maior for o percentual de água maior será a probabilidade da proliferação de microrganismos (ABNT, 2009). O inverso também é válido, isto é, se o mel apresenta baixo de teor de umidade, haverá menor probabilidade de contaminação, como, por exemplo, a proliferação de leveduras. Obviamente outros fatores também podem interferir nessa probabilidade, como o teor de açúcares redutores e o correto manuseio (coleta e armazenamento) do produto (FERNANDES, ROSA, CONTI-SILVA, 2018; WU *et al.*, 2018; SE *et al.*; 2018). É importante destacar que a umidade também pode interferir nas propriedades organolépticas, como o sabor e a cor, que são atributos, dentre outros, decisivos na tomada de decisão de compra pela clientela.

Os resultados médios, por amostra, de teor de umidade (25 °C) para as classes A, U e J estão plotados como pontos no **Gráfico 4.1**, no qual está destacado, em linhas horizontais, o limite máximo estabelecido nacional e internacionalmente para o gênero *Apis* (>20g/100g) e o limite máximo para o gênero *Melipona* (>35g/100g), conforme norma da Malásia.

Gráfico 4.1: Valores médios de teor de umidade (%) para as classes A (♦ Italiana), U (♦ Uruçu) e J (♦ Jandaíra).



Quanto à umidade, todos os valores estão expressos em porcentagem de massa (g/100g). Para a classe A, a média encontrada ($18,1 \pm 0,4\%$) está dentro do limite especificado na legislação nacional e internacional (20g/100g), corroborando com os resultados na literatura (ALVES *et al.*, 2005; FRAUSTO-REYES *et al.*; 2017; ALVAREZ-SUAREZ *et al.*; 2018; SAJID *et al.*; 2019; AL-GHAMDI *et al.*; 2019), que variaram de 16 a 20 % para o gênero *Apis*. De igual modo, os valores médios das abelhas nativas - classe U ($24,4 \pm 1,9\%$) e classe J ($26,3 \pm 1,6\%$) estão dentro do padrão especificado pela Malásia (35g/100g). Esses resultados elevados (>20g/100g) eram previstos para espécies do gênero *Melipona*, porque, segundo Souza e colegas: “o excesso de água encontrado no mel dos meliponíneos é devido à baixa taxa de desidratação do néctar durante o processo de transformação em mel” (SOUZA *et al.*, p. 646, 2004). É importante destacar que existem publicações que sugerem uma proposta de regulamentação nacional específica para elas (CAMARGO; OLIVEIRA; BERTO, 2017). Em seu trabalho, Sousa e colegas (2016) encontram intervalos médios de $24,3 \pm 0,3\%$ a $26,5 \pm 0,8\%$ para a espécie uruçú-nordestina e de $23,9 \pm 0,4\%$ a $28,9 \pm 0,2\%$ para a jandaíra. Outros autores já encontram um intervalo de 22,2 a 24,4% para a espécie *M. subnitida* (SILVA *et al.*, 2013).

4.1.2 Sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis totais correspondem a todas as substâncias que se encontram dissolvidas em um determinado solvente (NESPOLO *et al.*, 2015). Segundo Gois e colegas (2013), no mel, esses sólidos “são constituídos principalmente por açúcares, variáveis com a espécie da planta e o clima. São designados como ° Brix e tem tendência de aumento com a maturação.” (GOIS *et al.*, p.141, 2013).

Desse modo, o mel apresenta teor de sólidos solúveis próximo ao teor de açúcares totais, situação que faz com que a técnica utilizada nesta pesquisa - refratometria - se destaque por ser rápida, simples e econômica (GOIS *et al.*, 2013). Segundo Cecchi (2015), essa técnica é muito utilizada no controle de qualidade de méis, xaropes, geleias e sucos de fruta. A determinação de sólidos solúveis totais (° BRIX) em mel se relaciona, principalmente, com a concentração de glicose e de frutose, porque, a concentração desses dois monossacarídeos varia, em geral, de 65 a 80g/100g (IAL, 2008; OROIAN *et al.*; 2016). Segundo Bera (2004) “dissacarídeos como sacarose e maltose são encontrados em menores concentração” (BERA, p.8, 2004).

Em geral, o mel de abelha italiana apresenta maior valor médio de ° Brix que as amostras das abelhas nativas (uruçú-nordestina e jandaíra), devido ao menor teor de umidade e maior teor de carboidratos (NORDIN *et al.*, 2018). Isso pode influenciar em um maior tempo de prateleira daquele em relação a essas, porque soluções em maior concentração de açúcares

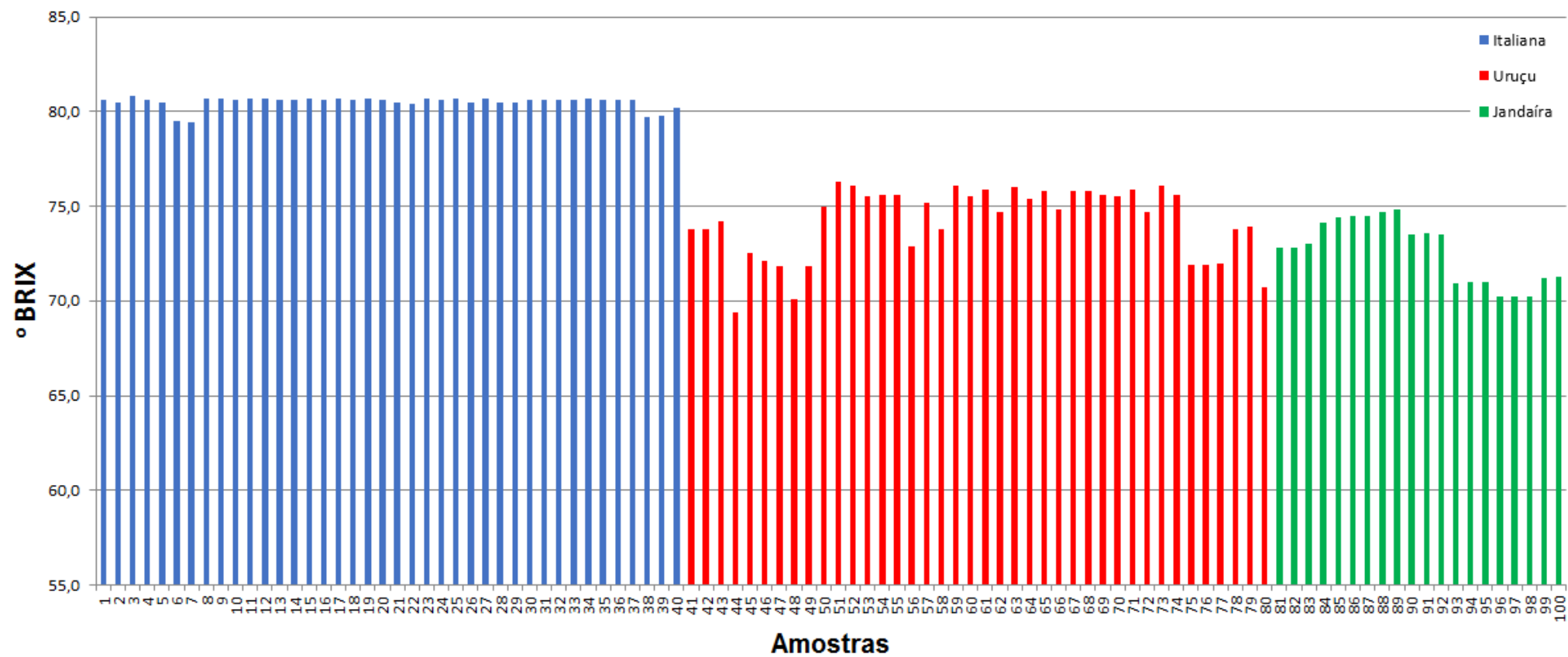
impedem, em geral, o desenvolvimento de microrganismos pelo fenômeno conhecido como osmose.

Assim como para a umidade, os valores para ° BRIX estão todos expressos em porcentagem de massa (g/100g). Na classe A, a média para ° BRIX ($80,5 \pm 0,3\%$) é inferior aos resultados na literatura, que indicavam para esse gênero valores de $82,8 \pm 1,1\%$ (CENGIZ; TOSUN; TOPA, 2018). Por outro lado, a classe U apresentou média ($74,2 \pm 1,9\%$) superior ao descrito por Campos, Gois e Carneiro (2010), que foi de $72,3 \pm 1,9\%$ e valor similar ao encontrado por Sousa e colegas (2016), que foi de $74,3 \pm 0,5\%$. O valor encontrado para a classe J ($72,6 \pm 1,7\%$) se assemelha, ligeiramente, ao encontrado por Sant'Ana (2017), que foi de $72,1\%$ e por Sousa e colegas (2016), que foi de $72,0 \pm 1,5\%$. Em geral, o mel das abelhas nativas apresenta teor de sólidos solúveis inferior em relação ao gênero *Apis* devido ao elevado teor de água e menor porcentagem de açúcares totais (SANT'ANA, 2017).

Embora a determinação do ° BRIX seja importante na utilização industrial do mel, como, por exemplo, a produção de hidromel (SILVA *et al.*, 2018), ressalta-se que nem legislação brasileira nem a internacional regulamentam valores mínimos ou máximos para esse parâmetro, sendo assim, torna-se necessário definir esse padrão para o mel de abelhas.

Os resultados médios de ° BRIX (25 °C) para as classes A, U e J estão ilustrados como barras no **Gráfico 4.2**:

Gráfico 4.2: Valores médios de °BRIX (25 °C) para as classes A (♦ Italiana), U (♦ Uruçu) e J (♦ Jandaíra).



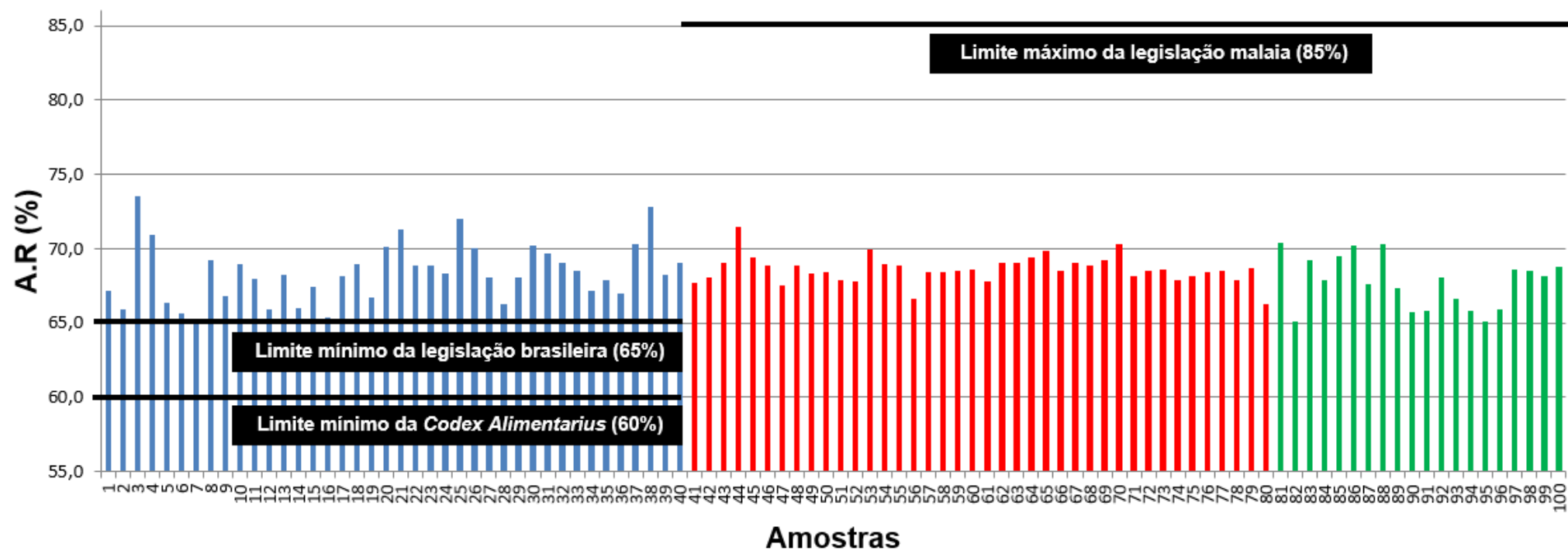
4.1.3 Açúcares redutores (AR)

Todos os resultados obtidos para A.R também são apresentados em porcentagem de massa (g/100g). Na classe A, a média de A.R foi de $68,4 \pm 2,0$ %. Esse percentual está consistente com os obtidos em pesquisas anteriores, $70,7 \pm 1,2$ % (NASCIMENTO *et al.*; 2018) e $68,9 \pm 1,1$ % (AL-GHAMDI *et al.*; 2019), usando material semelhante. Esses estudos, em geral, demonstraram uma média de 69,8 % para a espécie *A. mellifera ligustica*. Conforme a *Codex Alimentarius* (2001), que estabelece limite mínimo de 60g/100g para A.R, e a legislação brasileira (BRASIL, 2017), que preconiza um limite de 65g/100g, todas as amostras de mel da espécie italiana estão dentro do padrão estabelecido.

Por sua vez, na classe U a média foi de $68,6 \pm 0,9$ %, que está acima da faixa de 43,7 a 66,5% encontrada por Campos e colegas (2010). Essa diferença poderia ser explicada pelo diferente estado de maturação do mel (FERNANDES; ROSA; CONTI-SILVA, 2018). A classe J apresentou média de A.R igual a $67,7 \pm 1,7$ %, que é um valor próximo ao encontrado por Silva e colegas (2013), a saber, $66,7 \pm 0,1$ %. Conforme o Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Agrícola da Malásia (MALAYSIAN STANDARDS, 2017), que estabelece limite máximo de 85g/100g, todas essas amostras estão dentro do padrão estabelecido.

Souza (2008), em estudo com mais de 150 amostras de méis de diferentes espécies do gênero *Melipona* constatou uma amplitude de 58,0 a 75,7%, que corroboram com os resultados desta pesquisa. De igual modo, Nordin e colegas (2018) encontram valores corolários e que estão conforme a legislação malaia. Esses autores analisaram os resultados para 522 amostras de mel. É importante destacar que a frutose e a glicose são os monossacarídeos mais abundantes no mel, cuja concentração desses influencia na sua cristalização, viscosidade e higroscopicidade, servindo inclusive como indicador de qualidade relacionado à maturação do mel (FERNANDES; ROSA; CONTI-SILVA, 2018). Os resultados médios de A.R. (%) para as classes A, U e J estão ilustrados como barras no **Gráfico 4.3**, no qual estão destacados, em linhas horizontais, os limites mínimos estabelecidos nacional ($>65\text{g}/100\text{g}$) e internacionalmente ($> 60\text{g}/100\text{g}$) para o gênero *Apis* e o limite máximo para o gênero *Melipona* ($< 85\text{g}/100\text{g}$), conforme norma da Malásia.

Gráfico 4.3: Valores médios de A.R (%) para as classes A (♦ Italiana), U (♦ Uruçu) e J (♦ Jandaíra).



4.1.4 pH

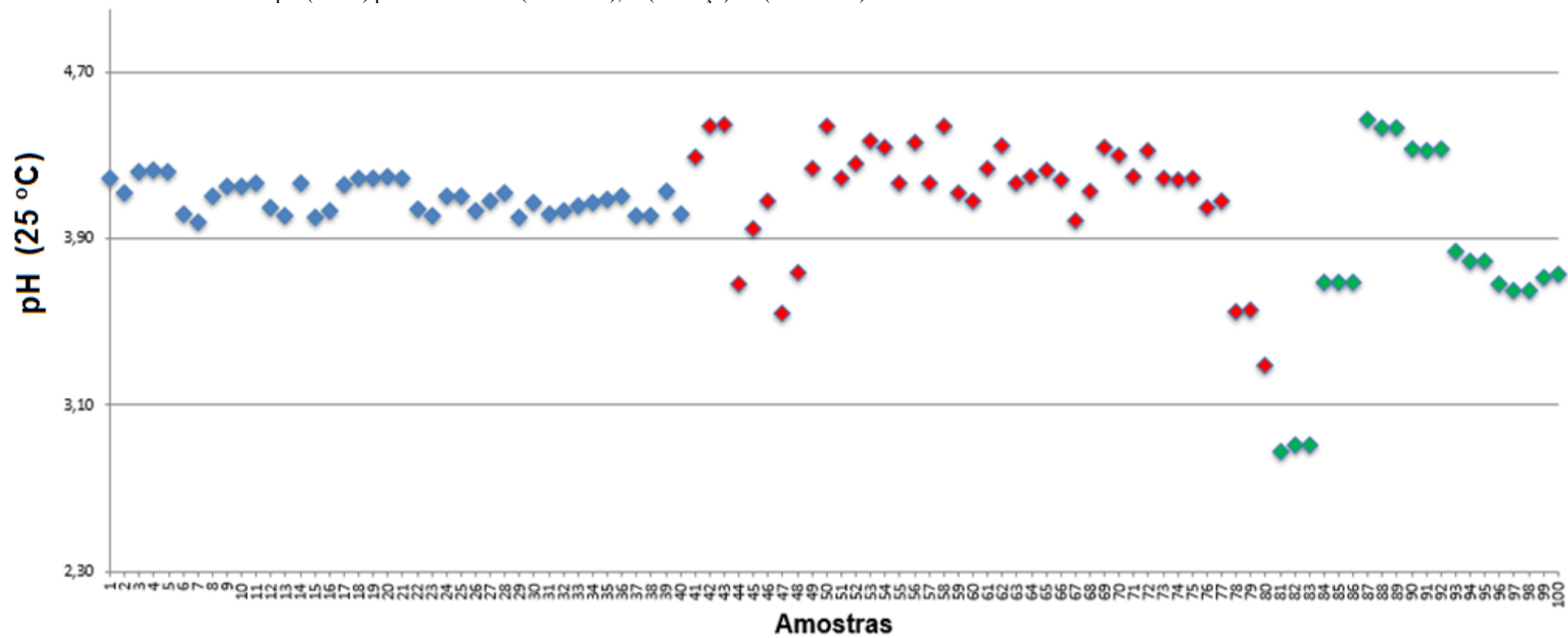
Em geral, a acidez em méis, dentre outros fatores, está relacionada diretamente com o impedimento ao desenvolvimento de micro-organismos, como patógenos bacterianos (MANDAL; MANDAL; 2011), o que lhe garante, naturalmente, um aumento da vida de prateleira. É importante destacar que essa característica antibacteriana deriva, igualmente, do efeito osmótico, que contribui para desidratação celular desses micro-organismos. Essa variação da pressão osmótica é intensificada pelo alto teor de carboidrato e do baixo teor de umidade. Na literatura, existem trabalhos que estudaram a atividade bacteriana em mel (MANDAL, MANDAL; 2011; SZWEDA; 2017). Pesquisas recentes indicam que a estabilidade do pH também interfere diretamente nas proteínas da geleia real das abelhas *Apis mellifera* (MURESAN; BUTTSTEDT; 2019) e que o seu monitoramento pode vir a ajudar na indicação de mau processamento/conversação no manejo e de possíveis fraudes de méis.

Nesta pesquisa, todas as amostras apresentaram valores médios de pH entre um intervalo de 3,00 a 4,47, com exceção da amostra J1 (pH = 2,88), da abelha jandaíra. Esse valor inferior pode estar relacionado com a sua origem geográfica. Afinal, as três primeiras amostras de jandaíra (J1-3) são da cidade de Cabedelo (PB) e apresentaram os menores valores de pH para essa classe e nesta pesquisa. Para o gênero *Apis*, a Comissão Internacional de Mel não estabelece limites de pH (IHC, 2002) e, no caso do gênero *Melipona* a norma malaia também não (MALAYSIAN STANDARDS, 2017).

A classe A apresentou média de $4,10 \pm 0,07$, o que está consistente com o valor encontrado por Sajid e colegas (2019) em sua pesquisa, a saber, pH = 4,9. Por outro lado, no gênero *Melipona*, os valores médios das classes U e J foram, respectivamente, $4,13 \pm 0,27$ e $3,80 \pm 0,49$. Na literatura foram reportados valores de $3,83 \pm 0,10$ (SILVA *et al.*; 2013), $4,20 \pm 0,05$ (Sousa *et al.*, 2016) e $3,20 \pm 0,21$ (ALVAREZ-SUAREZ *et al.*; 2018). Em estudo realizado apenas com amostras de mel de jandaíra observou-se um intervalo de pH entre 2,9 e 3,7 (Silva *et al.*, 2013).

Segundo Bogo, Santim e Frighetto (2017), o mel apresenta naturalmente, como já mencionado, um meio ácido devido a concentração de diferentes ácidos orgânicos, como o ácido glutônico ($C_6H_{12}O_7$), podendo também essa acidez ser influenciada pela origem botânica e constituintes das cinzas, bem como a espécie da abelha (GOIS *et al.*, 2013). A acidez do mel é importante, pois está associada com a velocidade de formação de hidroximetilfurfural (ALVES *et al.*, 2005) e, como discutido anteriormente, a inibição de micro-organismos (SILVA *et al.*, 2013). Os resultados médios de pH (25 °C) para as classes A, U e J estão plotados como pontos no **Gráfico 4.4**:

Gráfico 4.4: Valores médios de pH (25 °C) para as classes A (◆ Italiana), U (◆ Uruçu) e J (◆ Jandaíra).



Quanto ao pH, observa-se, de modo geral, que não houve diferença significativa entre os méis das diferentes espécies estudadas (africanizadas e nativas), mesmo quando produzidos na mesma localidade, com exceção das amostras J1-3 que apresentaram pH menor do que 3 e são provenientes de Cabedelo (PB). Essa moderada diferença pode estar também relacionada com as particularidades desta espécie, como, por exemplo, o tipo de flora visitada para a captura do néctar (RODRIGUEZ *et al.*; 2019).

Os resultados desses parâmetros corroboram para que novos estudos sejam realizados com amostras de diferentes espécies. Afinal, embora seja possível encontrar diferenças consideráveis (umidade) entre o mel de abelha italiana e o de ASF, não foi possível observar uma discriminação entre urucu e jandaíra. Talvez outros parâmetros pudessem fazê-lo, como reportados por Ávila e colegas (2019), mas, em geral, são técnicas caras, morosas e destrutivas.

Em suma, todas as amostras do gênero *Apis*, nesta pesquisa, estão dentro dos limites estabelecidos nacional e internacionalmente para os quatro parâmetros estudados. Da mesma forma, com os padrões disponíveis da Malásia, todas as amostras de mel das ASFs estão dentro dos limites estabelecidos para tais parâmetros analisados no controle de qualidade desse produto, o qual desempenha um relevante papel econômico e social.

4.2 Análise de Componentes Principais (PCA)

Aplicando a PCA a esses dados autoescalados dos parâmetros físico-químicos, verifica-se que eles embora sejam capazes de discriminar a classe A das demais, não o fazem para as classes U e J. É importante lembrar, como mencionado anteriormente, que essas espécies apresentam diferenças em relação a suas propriedades medicinais e no valor de mercado, sendo a jandaíra a mais cara.

A **Figura 4.1** ilustra os gráficos de escores obtidos pela PCA aplicada a esses dados para todas as classes (**A** - italiana, **U** - urucu e **J** - jandaíra): (a) PC1 *versus* PC2, (b) PC1 *versus* PC3 e (c) PC2 *versus* PC3.

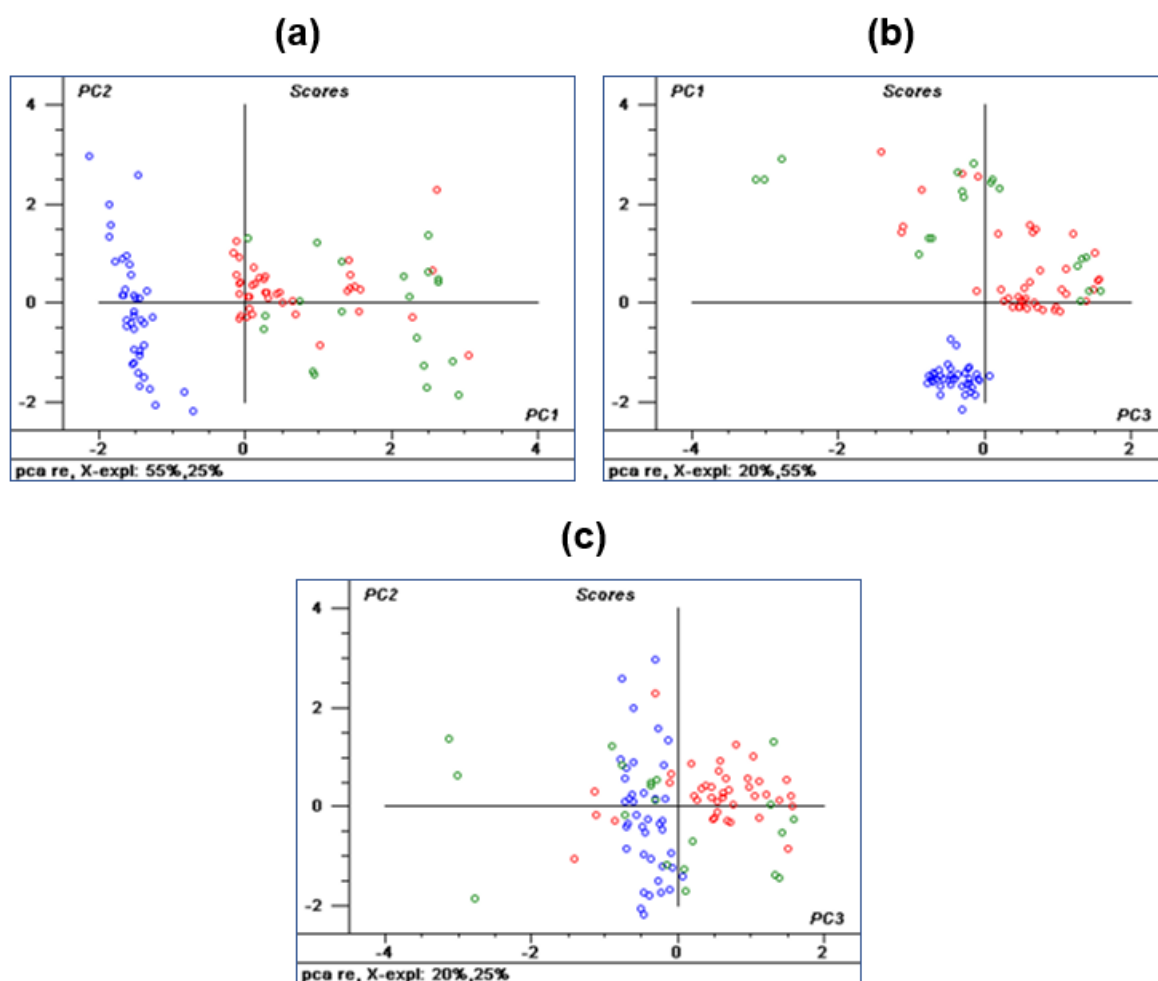


Figura 4.1: Gráfico de escores obtidos pela PCA aplicada aos parâmetros avaliados de todas as classes, isto é, classe A - italiana, classe U - uruçú e classe J - jandaíra: (a) PC1 versus PC2; (b) PC1 versus PC3 e (c) PC2 versus PC3.

Ao observar esse gráfico de escores, é possível destacar a separação da classe A, formando um agrupamento distinto (**Fig. 4.1 a**), em relação as demais classes. Essa discriminação pode ser explicada pelos resultados discrepantes para os parâmetros avaliados, com destaque para o teor de umidade e o valor de BRIX, os quais apresentam, respectivamente, valores mais baixos ($< 20\text{g}/100\text{g}$) e mais elevados ($> 78\text{g}/100\text{g}$) para a espécie italiana.

A PC1 explica a máxima quantidade de variância possível na direção de maior espalhamento dos dados. Neste caso, PC1, PC2 e PC3 apresentam, respectivamente, variância explicada de 55%, 25% e 20%, conforme ilustra a **Figura 4.2**:

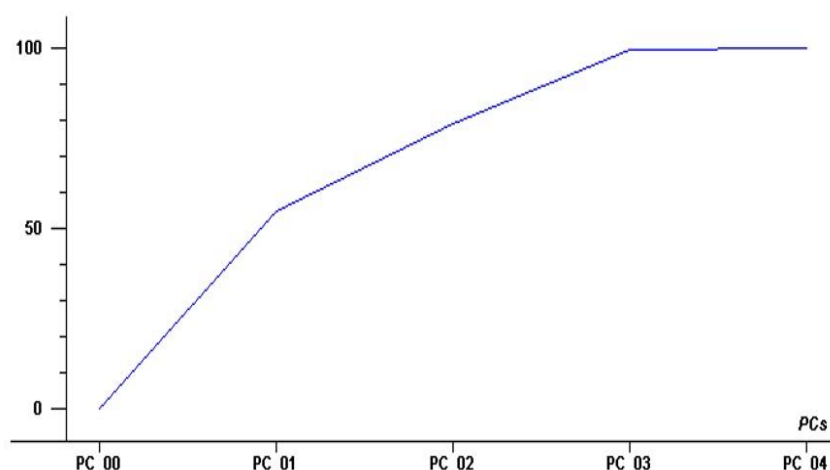


Figura 4.2: Gráfico da proporção de **variância explicada acumulada** por cada componente principal (PC).

É possível inferir através dessa ferramenta quimiométrica de diagnóstico que as duas primeiras PCs são as mais importantes, condensando graficamente 80% da informação multivariada, que pode ser extraída a partir dos dados analíticos. Como a matriz de dados está bem condicionada toda a variância dos dados são explicadas nas 3 primeiras PCs.

A **Figura 4.3** corresponde ao gráfico de pesos (*loadings*), o qual auxilia na avaliação da contribuição de cada variável, porque uma variável com um grande peso indica sua contribuição significativa para uma PC (FERREIRA, 2016).

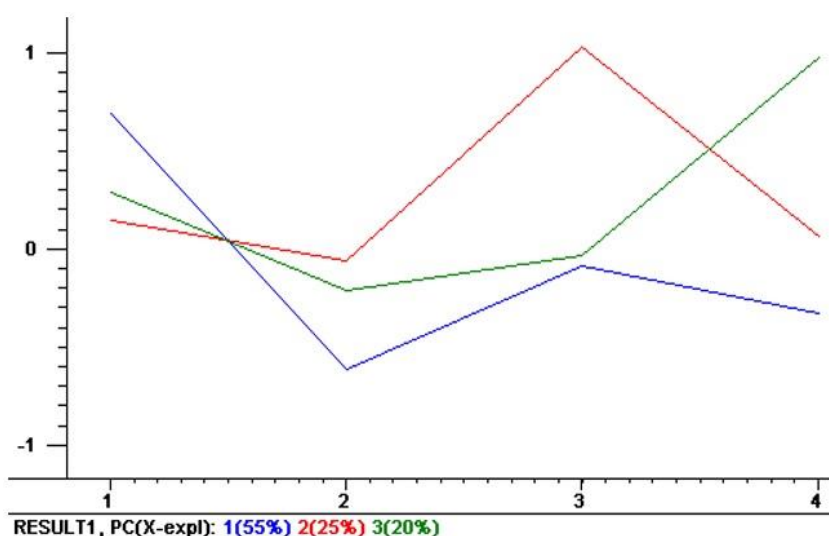


Figura 4.3: Gráfico dos pesos das variáveis dos parâmetros avaliados para as três primeiras PCs. Variáveis: 1- umidade; 2- ° BRIX; 3-A.R; 4-pH.

O gráfico de escores e de pesos indicam porque as amostras foram agrupadas da maneira como estão dispostas na **Figura 4.1**. Desse modo, como mencionado anteriormente, os parâmetros umidade e BRIX, que estão correlacionados, são os que mais contribuem para PC1

(Figura 4.1a). Conforme observa-se na Figura 4.3, é importante destacar que as variáveis mais importantes são aquelas que apresentaram os maiores pesos positivos ou negativos para PC1, com 55% da variância explicada, enquanto as menos importantes ou representativas estão mais próximas da origem, em relação aos eixos.

A Figura 4.4 corrobora com esses resultados ao evidenciar que a correlação entre BRIX e teor de umidade permite a formação de um agrupamento para a classe A. Verifica-se a discriminação desta com as demais classes (Fig. 4.4a, b), afinal as variáveis mais representativas são umidade e BRIX.

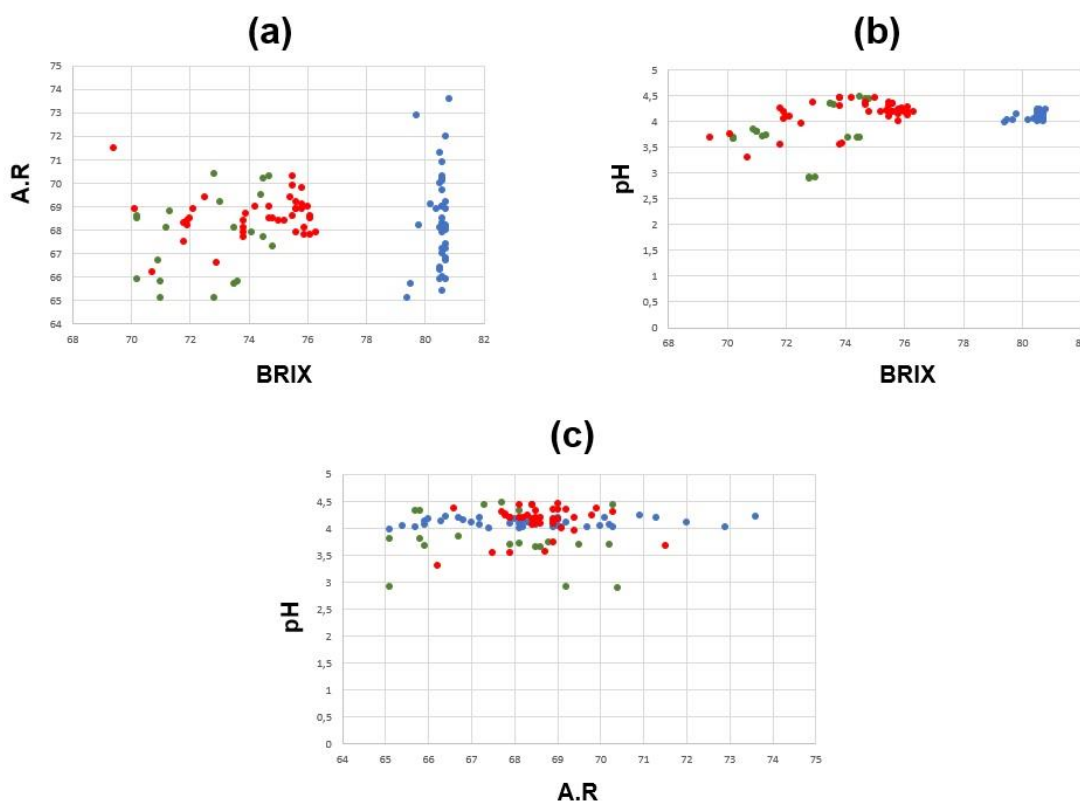


Figura 4.4: Gráfico dos seguintes parâmetros avaliados de todas as classes, isto é, classe A - italiana, classe U - urucu e classe J - jandaíra: (a) A.R. versus BRIX; (b) pH versus BRIX; (c) pH versus A.R.

Nos próximos subtópicos, os resultados para o PDI com a análise multivariada são apresentados.

4.2 Discriminação com a aplicação de imagens digitais

4.2.1 Histogramas

Os histogramas de cor são gráficos que representam a distribuição de frequência dos níveis de cores presentes na imagem digital (AHMADI, MANI-VARNOSFADERANI,

HABIBI; 2018). A **Figura 4.5** apresenta os histogramas, por classe, das 100 amostras de méis analisadas. Essas representações gráficas foram obtidas para dois modelos de cores: RGB (*red, green, blue*) e HLS (*hue, lightness, saturation*).

Em geral, as componentes de cor podem conter 256 variáveis por canal. Segundo Diniz (2013), Milanez (2013) e Gonçalves (2015), as variáveis das amostras com frequências iguais a zero nos histogramas devem ser removidas para o estudo classificatório, pois, eles representam variáveis não informativas. Desse modo, a **Figura 4.5** apresenta os histogramas de todas as amostras após esse tratamento quimiométrico, que permite um aumento na distinção entre as classes.

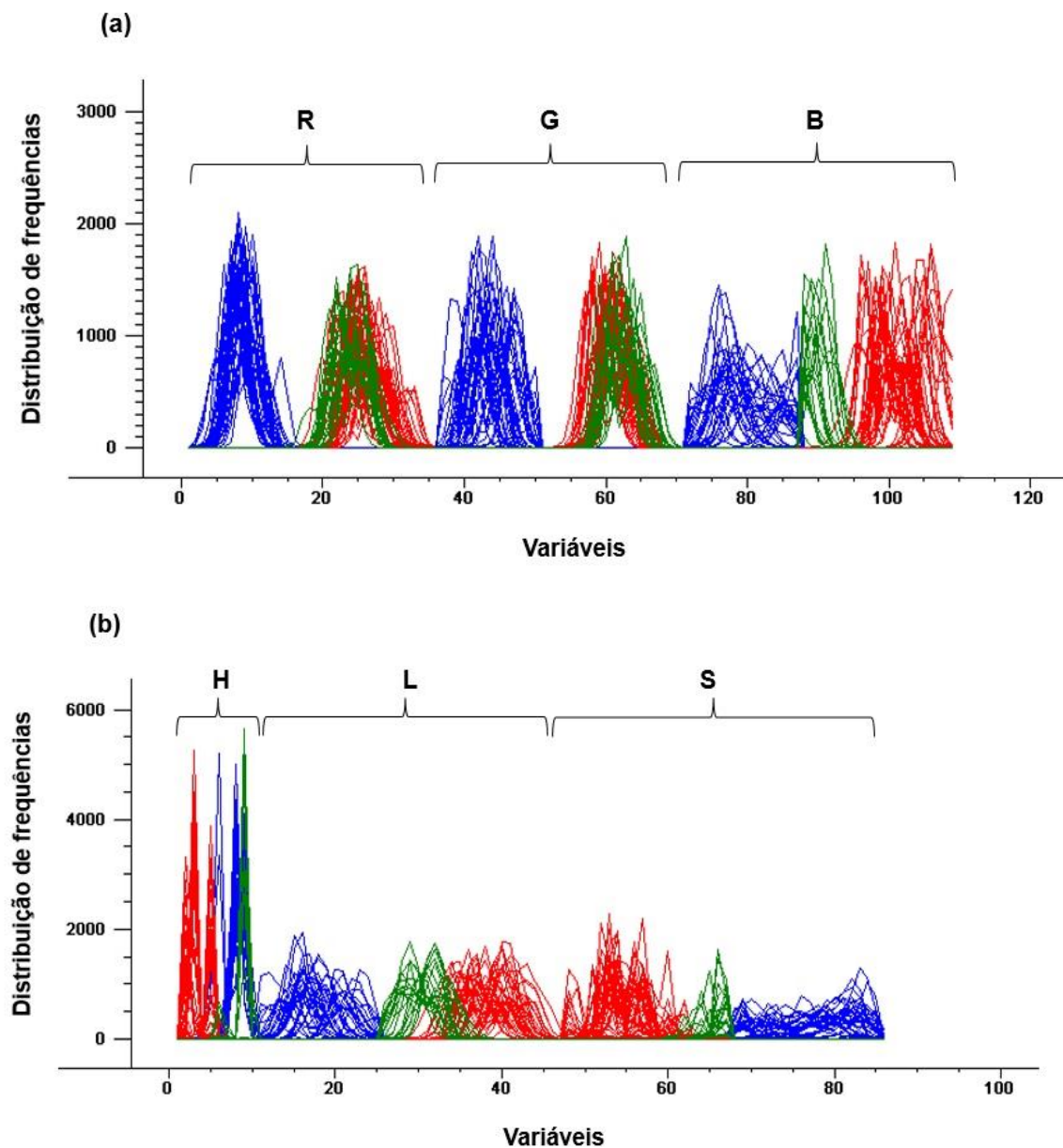


Figura 4.5: Histogramas sem as variáveis não informativas para todas classes (*classe A - italiana*, *classe U - uruçú* e *classe J - jandaíra*) nos canais: (a) R (*red*), G (*green*), B (*blue*) e (b) H (*hue*), L (*lightness*) e S (*saturation*).

Ao analisarmos a **Figura 4.5**, é interessante notar que no sistema RGB houve uma maior discriminação no canal B, que representa justamente a cor complementar do amarelo no mel. Isso explica a melhor separação entre as classes no canal B, o qual é justamente aquele cuja visão humana apresentar menor sensibilidade. Mais uma vez fica evidente que não podemos utilizar apenas a percepção humana para discriminar tais amostras. Sob esse viés, faz necessário a utilização de uma visão computacional (VC), a qual é objetiva, inflexível (não emotiva) e algorítmica. Todas essas qualidades são encontradas em PDI. Utilizando também o sistema RGB, Barbedo (2013) evidencia a importância desse espaço de cores na agricultura ao revisar métodos baseados em PDI para detectar, quantificar e classificar doenças de plantas.

Por outro lado, no sistema HLS (**Figura 4.5b**), há perfis discriminatórios, a priori, na frequência para praticamente todos os componentes de cor. O canal L, no sistema HLS, também apresentou boa distinção. Tsai e Tseng (2012) propuseram um novo método de detecção de cor baseado no espaço de cores HLS usando um algoritmo para discriminação de histogramas gerados em robótica.

A **Figura 4.6** mostra os histogramas médios - com a remoção de variáveis não informativas - obtidos a partir de dez escaneamentos para cada amostra. No total, 3000 imagens foram analisadas. É perceptível a diferença entre as representações gráficas médias das três classes, como, por exemplo, nos canais B, L e S. Todavia, observa-se também a similaridade entre o mel das ASF nos canais R e G. Por esses dados, é possível inferir que a classe A, como previsto, apresenta maior distinção para a maioria dos canais, como R, G, B e S.

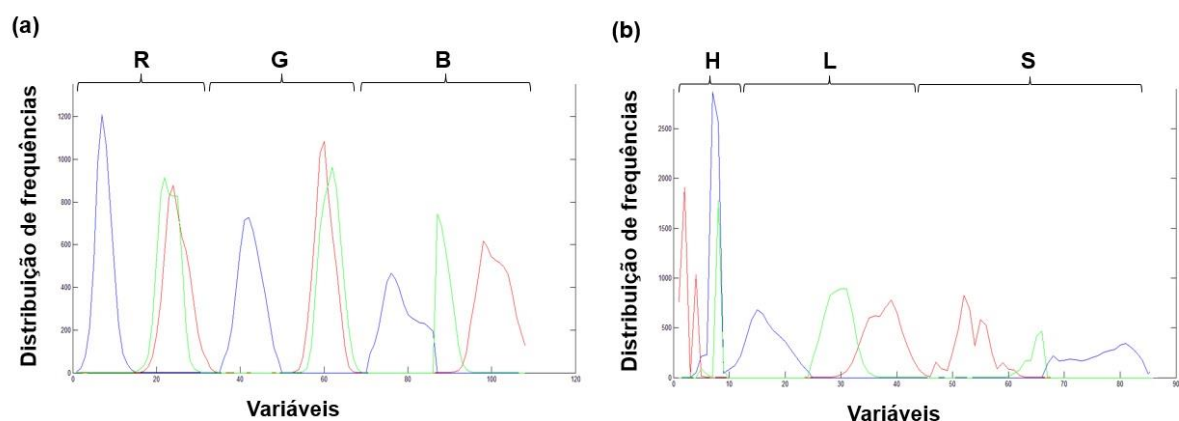


Figura 4.6: Histogramas médio de todas as amostras de mel (classe A - italiana, classe U - uruçu e classe J - jandaíra) nos canais: (a) R (red), G (green), B (blue) e (b) H (hue), L (lightness) e S (saturation).

Esses resultados estimulam o futuro desenvolvimento de um sensor portátil e versátil baseado nesses canais para a discriminação de amostras futuras. Seol e outros pesquisadores

(2019) obtiveram êxito na construção de um sensor colorimétrico na discriminação de ftalatos. Por sua vez, Giraudo e colegas (2018) foram capazes de identificar avelãs defeituosas usando um método automatizado em PDI e Quimiometria. Nos últimos dois anos, um microscópio multiespectral (YINXU *et al.*, 2018), um sensor cromático (CHIAPPINI *et al.*, 2019) e um espectrofotômetro de baixo custo (HESPANHOL; PASQUINI; MALDANER, 2019) são outros exemplos de instrumentos portáteis desenvolvidos, os quais estão alinhados à sustentabilidade. Yáñez-Sedeño, Campuzano e Pingarrón (2019) elencaram, em um trabalho de revisão, diferentes sensores eletroquímicos desenvolvidos em Química Analítica verde.

Recentemente, alguns autores propõem a normatização dos padrões físico-químicos para o mel de abelhas nativas ao nível internacional (ÁVILA *et al.*, 2018) como feito pelo governo da Malásia. No entanto, muitas das técnicas listadas, como pH e A.R, não conseguem, a priori, discriminar a variabilidade desse produto entre as ASFs. Esperamos que o resultado exitoso obtido puramente pelo estudo de PDI possa ser útil como ferramenta analítica “verde” para tal discriminação. Afinal, a metodologia proposta é de baixo custo, simples, rápida e não destrutiva.

4.2.2 Análise de Componentes Principais (PCA)

Embora já tenhamos conseguido discriminar as amostras de mel nesta pesquisa ao estudar os histogramas, a análise de componentes principais (PCA) é uma técnica utilizada para extração das informações mais importantes, reduzindo assim o conjunto de dados e simplificando a descrição da matriz de dados (SILVA *et al.*, 2019). Como a PCA permite um estudo exploratório por meio da redução na dimensionalidade - formação de componentes principais (PC) - de atributos (FERREIRA; 2016), aplicou-se a PCA, individualmente, no domínio de todos os sistemas (RGB e HLS).

A **Figuras 4.7** ilustra os gráficos de escores obtidos pela PCA aplicada aos histogramas de todas as classes (**A** - italiana, **U** - uruçú e **J** - jandaíra): (a) PC1 *versus* PC2, (b) PC1 *versus* PC3 e (c) PC2 *versus* PC3 para o sistema RGB.

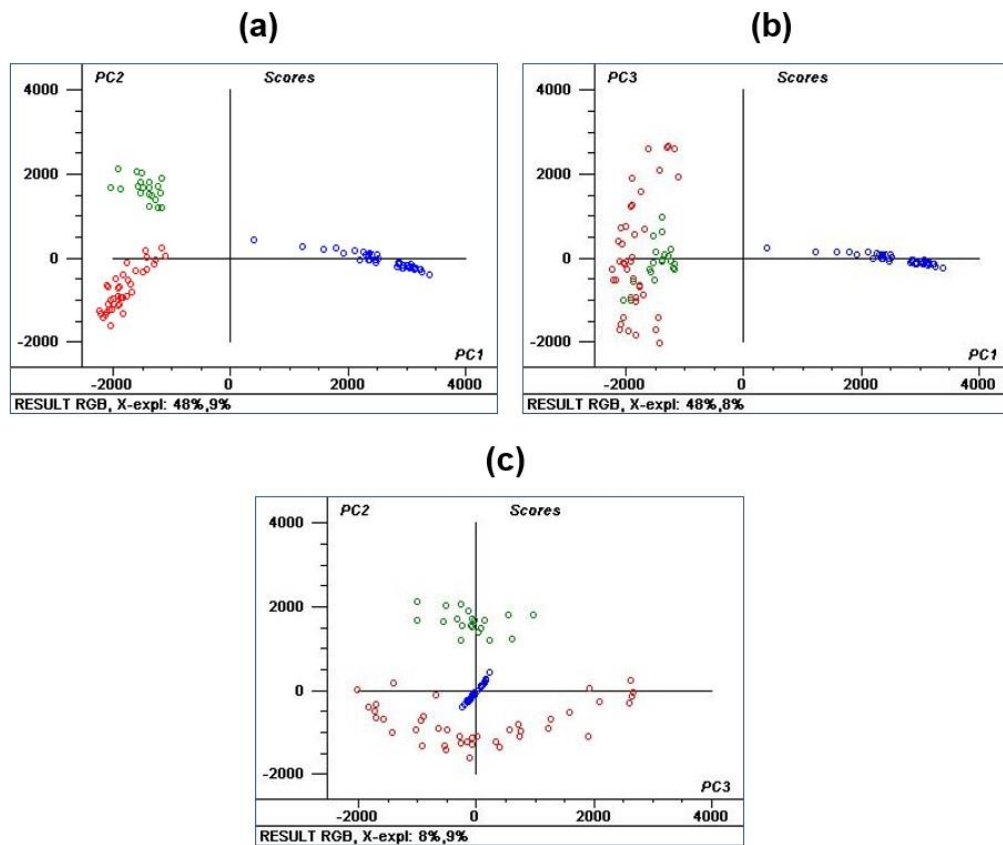


Figura 4.7: Gráfico de escores obtidos pela PCA aplicada aos histogramas de todas as classes (A - italiana, U - uruçu e J - jandaíra): (a) PC1 versus PC2, (b) PC1 versus PC3 e (c) PC2 versus PC3 para o sistema RGB.

Em suma, é possível observar uma tendência de separação entre as amostras, sem a sobreposição entre elas, no gráfico PC1 versus PC2 para o sistema RGB (**Fig. 4.7a**). Esses resultados obtidos para PCA no sistema RGB corroboram com o previsto na **Figura 4.5**, a qual evidenciou uma boa discriminação para todas as classes. As PC1, PC2 e PC3 descrevem quantidades decrescente da variância. Elas apresentam, respectivamente, variância explicada de 48%, 9% e 8%, conforme ilustra a **Figura 4.8**:

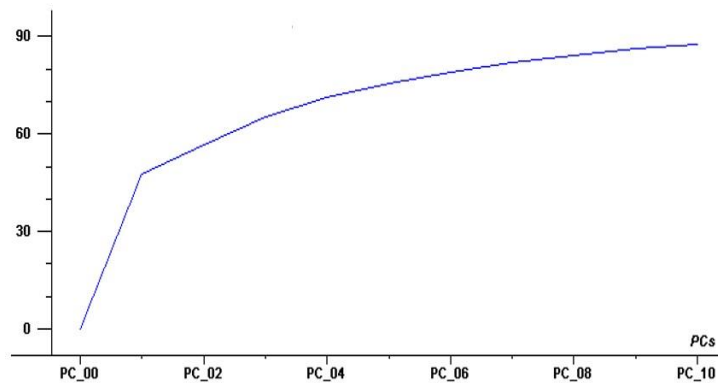


Figura 4.8: Gráfico da proporção de **variância explicada acumulada** por cada componente principal (PC) – Sistema RGB.

Dessa forma, 65% da informação original do conjunto de dados é descrita ao considerarmos apenas as três primeiras PCs.

A **Figura 4.9** corresponde ao gráfico de pesos:

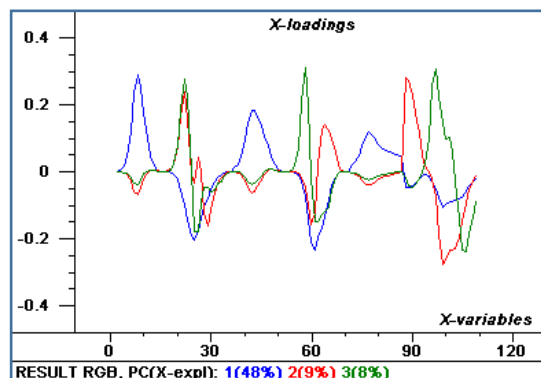


Figura 4.9: Gráfico dos pesos das variáveis para as três primeiras PCs no sistema RGB.

Analisando a **Figura 4.9**, nota-se que para PC1, com 48% da variância explicada, é possível observar quais variáveis mais influenciam nesta separação entre as classes. O canal B apresentou a melhor discriminação, o qual representa a cor complementar para o amarelo.

A **Figuras 4.10** ilustra os gráficos de escores obtidos pela PCA aplicada aos histogramas de todas as classes (**A** - italiana, **U** - uruçú e **J** - jandaíra): (a) PC1 versus PC2, (b) PC1 versus PC3 e (c) PC2 versus PC3 para o sistema HLS.

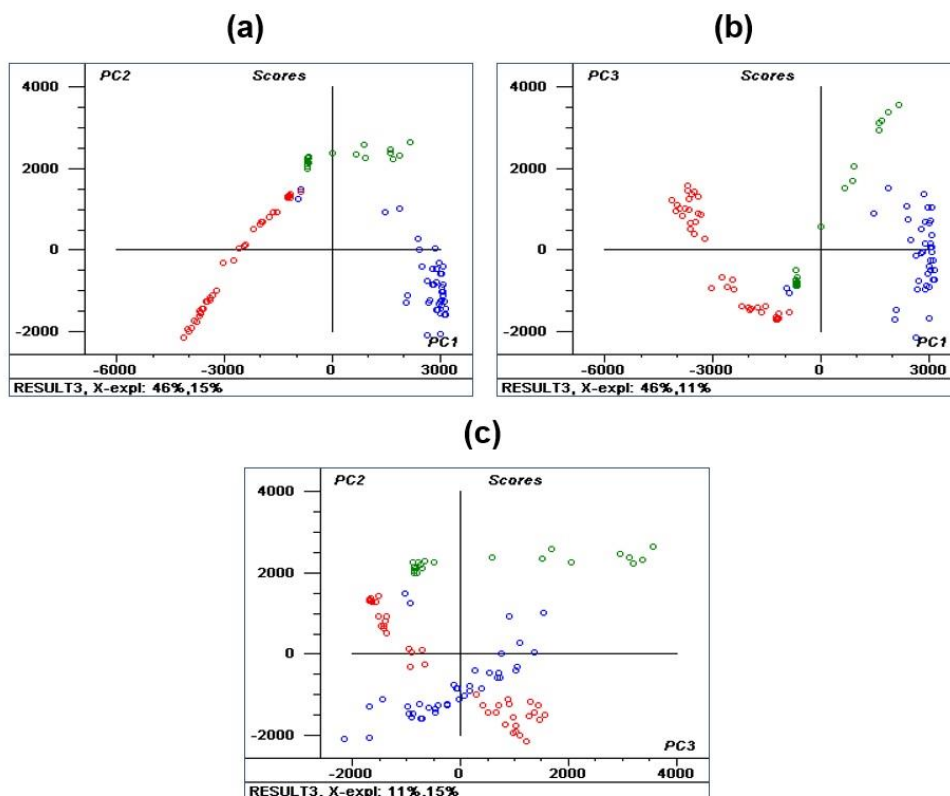


Figura 4.10: Gráfico de escores obtidos pela PCA aplicada aos histogramas de todas as classes (**A** - italiana, **U** - uruçú e **J** - jandaíra): (a) PC1 versus PC2, (b) PC1 versus PC3 e (c) PC2 versus PC3 para o sistema HLS.

Observa-se certa sobreposição entre as classes A e U no sistema HLS (**Fig. 4.10a**), todavia pode-se inferir que a classe A (cor azul) apresenta a maior distinção, conforme pode ser observado na **Figura 4.8**. Esse resultado era esperado devido às diferenças desse mel na cor e na umidade com as demais classes, a saber, U e J.

Neste caso, as PC1, PC2 e PC3 apresentam, respectivamente, variância explicada de 46%, 15% e 11%, conforme ilustra a **Figura 4.11**:

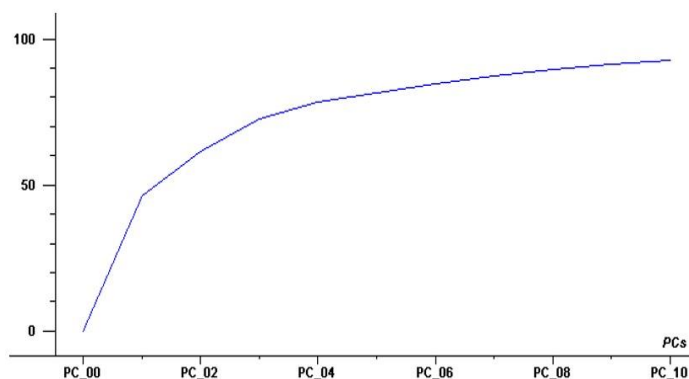


Figura 4.11: Gráfico da proporção de **variância explicada acumulada** por cada componente principal (PC) – Sistema HLS.

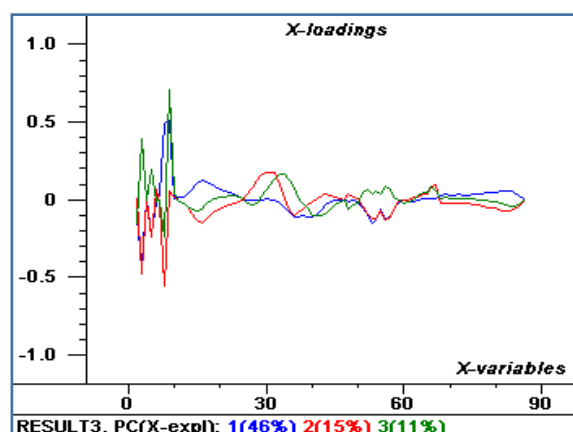


Figura 4.12: Gráfico dos pesos das variáveis para as três primeiras PCs no sistema HLS.

Analisando a **Figura 4.12**, nota-se que as variáveis com valores mais positivos ou negativos apresentam maior representatividade para as três primeiras PCs. Em ambos os modelos, através da PCA, foi possível detectar padrão de amostras (agrupamentos) para as três classes no gráfico PC1 *versus* PC2 (**Fig. 4.7a**; **Fig. 4.9a**). Essa discriminação foi causada pelas frequências características de cada histograma nos canais de cores avaliados. Nesta pesquisa, nota-se que a simples análise dos histogramas já permite a diferenciação dessas amostras, todavia optou-se também por realizar a PCA desses resultados para maximizar a variância e reduzir a dimensionalidade dos dados multivariados. Desse modo, pode-se concluir que essas diferenças discriminantes são modeladas pelos descritores selecionados em relação às três PCs

mais significativas de cada sistema. Em pesquisa recente, Almaleeh, Adom e Zakaria (2018) conseguiram discriminar três tipos diferentes de mel na Malásia usando PCA.

Em geral, o gráfico dos escores é uma ferramenta de diagnóstico das amostras, pois, segundo Silva e colegas (2019) ele permite entender o comportamento na distribuição das amostras nas componentes principais. Conforme observado nas **Figuras 4.7 e 4.10**, as amostras tendem a se agrupar, ocupando a mesma região, por classe, no espaço projetado. Segundo Lyra e colegas (2010), embora essa técnica não supervisionada não seja uma técnica de classificação, ela é útil no reconhecimento de padrões. Nesta pesquisa, o resultado da PCA, em geral, mostrou-se consistente com o de PDI.

Dessa forma, a aplicação de PDI combinada com a Quimiometria pode trazer grande economia no armazenamento dados, como já havia sido relatado por Santo (2012). Além disso, obteve-se, de maneira rápida e simples, a discriminação do mel das espécies italiana, uruguai e jandaíra por meio do reconhecimento de padrões, a qual não foi possível usando apenas os parâmetros físico-químicos avaliados. É importante destacar que na visão computacional, diferente da percepção visual, tem-se uma técnica objetiva, inflexível e algorítmica. A observação dos resultados decorrentes da aplicação da PCA aos histogramas no sistema RGB pode ser considerada uma linha de investigação utilizada por órgãos de controle de qualidade, cujos resultados poderão, juntamente com outros parâmetros, certificar e quantificar o mel de ASF. Esses resultados também são úteis para servir como banco de dados em pesquisas futuras e para demonstrar a aplicação de ferramentas não-destrutivas e alinhadas com princípios da Química Verde (ANASTAS; WARNER, 1998; IVANKOVIC *et al.*, 2017), como, por exemplo, a prevenção (1º princípio).

Diante do exposto, embora a PCA - técnica não supervisionada - ao fazer um estudo exploratório evidencie a discriminação das diferentes classes de mel, pode-se também efetuar a construção de modelos baseados no KNN, PLS-DA e SIMCA - técnicas supervisionadas - para a classificação de amostras futuras.

Capítulo 5

**CONCLUSÕES E
PERSPECTIVAS**

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Nesta pesquisa, todas as amostras de mel, coletadas diretamente dos apiários e dos meliponários, foram analisadas em quatro parâmetros: pH, teor de umidade, de sólidos solúveis e açúcares redutores (A.R). Quanto ao pH, os valores médios para a classe A foi de $4,10 \pm 0,07$, para a classe U, de $4,13 \pm 0,27$ e para a classe J, de $3,80 \pm 0,49$. Como previsto, o mel é naturalmente ácido e esses resultados indicaram que a classe J apresentou o menor valor médio de pH, enquanto a U, o maior valor. Quanto ao teor de umidade, os valores médios para as classes U ($24,4 \pm 1,9\%$) e J ($26,3 \pm 1,6\%$) foram superiores ao da classe A ($18,1 \pm 0,4\%$). É importante destacar que esse maior teor de umidade se traduz em um maior potencial de fermentação, resultando na redução do tempo de vida útil do produto, além de influenciar no sabor menos doce e na maior fluidez. Em especial, tais dados reiteram a necessidade de um padrão exclusivo de qualidade para o mel das abelhas nativas no Brasil e corroboram com os padrões de qualidade estabelecidos pelo Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Agrícola da Malásia. É de suma importância uma legislação nacional com os dados atualmente disponíveis.

Quanto ao teor de sólidos solúveis, os valores para as amostras de italiana, de urucu-nordestina e de jandaíra foram, respectivamente, $80,5 \pm 0,3\%$, $74,2 \pm 1,9\%$ e $72,6 \pm 1,7\%$. O maior teor de sólidos solúveis para a classe A pode influenciar no aumento do tempo de vida útil do produto. Quanto aos valores médios de A.R, a classe A apresentou resultados de $68,4 \pm 2,0\%$, a classe U, de $68,6 \pm 0,9\%$ e a classe J, de $67,7 \pm 1,7\%$. Neste trabalho, esses percentuais indicam que as espécies italiana e urucu-nordestina apresentaram valores superiores ao da jandaíra. O teor de A.R pode ser relacionado com a tempo de maturação, pois, méis com valores mais baixos de frutose e glicose podem indicar que a enzima invertase ainda não converteu maior quantidade de sacarose nesses monossacarídeos. Obviamente, outros fatores também podem ser relacionados, como a diversidade metabólica das abelhas, isto é, como esses insetos produzem esse mel, o que pode variar dependendo da espécie.

Quimiometricamente, o estudo exploratório dos dados com base na aplicação da análise de componentes principais (PCA) a esses parâmetros mostrou que há formação de agrupamentos para a classe A, enquanto isso não foi possível para as nativas.

A obtenção dos histogramas de cor permitiu a avaliação para os sistemas RGB e HLS em todas as amostras para discriminação do mel quanto ao tipo de espécie. É possível verificar que em ambos modelos há perfis discriminatórios. Em concordância com os princípios da Química Verde (QV), a metodologia proposta - PDI - é rápida, simples e de baixo custo, não fazendo uso de reagentes. Os resultados obtidos mostraram que o PDI é uma poderosa

ferramenta na busca de técnicas analíticas mais sustentáveis. O estudo exploratório dos histogramas de cor, aplicando PCA, revelou que o sistema RGB apresentou melhores resultados que o HLS, devido a uma maior discriminação das amostras quanto ao tipo de mel. O fato de se ter uma discriminação satisfatória é uma forte indicação do sucesso da metodologia empregada.

Embora os resultados alcançados tenham sido obtidos satisfatórios, é imprescindível que novos estudos sejam realizados, sendo esses interligados a novas metodologias verdes e de baixo custo, não esquecendo que a consolidação dessa visão auxilia na preparação de profissionais críticos e amigos do meio ambiente.

5.1 Perspectivas

Embora resultados satisfatórios de classificação e nos parâmetros avaliados tenham sido obtidos, como propostas para trabalhos futuros sugerimos:

- Realizar o estudo de outros parâmetros de qualidade previstos nas legislações nacional e internacional como cinzas, condutividade elétrica, sólidos insolúveis, acidez livre, atividade diastásica, conteúdo de HMF e sacarose aparente, ampliando também a metodologia aplicada para um número maior de amostras e de espécies de abelhas;
- Realizar análises espectroscópicas, acompanhando e relacionando as transformações moleculares às mudanças de coloração do mel.
- Desenvolver um dispositivo de baixo custo que permita a aquisição e a análise dos histogramas de cor de diferentes amostras de mel *in situ*.
- Ampliar a metodologia proposta nesta pesquisa para novas amostras de mel de diferentes espécies, em especial, as abelhas nativas;
- Realizar o estudo para amostras adulteradas com xarope de milho e também misturando-as entre si para possível discriminação empregando PDI.

REFERÊNCIAS

- ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15714-2: Determinação da umidade pelo método refratométrico**. Rio de Janeiro, p.1. 2009.
- ABNTa - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15714-6: Determinação do pH, acidez livre, lactônica e total**. Rio de Janeiro, p.1. 2016.
- ABNTb - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15714-10: Determinação de açúcares redutores e sacarose aparente**. Rio de Janeiro, p.1. 2016.
- ABEMEL - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EXPORTADORES DE MEL. Setor Apícola Brasileiro em Números, 2018. Disponível em: <https://www.brazilletsbee.com.br/INTELIG%C3%8ANCIA%20COMERCIAL%20ABEMEL%20-%20JANEIRO2018.pdf> Acesso em: 16/07/2019.
- ABDULRHMAN, M. *et al.* Honey and type 1 diabetes mellitus. InTech: Madrid, In: Liu (Editor) Type 1 Diabetes – Complications, Pathogenesis, and Alternative Treatments, 2011.
- AHMADI, S.; MANI-VARNOSFADERANI, A.; HABIBI, B. Motor Oil Classification using color histograms and pattern recognition techniques. **Journal of AOAC International**, v. 101, n. 6, p. 1967-1976, 2018.
- AHMED, S.; OTHMAN, N.H.; Honey as a potential natural anticancer agent: A review of its mechanisms. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013.
- AL-FARSI, M. *et al.* Quality evaluation of Omani honey, **Food Chemistry**, 262, p. 162–167, 2018.
- AL-GHAMDI, A. *et al.* Comparison of physicochemical properties and effects of heating regimes on stored *Apis mellifera* and *Apis florea* honey. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 4, p. 845-848, 2019.
- ALMALEE, A. A.; ADOM, A. H.; ZAKARIA, A.; Development of Rapid and Accurate Method to Classify Malaysian Honey Samples using UV and Colour Image, **International Journal of Technology**, v. 8, n.3, p. 92-97, 2018.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M. *et al.*; *Apis mellifera* vs *Melipona beecheii* Cuban polyfloral honeys: A comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties. **LWT**, v. 87, n. 1, p. 272-279, 2018.
- ALVES, R. M. O. *et al.* Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 644-650, 2005.
- ALVES, A. I *et al.* Análise de componentes principais aplicada à ciência de alimentos: estudo de caso com pequi. **Revista UNIVAP**, v. 22, n. 40, p. 292, 2016.
- ANASTAS, P.T.; WARNER, J. C. Green chemistry: theory and practice. New York: Oxford University Press, 1998.

ANASTAS, P.T.; EGHBALI, N. Green chemistry: principles and practice. **Chemical Society Reviews**, v. 39, p. 301-312. 2010.

ANDREEVA, I. Global Honey Market Reached 6,653M USD in 2017. Disponível em: <https://www.indexbox.io/blog/global-honey-market-reached-6,7-million-usd-in-2015/> Acesso em: 21/12/2018.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, São Paulo, v. 66, n. 1, 2007. Disponível em <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552007000100001&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em: 26/07/2019.

APACAME – ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE APICULTORES CRIADORES DE ABELHAS. História da Apicultura. Disponível em: <http://apacame.org.br/site/abelhas> Acesso em: 16/07/2019.

ARIVAZHAGAN, S. *et al.* Human action recognition from RGB-D data using complete local binary pattern. **Cognitive Systems Research**, v. 58, p. 94-104, 2019.

AOACa - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th. ed. Arlington: A.O.A.C., (method 969.38 B), chapter 44. p.20, 1995.

AOACb - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis of AOAC International (method 958.06). Arlington: A.O.A.C, chapter 39, p. 21, 1995.

ATTIA, W. Y. *et al.* The anti-tumor effect of bee honey in Ehrlich as cite tumor model of mice is coincided with stimulation of the immune cells. **Egyptian Journal of Immunology**, v. 15, p. 169–183, 2008.

ÁVILA, S. *et al.*; Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 37–50, 2018.

ÁVILA, S. *et al.*; Bioactive compounds and biological properties of Brazilian stingless bee honey have a strong relationship with the pollen floral origin. **Food Research International**, v. 123, p. 1–10, 2019.

BARBEDO, J. G. A. Digital image processing techniques for detecting, quantifying and classifying plant diseases. **SpringerPlus**, v.2, n. 1, p.660, 2013.

BATISTA, L. V. Introdução ao Processamento Digital de Imagens, 2005. Disponível em: <http://www.di.ufpb.br/leonardo/pdi/PDI2005.pdf> Acesso em: 29/07/2019.

BERA, A.; Composição físico-química e nutricional do mel adicionado com própolis, 2004. 56 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: http://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Mel-completo-IN-11_2000.pdf . Acesso em: 16/07/2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília: MAPA, 2017.

BRASIL. Laboratório de Automação e Instrumentação em Química Analítica e Quimiometria (LAQA), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), 2019. Disponível em: <http://www.laqa.quimica.ufpb.br/index.php>. Acesso em: 31/05/2019

BOGO, S.; SANTIN, N. C.; FRIGHETTO, M. Avaliação das Características Físico-Químicas do Mel Comercializado nos Municípios de Fraiburgo e Videira, SC **Unoesc & Ciência - ACBS** Joaçaba, v. 8, n. 2, p. 109-116, 2017.

CAMARGO, R. C. R. *et al.*; Mel: Características e Propriedades, 1ª edição, Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2006.

CAMARGO, S. C. *et al.* Abelha rainha *Apis mellifera* e a produtividade da colônia. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, n. 4, p. 213-220, 2015.

CAMARGO, R. C. R.; OLIVEIRA, K. L.; BERTO, M. I. Mel de abelhas sem ferrão: proposta de regulamentação. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. 12, 2017.

CAMPOS, F. S.; GOIS, G.C.; CARNEIRO, G. G. Parâmetros Físico-químicos do Mel de Abelhas *Melipona scutellaris* produzido no Estado da Paraíba, **FAZU em Revista**, n.7, p. 186 - 190, 2010.

CANO, C. B.; FELSNER, M. L.; BRUNS, R. E. Precisão dos métodos refratométricos para análise de umidade em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 328-332, 2007.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos, 2ª edição, Campinas: Editora da Unicamp, 2015.

CENGIZ, M. M.; TOSUN, M.; TOPA, M. Determination of the physicochemical properties and ¹³C/¹²C isotope ratios of some honeys from the northeast Anatolia region of Turkey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 69, n.2 p. 39-44, 2018.

CHATAWAY, H. D. Determination of moisture in honey. **Canadian Journal of Research**, v. 6, n. 5, p. 532-547, 1932.

CHIAPPINI, A. *et al.* Colloidal crystals based portable chromatic sensor for butanol isomers and water mixtures detection. **Optical Materials**, v. 90, p. 152-158, 2019.

CRANE, E. Recent research on the world history of beekeeping. **Bee World**, v. 80, n. 4, p. 174-186, 1999.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Alimentarius Committee on Sugars. Revised codex standard for honey. Rev. 2 [2001]. p. 1-7, 2001

COSTA, F. S. L. *et al.* Multivariate Control Charts for Simultaneous Quality Monitoring of Isoniazid and Rifampicin in a Pharmaceutical Formulation Using a Portable Near Infrared Spectrometer. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 1, p. 64-73, 2015.

COSTA, A. C. V. *et al.* Sensory and volatile profiles of monofloral honeys produced by native stingless bees of the Brazilian semiarid region. **Food Research International**, v. 105, p. 110–120, 2018.

CIE - COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE. Uniform Color Spaces - Color Difference Equations - Psychometric Color Terms, Commission Internationale de L'Eclairage, n.15, 1978.

DE OLIVEIRA COSTA, G. G. Análise multivariada de dados qualitativos de informação nutricional da concentração de frutas em produtos alimentícios: valores formais e valores reais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 2, 2014

DIAS, M. P. S. *et al.* Avaliação de parâmetros físico-químicos de mel de abelhas sem ferrão. Publicado por EMBRAPA, 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1037113/avaliacao-de-parametros-fisico-quimicos-de-mel-de-abelhas-sem-ferrao>. Acesso em: 25/07/2019.

DINIZ, P. H. G. D. *et al.*; Using a simple digital camera and SPA-LDA modeling to screen teas. **Analytical Methods**, v.4, p. 2648-2652, 2012.

DINIZ, P. H. G. D. Novas estratégias para classificação simultânea do tipo e origem geográfica de chás. 2013. 148 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

DIRAVIAM, A. J.; ANGEL, G.; RAJAPPAN, K.; A Novel Method in Detection of Food Adulteration in Selected Food Items using Digital Image Processing Technology with Digital Camera. **Asian Journal of Information Technology**, v. 16, n.6, p.374-382, 2017.

DOMINGUEZ, M. A. *et al.* Geographical origin classification of Argentinean honey using a digital image-based flow-batch system, **Microchemical Journal**, v. 112, p. 104-108, 2014.

DOMINGUEZ, M. A.; CENTURIÓN, M. E.; Application of digital images to determine color in honey samples from Argentina. **Microchemical Journal**, v.118, p.110-114, 2015.

DORNEMANN, G. M; Comparação de Métodos para Determinação de Açúcares Redutores e Não-redutores. 2016. 37f. Trabalho de diplomação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

ESTEVINHO, L. *et al.* Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey, **Food and Chemical Toxicology**. v. 46, n. 12, p. 3774–3779, 2008.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Why bees matter: The importance of bees and other pollinators for food and agriculture, 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/3/I9527EN/i9527en.PDF> Acesso em: 16/07/2019.

FERREIRA, M. M. C. Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações. 1ª edição, Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2016.

FERNANDES, R. T.; ROSA, I. G.; CONTI-SILVA, A. C.; Microbiological and physical-chemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. **Ciência Rural**, v. 48, n. 5, p.1-8, 2018.

FRAUSTO-REYES, C. *et al.* Spectroscopic study of honey from *Apis mellifera* from different regions in Mexico. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 178, n. 5, p. 212-217. 2017

FREITAS, V. A. M.; Estudos SAR e QSAR-2D de derivados de N-benzoil-2hidroxibenzamidas ativos contra *Plasmodium falciparum*, 2017. 84 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

GAZETA. *Mel de abelhas sem ferrão ganha mercado e vale 'preço de ouro'*. Disponível em: <https://www.gazetadopovo.com.br/agronegocio/pecuaria/outros/mel-de-abelhas-sem-ferrao-ganha-mercado-e-vale-preco-de-ouro-9y08ec43jffyyw8sjtebkooim/> Acesso em: 10/09/2019.

GAZETA. *Mel de abelhas sem ferrão é vendido por até R\$ 200 o quilo*, 2018. Disponível em: <https://www.gazetaonline.com.br/noticias/economia/2018/01/mel-de-abelhas-sem-ferrao-e-vendido-por-ate-r-200-o-quilo-1014116846.html> Acesso em: 10/09/2019.

GIRAUDO, A. *et al.* Development of an automated method for the identification of defective hazelnuts based on RGB image analysis and colourgrams. **Food Control**, v. 94, p. 233-240, 2018.

GODINHO, M. S. *et al.* Classificação de refrigerantes através de análise de imagens e análise de componentes principais (PCA). **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1485-1489, 2008.

GOIS, G. C. *et al.* Composição do mel de *Apis mellifera*: Requisitos de Qualidade. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.7, n.2, p.137-147, 2013.

GONÇALVES, M. I. S. Aplicações de imagens digitais e análise multivariada para classificação e determinação de parâmetros de qualidade em plumas de algodão, 2015. 110 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R.E.; Processamento digital de imagens, 3ª edição, São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2014.

GRANATTO, D. *et al.* Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. **Trends in Food Science & Technology**, v. 72, n.2, p. 83-90, 2018.

HESPANHOL, M. C.; PASQUINI, C.; MALDANER, A. O.; Evaluation of a low-cost portable near-infrared spectrophotometer for in situ cocaine profiling. **Talanta**, v. 200, p. 553-561, 2019.

HERRERO-LATORRE, C. et al. Detection and quantification of adulterations in aged wine using RGB digital images combined with multivariate chemometric techniques. **Food Chemistry: X**, v. 3, n.9, p. 2019.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, v.1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4 ed. São Paulo: IMESP, p. 330-343. 2008.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento / Maria Cecília de Lima e Sá de Alencar. 1ª edição Brasília: Ibama, 2012. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/livros/efeitosdosagrotoxicossobreabelhassilvestresnobrasil.pdf> Acesso em: 04/07/2019.

IHC - INTERNATIONAL HONEY COMMISSION. **Harmonised methods of the International Honey Commission**. Switzerland: IHC, p. 62, 2002.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 10, n. 4, p. 59-62, 2010.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M.; A abelha jandaíra: no passado, presente e no futuro/ Vera Lucia Imperatriz Fonseca, Dirk Koedam, Michael Hrnir (Editores) - Mossoró: Editora UFERSA, 2017.

INCRA - Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária. Família de assentados é referência na criação de abelhas sem ferrão na Paraíba. 2016. Disponível em: <http://www.incra.gov.br/noticias/familia-de-assentados-e-referencia-na-criacao-de-abelhas-sem-ferrao-na-paraiba> Acesso em: 16/07/2019.

IVANKOVIC *et al.*, Review of 12 Principles of Green Chemistry in Practice. **International Journal of Sustainable and Green Energy**, n. 6, v. 3, p. 39-48, 2017.

KHALIL, I. *et al.* Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. **Molecules**. v. 17, n. 9, p. 199–215, 2012.

LYRA, W. S. *et al.* Classificação periódica: um exemplo didático para ensinar análise de componentes principais. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1594-1597, 2010.

MALAYSIAN STANDARDS. Kelulut (Stingless Bee) Honey – Specification. Department of Standards Malaysia. MS, pp. 2683, 2017.

MANDAL, M.D.; MANDAL, S.; Honey: its medicinal property and antibacterial activity. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v.1, n.2, p.154–160, 2011.

- MEDEIROS, L. X. Reconhecimento facial utilizando análise de componentes principais e algoritmos genéticos em imagens segmentadas. 138 f. Tese (Doutorado em Ciência da Computação) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.
- MILANEZ, K. D. T. M. Classificação de óleos vegetais comestíveis usando imagens digitais e técnicas de reconhecimento de padrões. 2013. 102 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.
- MILHOMEM, F. O. *et al.* Análise de Componentes Principais aplicada à Flotação de Minério de Ferro. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, v. 15, n. 4, p. 429-433, 2018.
- MURESAN, C. I.; BUTTSTEDT, A.; pH-dependent stability of honey bee (*Apis mellifera*) major royal jelly proteins. **Scientific Reports**, v.9, n.9014, 2019.
- NASCIMENTO, K. S. *et al.* Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **LWT**, v. 91, n. 5, p. 85-94, 2018.
- NAWROCKA *et al.*; Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages. **Apidologie**, v. 49, n.2, p. 172-184, 2018.
- NESPOLO *et al.*, Práticas em tecnologia de alimentos, 1ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2015.
- NORDIN, A. *et al.*; Physicochemical properties of stingless bee honey from around the globe: A comprehensive review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 73, p. 91–102, 2018.
- OLIVEIRA, L. F. *et al.* Uso de Imagens Digitais e Análise de Componentes Principais na Identificação dos Níveis de Cr (VI) em Amostras de Solos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 2, p. 69-178, 2013.
- OLIVEIRA, R. A *et al.* Pré-Processamento e Classificação de Imagens Nir das Veias da Palma da Mão e Pulso Utilizando Análise por Componentes Principais. **Arithmós**, v. 1, n.1, p. 28-32, 2019.
- OROIAN *et al.*; Chemical composition and temperature influence on honey texture properties. **The Journal of Food Science and Technology**, n. 53, v.1, p. 431-440, 2016.
- PEDRO, S. R. M. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 348- 354, 2014.
- RAOA, P. V. *et al.* Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 657–664, 2016.
- RAZALI, M. T. A. *et al.* Classification of Raw Stingless Bee Honeys by Bee Species Origins Using the NMR- and LC-MS-Based Metabolomics Approach. **Molecules**, v. 23, p. 2-18, 2018.
- RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G.; Química de Alimentos, 2ª edição, São Paulo: Blucher, 2007.

ROLIM, M. B. Q. *et al.* Generalidades sobre o mel e parâmetros de qualidade no Brasil: revisão. **Medicina Veterinária** (UFRPE), v. 12, n.1, p. 73-81, 2018.

RODRIGUEZ, I. *et al.*; Spanish avocado (*Persea americana* Mill.) honey: Authentication based on its composition criteria, mineral content and sensory attributes. **LWT**, v. 111, n. 8, p. 561-57, 2019.

SAMEC, D. *et al.* Assessment of the differences in the physical, chemical and phytochemical properties of four strawberry cultivars using principal component analysis, **Food Chemistry**, v. 194, n. 3, p. 828-834, 2016.

SANT'ANA, R. S. Caracterização físico-química e microbiológica dos méis de *Melipona subnitida* e *Melipona fasciculata* do Estado do Piauí, 2017. 147 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2017.

SANTO, R. E. Utilização da Análise de Componentes Principais na compressão de imagens digitais. **Einstein (São Paulo)**, v. 10, n. 2, p. 135-139, 2012.

SANTOS, J. N.; GUSMÃO, M. S.; COELHO, C. J.; Reconhecimento de Congestionamento de Veículos em Semáforos Empregando Análise de Componentes Principais. **Arithmós**, v. 1, n.1, p. 54-60, 2019.

SANTOS, P. M.; WENTZELL, P. D.; PEREIRA FILHO, E. R. Scanner Digital Images Combined with Color Parameters: A Case Study to Detect Adulterations in Liquid Cow's Milk. **Food Analytical Methods**, v. 5, n.1 p. 89-95, 2012.

SAJID, M. *et al.*; Comparative study of physio-chemical analysis of fresh and branded honeys from Pakistan. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n.5, p. 101-106, 2019.

ŠKRBIĆ, B.; ĐURIŠIĆ-MLADENOVIĆ, N.; CVEJANOV, J.; Principal Component Analysis of Trace Elements in Serbian Wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 53, v. 6, p. 2171-2175, 2005.

SE, K. W. *et al.* A simple approach for rapid detection and quantification of adulterants in stingless bees (*Heterotrigona itama*) honey. **Food Research International**, v. 105 p. 453–460, 2018.

SEOL, D. *et al.* Discrimination of phthalate species using a simple phage-based colorimetric sensor in conjunction with hierarchical support vector machine. **Environmental Research**, v. 170, p. 238-242, 2019.

SILVA, R.N. *et al.* Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n.3, p. 337-341, 2003.

SILVA, R. A. *et al.* Composição e Propriedades Terapêuticas do Mel de Abelha. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.1, p.113-120, 2006.

SILVA, T. M. S. *et al.* Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 10-18, 2013.

SILVA, F. L. Identificação Automatizada de Espécies de Abelhas através de Imagens de Asas. 2015. 82 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia da Computação e Sistemas Digitais) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

SILVA, S. M. P. C. *et al.* Production and characterization of mead from the honey of *Melipona scutellaris* stingless bees. **Journal of the Institute of Brewing**, v.124, n.4, p. 94-200, 2018.

SILVA, P. R. B. *et al.* Classificação de Espécies de Pimentas Empregando Análise de Imagens Digitais e Componentes Principais. **Arithmós**, v. 1, n.1, p. 18-21, 2019.

SOUSA, R. A. Classificação de água de coco processada e natural por meio de HCA, PCA e teores de íons metálicos determinados por ICP OES, **Química Nova**, v. 29, n.4, p. 654-656, 2006.

SOUSA, J. M. B. *et al.*; Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p.645-651, 2016.

SOUTO, R. E. Utilização da Análise de Componentes Principais na compressão de imagens digitais. **Einstein**, v. 10, n. 2, p. 135-139, 2012.

SOUTO, U. T. *et al.*; Screening for Coffee Adulteration Using Digital Images and SPA-LDA. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 6, p. 1515-1521, 2015.

SOUZA, B.A. *et al.* Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae). **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1623-1624, 2004.

SOUZA, B. A. Caracterização físico-química e qualidade microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponinae) do Estado da Bahia, com ênfase em *Melipona Illiger*, 1806. 2008. 107 f. Tese (Doutorado em Entomologia), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SOUZA, B. A. *et al.* Caracterização do mel produzido por espécies de *Melipona Illiger*, 1806 (apidae: meliponini) da região nordeste do Brasil: 1. Características físico-químicas. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 303-308, 2009.

STAGOS, D. *et al.* Antibacterial and antioxidant activity of different types of honey derived from Mount Olympus in Greece. **International Journal of Molecular Medicine**, v.42, n.2, p. 726-734, 2018.

SOLOMON, C.; BRECKON, T.; Fundamentos de processamento digital de imagens: uma abordagem prática com exemplos em matlab. 1ª edição, Rio de Janeiro: LTC, 2016.

SZWEDA, P. Antimicrobial activity of honey. Honey Analysis. Arnaut de Toledo VA: InTech; Madrid: p. 215–232, 2017.

TSAI, S. H.; TSENG, Y. H.; A novel color detection method based on HSL color space for robotic soccer competition. **Computers and Mathematics with Applications**, v. 64, p. 1291–1300, 2012.

VIDAL, M. F. Produção de Mel na Área de Atuação do BNB entre 2011 e 2016. **Caderno Setorial ETENE**, n. 3, 2018. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/documents/80223/3183360/30_apicultura_04-2018.pdf/45478af7-ac21-e8a1-cc12-dcf58e5a454eAcesso em:16/07/2019.

VILAR, W. T. S. *et al.*; Classification of Individual Castor Seeds Using Digital Imaging and Multivariate Analysis, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n.1, p. 102-109, 2015.

VIT, P. *et al.* Sensory perception of tropical pot honeys by Spanish consumers, using free choice profile. **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, v.3, p. 174–180, 2011.

WU, L. *et al.* Recent advancements in detecting sugar-based adulterants in honey - A challenge. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 86, p. 25-38, 2017.

YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; CAMPUZANO, S.; PINGARRÓN, J.M. Electrochemical (bio)sensors: promising tools for green analytical chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 19, p. 1-7, 2019.

YINXU, B. *et al.*; Portable multi-spectral lens-less microscope with wavelength-self-calibrating imaging sensor. **Optics and Lasers in Engineering**, v. 111, p. 25-33, 2018.

ANEXOS

Anexo 1: Tabela dos locais onde as amostras de mel foram coletadas

Anexo 1: Descrição dos locais onde as amostras de mel foram coletadas.

Amostra	Espécie da abelha	Cidade de coleta
A1	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A2	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A3	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A4	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Passa e fica, RN
A5	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Passa e fica, RN
A6	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Passa e fica, RN
A7	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Passa e fica, RN
A8	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Passa e fica, RN
A9	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Passa e fica, RN
A10	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A11	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A12	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A13	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A14	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A15	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A16	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A17	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A18	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A19	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A20	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A21	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A22	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A23	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A24	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A25	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A26	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A27	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A28	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A29	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A30	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Macaíba, RN
A31	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB

A32	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A33	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A34	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A35	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A36	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A37	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A38	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A39	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
A40	<i>Apis mellifera ligustica</i>	Sousa, PB
J1	<i>Melipona subnitida</i>	Cabedelo, PB
J2	<i>Melipona subnitida</i>	Cabedelo, PB
J3	<i>Melipona subnitida</i>	Cabedelo, PB
J4	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J5	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J6	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J7	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J8	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J9	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J10	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J11	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J12	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J13	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J14	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J15	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J16	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J17	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J18	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J19	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
J20	<i>Melipona subnitida</i>	Itatuba, PB
U1	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U2	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U3	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB

U4	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U5	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U6	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U7	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U8	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U9	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U10	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U11	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U12	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U13	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U14	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U15	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U16	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U17	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U18	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U19	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U20	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U21	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U22	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U23	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U24	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U25	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U26	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U27	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U28	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U29	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U30	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U31	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U32	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U33	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U34	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB
U35	<i>Melipona scutellaris</i>	Cabedelo, PB

U36	<i>Melipona scutellaris</i>	Alagoa Nova, PB
U37	<i>Melipona scutellaris</i>	Alagoa Nova, PB
U38	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U39	<i>Melipona scutellaris</i>	João Pessoa, PB
U40	<i>Melipona scutellaris</i>	Alagoa Nova, PB